



**HAL**  
open science

## Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir

Catherine Quiblier, Zouher Amzil, Estelle Baurès, Damien Banas, Ronel Biré, Valérie Fessard, Muriel Gugger, Emilie Lance, Christophe Laplace-Treyture, Delphine Latour, et al.

### ► To cite this version:

Catherine Quiblier, Zouher Amzil, Estelle Baurès, Damien Banas, Ronel Biré, et al.. Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir: Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective. [0] Saisines n° 2016-SA-0165 et 2015-SA-0207, Anses. 2020, pp.495. hal-03266191

**HAL Id: hal-03266191**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03266191>**

Submitted on 21 Jun 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

anses

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Évaluation des risques liés aux cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux douces

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Mai 2020 - Édition scientifique



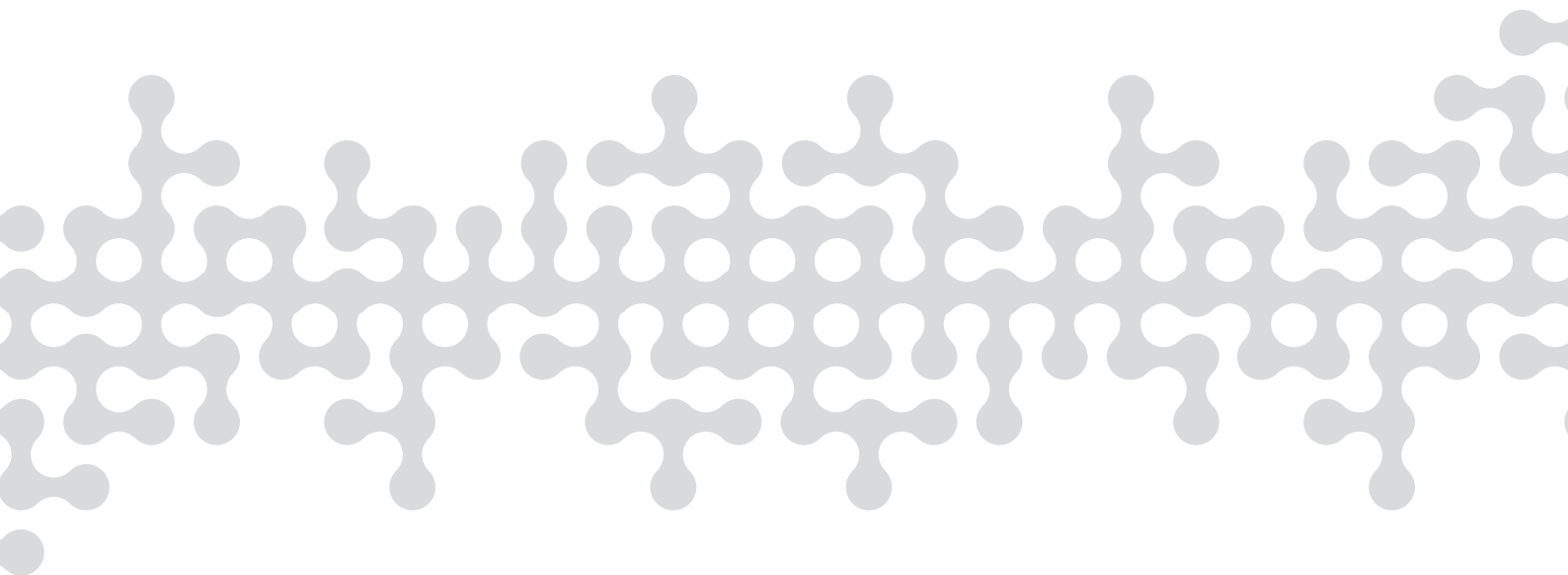


# Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines

dans les eaux destinées à l'alimentation,  
les eaux de loisirs et les eaux destinées  
aux activités de pêche professionnelle et de loisir

**Avis de l'Anses**  
**Rapport d'expertise collective**

Mai 2020 - Édition scientifique







Le directeur général

Maisons-Alfort, le 15 mai 2020

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

**relatif à l'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Agence a été saisie le 19 juillet 2016 par la Direction générale de la santé (DGS) d'une demande d'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation (EDCH), à la baignade et autres activités récréatives.

Préalablement, l'Anses avait été saisie le 25 septembre 2015 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la DGS d'une demande d'appui scientifique et technique sur l'état des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines.

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

La saisine de l'Anses fait suite, d'une part, à la présence de cyanobactéries toxigènes dans des retenues utilisées pour la production d'EDCH et, d'autre part, à l'observation récurrente d'efflorescences de cyanobactéries dans des plans d'eau ayant conduit à une interdiction temporaire des activités récréatives (baignade, activités nautiques), ainsi que des activités de pêche professionnelle et de loisir compte tenu du risque de contamination des poissons par des cyanotoxines. La demande d'actualisation de la DGS fait référence à une précédente saisie de l'Agence française de la sécurité sanitaire des aliments (Afssa) en 2001 et de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) en 2004, relative aux risques liés à la présence de cyanobactéries et de cyanotoxines dans les EDCH et dans les eaux de baignade ou autres activités récréatives. Un rapport commun à ces deux agences avait alors été publié (Afssa – Afsset, 2006). La nécessité de l'actualisation demandée par la DGS fait suite à l'évolution des connaissances scientifiques concernant les cyanobactéries et les toxines qu'elles sont susceptibles de produire depuis la publication du rapport de 2006 et l'acquisition de nombreux résultats d'analyses dans les ressources utilisées pour produire de l'EDCH, dans les EDCH elles-mêmes et dans les eaux récréatives.

Les cyanobactéries sont des micro-organismes de la famille des bactéries qui se développent dans les milieux terrestres et aquatiques, qu'ils soient saumâtres, marins ou dulçaquicoles. Lorsque les conditions environnementales (température, nutriments) leur sont favorables elles peuvent proliférer de manière massive et rapide (en quelques jours), on parle alors d'efflorescence (ou « bloom » en anglais). Dans certains cas, ces proliférations entraînent un changement de couleur de l'eau, une odeur nauséabonde et/ou leur accumulation à la surface de l'eau. La présence de cyanobactéries est observée de plus en plus fréquemment, sur tous les continents, expliquant la préoccupation internationale croissante au regard des conséquences écologiques, sanitaires et économiques associées.

Sur un plan biologique, les cyanobactéries sont des bactéries photosynthétiques à Gram négatif dont la pigmentation varie du bleu-vert au rouge. Elles sont encore parfois désignées, à tort du point de vue biologique, sous le terme d'algues bleues. En effet, sous l'angle de la systématique, ces micro-organismes appartiennent au règne des eubactéries, ils ont longtemps été classés dans le règne végétal, sur la base de leur activité photosynthétique, caractéristique considérée alors, en milieu aquatique, comme spécifique des algues. La structure cellulaire, en particulier l'absence de noyau et d'organites intracellulaires, est néanmoins caractéristique de la cellule procaryote des bactéries. Comme les algues, la plupart des cyanobactéries des eaux continentales font de la photosynthèse oxygénique couplée à la fixation du CO<sub>2</sub>, avec l'eau comme donneur d'électrons. Elles possèdent de la chlorophylle-a. Mais la présence d'autres pigments photosynthétiques, des phycobiliprotéines caractéristiques, est à la base de leur identification aujourd'hui.

En milieu aquatique, les cyanobactéries se divisent en deux groupes selon leur mode de vie : planctoniques et benthiques. Les cyanobactéries planctoniques se maintiennent en suspension dans la colonne d'eau grâce à l'existence de vésicules gazeuses intracellulaires qui leur confèrent des propriétés de flottabilité. Cette caractéristique explique leur faculté à s'accumuler à la surface de l'eau. Au contraire, les cyanobactéries benthiques se développent au fond des cours d'eau, sur des substrats minéraux (e.g. blocs, galets, sable, sédiment) voire à la surface des macrophytes.

Dans les zones tempérées, la prolifération de cyanobactéries survient plus souvent en été et début d'automne, quand l'ensoleillement est important et les températures de l'eau supérieures à 20°C, mais on peut parfois les observer dès le printemps. Dans certains cas plus rares, des proliférations pérennes sont observées tout au long de l'année ou bien encore spécifiquement en hiver. Sous les climats tropicaux et subtropicaux, les proliférations peuvent être observées toute l'année si les conditions sont réunies pour leur développement.

Certaines espèces de cyanobactéries produisent des toxines appelées cyanotoxines qui présentent une grande variété de structures chimiques. Une même espèce de cyanobactéries peut produire différentes toxines et une même toxine peut être produite par différentes espèces de cyanobactéries. Au sein d'une même espèce, certaines souches ont les gènes de synthèse permettant la production de toxines, d'autres souches ne les ont pas. Les toxines les plus connues sont les microcystines (MC), les cylindrospermopsines (CYN), les nodularines (NOD), les anatoxines (ATX), les saxitoxines (STX) et leurs dérivés, ainsi que les lyngbyatoxines et les aplysiatoxines. Chaque toxine peut présenter elle-même un grand nombre de variants, résultant de variations structurales. Pour exemple, plus de 250 variants sont aujourd'hui connus dans la famille des microcystines.

Sachant que les cyanotoxines restent majoritairement dans les cellules de cyanobactéries jusqu'à la lyse<sup>1</sup> de ces dernières, les espèces de cyanobactéries potentiellement productrices de toxines sont considérées dans cet avis comme un danger dans les EDCH et les eaux récréatives. En effet, les cyanobactéries potentiellement productrices de toxines peuvent engendrer une exposition aux cyanotoxines des individus. Les présents travaux traitent uniquement des cyanobactéries d'eau douce. Les cyanobactéries marines et leurs toxines associées n'ont pas été retenues dans le périmètre de l'expertise au regard de l'amplitude en termes d'expertise de l'actualisation demandée par la DGS et la DGAL.

---

<sup>1</sup> Lyse : éclatement ou destruction de la membrane plasmique

La DGS a ainsi sollicité l'Agence afin qu'elle procède à une expertise scientifique et technique permettant d'actualiser :

- la liste des espèces de cyanobactéries toxigènes susceptibles d'être identifiées dans l'eau douce (ressources destinées à la production d'EDCH ou plans d'eau destinées à la baignade, aux activités récréatives et/ou à la pêche) en France métropolitaine et dans les départements d'outre-mer ;
- les valeurs limites de qualité relatives à la concentration de cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation et les eaux de baignade.

L'Anses a attribué le numéro de saisine 2016-SA-0165 à ces demandes.

La DGAL et la DGS ont également demandé à l'Anses d'apporter des éléments d'éclairage vis-à-vis de la contamination des poissons d'eau douce en particulier sur les points suivants :

- l'état des connaissances concernant la toxicocinétique des différentes cyanotoxines chez les poissons d'eau douce susceptibles d'être consommés par l'Homme, notamment :
  - leur capacité de bioaccumulation, en précisant le cas échéant la distribution des toxines dans les différents organes/tissus ;
  - le possible lien entre les concentrations en toxines mesurées dans l'eau et/ou les cyanobactéries et celles mesurées dans les poissons ;
  - la vitesse d'élimination des toxines ;
- les différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons à recommander ;
- les éléments d'éclairage concernant la levée d'une interdiction de consommation des poissons suite à un épisode d'efflorescence de cyanobactéries (retour sous un seuil de concentration cellulaire ou de biomasse de cyanobactéries dans l'eau par exemple).

Dans un deuxième temps et de manière coordonnée avec la saisine n°2016-SA-0165, il a été demandé à l'Anses :

- de proposer des seuils sanitaires dans les poissons sur la base d'une actualisation des connaissances toxicologiques disponibles sur les différentes cyanotoxines susceptibles d'entraîner des effets toxiques aigus ou chroniques chez l'Homme ;
- d'étudier la possibilité de corréler les seuils de gestion des risques sanitaires pour la baignade qui auront été actualisés à un risque lié à la consommation de poissons ;
- de proposer des modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade et indépendamment des seuils de cyanobactéries actuels.

L'Anses a attribué deux numéros de saisine à ces demandes :

- la saisine n°2015-SA-0206 portant sur la première partie de la demande relative à l'état des connaissances ; celle-ci a été traitée sous forme d'appui scientifique et technique (AST) mettant en œuvre une revue systématique de la littérature, dont les travaux ont été finalisés le 12 juillet 2016 (Anses, 2016a) ;
- la saisine n°2015-SA-0207, pour la seconde partie de la demande, relative à la proposition de concentrations maximales de cyanotoxines dans les poissons d'eau douce et aux modalités de surveillance.

Le présent avis regroupe les conclusions et recommandations issues des travaux d'expertise liés aux saisines 2015-SA-0207 et 2016-SA-0165. Les travaux spécifiques liés aux cyanotoxines, se sont appuyés sur les avis liés aux saisines 2016-SA-0297, 2016-SA-0298 et 2016-SA-0299 portant sur l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence respectivement MC-LR, CYN et STX.



## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétence des comités d'experts spécialisés (CES) « Eaux » et « Évaluation des risques physico-chimiques dans les aliments (ERCA) ». L'Anses a confié l'instruction des saisines (2016-SA-0165 et 2015-SA-0207) au groupe de travail (GT) « Cyanobactéries », constitué le 6 janvier 2017 suite à un appel à candidatures.

Deux rapporteurs au sein du GT « Cyanobactéries » ont été nommés pour réaliser l'expertise initiale des travaux relatifs à la saisine n°2015-SA-0207, complétée par une expertise interne au sein de l'Unité d'Évaluation des risques liés aux aliments (JERALIM) de la Direction de l'Évaluation des Risques (DER) pour la revue systématique de la littérature et le traitement statistique des données.

Les travaux d'expertise du GT « Cyanobactéries » relatifs à la saisine 2015-SA-0207 ont été soumis régulièrement au CES ERCA tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques lors des réunions plénières entre le 11 avril 2019 et le 23 octobre 2019. Le document produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES et par le relecteur nommé pour réaliser une relecture critique du document. Les travaux ont été adoptés par le CES ERCA réuni le 23 octobre 2019.

Les travaux d'expertise du GT « Cyanobactéries » relatifs à la saisine 2016-SA-0165 ont été présentés au CES « Eaux » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques régulièrement entre le 10 octobre 2017 et le 4 février 2020. Le rapport et la synthèse tiennent compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES et par les relecteurs nommés pour réaliser une relecture critique du rapport. Le rapport a été adopté par le CES « Eaux » réuni le 7 janvier 2020 et la synthèse le 4 février 2020.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet du ministère en charge des solidarités et de la santé (<https://dpi.sante.gouv.fr>).

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT « CYANOBACTERIES »

Depuis les précédents travaux de l'Agence relatifs aux cyanobactéries, la présence en France métropolitaine et ultramarine de proliférations de cyanobactéries a été largement confirmée dans les eaux de surface. La grande diversité de ces organismes et de leur mode de développement conduit à des situations très différentes, notamment selon le type de réseau hydrographique concerné et le type de cyanobactéries rencontrées (planctoniques ou benthiques). Régulièrement, les efflorescences sont accompagnées de production de cyanotoxines dont les plus recherchées actuellement en eau douce, restent les microcystines (MC) qui comprennent de nombreux variants. Néanmoins, des épisodes de contamination par d'autres toxines et notamment les anatoxines (ATX) et les saxitoxines (STX) ont été signalés en France métropolitaine ces dernières années.

Les proliférations massives de cyanobactéries peuvent avoir des conséquences à la fois écologiques, sanitaires et économiques :

- écologiques car elles peuvent impacter la santé des écosystèmes. Des densités importantes de cyanobactéries peuvent altérer le fonctionnement physico-chimique et écologique des écosystèmes. C'est ainsi par exemple que la décomposition, par les bactéries chimio organotrophes aérobies (souvent qualifiées d'hétérotrophes), de la matière organique produite par les cyanobactéries peut conduire à une désoxygénation de la colonne d'eau et à une mortalité massive de poissons et d'invertébrés ;
- sanitaires à travers la production de cyanotoxines qui peuvent représenter un risque pour la santé de l'Homme et des animaux qui sont en contact avec l'eau contaminée et/ou qui la consomment. Des mortalités d'animaux, principalement des chiens, mais également parfois du bétail ou de la faune sauvage ont été recensées ces dernières années à la suite d'exposition à des

efflorescences de cyanobactéries (benthiques le plus souvent). Ces évènements ont été corrélés à la présence de cyanobactéries productrices d'ATX ;

- économiques car l'aspect repoussant des plans d'eau dû à la modification de leur couleur, à l'accumulation possible de fortes densités de cyanobactéries en surface et/ou sur les rives et à des mauvaises odeurs, peuvent conduire à une limitation des usages aquatiques tels que la baignade, le nautisme ou la pêche. Les proliférations de cyanobactéries peuvent ainsi avoir des effets négatifs directs sur l'industrie touristique en bordure des plans d'eau, accentués, le cas échéant, par les mesures de restrictions sanitaires des usages récréatifs. Dans les ressources exploitées pour la production d'EDCH, les proliférations de cyanobactéries et la production de cyanotoxines et/ou de molécules malodorantes (autres métabolites de cyanobactéries) entraînent une augmentation du coût de production des EDCH, par exemple par l'augmentation des coûts de traitements de l'eau ou par la nécessité d'aménager les filières de traitement pour prendre en compte ce problème.

La DGS a élaboré en juin 2003 des recommandations de contrôle sanitaire et de gestion des cyanobactéries dans les eaux de baignade. Les recommandations effectuées par l'Anses en 2006 ont permis de proposer des modalités de mise en œuvre du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de baignade. L'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique préconise une limite de qualité de 1 µg.L<sup>-1</sup> en microcystines totales dans les EDCH. Les résultats de ces contrôles ont été collectés dans les bases de données Sise-eaux et Sise-baignade. Les experts du GT « Cyanobactéries » ont considéré à travers l'analyse de ces données, que les méthodologies de contrôle sanitaire, de bancarisation et de traitement des résultats d'analyse récoltés parce qu'elles sont très hétérogènes, ne permettent pas de les utiliser pleinement pour réaliser une évaluation du risque sanitaire au niveau national. En outre, ces bases ne contiennent pas d'information relative aux proliférations de cyanobactérie benthiques. Néanmoins, cette acquisition de données a permis de confirmer que le phénomène de prolifération des cyanobactéries concerne l'ensemble du territoire français (métropole et territoires d'outre-mer même s'il y a peu de données disponibles dans les bases sur ces territoires) et que le nombre de sites sujets à des proliférations de cyanobactéries semble être croissant dans le temps. L'intensification de ces phénomènes peut s'expliquer localement par l'augmentation des pressions anthropiques dans les bassins versants des plans d'eau concernés, l'envasement et/ou le faible taux de renouvellement de certaines masses d'eau.

Par ailleurs, l'impact du changement climatique sur les proliférations de cyanobactéries est actuellement discuté dans la communauté scientifique. L'augmentation globale des températures, mais également les modifications des régimes pluviométriques qui se traduisent par la multiplication de périodes de grandes sécheresses alternant avec des épisodes de tempêtes et de pluies violentes, provoquent des modifications dans l'hydrologie des bassins versants (par exemple étiage des rivières de plus en plus longs et sévères) et dans le fonctionnement physique des plans d'eau (par exemple durée de stratification des lacs allongée). Ces modifications semblent favoriser les proliférations de cyanobactéries. Cependant, les interactions entre tous ces facteurs et processus sont multiples et encore largement méconnues. Il est donc très difficile de prédire quels seront réellement leurs impacts sur les proliférations de cyanobactéries potentiellement toxiques.

Dans les zones au climat tempéré, les proliférations de cyanobactéries interviennent le plus souvent en été, quand l'ensoleillement est important et les températures de l'eau supérieures à 20°C, mais aussi parfois dès le printemps. Ces proliférations peuvent se prolonger jusqu'en automne. Dans certains cas plus rares, des proliférations pérennes sont observées tout au long de l'année ou bien encore spécifiquement en hiver. Sous les climats tropicaux et subtropicaux, les proliférations peuvent être observées toute l'année si les conditions sont réunies pour leur développement.

Les proliférations de cyanobactéries planctoniques surviennent principalement dans les eaux stagnantes (plans d'eau et rivières très lentes) eutrophisées. Elles nécessitent en effet, pour soutenir la production de biomasse, des concentrations élevées en phosphore (P) et en azote (N) dont les apports, directs ou indirects, peuvent avoir des origines multiples et diverses (par exemple effluents d'élevage, compost, boues de station de traitement des eaux usées, engrais épandus sur les sols, rejets d'eaux usées insuffisamment traités, lessivage des sols lors d'épisodes pluvieux importants). **La réduction des apports de phosphore et d'azote dans les eaux de surface reste aujourd'hui la seule façon**

**durable de protéger et/ou de restaurer ces écosystèmes vis-à-vis des proliférations de cyanobactéries planctoniques.**

Les proliférations de cyanobactéries benthiques sont quant à elles rencontrées le plus souvent dans des eaux courantes peu profondes (rivières et certains grands fleuves) ayant un statut trophique pouvant aller de l'oligotrophie<sup>2</sup> à l'eutrophie<sup>3</sup>. Les connaissances actuelles sur ces proliférations sont beaucoup plus restreintes que pour les cyanobactéries planctoniques. Il semble cependant que les développements de biofilms à cyanobactéries benthiques surviennent préférentiellement en périodes d'étiages prolongés, dans des zones de profondeurs inférieures à 1 m et présentant un courant de l'ordre de 0,2 à 1 m.s<sup>-1</sup>. Le décrochage de ces biofilms, leur transport puis leur accumulation sur les rives résultent de divers processus encore mal connus.

À la vue des nouvelles connaissances scientifiques générées depuis les précédents travaux de l'Agence (2006), les experts proposent une série de recommandations visant à l'amélioration de la prise en compte du danger lié à la présence des cyanobactéries sur le territoire français (métropolitain et ultramarin) afin de limiter l'exposition des populations aux cyanotoxines. Les recommandations proposées visent d'une part à optimiser la gestion des ressources en eau utilisées pour la production d'EDCH ainsi que celle des usines de production de l'EDCH, et d'autre part, à optimiser la gestion des milieux aquatiques utilisés pour la baignade et les autres activités nautiques. Des éléments d'aide à la gestion des situations de contamination des masses d'eau exploitées pour la pêche professionnelle ou de loisirs sont également apportés.

Les mesures proposées ont trait principalement à :

- la taxonomie des cyanobactéries toxigènes ;
- la toxicologie des cyanotoxines ;
- la détection et la quantification des cyanobactéries ;
- la détection et la quantification des cyanotoxines ;
- les moyens de prévention et de maîtrise des proliférations de cyanobactéries ;
- la prise en compte des risques liés à la pêche et à la consommation de poissons d'eau douce ;
- la stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des ressources en eau destinées à produire de l'EDCH et sur les filières de traitement ;
- la stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de loisirs ;
- les mesures de gestion à mettre en œuvre en fonction des résultats de la surveillance et/ou du contrôle sanitaire.

### **3.1. Identification des cyanobactéries potentiellement toxigènes**

L'identification des cyanobactéries sous microscope optique est effectuée sur la base de nombreux ouvrages de référence, de manuels ou de clés d'identification taxonomiques. Il n'existe cependant pas de référence nationale permettant l'identification de ces micro-organismes de façon homogène. L'inconvénient principal de la consultation de différents ouvrages est qu'elle peut constituer une source importante d'incohérences, surtout si l'identification est poussée jusqu'au niveau de l'espèce. Pour cette raison, les experts ont établi une liste des taxons producteurs des différentes cyanotoxines retrouvées à ce jour dans les eaux douces en France métropolitaine et ultramarine et qui présentent une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres, en s'arrêtant au niveau du genre (Tableau I). La

---

<sup>2</sup> un milieu oligotrophe est un milieu pauvre en éléments nutritifs. Dans un milieu oligotrophe, les eaux sont peu minéralisées, bien oxygénées et la transparence de l'eau est forte.

<sup>3</sup> Il faut distinguer l'eutrophisation naturelle qui se produit à l'échelle des temps géologiques, de l'eutrophisation anthropique qui correspond à un apport excessif et rapide d'éléments nutritifs dans les eaux, entraînant une prolifération massive des producteurs primaires, dont les cyanobactéries, un appauvrissement en oxygène et conduit à un déséquilibre de l'écosystème.

détermination du genre est essentielle pour identifier une toxicité potentielle même si cette toxicité peut varier de façon importante en fonction des génotypes, et donc des souches de cyanobactéries.

Cette liste a été élaborée à partir d'une revue et d'une analyse de la littérature scientifique récente. Il est à noter que la classification des cyanobactéries et les connaissances concernant leur potentiel toxique font régulièrement l'objet de révisions. La liste actuelle des cyanobactéries productrices de toxines peut donc être modifiée, grâce à l'avancement des connaissances scientifiques, notamment en génomique, physiologie et classification.

**Afin de compléter cette liste, les experts recommandent de poursuivre l'identification des cyanobactéries planctoniques et benthiques, et les toxines produites, dans les eaux douces utilisées comme ressource pour la production d'EDCH et dans les eaux récréatives en particulier dans les DROM COM dès qu'une prolifération de cyanobactéries est avérée.**

## Avis de l'Anses

**Saisines n° 2016-SA-0165 et 2015-SA-0207**

Saisine liée n°2015-SA-0206

**Tableau I: Taxons producteurs de cyanotoxines en eaux douce et marine présentant une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres**

(nota : les genres identifiés dans le tableau ne produisent pas systématiquement de toxines)

Toxines	Milieu	Morphotype	Principaux genres de cyanobactéries producteurs avérés	Autres genres de cyanobactéries producteurs avérés
<b>Microcystines</b>	Eau douce et milieu terrestre (cyanobactéries en symbiose avec des champignons pour former des lichens), eaux saumâtres estuariennes	Unicellulaire colonial	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanocapsa</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Radiocystis</i> , <i>Woronichinia</i>
		Filamenteux	<i>Planktothrix (Oscillatoria)</i>	<i>Annamia</i> , <i>Geitlerinema</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Trichodesmium</i> , <i>Plectonema</i>
		Filamenteux avec hétérocyte	<i>Anabaena</i>	<i>Anabaenopsis</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Trichormus</i>
		Filamenteux avec hétérocyte et ramification	<i>Hapalosiphon</i>	<i>Fischerella</i>
<b>Anatoxine-a</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Anabaena</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Cylindrospermum</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Raphidiopsis/Cylindrospermopsis</i>
		Filamenteux	<i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus</i> <i>Oscillatoria</i> (organismes benthiques)	<i>Pseudanabaena</i> , <i>Tychonema</i>
<b>Anatoxine-a(S)</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Dolichospermum (Anabaena)</i>	
<b>Cylindrospermopsines</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Raphidiopsis/Cylindrospermopsis</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Chrysoosporum</i>
		Filamenteux avec hétérocyte et ramification	<i>Umezakia</i>	
		Filamenteux	<i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus</i> <i>Oscillatoria</i>	<i>Lyngbya</i>

## Avis de l'Anses

**Saisines n° 2016-SA-0165 et 2015-SA-0207**

Saisine liée n°2015-SA-0206

Toxines	Milieu	Morphotype	Principaux genres de cyanobactéries producteurs avérés	Autres genres de cyanobactéries producteurs avérés
			<i>(Organismes typiquement benthiques)</i>	
<b>Saxitoxines</b>	Eau douce (et marine par d'autres producteurs)	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Anaebaena, Dolichospermum, Raphidiopsis/Cylindrospermopsis,, Cuspidothrix, Raphidiopsis, Scytonema</i>
	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya (Organismes typiquement benthiques)</i>	<i>Hydrocoleum, Trichodesmium</i>
<b>Béta-méthylamino-L-alanine (BMAA )</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Leptolyngbya</i>	
<b>Nodularines</b>	Eau marine/saumâtre (et eau douce selon Foss <i>et al.</i> , 2016)	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Nodularia</i>	<i>Nostoc</i>
<b>Lyngbyatoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya (Organismes typiquement benthiques)</i>	<i>Moorea (Moorena)</i>
<b>Aplysiatoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya (Organismes typiquement benthiques)</i>	<i>Moorea (Moorena), Leibleinia</i>
<b>Palytoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Trichodesmium</i>	

### Remarque :

Les noms de genres entre parenthèses correspondent à des synonymes et à des taxa redistribués (par exemple, une partie des *Anabaena* et des *Aphanizomenon* proches génétiquement forment le nouveau taxon *Dolichospermum*) alors que les noms de genres séparés par des « / » correspondent à des complexes de morpho-espèces dont l'identification et l'appellation peuvent être à l'heure actuelle sujettes à controverse. La classification de ces organismes évolue elle aussi, notamment à la lumière des connaissances acquises tout récemment sur les génomes et l'histoire évolutive et adaptatives de ces organismes.

### 3.2. Voies d'exposition aux cyanotoxines et cas d'intoxication recensés en France

Une eau provenant d'une ressource présentant une prolifération de cyanobactéries est susceptible de contenir des cyanotoxines libérées principalement lors de la mort cellulaire et partiellement seulement par excrétion. La quantité de toxine(s) produite(s) par une même population est très variable au cours d'une efflorescence en fonction de la dynamique de croissance de la population et de la dynamique la production de toxine par les cellules disposant du matériel génétique pour en produire.

La baignade, les loisirs nautiques, la consommation d'eau et l'ingestion de poissons contaminés représentent autant de sources d'exposition aux cyanotoxines pour l'Homme.

Les effets des cyanotoxines sur la santé humaine sont variables en fonction des molécules incriminées. La fièvre et les symptômes gastro-intestinaux (nausées, vomissements) sont les effets les plus fréquemment rapportés mais des atteintes oculaires ou cutanées (irritations et éruptions), des myalgies, des atteintes hépatiques et rénales, sont également décrites.

Les délais d'apparition des symptômes sont très variables parce qu'ils dépendent du type de toxine impliquée, de la dose et de la voie d'exposition. Ils peuvent aller de quelques minutes à quelques heures pour les symptômes cutanés et les troubles neurologiques, jusqu'à plusieurs heures pour les troubles gastro-intestinaux.

En France, 95 cas d'intoxication humaine par des cyanobactéries ont été recensés par les centres antipoison (CAP) entre le 1<sup>er</sup> janvier 2006 et le 31 décembre 2018. La majorité de ces cas concerne la période 2016-2018 (13 cas en 2016, 12 cas en 2017 et 16 cas en 2018), pour la plupart en période estivale (juin, juillet et août). Ce nombre est probablement très sous-estimé du fait d'un manque de connaissance de ce phénomène par le grand public et de symptômes peu spécifiques qui de plus, peuvent disparaître rapidement et ne font pas nécessairement l'objet d'un signalement par la population aux médecins et autorités sanitaires. D'autre part, lorsque le diagnostic est évoqué, un manque d'investigation ne permet pas toujours de le confirmer. Parmi les cas recensés par le CAP, cinquante-huit étaient symptomatiques d'une intoxication<sup>4</sup> à des cyanotoxines, même si le niveau d'imputabilité entre symptômes et exposition est souvent difficile à établir avec certitude en raison de l'absence de données météorologiques associées (Greillet *et al.*, 2020).

La majorité des intoxications rapportées ces trois dernières années ont été observées en été, au nord de la Loire et dans un contexte de baignade ou de loisirs nautiques. Seules trois personnes ont été exposées dans un contexte alimentaire. Les cas décrits concernent essentiellement des enfants et de jeunes adultes, ce qui correspond au public le plus exposé lors des activités aquatiques, avec une symptomatologie principalement digestive, cutanée et neurologique/neuromusculaire. Aucun cas grave ayant nécessité une hospitalisation n'a été rapporté.

Ces dernières années, ce sont surtout des cas d'intoxications animales (mortalités de chiens notamment) qui ont attiré l'attention des pouvoirs publics et des médias.

**Afin d'améliorer le suivi des cas d'intoxication, les experts recommandent donc :**

- 1) de développer les moyens et outils permettant la collecte des cas d'intoxication par les cyanobactéries et/ ou les cas d'intoxications par les toxines supposés ou confirmés. Les relations des agences régionales de santé (ARS) avec les CAP devraient être accrues. Pour mener à bien cette épidémiologie, les professionnels concernés (médecins, vétérinaires, pharmaciens) devront être (i) sensibilisés à envisager cette étiologie face à des intoxications et (ii) incités à signaler les cas suspects ou avérés aux autorités sanitaires (ARS et CAP) ;**
- 2) d'élaborer un référentiel d'investigation permettant la validation des cas d'intoxications animales et humaines par les cyanotoxines ;**
- 3) de mener une étude épidémiologique des risques associés à l'exposition aux cyanobactéries et d'identifier la (les) cyanotoxine(s) impliquées dans les intoxications.**

---

<sup>4</sup> l'état dans lequel se trouve un organisme après ingestion d'une trop grande quantité de toxines.

### 3.3. Effets toxiques des cyanotoxines, valeurs toxicologiques de référence

Les études relatives à la toxicité des cyanotoxines présentes dans les eaux douces concernent principalement une exposition par ingestion d'eau. Très peu d'études ont porté sur une exposition par inhalation ou par contact cutané. Pour l'ensemble des cyanotoxines considérées, il n'a donc pas été possible d'établir de valeur toxicologique de référence permettant de caractériser les dangers et les risques spécifiques à ces deux dernières voies d'exposition.

Considérant qu'en France les filières de production d'EDCH sont généralement en mesure d'éliminer à la fois les cellules de cyanobactéries et les toxines présentes dans les eaux des ressources, l'exposition chronique aux cyanotoxines paraît aujourd'hui peu probable. Par contre une exposition répétée pendant quelques mois n'est pas à exclure en considérant notamment la saisonnalité des activités de baignade.

#### **Microcystine-LR**

Les nouvelles données toxicologiques disponibles depuis les précédents travaux de l'Agence de 2006 ont permis d'actualiser la VTR de la MC-LR. Plusieurs études récentes révèlent des effets sur l'appareil reproducteur mâle à des doses, par voie orale, inférieures à celles de l'étude qui avait été utilisée jusqu'à présent par l'OMS pour dériver la VTR et proposer des seuils de gestion. Une VTR subchronique par voie orale, basée sur l'altération de la qualité spermatique chez la souris, comprenant la diminution de la mobilité spermatique, la diminution du nombre de spermatozoïdes et l'augmentation du nombre d'anomalies spermatiques, a donc pu être développée (Anses, 2019). Cette valeur est associée à un indice de confiance moyen. Il est à noter que les études toxicologiques disponibles n'ont pas permis de construire une VTR aiguë pour la MC-LR.

#### **Cylindrospermopsine**

D'après les travaux chez le rongeur, les effets les plus sensibles à la CYN (apparaissant aux doses testées les plus faibles), lors d'une exposition subchronique par voie orale, sont observés au niveau du foie et des reins. À partir des données bibliographiques récentes, une nouvelle VTR subchronique par voie orale basée sur l'augmentation de la masse du foie et des reins a pu être construite (Anses, 2019). Cette valeur est associée à un indice de confiance moyen.

#### **Saxitoxine**

Le principal effet toxique de la STX et de ses variants est la neurotoxicité. D'après les études expérimentales chez la souris, les effets les plus sensibles (apparaissant aux doses testées les plus faibles) lors d'une exposition aiguë par voie orale à la STX se manifestent par une respiration abdominale, une léthargie, et la diminution du comportement exploratoire des animaux (Munday *et al.*, 2013). Une nouvelle VTR aiguë par voie orale a été construite pour la STX en retenant comme effet critique le dysfonctionnement des muscles squelettiques qui traduit des troubles neurologiques engendrés par le blocage des canaux sodiques voltage-dépendants (Anses, 2020). Un niveau de confiance faible a été attribué à cette VTR.

#### **Anatoxine-a**

Il n'a pas été possible d'établir une VTR aiguë par voie orale pour l'ATX-a car les données toxicologiques disponibles à ce jour sont trop limitées pour pouvoir caractériser le danger pour l'Homme. Néanmoins, l'ATX-a provoque d'une manière générale, une paralysie rapide des muscles et du système respiratoire des organismes intoxiqués.

Les VTR retenues dans le cadre de la présente expertise pour caractériser le risque lié aux cyanotoxines présentes dans les eaux douces et les poissons sont résumées dans le Tableau II.



1 **Tableau II : Valeurs toxicologiques de référence retenues pour trois cyanotoxines retrouvées en eau douce et dans les poissons d'eau douce**

<b>cyanotoxine</b>	<b>Voie et durée d'exposition</b>	<b>Effet critique (études clés)</b>	<b>Concentration critique</b>	<b>Facteur d'incertitude</b>	<b>VTR</b>
Microcystine-LR CAS n°101043-37-2	Orale subchronique	Altération de la qualité spermatique <i>Chen et al. (2011)</i>	DSENO <sup>5</sup> = 1 µg.L <sup>-1</sup> = 0,15 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique<sup>6</sup></u> DSENO <sub>HED</sub> = 0,02 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	25  UF <sub>A</sub> : 2.5 UF <sub>D</sub> : 10	<b>1 ng.kg pc<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></b>
					Niveau de confiance Moyen
Cylindrospermopsine CAS n°143545-90-8	Orale subchronique	Augmentation du poids du foie et des reins, corrélée à des atteintes histologiques et biochimiques  <i>Chernoff et al. (2018)</i>	DMENO = 75 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique</u> DMENO <sub>HED</sub> = 10,31 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	75  UF <sub>A</sub> = 2,5 UF <sub>H</sub> = 10 UF <sub>L</sub> = 3	<b>0,14 µg.kg<sup>-1</sup>pc.j<sup>-1</sup></b>
					Niveau de confiance Moyen
Saxitoxine CAS n °35523-89-8	Orale aiguë	Dysfonction des muscles squelettiques  <i>Munday et al. (2013)</i>	DSENO = 164 µg.kg pc <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique</u> DSENO <sub>HED</sub> = 22 µg.kg pc <sup>-1</sup>	250  UF <sub>A</sub> : 2,5 UF <sub>D</sub> : 10 UF <sub>H</sub> : 10 UF <sub>L</sub> : 1 UF <sub>S</sub> : 1	<b>0,1 µg.kg pc<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></b>
					Niveau de confiance Faible

2

<sup>5</sup> DSENO : Dose maximale sans effet néfaste observé ; DMENO : Dose minimale entraînant un effet néfaste observé

<sup>6</sup> Ajustement allométrique : calcul de la dose ou la concentration équivalente pour l'Homme dans le cas d'une étude chez l'animal

La revue de la littérature ayant montré que la documentation des effets toxiques des cyanotoxines reste à ce jour encore très lacunaire, les experts recommandent de développer les efforts de recherche et l'acquisition des connaissances en particulier sur les thématiques suivantes :

- 1) **la toxicité aiguë de l'ATX-a pour élaborer une VTR aiguë par voie orale ;**
- 2) **la toxicité aiguë de la MC-LR afin d'élaborer une VTR aiguë par voie orale ; la toxicité de la STX, en exposition aiguë ainsi qu'en exposition (sub)chronique par voie orale ;**
- 3) **la toxicité des différents variants connus des cyanotoxines ;**
- 4) **la toxicité aiguë et (sub)chronique de mélanges de cyanotoxines ;**
- 5) **la toxicité éventuelles des nombreux autres métabolites produits par les cyanobactéries.**
- 6) **la nature des composés et les mécanismes à l'origine de la dermatotoxicité et des irritations cutanées ;**

### 3.4. Maîtrise des dangers

Sachant, comme il est dit plus haut, que les cyanotoxines restent en grande partie intracellulaires jusqu'à la lyse des cellules des cyanobactéries, les cyanobactéries potentiellement productrices de ces toxines sont considérées dans cet avis comme agents de contamination des EDCH et des eaux récréatives par les cyanotoxines et agents du risque d'exposition à ces toxines. Ainsi, la maîtrise des risques associés aux cyanotoxines passe inévitablement par la maîtrise du développement des cyanobactéries qui les produisent. À notre connaissance, les réflexions et les mises en œuvre relatives à cette maîtrise ont, à ce jour, exclusivement concerné les proliférations de cyanobactéries planctoniques. Celles-ci étant liées à l'état d'eutrophisation des masses d'eau, les experts insistent sur le fait que le contrôle sur le long terme des apports en nutriments dans les masses d'eau, en particulier du phosphore et de l'azote, est la seule solution durable pour limiter les proliférations de cyanobactéries planctoniques. Les solutions à court terme reposant sur des procédés chimiques, biologiques et physiques qui sont proposées aux gestionnaires des ressources en eau pour réduire et/ou éliminer ponctuellement les efflorescences produisent des résultats souvent peu satisfaisants et des effets sur l'environnement mal documentés.

Ainsi, les experts estiment que des procédés physiques tels que ceux visant à la déstratification de la colonne d'eau ou à l'oxygénation hypolimnique<sup>7</sup> ne sont pas adaptés à tous les plans d'eau et ne devraient être mis en place que de manière transitoire et en complément d'actions visant à la réduction directe des apports en éléments nutritifs.

En outre, les experts ne sont pas favorables aux traitements chimiques des masses d'eau dans les milieux naturels, que ce soit en mode préventif ou en mode curatif, pour les raisons suivantes :

- risque de libération de cyanotoxines dans le milieu (dans les ressources, les bassins de stockage de l'eau brute ou au niveau des filières de traitement) ;
- méconnaissance ou évaluation incomplète des impacts de ce type de produits sur la faune et la flore présentes.

Si ces traitements devaient être malgré tout utilisés, les experts rappellent que tout algicide doit avoir reçu une autorisation de mise sur le marché selon le règlement européen concernant la mise sur le marché et l'utilisation des produits biocides (RPB, règlement (UE) n° 528/2012).

Les experts rappellent également que selon l'article R.1321-43 du code de la santé publique, il n'est pas possible d'utiliser des produits et procédés de traitement directement dans les masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH.

Le GT rappelle par ailleurs que la qualité de l'eau brute utilisée pour la production d'EDCH doit être surveillée en permanence afin de prévenir les dangers liés à la présence de toxines dans l'EDCH. La vulnérabilité vis-à-vis des cyanobactéries/cyanotoxines doit être pris en compte lors de l'établissement des plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux.

En cas de constat de proliférations de cyanobactéries dans la ressource, il est nécessaire d'adapter au mieux le traitement sur la filière et de renforcer la surveillance des cyanobactéries et de leurs toxines. Les experts recommandent, lorsque cela est possible, l'utilisation d'une prise d'eau à hauteur variable qui permet le pompage dans des couches d'eau moins contaminées par les cyanobactéries.

Si la ressource est régulièrement sujette à des proliférations de cyanobactéries, une filière basée sur

---

<sup>7</sup> Technique visant à éviter la mise en place d'une zone anoxique en profondeur pour éviter le relargage de phosphore par les sédiments

un traitement « multibarrières » comprenant une combinaison d'étapes basées sur des principes différents, permettra de maîtriser le risque lié à la présence de toxines dans l'EDCH.

Les experts recommandent en premier lieu l'utilisation de la clarification physico-chimique qui permet une très bonne élimination des cellules de cyanobactéries. La flottation à air dissous est la technique de séparation recommandée par les experts lors d'une clarification physico-chimique pour les filières de traitement pompant une ressource sujette régulièrement à des proliférations de cyanobactéries. Une fois les cellules éliminées, les experts recommandent un ou plusieurs traitements d'affinage. L'adsorption sur charbon actif en poudre est à privilégier car la dose de charbon actif à ajouter peut être facilement adaptée à la concentration en toxines<sup>8</sup> dissoutes présentes dans l'eau à traiter. La nanofiltration ou l'osmose inverse utilisant des membranes de seuil de coupure inférieur à la masse molaire des cyanotoxines sont également recommandées par les experts comme traitement d'affinage. Les traitements d'oxydation chimique (ozone, chlore, dioxyde de chlore) permettent quant à eux, de dégrader les toxines mais ils doivent être appliqués sur des eaux peu riches en matière organique (COT < 2 mg.L<sup>-1</sup>) car des doses élevées de ces oxydants peuvent conduire à la formation de sous-produits (sous-produits d'oxydation classiquement recherchés dans les EDCH pouvant être dangereux pour la santé humaine).

Les experts insistent sur la nécessité d'une bonne maîtrise des différentes étapes de traitement par les gestionnaires et recommandent pour l'exploitation des filières, lors de prolifération constatée de cyanobactéries sur l'eau brute :

- un arrêt des étapes de préoxydation afin de ne pas libérer les toxines intracellulaires dans l'eau destinée à être traitée ;
- une adaptation des étapes de traitement et des doses de réactif à mettre en œuvre :
  - dose de coagulant /floculant à optimiser afin de garantir l'élimination des cellules par coagulation/floculation et décantation ou flottation ;
  - dose de charbon actif en poudre à adapter en fonction de la concentration en toxines dissoutes ;
  - doses d'oxydant (ozone, chlore, dioxyde de chlore) à adapter afin de bien satisfaire la demande en oxydant tout en gardant les propriétés désinfectantes requises.

Les experts recommandent également un suivi renforcé des paramètres d'exploitation sur les filières de traitement et préconisent notamment :

- 1) **l'extraction régulière, et donc la diminution des temps de séjour des boues des décanteurs afin de prévenir la lyse possible des cyanobactéries stockées dans les boues pouvant conduire à la libération des toxines intracellulaires ;**
- 2) **le suivi en continu de la perte de charge des filtres et de la turbidité de l'eau filtrée afin d'éviter un percement des filtres pouvant conduire à la libération d'un grand nombre de cellules dans l'eau filtrée ;**
- 3) **l'optimisation des cycles de filtration afin d'éviter le relargage de toxines intracellulaires dans l'eau filtrée (issues de cellules de cyanobactéries stockées dans le matériau filtrant) ;**
- 4) **l'arrêt du recyclage des eaux de lavage des filtres si ces eaux ne sont pas traitées par un traitement d'adsorption efficace avant leur réinjection en tête de filière. Si ces eaux sont traitées par un traitement spécifique, une adaptation du taux de traitement et la vérification de son efficacité sont nécessaires ;**
- 5) **l'adaptation de la fréquence de régénération du charbon actif en grains en cas de proliférations récurrentes.**

---

<sup>8</sup> Toxines présentes dans l'eau brute ou libérées après lyse des cellules lors des étapes de traitement précédentes

### 3.5. État des lieux de la présence des cyanobactéries et des cyanotoxines en France

Les résultats d'analyses générés par les laboratoires agréés dans le cadre du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de baignade alimentant respectivement la base nationale SISE-Eaux (système d'information en santé environnement) et la base SISE-Baignade ont été extraits sur la période 2010-2017 afin d'avoir une vision nationale de la contamination des masses d'eau par les cyanobactéries. Plus de 80 000 résultats ont pu être extraits de la base SISE-Eaux et près de 160 000 de la base SISE-Baignade. Lors de l'exploitation de ces deux bases de données, différentes difficultés ont été rencontrées en raison (i) d'une hétérogénéité dans les informations associées à chaque prélèvement et analyses, (ii) d'une répartition des données hétérogène sur le territoire métropolitain et d'une quasi-absence de données dans les territoires ultramarins et (iii) d'une répartition temporelle des analyses très hétérogène d'un département à l'autre. Ainsi, quelle que soit la base considérée, SISE-Eaux ou SISE-Baignade, les résultats enregistrés sont difficiles à comparer entre eux et ne sont pas pleinement exploitables.

En conséquence, les données extraites relatives aux cyanotoxines sont insuffisantes aujourd'hui pour estimer l'exposition de la population française aux différentes cyanotoxines *via* l'EDCH ou les eaux récréatives. En effet, quand des résultats de concentration en cyanotoxines sont disponibles, l'information est biaisée par le fait que la recherche de toxines n'est effectuée que lorsque le seuil de cyanobactéries est supérieur au seuil réglementaire en EDCH ou en eau de baignade. Par ailleurs, les méthodes analytiques utilisées pour la recherche des toxines sont différentes selon les laboratoires/départements et ne fournissent donc pas le même niveau d'information.

Si le traitement statistique des données du contrôle sanitaire n'a pas permis de cartographier de façon précise la contamination des masses d'eau par les cyanobactéries sur le territoire national, il en ressort tout de même un certain nombre d'informations. En particulier, les genres les plus fréquemment observés en eaux de baignade et en eaux de captage (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena* *Woronichinia*) sont à l'exception d'un seul (*Aphanothece*) tous potentiellement toxigènes. Ils sont susceptibles de produire des toxines appartenant aux principales familles de cyanotoxines : MC, ATX, CYN et STX.

Ainsi, la collecte de données sur la contamination des cours d'eau et plans d'eau doit être poursuivie et améliorée car c'est une étape essentielle dans l'estimation de l'exposition des populations en France métropolitaine et dans les territoires ultramarins aussi bien pour la consommation d'EDCH que lors de la pratique d'activités récréatives dulçaquicoles.

#### **Pour améliorer l'intérêt des données collectées et leur exploitation, les experts recommandent:**

- concernant l'organisation de la récolte des données et leur bancarisation :
  - 1) **d'harmoniser le recueil des données de surveillance et du contrôle sanitaire en standardisant les paramètres de surveillance et les règles de bancarisation ;**
  - 2) **de compléter les données d'abondance saisies pour chaque genre de cyanobactéries par les données de biovolume en utilisant les biovolumes standards attribués à chacun des genres (annexe 1 du présent avis) ;**
  - 3) **de mettre en place le suivi de l'ensemble des cyanotoxines dans les eaux douces ;**
  - 4) **de favoriser le contrôle sanitaire dans les régions ultramarines afin d'estimer les contaminations par les cyanobactéries et les cyanotoxines dans ces régions ;**
  
- concernant l'acquisition de connaissances :
  - 1) **de poursuivre les travaux de recherche relatifs à la contamination des eaux saumâtres par les cyanobactéries et les cyanotoxines ;**
  - 2) **d'évaluer le risque du transfert des cyanobactéries et cyanotoxines le long du *continuum* eau douce/estuaire/eau marine.**

### **3.6. État des pratiques des agences régionales de santé en matière de contrôle sanitaire et gestion sanitaire des proliférations de cyanobactéries et des cyanotoxines**

Une enquête visant à réaliser un état des lieux des pratiques des agences régionales de santé (ARS) en matière de surveillance et de gestion des proliférations de cyanobactéries et des cyanotoxines a été élaborée par le GT « Cyanobactéries » et adressée à l'ensemble des ARS par la DGS. Elle portait à la fois sur les EDCH, les eaux de baignade et de loisirs nautiques et abordait les points suivants : existence d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines, organisation du contrôle sanitaire (paramètres, période et fréquence, stratégie, techniques analytiques, coût), modalités de bancarisation des résultats, stratégie de gestion sanitaire, existence de signaux sanitaires et enfin difficultés de gestion. Au total, des réponses au questionnaire ont été obtenues pour 68 départements, dont 67 en métropole et un en outre-mer.

Les réponses obtenues ont mis en exergue :

- des disparités importantes dans la mise en œuvre du contrôle sanitaire des cyanobactéries et/ou de leurs toxines en fonction des départements qui ne permettent pas d'avoir un état des lieux de la situation au niveau national. Il est inexistant dans certains départements et dans ceux où il est pratiqué, les modalités et les coûts de mise en œuvre sont très hétérogènes ;
- des délais de transmission des résultats de dénombrement des cyanobactéries et des analyses de cyanotoxines des laboratoires d'analyses vers les ARS souvent incompatibles avec les impératifs de gestion sanitaire ;
- une forte hétérogénéité dans la bancarisation des résultats, ce qui a rendu difficile l'exploitation des bases Sise-Eaux et Sise-Baignade ;
- une importante variabilité des pratiques de gestion sanitaire et des difficultés dans la mise en place de cette gestion.

**Pour pallier ces disparités entre les départements, une harmonisation des pratiques au niveau national est préconisée, basée sur la définition d'une stratégie de surveillance prenant en compte les connaissances scientifiques les plus récentes sur les cyanobactéries et leurs toxines.** C'est dans cet objectif d'harmonisation que des arbres décisionnels détaillés présentés plus bas (figures 1, 2 et 3) ont été élaborés par le GT « Cyanobactéries » pour la surveillance des EDCH comme pour les eaux de baignade.

### **3.7. Estimation des risques sanitaires**

Les données de concentrations en cyanotoxines colligées dans les bases de données Sise-Eaux et Sise-Baignade sont insuffisantes pour pouvoir établir des valeurs de concentration moyennes robustes permettant par la suite de caractériser le risque sanitaire lié à l'ingestion de ces molécules *via* l'eau de boisson ou l'eau de baignade. Dans ce contexte, des concentrations maximales tolérables (CMT) de cyanotoxines dans les EDCH et les eaux récréatives ont été estimées afin que l'exposition soit inférieure à la valeur toxicologique de référence en cas d'ingestion unique (exposition aiguë pour l'ATX et la STX) ou répétée dans le temps (exposition subchronique pour la MC et la CYN). Les CMT ont été dérivées à partir des VTR et des scénarios d'exposition retenus par le GT « Cyanobactéries ».

Outre l'ingestion, d'autres voies d'exposition aux cyanotoxines sont possibles (inhalation, contact cutanéomuqueux) mais n'ont pas été considérées dans la détermination des CMT. Les valeurs guides ont été établies en appliquant une part attribuable de 100% à l'EDCH et aux eaux récréatives.

Les tableaux III et IV récapitulent l'ensemble des valeurs paramétriques retenues pour calculer les CMT dans l'EDCH et les eaux récréatives.

**Tableau III : Scénario d'exposition aiguë et subchronique pour l'EDCH**

Populations	Masse corporelle (en kg)	Ratios de la consommation hydrique totale quotidienne rapportée à la masse corporelle (au P95) <sup>1</sup> (L/kg m.c./j)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	0,131	1	30
7-10 ans	29	0,059	1	30
11-14 ans	46	0,053	1	30
15-17 ans	62	0,030	1	30
Adulte de plus de 18 ans	70	0,031	1	30

<sup>1</sup> données issues de l'étude INCA3 (Anses, 2019c) ; P95 : 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution

**Tableau IV : Scénario d'exposition aiguë et subchronique pour les eaux récréatives**

Populations	Masse corporelle (en kg)	Volume d'eau ingéré par bain (en mL)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	50 <sup>1</sup>	1	15 ou 30
7-10 ans	29	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
11-14 ans	46	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
15-17 ans	62	18 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
Adulte plus de 18 ans	70	7 <sup>2</sup>	1	15 ou 30

<sup>1</sup> Owen et Sunger, 2018 – <sup>2</sup> DeFlorio-barker *et al.*, 2018

Ces données montrent que le ratio masse corporelle sur le volume d'eau ingéré est le plus élevé pour les enfants de moins de six ans. Les valeurs guides à ne pas dépasser dans les EDCH et les eaux récréatives proposées dans le tableau V sont donc les valeurs des CMT calculées pour les enfants de moins de six ans.

Compte tenu de l'absence de VTR pour l'ensemble des variants de chaque toxine, les valeurs guides proposées correspondent à la concentration de la somme de tous les variants de chaque toxine à ne pas dépasser.

La valeur de CMT calculée pour les MC pour les EDCH est de 8 ng.L<sup>-1</sup> pour les enfants de moins de six ans, et à l'instar de ce qu'a pratiqué l'OMS pour certains micropolluants (e.g bromates) il est proposé de fixer comme concentration maximale admissible la limite de quantification des laboratoires agréés en France. La limite de quantification est actuellement de 0,2 µg.L<sup>-1</sup> pour les MC (communication Laboratoire d'hydrologie de Nancy).

De même, en l'absence de VTR pour l'ATX-a, il est proposé de vérifier, lors des contrôles sanitaires que les ATX sont non détectables.

**Tableau V : Concentrations maximales tolérables en cyanotoxines proposées pour l'EDCH et les eaux récréatives**

	Microcystines* ( en $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Cylindrospermopsines* ( en $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Saxitoxines* ( en $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Anatoxines *
EDCH	0,2	1	0,8	< LD
Eaux récréatives	0,3	42	30	< LD

\* Somme des variants recherchés et quantifiés

### 3.8. Détection et quantification des cyanobactéries et des cyanotoxines

Les cyanotoxines n'étant pour une grande part pas excrétées par les cyanobactéries qui les produisent et restant donc dans les cellules jusqu'à leur sénescence et leur lyse, le risque sanitaire lié aux cyanotoxines est étroitement lié au risque d'exposition aux cyanobactéries toxigènes. Ainsi, la détection et la quantification des cyanobactéries d'une part et des cyanotoxines d'autre part sont deux approches nécessaires à l'évaluation du risque sanitaire.

#### 3.8.1. Détection des proliférations de cyanobactéries

La principale difficulté inhérente à la détection des proliférations et à la quantification des cyanobactéries susceptibles de produire et de contenir des cyanotoxines, est liée à l'hétérogénéité de leur distribution dans les plans d'eau et les rivières. En effet, qu'il s'agisse de cyanobactéries planctoniques ou de cyanobactéries benthiques, leur distribution spatiale et temporelle dans les masses d'eau peut présenter de fortes variations liées entre autres au cycle de vie des espèces, au transport par les courants ou par les vents, aux migrations circadiennes ou à la prédation. L'optimisation des protocoles de prélèvements et de quantification représente donc un enjeu fondamental pour la détection et la quantification des cyanobactéries.

Il ressort de la revue bibliographique que la détection des proliférations de cyanobactéries, tant planctoniques que benthiques, doit se faire dans un premier temps par l'observation visuelle. L'utilisation de clés de reconnaissance des types de prolifération est alors recommandée (annexe 2).

Pour les cyanobactéries planctoniques, la surveillance visuelle des masses d'eau (ressource d'EDCH ou eaux destinées aux activités nautiques) doit être couplée à une mesure, dans le milieu ou dans l'eau prélevée, de l'évolution des concentrations en pigments photosynthétiques. Il s'agit de mesurer régulièrement, *in situ* ou en laboratoire, la concentration en chlorophylle-a totale (c'est-à-dire attribuée à l'ensemble de la biomasse phytoplanctonique) et/ou la concentration en équivalent chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries et/ou la concentration en pigments accessoires propres aux cyanobactéries (phycocyanine, phycoérythrine). Pour les ressources destinées à produire de l'EDCH, le suivi par la personne responsable de la production et de la distribution de l'eau (PRPDE) d'indicateurs tels que le pH, l'oxygène dissous ou la turbidité (paramètres pouvant être mesurés *in situ* en continu) peuvent apporter des informations supplémentaires utiles à la détection de proliférations et ainsi permettre d'améliorer la gestion de la filière de traitement.

La détection des proliférations de cyanobactéries doit aussi s'appuyer sur des prélèvements d'eau (pour les cyanobactéries planctoniques) et de biofilms (pour les cyanobactéries benthiques) afin de vérifier la présence des cyanobactéries en microscopie optique, d'identifier les genres présents et d'évaluer l'abondance des genres potentiellement toxiques. Si besoin, ces prélèvements pourront également être utilisés pour déterminer les concentrations en cyanotoxines dans les cyanobactéries (cyanotoxines intracellulaires) et dans l'eau (cyanotoxines libres).

Pour la détection des proliférations de cyanobactéries benthiques, l'observation visuelle permettra la définition des zones et périodes de développements des biofilms mais aussi celle des périodes favorables aux décrochements des biofilms puis des zones d'accumulation après leur transport par la rivière. La mise en œuvre de ces observations nécessite une formation à la reconnaissance de ces biofilms et elle s'appuie sur des fiches descriptives illustrées. Une confirmation de la dominance des cyanobactéries dans les biofilms pourra ensuite être effectuée en microscopie optique. Les épisodes de développement de cyanobactéries benthiques sur la Loire et le Cher durant les étés 2017 et 2019

montrent que l'estimation du taux de recouvrement des substrats au fond des cours d'eau (comme préconisé en Nouvelle-Zélande où le fond des rivières est principalement rocheux, constitué de galets et de blocs) n'est pas toujours adaptée pour évaluer l'étendue d'une prolifération de cyanobactéries benthiques dans ces rivières. En effet, dans la Loire et le Cher, il a été observé que les biofilms se développaient souvent sur des macrophytes flottant dans le courant, ou sur des zones sableuses et meubles. Dans cette situation, l'estimation des taux de recouvrement est rendue difficile et ces taux peuvent de plus varier en un temps très court au gré d'augmentations, même légères, des courants pouvant conduire au détachement des biofilms et à leur mise en suspension. Le taux de recouvrement est alors réduit et pour autant, le risque reste présent car les biofilms circulent alors dans la masse d'eau et peuvent s'accumuler sur les bords.

### **3.8.2. Prélèvement de cyanobactéries**

Lors des prélèvements, il est recommandé d'établir une fiche de terrain. Sur cette fiche doivent apparaître, outre les coordonnées géographiques du point de surveillance et la localisation des échantillons prélevés, toutes les informations relatives au site et à son environnement au moment de l'échantillonnage (couleur de l'eau ou du fond, direction et intensité du vent, présence ou non de dépôts colorés sur la berge, d'agglomérats/flocs en suspension ou en surface, ou toute autre observation pertinente comme la présence de poissons morts, mauvaises odeurs, etc.). Un exemple de fiche de renseignements de terrain est présenté en annexe 3.

Afin d'harmoniser les pratiques, un guide méthodologique provisoire portant sur le prélèvement des cyanobactéries dans les eaux douces accueillant des activités de baignade et de loisirs nautiques a été largement communiqué aux autorités sanitaires et aux laboratoires en charge des prélèvements et des analyses au titre du contrôle sanitaire en 2016 (Anses, 2016b). Néanmoins les dispositions qui figurent dans ce guide méthodologique ne sont pas toutes adaptées aux ressources utilisées pour produire de l'eau potable ni à l'échantillonnage en sortie d'usine de potabilisation. Ce guide ne tient pas compte non plus des spécificités des cyanobactéries benthiques. De ce fait, des compléments, définis ci-dessous, sont nécessaires pour compléter ce document.

**Compte tenu de leurs stratégies de développement différentes (présence dans la colonne d'eau pour les cyanobactéries planctoniques et développement sur support pour les cyanobactéries benthiques), l'échantillonnage des cyanobactéries planctoniques et benthiques ne peut être effectué de la même façon. Pour cette raison, ces deux catégories seront traitées séparément par la suite.**

#### **3.8.2.1 Prélèvement et conservation des cyanobactéries planctoniques et des cyanotoxines**

##### **3.8.2.1.1 Matériel et flaconnage**

###### **Matériel de prélèvement**

Divers appareils et modes de prélèvement existent et sont utilisés actuellement en France dans les différentes masses d'eau. Dans un objectif d'optimisation et d'harmonisation des pratiques de prélèvements le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation d'un tube échantillonneur d'une longueur de 1 m et d'un volume minimum de 250 mL manipulable d'une seule main pour assurer les prélèvements.

###### **Flaconnage**

Pour les échantillons destinés à l'analyse de la chlorophylle-a, des flacons en polyéthylène opaque ou en verre brun de 1 L devront être utilisés. Ils seront remplis complètement de façon à ne pas avoir d'air. Pour le dénombrement de cyanobactéries, deux flacons en polypropylène (PP) ou en verre d'une contenance de 200 mL au minimum (idéalement 500 mL) seront utilisés. Des flacons en verre ambré d'une contenance de 200 mL au minimum (idéalement 500 mL) seront utilisés pour le prélèvement en vue de l'analyse ultérieure des toxines.



### **3.8.2.1.2 Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques**

En zone de baignade et lieu de pratique d'activités nautiques, au moins un échantillon composite est préconisé. Il correspond au mélange d'échantillons prélevés en trois points d'échantillonnage au minimum, régulièrement répartis dans la zone suivie.

En chaque point d'échantillonnage, le prélèvement s'effectuera sur le premier mètre de la colonne d'eau avec le tube échantillonneur. En fonction du volume du tube échantillonneur, plusieurs prélèvements successifs seront effectués afin de disposer du volume nécessaire à la réalisation des analyses ultérieures.

L'ensemble des prélèvements sera mélangé dans un récipient type seau (préalablement rincé avec l'eau du milieu) dans lequel seront ensuite prélevés le ou les échantillons pour analyses. La prise d'échantillon(s) doit se faire immédiatement après l'homogénéisation du contenu du seau. Ces échantillons serviront à l'identification et au dénombrement des cyanobactéries, au dosage de chlorophylle-a et à la recherche éventuelle de toxines si les résultats de dénombrement le justifient.

En cas de prolifération, si une zone d'accumulation est observée en un lieu du plan d'eau, un 4<sup>ème</sup> point de prélèvement pourra être réalisé spécifiquement dans cette zone. Dans ce cas, le prélèvement ne sera pas mélangé aux autres pour pouvoir être traité séparément.

### **3.8.2.1.3 Prélèvement des ressources d'origine superficielle utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement**

Pour les ressources utilisées pour la production d'EDCH, la stratégie de surveillance mise en œuvre par l'exploitant (surveillance) doit être optimisée en fonction de l'objectif recherché : représentativité de la qualité de l'eau de surface qui va alimenter la prise d'eau ou alerte de début de prolifération pouvant affecter la ressource. Ainsi, il sera important, lors d'épisodes d'efflorescence, de prélever l'eau en différents points de la ressource et à différentes profondeurs afin de bien cerner la distribution des cyanobactéries aussi bien sur le plan horizontal que vertical. Chaque prélèvement sera analysé individuellement et il n'y aura donc pas de réalisation d'échantillon composite dans ce cas.

Pour le contrôle sanitaire des EDCH mis en œuvre par l'ARS, en règle générale, il est jugé suffisant de réaliser un prélèvement correspondant à la ressource et un prélèvement au niveau de l'eau mise en distribution, à des fins d'analyses de toxines. Ces prélèvements seront réalisés directement avec un flacon ou avec un tube échantillonneur et comme dit précédemment, l'ensemble des prélèvements sera analysé séparément (dénombrement des cyanobactéries et dosage des concentrations en chlorophylle-a et si nécessaires des toxines).

Au sein des filières de traitement, en cas de prolifération sur la ressource, il est nécessaire de réaliser des prélèvements à différentes étapes de traitement (eau décantée, eau filtrée). Ces prélèvements seront en général effectués aux différentes étapes de la filière sur des robinets aménagés à cet effet. Les recherches des cyanobactéries et cyanotoxines pourront être réalisées sur chaque prélèvement effectué. Pour les prélèvements effectués après une étape de désinfection chimique (ozone, chlore), il est nécessaire que le flaconnage utilisé contienne du thiosulfate de sodium afin de neutraliser l'oxydant résiduel. Cet ajout devra être pris en compte dans le protocole d'analyse.

### **3.8.2.1.5 Conservation et transport**

Les consignes de conservation et de transport décrites dans la norme XP T90 719 sur l'échantillonnage du phytoplancton en eau intérieure s'appliquent en grande partie aux prélèvements de cyanobactéries.

Ainsi, les échantillons destinés à l'identification et au dénombrement des cyanobactéries planctoniques doivent être fixés au lugol alcalin, lors du prélèvement à une concentration de 0,5% en volume (16 gouttes pour un flacon de 200 mL rempli à 80%, permettant l'obtention d'une couleur orangée). Au laboratoire, ils peuvent être conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

En revanche, l'addition de tout fixateur est à proscrire pour les échantillons destinés à la quantification de toxines.

Tous les échantillons doivent être transportés dans une enceinte réfrigérée maintenant une température de 5 +/- 3 °C, selon la norme NF EN ISO 5667-3 (relative à la conservation et manipulation des échantillons d'eau) et à l'obscurité jusqu'au laboratoire. Si les toxines ne sont pas analysées

immédiatement, les échantillons peuvent être conservés en enceinte réfrigérée jusqu'à 36 h maximum après le prélèvement.

### **3.8.2.2 Prélèvement et conservation des cyanobactéries benthiques et des cyanotoxines**

#### *3.8.2.2.2 Matériel et flaconnage*

##### **Matériel de prélèvement**

Le prélèvement s'effectue avec des gants, sur les supports (blocs, galets, sable, végétaux) à l'aide de pinces fines à bout plat.

##### **Flaconnage**

Les échantillons de biofilms destinés à l'identification des cyanobactéries peuvent être placés dans des tubes en polypropylène-PP de 5 mL ou plus. Ceux destinés à la recherche de toxines dans des tubes ou flacons en verre ambré de 50 mL.

#### *3.8.2.2.3 Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques*

Dans les zones où des développements ou accumulations de biofilms à cyanobactéries sont visibles, trois échantillons de biofilms au minimum répartis sur la zone de développement, seront prélevés. Dans l'hypothèse où, dans une même zone, des développements sont observés sur des substrats différents (galets et macrophytes par exemple), les prélèvements seront effectués sur ces différents substrats. Des fragments de taille équivalente de chaque biofilm prélevé seront regroupés dans un premier tube en vue de l'identification en microscopie et dans un deuxième tube en vue de la recherche éventuelle de toxines. Les échantillons de biofilms destinés à l'identification seront complétés avec de l'eau afin d'être totalement immergés dans les tubes.

Les prélèvements seront effectués sur le substrat, soit *in situ* directement dans l'eau, soit *ex situ*, quand cela est possible, après avoir extrait le support du biofilm de l'eau pour faciliter la prise d'échantillon.

#### *3.8.2.2.4 Prélèvement des ressources utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement*

Dans l'état actuel des connaissances, les zones de captage en eau de surface n'étant pas concernées par les cyanobactéries benthiques, le GT « Cyanobactéries » ne préconise pas le suivi de ces cyanobactéries.

#### *3.8.2.2.5 Conservation et transport*

Les échantillons destinés à l'identification des cyanobactéries benthiques et à la détermination de leur dominance dans les biofilms, doivent être fixés au lugol alcalin lors du prélèvement, en ajoutant un volume variable de lugol (selon la densité des biofilms) permettant l'obtention d'une couleur orangée. Au laboratoire, ils peuvent être conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

L'addition de tout fixateur est à proscrire pour les échantillons destinés à la quantification de toxines.

Tous les échantillons doivent être transportés dans une enceinte réfrigérée maintenant une température de 5 +/- 3 °C, et à l'obscurité jusqu'au laboratoire. Si les toxines ne sont pas analysées immédiatement, les échantillons peuvent être conservés en enceinte réfrigérée jusqu'à 36 h maximum après le prélèvement.

### 3.8.3. Quantification de la chlorophylle-a, identification et quantification des cyanobactéries

Afin que les mesures de gestion à mettre en œuvre par les PRPDE et/ou les personnes responsables des masses d'eau destinées à des usages récréatifs soient déployées dès que possible, les résultats d'analyse doivent être rendus très rapidement. Le GT « Cyanobactéries » recommande un délai maximum de 48h à compter du prélèvement pour la transmission des résultats relatifs à la concentration en chlorophylle-a, à l'identification taxonomique et au dénombrement des cyanobactéries.

#### 3.8.3.1 Quantification de la chlorophylle-a dans les échantillons phytoplanctoniques

La quantification de la chlorophylle-a dans la masse d'eau peut servir de système d'alerte à la mise en place d'une prolifération de cyanobactéries planctoniques potentiellement toxiques.

Les analyses de la chlorophylle-a doivent être réalisées en laboratoire par spectrophotométrie selon la norme NFT 90-117 ou par CLHP/UV selon la norme NFT 90-116 notamment pour le contrôle sanitaire. En complément, et notamment dans le cadre de la surveillance exercée par les exploitants, des mesures *in situ* par sonde peuvent être réalisées (chlorophylle-a totale, chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries ou phycocyanine). Les analyses de chlorophylle-a ne sont pas nécessaires en sortie de station de potabilisation.

#### 3.8.3.2. Identification et quantification des cyanobactéries par microscopie

##### 3.8.3.2.1 Identification et quantification des cyanobactéries planctoniques

La méthode Utermöhl (1958) utilisant la microscopie inversée après sédimentation des échantillons a été standardisée et normalisée en Europe en 2006 (CEN 2006). Cette technique est classiquement utilisée à travers le monde et demeure une référence. Une étude de comparaison d'efficacité de cette méthode avec la méthode de dénombrement et d'identification des cyanobactéries par microscopie droite avec cellule de Nageotte (Brient et al., 2008), qui a bénéficié d'un financement de l'Agence, est en cours (CRD-2018-CYAME). Dans l'attente des conclusions de cette étude, le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation de la méthode Utermöhl pour le dénombrement des cyanobactéries planctoniques. Dans le but d'harmoniser les pratiques, il est recommandé de suivre les protocoles de dénombrement proposés en annexe 4.

Afin d'obtenir un résultat en quantité de matière et non en dénombrement de cellules, le GT « Cyanobactéries » recommande que les résultats des dénombrements soient convertis en biovolume exprimé en  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ . Il s'agit d'estimer pour chaque genre de l'échantillon le volume cellulaire associé, afin de s'affranchir des limites de la concentration cellulaire qui n'intègre pas la différence de taille existant entre les cellules selon les taxons et qui peut conduire à surestimer l'importance relative de genres de petites tailles. Cette méthode est normalisée au niveau européen (norme NF EN 16695) et est intégrée aux outils de comptage.

Pour ce faire, le GT « Cyanobactéries » préconise l'utilisation de biovolumes génériques cellulaires moyens (annexe 1) afin de limiter les problèmes de comparaison de résultats d'estimation des biovolumes. Le biovolume de chaque genre rencontré dans l'échantillon est calculé par utilisation du volume cellulaire moyen spécifique à ce genre et sa multiplication par le nombre de cellules comptées par unité de volume.

Le calcul du biovolume de chaque genre d'un échantillon exige beaucoup de temps et de précision dans les mesures, et reste plutôt voué au domaine de la recherche. C'est pourquoi certains outils informatiques libres comme Phytobs (Laplace-Treytore *et al.*, 2017) intègrent un biovolume moyen par espèce/genre pour en faciliter la mise en œuvre.

L'identification des cyanobactéries et leur dénombrement sont des étapes délicates qui nécessitent du personnel formé. Or, le nombre de limnologues et de taxonomistes susceptibles d'assurer des déterminations fiables est insuffisant. **Un effort de formation en matière d'identification et de dénombrement des cyanobactéries doit donc être mis en œuvre pour les opérateurs de laboratoire.** La formation de ces opérateurs ainsi que leur participation à des essais inter-laboratoires

(EILA) sont nécessaires pour garantir la qualité des résultats obtenus. L'obtention des résultats d'analyses, du prélèvement au dénombrement, sous accréditation par des laboratoires agréés pourrait aussi être mis en œuvre pour fiabiliser les résultats.

### 3.8.3.2 Identification des cyanobactéries benthiques

L'identification des cyanobactéries dans les biofilms récoltés doit être effectuée sous un microscope optique droit et entre lame et lamelle.

En revanche, le GT « Cyanobactéries » ne recommande pas de quantification des cyanobactéries benthiques dans les échantillons de biofilms récoltés car celle-ci ne permet pas d'évaluer la biomasse de ces organismes à l'échelle de la zone du cours d'eau étudiée.

## 3.9. Détection et quantification des toxines

Concernant les échantillons de cyanobactéries benthiques, il faudra veiller, avant la recherche de toxines, à homogénéiser complètement l'échantillon résultant du mélange dans un flacon de plusieurs fragments de biofilms.

Le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation du test ELISA comme méthode de contrôle sanitaire pour l'analyse des cyanotoxines dans l'eau sous réserve de l'emploi d'une méthode validée. Parmi les tests ELISA commercialement disponibles, ceux qui présentent le niveau de réaction croisée le plus important vis-à-vis des différents variants sont à privilégier. Ainsi, pour l'analyse des MC, les tests ELISA anti-ADDA doivent être utilisés.

Le choix d'utiliser la méthode d'analyse ELISA pour le contrôle sanitaire des cyanotoxines tient compte de la simplicité, de la rapidité, de la sensibilité, et de la disponibilité des kits pour un large spectre de cyanotoxines ainsi que de la possibilité de traiter simultanément plusieurs échantillons. La chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM), plus spécifique et qui présente l'avantage de pouvoir identifier et quantifier les différents variants dont les étalons sont disponibles dans le commerce, est une technique complémentaire de l'ELISA qui pourrait être utilisée à des fins de recherche pour la production de données complémentaires, dans l'attente de l'établissement de facteurs d'équivalents toxiques harmonisés au niveau européen et/ou international.

Le GT « Cyanobactéries » recommande également de réaliser en première approche la recherche de cyanotoxines dans la chair de poisson par la méthode ELISA sous réserve de l'emploi d'une méthode validée.

Quelle que soit la matrice considérée, le GT « Cyanobactéries » souligne l'importance de veiller à renseigner les informations minimales permettant de juger de la fiabilité de la méthode analytique considérée (LD, LQ et rendement d'extraction). Les résultats des analyses des toxines sont à communiquer au maximum en 72h et ce quelle que soit la matrice considérée.

**Le GT « Cyanobactéries » recommande par ailleurs de poursuivre les efforts en matière de recherche et développement sur les thématiques suivantes :**

- 1) **La validation de méthodes pour favoriser une harmonisation des pratiques de surveillance et de contrôle sanitaire au niveau national ;**
- 2) **Une amélioration des connaissances propres aux caractéristiques des différentes méthodes utilisées (par exemple, selon les normes AFNOR : limites de détection et de quantification, rendements d'extraction, effets matrices, répétabilité et reproductibilité interne). Cette étape est nécessaire en vue de l'accréditation de chaque méthode d'analyse pour garantir les résultats obtenus et obtenir l'agrément du laboratoire d'analyse ;**
- 3) **La pérennisation et la diversification des sources commerciales de matériaux de référence et d'étalons ainsi que des kits de tests ELISA pour l'ensemble des familles de cyanotoxines ;**
- 4) **Le développement d'alternatives à l'oxydation de Lemieux utilisée pour l'analyse des formes totales (libre et liée) des MC, car ce procédé présente de nombreux inconvénients méthodologiques.**

### 3.10. Contamination des poissons d'eau douce par les cyanobactéries

#### 3.10.1. Fréquences de consommation à ne pas dépasser en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsines dans la chair de poisson

Afin d'apporter des éléments d'éclairage utiles aux gestionnaires, tant pour l'interdiction que pour la levée d'interdiction de consommation de poissons d'eau douce en lien avec des proliférations de cyanobactéries toxigènes, le GT « Cyanobactéries » a estimé, pour les cyanotoxines à effets subchroniques (MC, CYN), des fréquences de consommation de chair de poisson à ne pas dépasser en fonction de la concentration en toxines mesurée, afin de limiter les expositions à des niveaux inférieurs à la valeur toxicologique de référence. Pour les cyanotoxines à effets aigus (STX), le GT a estimé des concentrations maximales à ne pas dépasser dans la chair de poisson. Ces estimations sont proposées pour la population générale, subdivisée en plusieurs catégories selon l'âge des individus. En l'absence de VTR pour l'ATX-a, cette démarche n'a pas pu être suivie et le GT recommande de ne pas consommer de poissons dès que la concentration mesurée dans l'eau ou le cas échéant dans des biofilms est supérieure à la limite de détection de la méthode analytique.

Les données de consommation sont issues des études INCA2 et BEBE SFAE 2005 (détaillées dans le rapport d'expertise). En l'absence d'information concernant une plus grande sensibilité des enfants, la même VTR s'applique aux estimations pour les adultes et pour les enfants.

##### 3.10.1.1 Microcystine-LR

Le Tableau VI présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de 1 ng/kg pc/j en fonction du niveau de contamination en MC-LR dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration (compte tenu de l'incertitude de la mesure, il n'est pas possible d'être plus précis).

Le tableau se lit comme suit : si la concentration en MC-LR est de 50  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois tous les 2 mois » pour les adultes, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 11 à 17 ans, « 1 à 2 fois par an » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau VI : Fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en MC-LR, pour les adultes et les enfants**

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en MC-LR ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de masse fraîche)			
Fréquences de consommation	1 à 2 fois par semaine	[0 – 5]	[0 – 3]	[0 – 2]	[0 – 1]
	2 à 3 fois par mois	]5 – 10]	]3 – 6]	]2 – 3]	]1 – 3]
	1 fois par mois	]10 – 20]	]6 – 17]	]3 – 10]	]3 – 8]
	1 fois tous les 2 mois	]20 – 60]	]17 – 30]	]10 – 20]	]8 – 17]
	1 fois tous les 3 mois	]60 – 100]	]30 – 80]	]20 – 40]	]17 – 30]
	1 à 2 fois par an	]100 – 500]	]80 – 400]	]40 – 200]	]30 – 150]

Selon les données de la littérature (Anses 2016a et mise à jour jusqu'à août 2019), la concentration moyenne la plus élevée rapportée en MC-LR dans le muscle de poisson en Europe est de  $119 \pm 33 \mu\text{g.kg}^{-1}$  de poids frais par méthode ELISA, chez la carpe en Grèce (Papadimitriou *et al.*, 2012).

**À noter :** les données de la littérature montrent que la concentration en MC-LR dans le muscle de poisson est très variable entre les individus et dans le temps (selon le moment du prélèvement par rapport à l'efflorescence). Il est donc recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 3.10.1.2 Cyindrospermopsine

Le Tableau VII présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de 140 ng/kg pc/j en fonction du niveau de contamination en CYN dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration.

Le tableau se lit comme suit : si la concentration en CYN est de 5 mg.kg<sup>-1</sup> dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois par mois » pour les adultes et les enfants de 11 à 17 ans, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau VII : Fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en CYN, pour les adultes et les enfants**

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en CYN (mg.kg <sup>-1</sup> de masse fraîche)			
<b>Fréquences de consommation</b>	1 à 2 fois par semaine	[0 – 0,8]	[0 – 0,7]	[0 – 0,35]	[0 – 0,3]
	2 à 3 fois par mois	]0,8 – 3,5]	]0,7 – 3]	]0,35 - 1]	]0,3 – 1]
	1 fois par mois	]3,5 – 6]	]3 – 5]	]1 - 2,5]	]1 – 2]
	1 fois tous les 2 mois	]6 – 9]	]5 – 8]	]2,5 - 3,5]	]2 – 3]
	1 fois tous les 3 mois	]9 – 16]	]8 – 14]	]3,5 - 7]	]3 – 5]
	1 à 2 fois par an	]16 – 76]	]14 – 65]	]7 - 35]	]5 – 25]

L'analyse de la littérature (Anses 2016 et mise à jour jusqu'en août 2019) n'a identifié qu'une seule étude rapportant une analyse de CYN dans le muscle de poisson en Europe. Les concentrations mesurées par ELISA dans deux échantillons de muscle de truites en Italie étaient de 0,1 et 0,8 µg.kg<sup>-1</sup> de poids frais (Messineo *et al.*, 2010).

**À noter :** il est recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 3.10.1.3 Concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu)

La VTR de la STX (0,1 µg/kg pc) étant construite sur un effet aigu pouvant survenir après une seule prise alimentaire, la méthodologie suivie pour la STX est différente de celle suivie pour les MC et la CYN, dont les VTR sont construites sur un effet subchronique. Au lieu d'associer une fréquence de consommation à la concentration en cyanotoxines, c'est la concentration maximale en STX à ne pas dépasser dans la chair de poisson qui a été estimée à partir des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges (Tableau VIII).

Le seuil sanitaire en STX dans les poissons pourra être défini par le gestionnaire du risque en fonction de l'objectif de santé publique recherché (P95 ou P97,5 de la population cible).

**Tableau VIII : Estimation de la concentration maximale en STX à ne pas dépasser pour des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges**

		Classes d'âge	Concentration maximale en STX à ne pas dépasser ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de masse fraîche)
<b>P95 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	84 g	Enfants de 6 mois à 1 an	11
	122 g	Enfants de 1 à 3 ans	10
	150 g	Enfants de 4 à 10 ans	17
	190 g	Enfants de 11 à 17 ans	28
	190 g	Adultes	37
<b>P97,5 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	92 g	Enfants de 6 mois à 1 an	10
	150 g	Enfants de 1 à 3 ans	9
	180 g	Enfants de 4 à 10 ans	14
	200 g	Enfants de 10 à 17 ans	27
	224 g	Adultes	31

L'analyse de la littérature (Anses 2016a et mise à jour à août 2019) n'a identifié aucune étude rapportant une analyse de STX dans le muscle de poisson en Europe.

### 3.10.1.4 Anatoxine-a

Concernant la contamination des poissons par l'ATX-a, les données de toxicité sont trop limitées pour pouvoir caractériser le danger pour l'Homme. Il n'a pas été possible d'élaborer une valeur sanitaire de référence. En conséquence, il n'est pas non plus possible d'émettre des recommandations relatives à des seuils sanitaires. Le mode d'action révèle un caractère neurotoxique puissant, avec une implication dans des épisodes de mortalités d'animaux. L'ATX-a est un agoniste cholinergique des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine. Elle induit un blocage neuromusculaire et la contraction du muscle squelettique. La toxicité aiguë chez la souris montre des effets rapides avec paralysie musculaire et détresse respiratoire. Au regard de la toxicité aiguë de l'ATX-a, le GT recommande de ne pas consommer de poissons dès que la concentration mesurée est supérieure à la limite de détection de la méthode analytique.

Dans le cadre d'une étude réalisée par le Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) en 2017<sup>9</sup>, des poissons ont été prélevés (2 brèmes, 2 gardons, 2 mullets et petite friture) sur deux sites de la Loire et la concentration en ATX-a a été mesurée par spectrométrie de masse haute résolution (UHPLC-HRMS) dans le muscle, les viscères et l'encéphale. Ces données montrent que la concentration peut atteindre  $7642 \mu\text{g.kg}^{-1}$  de masse fraîche dans le muscle de gardon. Les concentrations sont encore plus élevées dans l'encéphale de gardon, atteignant  $33\,591 \mu\text{g.kg}^{-1}$ .

<sup>9</sup> Recherche de toxines de cyanobactéries (anatoxines et congénères) dans des prélèvements d'eau, les matrices de biofilms et les matrices de poissons (rapport du 21 décembre 2017, 22 p).

### 3.10.2. Possibilité de corrélérer des seuils de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactérie dans les eaux de baignade à un risque lié à la consommation de poisson d'eau douce

Sur la base d'une revue systématique de la littérature, le rapport d'appui scientifique et technique « État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines » de l'Anses (2016) avait identifié une centaine d'articles susceptibles d'apporter des informations utiles. Cet important travail de synthèse avait mis en évidence les nombreuses carences notamment dans les connaissances des cinétiques de contamination et d'élimination des cyanotoxines par les poissons, ainsi que dans le lien potentiel avec la cinétique de prolifération des cyanobactéries.

Ce travail de synthèse avait montré que :

- la très large majorité des travaux porte sur les MC ;
- la contamination des espèces piscicoles planctonivores semble plus élevée que celle des carnassiers, même si certaines études tendent à montrer l'inverse ;
- au sein d'une même espèce, les individus de petites tailles apparaissent plus contaminés que ceux de grandes tailles ;
- les MC s'accumulent préférentiellement dans le foie et les viscères et dans une moindre mesure dans les tissus musculaires ;
- il n'était pas possible d'identifier de relation simple entre la contamination en MC dans le muscle et la dose ou la durée d'exposition aux cyanobactéries dans l'eau ;
- la cinétique d'élimination des cyanotoxines dans le muscle n'est pas connue et est sujette à controverses (*i.e.* les MC musculaires seraient éliminées en quelques jours selon certaines études, très lentement pour d'autres, alors que d'autres travaux ont observé des concentrations plus élevées dans le muscle plusieurs jours après la fin de l'exposition) ;
- les MC liées aux protéines peuvent représenter une part très importante des MC totales<sup>10</sup>, mais les informations quant à leur biodisponibilité et/ou leur redistribution au sein des organismes sont encore insuffisantes (selon certains auteurs, la mobilisation de ces toxines liées depuis le foie vers le muscle pourrait expliquer l'augmentation des concentrations musculaires observées parfois après l'arrêt de l'exposition).

Au regard de ces travaux, il apparaissait alors impossible :

- d'établir un seuil de contamination de l'eau par les MC ou les cellules de cyanobactéries en-dessous duquel la contamination des muscles de poisson ne présenterait pas de risque sanitaire associé à leur consommation ;
- d'identifier une durée permettant une élimination significative des MC dans les muscles après l'épisode d'efflorescence de cyanobactéries.

Une actualisation de la revue systématique a été réalisée en février 2019 et a permis d'identifier 144 nouveaux articles scientifiques traitant de la contamination des poissons d'eau douce par les MC. L'intégralité de ces travaux a fait l'objet d'une double lecture afin de sélectionner les articles éligibles sur la base de leur pertinence et de la fiabilité des méthodes analytiques, puis d'en extraire les données de contamination chez le poisson. Au final, 24 articles ont été jugés éligibles et un seul comportait des données quantitatives qui ont pu être incluses dans la base de données.

Aucun de ces nouveaux articles ne comporte d'information sur la cinétique de contamination des poissons que ce soit *via* l'eau ou par voie trophique.

Concernant la cinétique de décontamination, l'un d'eux souligne la complexité du processus d'élimination des MC accumulées dans la chair de poisson, sur une période de 90 jours (Calado *et al.*, 2018).

Par ailleurs, 16 des 144 articles comportant à la fois des données de concentration de MC dans les poissons d'eau douce et dans l'eau ont été analysés. Cependant, il n'existait que très rarement au sein de ces travaux une concordance entre les dates et/ou la localisation des prélèvements des poissons et des échantillons d'eau. Il s'avère donc trop hasardeux de rechercher une relation entre les concentrations de ces deux matrices (même dans l'hypothèse d'une relation simple entre celles-ci).

---

<sup>10</sup> Greer *et al.* (2017) ont estimé que 85% des MC totales dans le muscle de tilapia étaient sous forme liée.



**Les conclusions de cette analyse systématique de la littérature restent donc les mêmes que celles formulées par l'Anses en 2016.**

La levée d'une interdiction de pêche devrait donc reposer sur une analyse de cyanotoxines dans les poissons plutôt que sur une période de temps post-efflorescence.

Par ailleurs, le GT « Cyanobactéries » recommande la réalisation d'études qui permettraient d'apporter des éléments de connaissance sur la cinétique de contamination et d'élimination des cyanotoxines chez les poissons et sur le lien avec les efflorescences de cyanobactéries.

Afin d'acquérir des données sur les relations entre la présence de cyanobactéries/cyanotoxines dans l'eau et la concentration en cyanotoxines dans les poissons, le GT recommande que des études soient menées en conditions contrôlées en laboratoire et *in situ* dans les écosystèmes. Dans ce dernier cas, ces études devront s'appuyer sur des prélèvements conjoints (en termes de lieu et de temps) d'eau et de poissons d'espèces consommées, en prenant en considération leurs divers régimes alimentaires. Il serait utile d'étudier l'évolution saisonnière de la contamination en cyanotoxines de la chair de poissons.

Enfin, au regard de la littérature qui témoigne de relations complexes entre MC liées et libres, ainsi que d'un organotropisme qui nécessite d'être mieux déterminé, la prise en considération des formes libres et liées des MC qui peuvent être présentes au sein de divers organes (muscle, foie, viscères) semble nécessaire.

### **3.10.3. Modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade**

Concernant la question relative aux modalités de la surveillance des poissons, la méthodologie a pris en compte les éléments suivants :

- Un objectif principal de mettre en place un plan d'échantillonnage de poissons afin d'estimer les niveaux de contamination en cyanotoxines (MC-LR, CYN, STX, ATX-a) dans la chair.
- Les données de contamination en MC-LR de poissons d'eau douce, issues d'une étude menée en Lituanie (Bukaveckas *et al.*, 2017). Le GT n'ayant pas identifié de données françaises de contamination des poissons, ces données ont été utilisées à titre d'illustration de la démarche proposée.

Afin d'établir un plan d'échantillonnage, le nombre d'individus à prélever par espèce est défini à l'aide de l'équation ci-dessous. Deux plans d'échantillonnage ont été élaborés en tenant compte ou non de la période de collecte des données (post, pré et durant l'efflorescence).

$$n = \frac{|t|_{\alpha}^2 \times \sigma^2}{(i \times \mu)^2}$$

- |   |   |
|---|---|
| - $n$ : le nombre d'individus nécessaire    | - $\alpha$ : le risque de première espèce   |
| - $\sigma^2$ : la variance de l'échantillon | - $ t $ : la valeur de la statistique de Student à la probabilité de 5% avec un nombre de degrés de liberté dépendant de l'effectif de l'espèce (sous l'hypothèse de normalité) |
| - $i$ : la précision souhaitée              |   |
| - $\mu$ : la moyenne de l'échantillon       |   |

Le GT « Cyanobactéries » souligne qu'une bonne connaissance de la masse d'eau (plan d'eau, étang de pisciculture, cours d'eau) est un préalable à la mise en place d'une surveillance des poissons pour évaluer leur contamination par les cyanotoxines. Cet **état des lieux** doit prendre en compte la typologie du plan d'eau, les espèces de poissons pêchées/consommées, l'historique (fréquence, durée, intensité) des épisodes d'efflorescence et des cyanotoxines mesurées, la présence de biofilms de cyanobactéries benthiques, les niveaux de cyanotoxines dans la chair de poisson selon les espèces ou les régimes alimentaires.

À partir des données issues de cet état des lieux, il sera possible de définir un plan de surveillance s'appuyant le cas échéant sur une ou des espèces sentinelles<sup>11</sup> de poisson. À titre d'illustration, le GT « Cyanobactéries » s'est appuyé sur des données de la littérature pour montrer comment de telles données pourraient être utilisées afin d'estimer le nombre de spécimens de poissons à analyser selon la précision visée par le gestionnaire (disponible dans le rapport d'expertise).

**Pour limiter l'exposition des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » rappelle les recommandations générales d'éviter et d'éviscérer les poissons avant consommation (ou avant congélation) et de ne pas consommer entiers les petits poissons (fritures).**

Afin de pouvoir estimer l'exposition alimentaire des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » recommande d'acquérir des données :

- de contamination par les cyanotoxines (MC, CYN, STX, ATX-a) des poissons d'eau douce en France (espèces consommées, prélevées tout au long de l'année) ainsi que d'autres organismes dulçaquicoles consommés par l'Homme (e.g écrevisses, grenouilles) ;
- de consommation des poissons d'eau douce en France (espèces, taille de portion, fréquence de consommation), ainsi que d'autres organismes dulçaquicoles tels que les écrevisses et les grenouilles ;
- de pratiques de pêche (zones de pêche, saisonnalité, prise en compte ou pas de la présence d'efflorescence, congélation de la pêche pour une consommation tout au long de l'année, proportion de pêche de loisir en « no kill »).

### **3.11. Stratégie de surveillance des ressources utilisées pour la production d'eau potable et gestion sanitaire**

#### **3.11.1. Cyanobactéries planctoniques**

Le suivi sanitaire des ressources utilisées pour la production d'EDCH est réalisé à deux niveaux :

- surveillance effectuée par l'exploitant (PRPDE). Les paramètres et les fréquences de suivi sont fixés par l'exploitant ;
- contrôle sanitaire (CS) des eaux diligenté par les ARS. Les paramètres suivis et la fréquence d'analyse sont fixés par arrêté (arrêté du 11 Janvier 2007 relatif au programme de prélèvements et d'analyse de contrôle sanitaire pour les eaux fournies par un réseau de distribution publique, pris en application des articles R-1321-10, R 1321-15 et R 1321-16 du code de la santé publique modifié).

Actuellement, le contrôle sanitaire préconise la recherche de MC dans les eaux brutes et traitées lorsque les observations visuelles et/ou analytiques mettent en évidence un risque de prolifération de cyanobactéries. À la suite des auditions des gestionnaires et exploitants de ressources, il apparaît nécessaire que les masses d'eau superficielles utilisées pour la production d'EDCH fassent l'objet d'un suivi réalisé directement par l'exploitant de la ressource (surveillance) complété par un contrôle régulier mis en œuvre par l'autorité sanitaire (cf. arbre décisionnel, figure 1).

La stratégie de surveillance des ressources destinées à la production d'EDCH doit être basée sur un suivi de routine qui sera renforcé en cas de suspicion (seuil d'entrée en vigilance) ou de confirmation (seuil d'entrée en alerte) de prolifération de cyanobactéries. Elle doit s'accompagner de mesures de gestion si des proliférations de cyanobactéries sont observées dans la ressource utilisée.

---

<sup>11</sup> Une espèce sentinelle (poisson) se contamine plus rapidement et à des niveaux plus élevés que les autres espèces, par exemple la moule est utilisée par l'Ifremer comme espèce sentinelle pour la surveillance de la contamination des mollusques bivalves filtreurs par les biotoxines marines. Une espèce sentinelle doit aussi être suffisamment abondante sur le site, de manière permanente et doit être facile à prélever, en quantité adéquate pour l'analyse.

Pour cela, lors de l'établissement des plans de gestion de sécurité sanitaire des eaux (PGSSE), il est recommandé de caractériser de façon systématique la vulnérabilité de la ressource vis-à-vis des cyanobactéries et la capacité de la filière de traitement à éliminer le cas échéant les cyanobactéries et leurs toxines intracellulaires ou dissoutes dans l'eau, lorsque l'approvisionnement est assuré en tout ou partie par des eaux superficielles.

Un état des lieux de toutes les ressources d'eau superficielles utilisées pour la production d'EDCH doit être mis en place. En fonction des résultats de bilans réalisés *a minima* sur une période de trois ans, la fréquence du contrôle sanitaire pourra alors être adaptée par les autorités sanitaires en fonction de la vulnérabilité des prises d'eau (par exemple, absence de suivi si absence totale de cyanobactéries durant ces trois ans, ou suivi mensuel uniquement pendant la période estivale).

- Surveillance des exploitants et contrôle sanitaire

### **Surveillance par l'exploitant**

Les proliférations de cyanobactéries sont des phénomènes évolutifs, très dynamiques, qui apparaissent de manière plus ou moins stochastique, en France métropolitaine, le plus souvent entre le mois de mai et le mois d'octobre mais qui peuvent survenir tout au long de l'année dans les départements d'outre-mer. Les facteurs et processus régulant les proliférations de cyanobactéries étant particulièrement complexes, ces phénomènes sont souvent difficilement prévisibles. Il peut arriver que des épisodes de prolifération surviennent entre deux prélèvements réalisés au titre du contrôle sanitaire et passent donc inaperçus au regard des autorités sanitaires. C'est pourquoi, il apparaît important de réaliser un suivi visuel quotidien des ressources en eau et d'utiliser d'autres paramètres ou outils (tels que des sondes équipées de capteurs) pour compléter cette surveillance visuelle. De tels équipements permettraient une meilleure réactivité.

Le GT « Cyanobactéries » recommande donc comme première approche de ce suivi (cf. arbre décisionnel, figure 1), une surveillance visuelle journalière de la ressource réalisée par l'exploitant afin de repérer en temps réel, notamment au travers d'un changement de la couleur de l'eau, l'apparition d'éventuelles proliférations de cyanobactéries. Cette surveillance visuelle des ressources constitue une approche directe qui doit être associée à des mesures ponctuelles ou en continu (par capteurs) de plusieurs paramètres physico-chimiques de l'eau, *a minima* du pH, de la turbidité et de l'oxygène dissous. Pour les sites connus comme étant vulnérables aux proliférations de cyanobactéries ou susceptibles de l'être, le GT « Cyanobactéries » recommande également un suivi de la chlorophylle-a pour anticiper les variations de la biomasse phytoplanctonique et/ou d'autres pigments plus spécifiques des cyanobactéries comme par exemple la phycocyanine.

Dès les premiers signes d'une prolifération de cyanobactéries (modification de couleur de la masse d'eau, présence d'accumulations en surface, d'odeur et/ou de goût de l'eau) et/ou d'une variation rapide et importante d'au moins un des paramètres physico-chimiques suivis, l'exploitant devra analyser la situation et informer les autorités compétentes. En complément, cette dernière pourra effectuer des prélèvements et analyses ponctuelles afin de mieux cerner l'étendue de la prolifération (par exemple sur l'ensemble de la surface du plan d'eau et dans toute la colonne d'eau) et l'impact sur la qualité de l'eau alimentant la filière de traitement. La stratégie de surveillance sera à définir localement et s'appuiera, le cas échéant, sur les conclusions du PGSSE. L'exploitant devra rapidement mettre en place les actions adéquates pour adapter sa filière de traitement.

Les cyanobactéries étant capables d'évoluer verticalement dans la colonne d'eau, les experts préconisent, lorsque la conception de la prise d'eau le permet, de faire varier la profondeur à laquelle l'eau est pompée pour la production d'EDCH afin d'éviter de prélever l'eau dans la couche la plus chargée en cyanobactéries. L'exploitant veillera également à adapter la surveillance de la filière de traitement à la situation rencontrée : la recherche de toxines à différentes étapes de traitement en vue d'identifier l'étape critique et d'optimiser la filière peut s'avérer nécessaire, notamment en cas de mise en évidence de cyanotoxines dans l'eau traitée.

Lorsque des toxines sont mises en évidence dans l'eau traitée, les mesures de gestion à mettre en œuvre sont proposées, en fonction des valeurs mesurées.

Finalement, tous les signes de prolifération de cyanobactéries sur la ressource et/ou toutes les anomalies de fonctionnement sur la filière (par exemple colmatage de filtres, perte de charge importante), s'ils sont jugés préoccupants par l'exploitant, devront d'une part conduire ce dernier à une

adaptation de la filière de traitement et d'autre part être signalés à l'ARS. Cette dernière mettra alors en œuvre des analyses supplémentaires (étape vigilance) afin de vérifier si les modifications observées sont liées, ou non, à des proliférations de cyanobactéries.

### Contrôle sanitaire par l'ARS

Parallèlement à la surveillance réalisée par l'exploitant, un contrôle sanitaire des ressources effectué par les ARS doit être mis en place toute l'année, *a minima* selon les dispositions définies dans l'arrêté du 11 Janvier 2007 modifié. Le GT « Cyanobactéries » préconise, dans une première étape de ce contrôle le dosage de la chlorophylle-a et l'identification des cyanobactéries puis, si identification de genres toxigènes, le dénombrement de leurs cellules et l'évaluation de leurs biovolumes totaux dans les eaux brutes. Il convient de rappeler que si l'on considère un genre potentiellement toxique se développant dans un plan d'eau ou un cours d'eau, ses populations peuvent être composées dans des proportions qui varient dans le temps et même quelques fois dans l'espace à l'échelle du plan d'eau, par des individus possédant ou non le matériel génétique nécessaire à la synthèse des cyanotoxines. Le GT « Cyanobactéries » préconise l'estimation des biovolumes des genres identifiés de cyanobactéries toxigènes qui serviront uniquement d'indicateurs de la possible présence de toxines au même titre que la biomasse phytoplanctonique globale (exprimée en concentration de chlorophylle-a par unité de volume d'eau).

La préconisation du suivi de la chlorophylle-a au cours du contrôle sanitaire permettra de rechercher s'il est possible d'établir une corrélation par plan d'eau entre la concentration en chlorophylle-a et le biovolume des cyanobactéries potentiellement toxigènes, en vue de simplifier si possible l'arbre décisionnel. Cela pourrait permettre d'utiliser ce paramètre comme indicateur de suivi sachant que pour l'instant, il n'a pas été possible de proposer un seuil de gestion basé sur la chlorophylle-a pour les EDCH. En effet, un seuil calculé sur le même mode que pour les eaux de baignade serait trop bas et entraînerait une entrée en vigilance systématique.

Les experts ont fixé un seuil de vigilance exprimé en biovolume<sup>12</sup> total représenté dans la masse d'eau par les genres toxigènes, de 0,65 mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>. Ce seuil a été calculé par rapport à la concentration maximale tolérable en MC. Son dépassement doit conduire à une augmentation de la fréquence du contrôle sanitaire (une fois par semaine) et à la recherche dans l'eau traitée des toxines associées (fraction totale) aux genres identifiés potentiellement toxigènes (Alerte 1). Ce renforcement du contrôle sanitaire sera maintenu jusqu'à l'obtention d'un biovolume en cyanobactéries potentiellement toxigènes inférieur au seuil de 0,65 mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>.

Concernant l'Alerte 1, le GT « Cyanobactéries » a fixé des valeurs seuils pour plusieurs cyanotoxines basées sur le calcul d'une valeur guide telle que définie par l'OMS en considérant que la part de l'exposition attribuable à l'eau serait de 100%. Ainsi, sur la base des nouvelles VTR élaborées par l'Anses pour la MC, la CYN et la STX, les valeurs guides à ne pas dépasser, pour la population des enfants de moins de six ans (population la plus sensible), sont indiquées dans le tableau V. Les valeurs proposées pour les toxines concernent les toxines totales (intra et extracellulaire) et l'ensemble des variants de chaque toxine. Les données toxicologiques disponibles à ce jour ne concernent que l'ingestion.

En cas d'alerte de niveau 1 ou en cas de mise en évidence de cyanotoxines dans l'eau traitée, le GT « Cyanobactéries » recommande une intensification du suivi de la filière de traitement.

Pour les ATX-a et les STX, qui peuvent générer des effets aigus, le dépassement de la limite de détection pour les ATX-a et de la dose journalière d'exposition correspondante à la VTR aigüe pour les STX conduisent directement à la mise en œuvre des mesures de gestion prévues en cas d'alerte 2.

Pour les MC et CYN, les valeurs guide sont basées sur des effets observés chez des rongeurs lors d'une exposition subchronique aux cyanotoxines (exposition supérieure à 14 jours). Le GT « Cyanobactéries » recommande alors qu'en cas de dépassement des valeurs guides, la surveillance des toxines dans l'eau traitée soit poursuivie et le délai de retour à la normale (*i.e* absence de détection de toxines dans l'eau traitée) ne dépasse pas une exposition cumulée de sept jours. Cette période de tolérance permettra à l'exploitant d'identifier la ou les étape(s) critique(s) de la filière et de mettre en œuvre les mesures correctives adaptées avant le prochain prélèvement du contrôle sanitaire.

---

<sup>12</sup> Biovolume : volume cellulaire associé à chaque espèce ou genre de cyanobactéries

Lorsque l'alerte 2 est atteinte, le GT « Cyanobactéries » recommande alors de changer de ressource temporairement tout en continuant à surveiller les dénombrements en cyanobactéries et les concentrations en cyanotoxines dans la ressource incriminée, jusqu'à ce que le biovolume et la concentration en toxines soient inférieurs aux valeurs seuils respectives définies en alerte 2. Si aucune autre ressource n'est disponible, le GT « Cyanobactéries » recommande de restreindre l'usage de l'eau produite par la ressource incriminée et de fournir à la population de l'eau embouteillée par exemple.

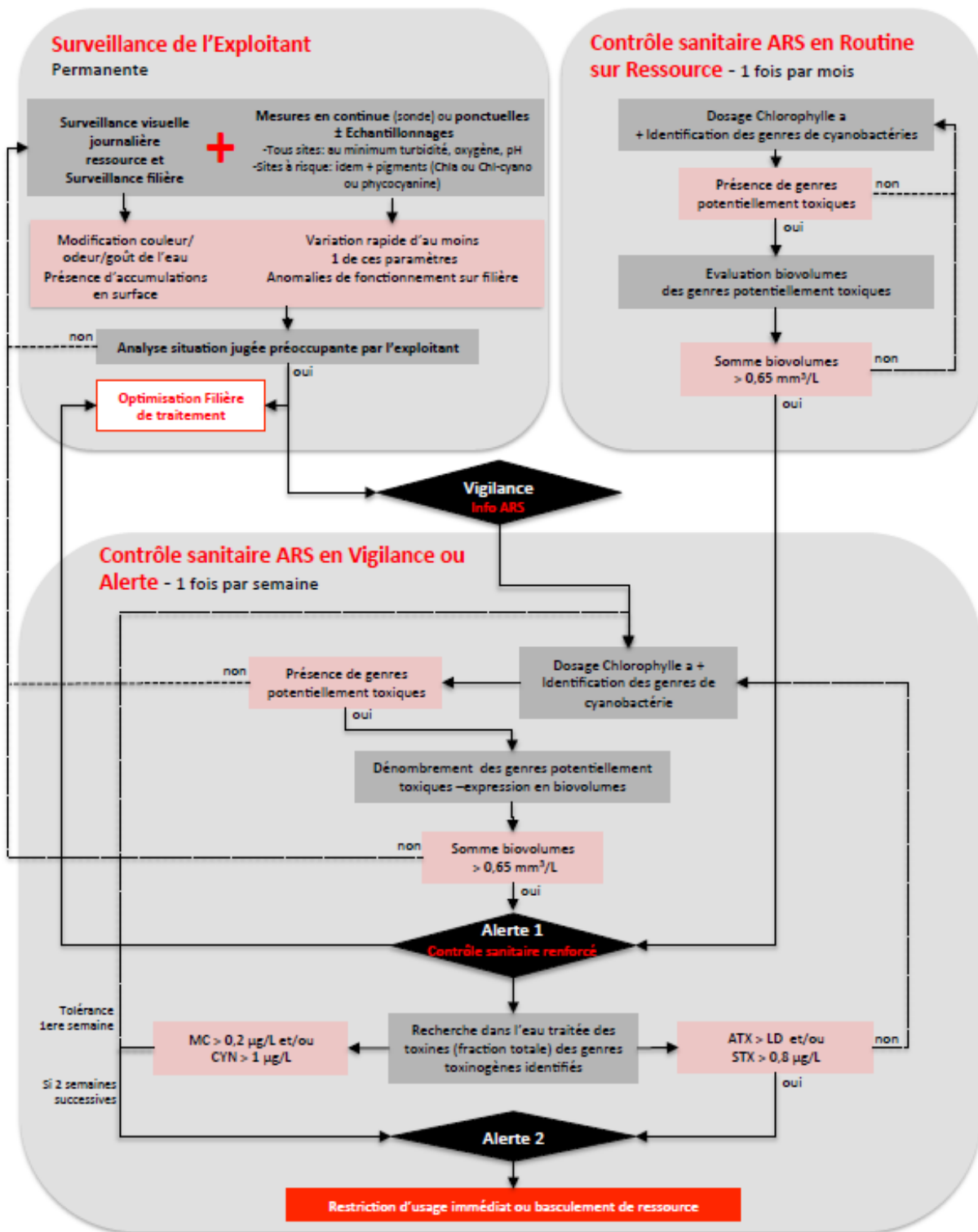


Figure 1 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des EDCH vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.

### **3.11.2. Cyanobactéries benthiques**

Compte tenu de la typologie des masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH et en particulier de leur profondeur qui n'est pas favorable au développement de cyanobactéries benthiques, le GT « Cyanobactéries » ne préconise pas de surveillance systématique des cyanobactéries benthiques dans les ressources utilisées pour la production d'eau potable. En revanche, en cas de mise en évidence de proliférations de cyanobactéries benthiques en amont des prises d'eau EDCH, il recommande que des analyses d'ATX dans l'eau traitée soient réalisées.

## **3.12. Stratégie de suivi des eaux récréatives et gestion sanitaire**

### **3.12.1. Cyanobactéries planctoniques**

La mise en place d'un programme de surveillance adapté aux zones de baignade et aux zones de pratiques de loisirs nautiques permet de réduire le risque d'exposition des usagers et des professionnels aux toxines associées aux cyanobactéries.

Comme dans le cas des masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH, le GT « Cyanobactéries » recommande une surveillance en routine organisée par le gestionnaire du site et un contrôle sanitaire régulier par l'autorité sanitaire (figure 2).

Dans le cas des zones de loisirs nautiques, en l'absence de dispositions réglementaires relatives au contrôle sanitaire de ces sites, la mise en œuvre d'un suivi, si cela s'avère nécessaire au vu des résultats de la surveillance, relèverait du gestionnaire du site, qui pourra alors s'appuyer sur les dispositions proposées ci-dessous dans le cadre de la surveillance des eaux de baignade.

#### **3.12.1.1 Eaux de baignade**

##### **Surveillance par le gestionnaire**

Comme dans le cas des ressources utilisées pour la production d'EDCH, le contrôle visuel des masses d'eau réalisé par le gestionnaire est le premier indicateur de prolifération de cyanobactéries. Il peut lui être associé un suivi de pigments photosynthétiques par sonde.

Dès les premiers signes d'une prolifération de cyanobactéries (modification de couleur de la masse d'eau, présence d'accumulation en surface) et/ou d'une variation rapide des concentrations des paramètres suivis par les sondes ou en cas de mortalité animale (faune domestique ou faune sauvage), la personne responsable du site de baignade devra informer les autorités compétentes afin que ces dernières fassent procéder à des analyses complémentaires pour l'évaluation du risque sanitaire.

##### **Contrôle sanitaire par l'ARS**

Parallèlement à la surveillance exercée par le gestionnaire, le GT « Cyanobactéries » préconise lors du contrôle sanitaire du site de baignade, la mise en place de l'observation visuelle de la masse d'eau couplée à un dosage de chlorophylle-a. En cas de dépassement du seuil de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  en chlorophylle-a, une identification des cyanobactéries présentes dans l'eau sera réalisée (Vigilance). Si la présence de genres potentiellement toxigènes est identifiée, les cyanobactéries seront alors dénombrées. Dans ce cas, la fréquence du contrôle sanitaire devra être augmentée (une fois par semaine). Comme dans le cas des ressources utilisées pour la production d'EDCH, les résultats de dénombrement seront exprimés en biovolume.

L'alerte 1 est déclenchée si la somme des biovolumes est supérieure à  $1 \text{ mm}^3.\text{L}^{-1}$ . La recherche des toxines susceptibles d'être produites par les cyanobactéries toxigènes identifiées, est alors effectuée.

Lorsque des toxines sont mises en évidence, comme dans le cas des ressources utilisées pour produire de l'EDCH, les mesures de gestion suivantes sont préconisées par le GT « Cyanobactéries » :

Pour les ATX et les STX, le dépassement de la limite de détection pour la première famille et de  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour la seconde, conduisent à une interdiction de la baignade et à une information du public (Alerte 2).

Pour la MC et la CYN, lorsque les valeurs guides respectivement de  $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$  et de  $42 \mu\text{g.L}^{-1}$  sont dépassées, les mesures de gestion définies pour l'alerte 2 sont mises en place.

Afin de limiter l'exposition des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » recommande de ne pas consommer de poisson lorsque l'alerte 2 est déclenchée (dans l'attente de résultats d'analyse de poissons pour la recherche de cyanotoxines).

Si les seuils et valeurs guides ne sont pas dépassés, une information du public relative au risque lié à la présence de cyanobactéries est mise en place, mais les activités récréatives et de baignade sont maintenues.

### **3.12.1.2 Zones de loisirs nautiques**

Il existe trois voies principales d'exposition aux cyanobactéries lors de la pratique d'activités nautiques : l'ingestion, l'inhalation et le franchissement de la barrière cutanéomuqueuse. L'inhalation d'aérosols contaminés par des cyanobactéries et leurs cyanotoxines, est possible par des aérosols générés lors d'activités nautiques à l'exemple du ski nautique. Des activités impliquant une immersion ponctuelle de la tête (planche à voile, dériveur, canoë-kayak ou équivalents) peuvent conduire à une exposition par ingestion par voie buccale voire par voie nasale.

C'est pourquoi, lors d'une alerte de type 2, le GT « Cyanobactéries » recommande d'éviter la pratique des activités de loisirs nautiques précitées, sur les sites concernés ou à proximité.

En fonction du contexte local et du niveau de pratique des usagers, les responsables et les éducateurs sportifs qui encadrent des activités nautiques pourront adapter les mesures de restriction de la pratique des activités nautiques.

### **3.12.1.3 Recommandations générales**

Dès lors que l'alerte 1 est atteinte, le GT « Cyanobactéries » recommande la mise en place d'un dispositif d'affichage destiné au public fréquentant les sites concernés. Dans ce cas, il est nécessaire d'installer à proximité des zones d'usage, un panneau de prévention des risques liés à la présence de cyanobactéries (annexe 5), et un panneau affichant les résultats de contrôle sanitaire et les mesures de restriction d'usage qui pourraient en découler. Le GT « Cyanobactéries » recommande également que les plaintes des baigneurs et usagers des activités nautiques qui pourraient être attribuables à des cyanobactéries toxiques (troubles gastriques, diarrhées, démangeaisons...) soient recueillies au niveau des postes de secours et transmises aux ARS et CAP.

D'une manière générale, quel que soit le site (zones de baignade ou zones de loisirs nautiques), dès qu'un affichage informant le public sur la présence de cyanobactéries est mis en place, le GT « Cyanobactéries » recommande que les conseils suivants soient diffusés :

- les enfants ne doivent pas s'amuser avec les amas de cyanobactéries accumulées en surface ou sur les rives et/ou les pierres et cailloux en bordure de plans d'eau ou de cours d'eau ;
- une douche doit être prise et une consultation médicale doit être effectuée en cas d'apparition de signes cliniques suspects (tels que gastro-entérite, démangeaisons, rougeurs, conjonctivite, vertiges, altérations des sensations) consécutifs à une exposition avec de l'eau contaminée lors d'une baignade ou activité nautique.



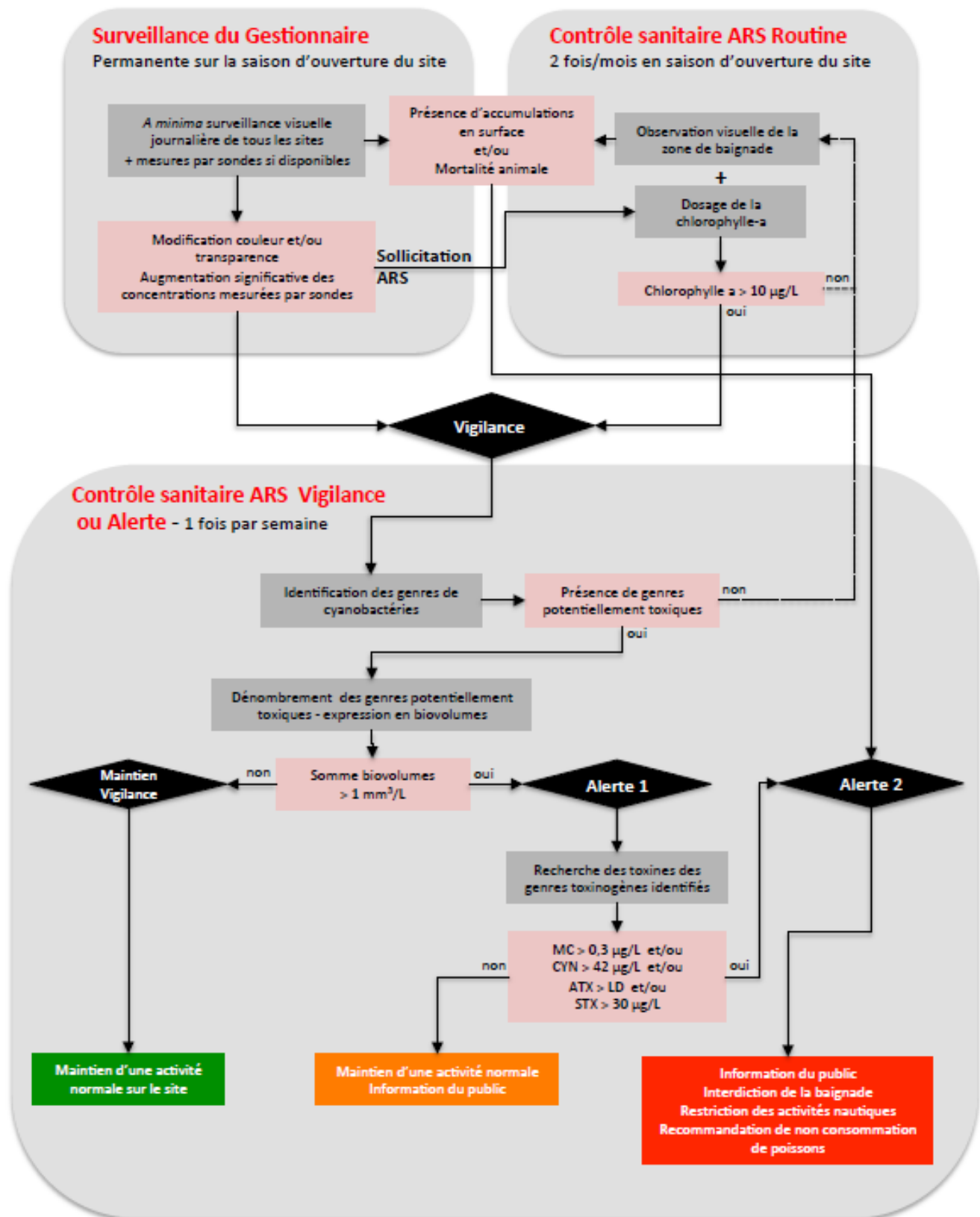


Figure 2 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.

### 3.12.2. Cyanobactéries benthiques

Dans les rivières, où les cyanobactéries benthiques sont susceptibles de proliférer, un plan de suivi est plus complexe à mettre en œuvre car (i), il existe une grande variabilité spatio-temporelle du développement des biofilms et (ii), des biofilms produits en amont de la zone de baignade peuvent se disséminer sur cette zone au gré des courants. Les modalités de prélèvements doivent être adaptées en fonction des caractéristiques locales et de leurs éventuelles modifications (par exemple à la suite d'événements pluvieux : augmentation de la profondeur, augmentation du débit, de la vitesse du courant).

Il n'apparaît cependant pas nécessaire de réaliser un suivi systématique des cyanobactéries benthiques sur tous les cours d'eau.

#### Surveillance par le gestionnaire

Les sites à surveiller par le gestionnaire sont les zones de rivières fréquentées par le public et/ou ayant déjà présentées des proliférations de cyanobactéries benthiques. Le GT « Cyanobactéries » propose que le gestionnaire mette en œuvre une surveillance adaptée et ciblée (figure 3) pendant la saison balnéaire (quatre mois correspondant à la période estivale), hebdomadaire et après une augmentation du débit du cours d'eau consécutive à une période d'étiage, car c'est à ce moment-là que les biofilms sont susceptibles d'être détachés de leurs supports et d'être visibles sous forme de flocons flottant en surface.

Il est proposé au gestionnaire, pour les sites ayant déjà connu des épisodes de proliférations de cyanobactéries benthiques, d'informer le public par des affichages (le développement d'une vigilance citoyenne est également recommandé *via* des appels téléphoniques / photos).

Pour tous les sites surveillés, en cas d'observation de développement ou d'accumulation de biofilms détachés en surface (Vigilance) l'information au public doit être renforcée (par voie d'affichage tels que ceux proposés par l'ARS Lozère ou l'ARS Centre-Val de Loire -annexe 5- ou mise à disposition de flyers dans les campings, hôtels, offices du tourisme). Le GT « Cyanobactéries » recommande également que le gestionnaire propose d'éviter les activités dans les zones de développement et d'accumulation de cyanobactéries, de surveiller les jeunes enfants et d'inciter les maîtres de chiens à éviter que leurs chiens ne puissent accéder à la zone de développement. Le gestionnaire devra suivre l'évolution de la situation. Dans le cas où le site concerné constitue une zone de baignade, le gestionnaire devra, en outre, informer l'autorité responsable du contrôle sanitaire, de l'observation des biofilms.

#### Contrôle sanitaire par l'ARS

S'agissant du contrôle sanitaire sur les zones de baignade en cours d'eau, le GT recommande qu'il soit effectué en routine deux fois par mois par l'autorité sanitaire compétente, pendant les quatre mois d'été, sur toutes les zones de baignade ayant déjà présenté des développements visibles de cyanobactéries benthiques et dans le cas d'une sollicitation du gestionnaire.

L'entrée en vigilance suite aux observations de biofilms faites dans le cadre du contrôle sanitaire de routine ou suite à une sollicitation du gestionnaire, impliquera un renforcement du contrôle alors effectué une fois par semaine. Il faudra procéder à une vérification de la dominance des cyanobactéries dans les échantillons de biofilms prélevés. Si ces observations confirment la dominance des cyanobactéries (Alerte 1), la recherche d'ATX sera effectuée. Si la toxine est détectée (Alerte 2), la possibilité d'adapter la zone de baignade (restriction de la surface de la zone définie ou déplacement) pour une zone non contaminée par les cyanobactéries sera discutée. Si aucune adaptation n'est possible la baignade devra être interdite.

L'alerte 2 pourra conduire par ailleurs à la recommandation de non consommation de poissons qu'ils soient pêchés en zone de baignade ou en dehors de ces zones.

Il convient de noter qu'actuellement dans certaines régions, en l'absence de recommandation, les situations de proliférations sont gérées en axant les actions uniquement sur l'information du public. C'est le cas notamment pour les Gorges du Tarn, lieu souvent touché ces dernières années par ce phénomène avec des mortalités de chiens, et où a été privilégiée la communication préventive sur ce danger (coordination par l'ARS Occitanie – délégation de la Lozère). Des affiches et des flyers sont distribués à la population, notamment aux propriétaires d'animaux domestiques et aux parents de jeunes enfants (distribution dans les campings, offices de tourisme, location de canoë), et des panneaux

d'information sont disposés sur les zones d'accès aux rivières. Il n'y a ici ni interdiction de pêche ni de consommation, mais des recommandations (éviscération et étêtage systématique des produits).

Si la communication est un élément important dans la gestion de ces épisodes, il convient d'en évaluer l'efficacité et son déploiement, le cas échéant dans d'autres départements.

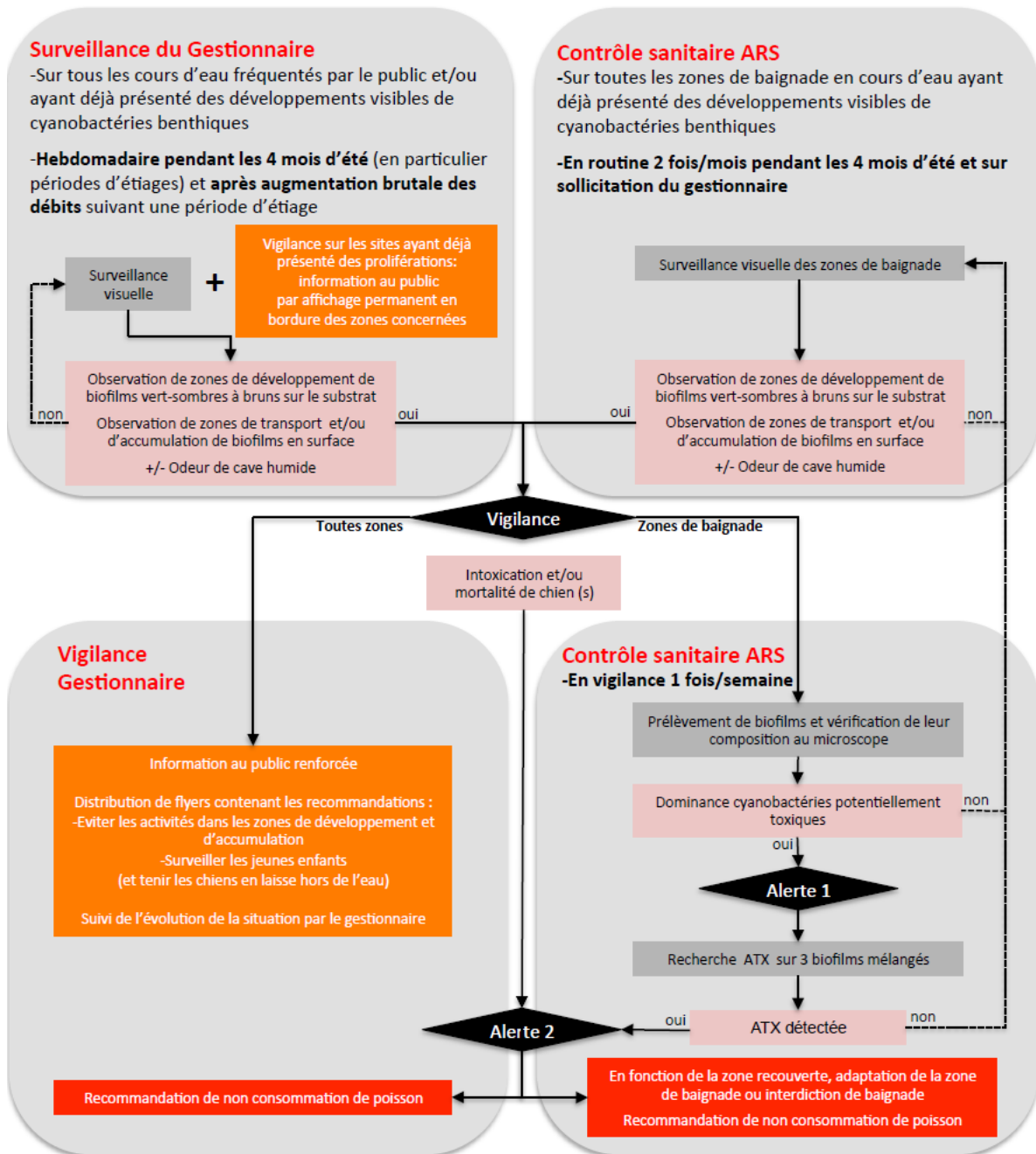


Figure 3 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries benthiques.

### 3.12.3. Recommandations générales

Afin d'harmoniser les pratiques et de disposer de référentiels nationaux relatifs aux cyanobactéries et à leurs toxines, le GT « Cyanobactéries » recommande par ailleurs de mettre en place une structure nationale de référence, telle que celles consacrées aux micro-organismes pathogènes à l'exemple de celle existant pour les légionelles.

Une telle structure pourrait être chargée :

- du développement, de la validation et de l'harmonisation des protocoles d'échantillonnage tant pour les cyanobactéries planctoniques que pour les cyanobactéries benthiques ;
- du développement, de l'optimisation et de la validation des méthodes d'analyse des cyanobactéries et de leurs toxines ainsi que de la participation à leur validation/normalisation ;
- de la coordination avec le laboratoire d'hydrologie de l'Anses de l'organisation de tests inter-laboratoires, la confirmation de résultats d'analyse réalisées par les laboratoires agréés, l'organisation de sessions de formation ;
- de répondre à toute demande d'expertise scientifique ou technique des ministères ;
- de la veille scientifique et technique.

## 4. CONCLUSIONS DES CES « EAUX » ET « ERCA »

Le CES « Eau » et le CES « ERCA » adoptent les conclusions du GT « cyanobactéries ».

## 5. CONCLUSIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du GT « cyanobactéries », des CES « EAUX » et « ERCA ».

L'Agence souligne que ces travaux d'expertise ont porté exclusivement sur les cyanobactéries présentes dans les eaux douces (eaux destinées à la consommation humaine, eaux de loisirs et eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisirs). Les risques liés à la présence d'efflorescence de cyanobactéries dans les eaux saumâtres ou marines, ainsi que la présence de cyanotoxines dans les compléments alimentaires ou les aliments d'origine végétale ont été écartés du champ de l'expertise tout comme les risques liés à l'ingestion de cyanobactéries et/ ou de cyanotoxines par la faune domestique et sauvage. Ces points avaient effectivement été intégrés dans les précédents travaux de l'Agence et pourront, le cas échéant, faire l'objet d'une actualisation à la faveur de leur inscription à l'avenir dans le programme de travail de l'Agence.

Les cyanobactéries planctoniques trouvent un terrain de prolifération particulièrement favorable dans les eaux douces enrichies en azote et phosphore, par apport anthropique. Si les effets du changement climatique sont considérés comme ayant également un rôle sur la durée et l'intensité des proliférations des cyanobactéries, l'activité humaine, aussi bien urbaine que rurale, constitue un contributeur majeur. L'Anses souligne donc la nécessité de maîtriser et réduire les apports en nutriments afin de limiter cette contamination diffuse touchant notamment les eaux de surface, seule solution durable de protection et/ou de restauration des écosystèmes aquatiques vis-à-vis de ces micro-organismes.

S'agissant des traitements chimiques voire physiques dont il a été relevé l'utilisation ou l'installation directement dans les zones de baignade et/ou d'activités nautiques en milieu naturel, l'Agence souligne la nécessité d'encadrer ces pratiques au regard du risque de libération des toxines suite à la lyse des cellules et du risque sanitaire associé pour l'Homme ainsi que de l'impact sur la faune et la flore. Par ailleurs, l'utilisation de produits « Biocides » introduits directement dans la ressource en eau doit être en conformité avec le règlement (UE) n°528/2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides, tant en termes d'approbation de la substance ou des substances actives contenue(s) dans le produit que d'usages et conditions d'usage autorisés. Leur utilisation dans les masses d'eau doit être compatible avec l'atteinte des objectifs de la Directive cadre sur l'eau.

Au vu des données transmises par les autorités sanitaires locales, les exploitants d'unités de distribution d'eau et les gestionnaires d'eaux de baignade et de loisir, il apparaît que les pratiques actuelles de surveillance et de contrôle des eaux sont hétérogènes sur le territoire français. L'Agence insiste sur le besoin d'harmoniser ces pratiques – en particulier sur le plan des méthodes de surveillance et de suivi – notamment par la mise en place de référentiels nationaux. Pour cela, une structure nationale regroupant plusieurs laboratoires compétents dans le domaine des cyanobactéries et cyanotoxines, dont ceux de l'Agence, permettrait de développer et de valider les protocoles d'échantillonnages d'une part, et les méthodes d'analyses des cyanotoxines d'autre part. L'Agence rappelle que les résultats portant sur les cyanobactéries et les cyanotoxines quelle que soit la méthode d'analyses mise en œuvre doivent être rendus sous accréditation comme tout autre paramètre du contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine ou des eaux de baignade. De fait, l'Anses encourage notamment la certification des kits ELISA sur la base d'un référentiel de validation tierce partie applicable au domaine de l'eau, ce dernier restant à développer. Cette recommandation concerne également à la recherche de cyanotoxines dans la chair de poissons.

À cet égard, l'Agence constate les connaissances lacunaires concernant les cinétiques de contamination et d'élimination des cyanotoxines par les poissons. L'Agence renouvelle donc sa recommandation d'acquisition de données sur ce sujet ainsi que l'obtention de données françaises de contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines afin de pouvoir estimer l'exposition alimentaire des consommateurs. Des données de consommation spécifiques permettraient d'affiner ces estimations de manière plus réaliste que sur la base des données de consommations nationales de enquêtes INCA.

Par ailleurs, l'Agence insiste sur la nécessité de former les exploitants de ressource et les gestionnaires de plans d'eau à la reconnaissance des proliférations de cyanobactéries planctoniques et benthiques sur le terrain, ainsi que de renforcer celle du personnel des laboratoires à la reconnaissance, en microscopie, des genres de cyanobactéries planctoniques et benthiques en général et des genres potentiellement toxiques en particulier.

Enfin, les arbres décisionnels proposés pour la surveillance des EDCH ou celle des eaux de loisir découlent de la mise à jour par l'Anses des valeurs toxicologiques de référence pour la microcystine-LR, la cylindrospermopsine et la saxitoxine. Pour la microcystine-LR, cette valeur a été divisée d'un facteur 40 par rapport à celle élaborée par l'OMS en 1998, qui se justifie par la prise en compte de nouvelles données de toxicité chez l'animal et d'un effet critique plus sensible (reprotoxicité au lieu de l'hépatotoxicité).

**Dr Roger GENET**

## MOTS-CLES

Cyanobactéries, cyanotoxines, eau destinée à la consommation humaine, eaux de baignade, poissons d'eau douce, microcystines, cylindrospermopsine, saxitoxines, anatoxine-a, surveillance, méthodes analytiques, valeurs guides

*Cyanobacteria, cyanotoxins, freshwater fish, microcystins, cylindrospermopsin, saxitoxins, anatoxin-a drinking water, recreational water, guide values, analytical method, monitoring*

## BIBLIOGRAPHIE

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). Avis du 16 mars 2020 et rapport d'expertise relatifs à la proposition de VTR aiguë par voie orale pour la saxitoxine. 51p., Saisine 2016-SA-0299.

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), (2019a). Avis du 7 janvier 2019 et rapport d'expertise relatifs à la proposition de VTR subchronique par voie orale pour la microcystine-LR, 96p, saisine n°2016-SA-0297. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2016SA0297Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), (2019b). Avis du 7 janvier 2019 et rapport d'expertise relatifs à la proposition de VTR subchronique par voie orale pour la cylindrospermopsone, 80p, saisine n°2016-SA-0298. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2016SA0298Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), (2019c). Avis du 17 décembre 2019 relatif à la détermination des valeurs sanitaires maximales (Vmax) pour différents pesticides et métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine, 33p, saisine n°2018-SA-0134. <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2018SA0134.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), (2016a). État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines. Rapport d'appui scientifique et technique de juin 2016, 262 p. Saisine n°2015-SA-0206. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2015SA0206.pdf>

Anses (2016b). Prélèvement, dénombrement et identification des Cyanobactéries dans les eaux douces accueillant des activités de baignade et de loisirs nautiques. Guide méthodologique en sécurité sanitaire des eaux. Laboratoire d'hydrologie de Nancy p 20.

Anses - OCA (2010) Description des consommations d'eaux à partir de l'étude INCA 2. Agence nationale de sécurité sanitaire.

BEBE SFAE (2005). Consommation alimentaire des nourrissons et enfants français en bas âge de 1 à 36 mois – Analyse des données nutritionnelles, Etude SOFRES 2005/Université de Bourgogne.

Bukaveckas P.A., Lesutiene J., Gasiunaitė Z.R., Lozys L., Olenina I., Pilkaite R., Putys Z., Tassone S., Wood J. (2017). Microcystin in aquatic food webs of the Baltic and Chesapeake Bay regions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* vol.191: p.50-59.

Brient L., Lengronne M., Bertrand E., Rolland D., Sipel A., Steinmann D., Baudin I., Legeas M., Le Rouzica B., Bormans M. (2008). A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. *Journal of Environmental Monitoring*, vol.10 : p.248-255.

Calado S.L.D.M., Santos G.S., Leite T.P.B., Wojciechowski J., Nadaline M., Junior Bozza D.C., Magalhães V.F.D., Cestari M.M., Prodocimo V., Silva de Assis H.C. (2018). Depuration time and sublethal effects of microcystins in a freshwater fish from water supply reservoir. *Chemosphere*, vol. 210: p. 805-815.

Chen Y., Xu J., Li Y., Han X. (2011). Decline of sperm quality and testicular function in male mice during chronic low-dose exposure to microcystin-LR. *Reproductive Toxicology*, vol.31(4) : p.551-557. doi: 10.1016/j.reprotox.2011.02.006.

- Chernoff N., Hill D.J., Chorus I., Diggs D.L., Huang H., King D., Lang J.R., Le T.T., Schmid J.E., Travlos G.S., Whitley E.M., Wilson R.E., Wood C.R. (2018). Cylindrospermopsin toxicity in mice following a 90-d oral exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol.25 : p01-18.
- DeFlorio-Barker S., Wing C., Jones R.M., Dorevitch S. (2018). Estimate of incidence and cost of recreational waterborne illness on United States surface waters *Environmental Health*, vol. 17 (3): p.1-10. DOI 10.1186/s12940-017-0347-9
- Greer B., Maul R., Campbell K., Elliott C.T. (2017). Detection of freshwater cyanotoxins and measurement of masked microcystins in tilapia from Southeast Asian aquaculture farms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 409: p.4057–4069.
- Greillet C., Labadie M., Manel J., De Haro L. (2020). Étude des cas d'exposition aux cyanobactéries rapportés aux Centres antipoison entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018. Study of cyanobacterial exposure cases reported to poison control centers between January 1, 2006 and December 31, 2018. *Toxicologie Analytique et Clinique*, vol. 32(1) : p.70-80. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2019.07.006>
- Laplace-Treyture, C., Hadoux, E., Plaire, M., Duberland, A., Esmieu, P. (2017). PHYTOBS v3.0 : Outil de comptage du phytoplancton en laboratoire et de calcul de l'IPLAC. Version 3.0. Application JAVA.
- Messineo V., Melchiorre S., Di Corcia A., Gallo P., Bruno M. (2010). Seasonal succession of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon ovalisporum* blooms with cylindrospermopsin occurrence in the volcanic Lake Albano, Central Italy. *Environmental Toxicology*, vol. 25(1): p.18-27.
- Munday R., Thomas K., Gibbs R., Murphy C., Quilliam M. A. (2013). Acute toxicities of saxitoxin, neosaxitoxin, decarbamoyl saxitoxin and gonyautoxins 1&4 and 2&3 to mice by various routes of administration. *Toxicon*, vol. 76: p.77-83. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.09.013.
- Owen B.M.; Sunger N. (2018). Exploratory Assessment of Risks from Drinking and Recreational Water Exposure to Children in the State of New Jersey. *Water*, vol. 10 (276) : p.1-13. doi:10.3390/w10030276
- Papadimitriou T., Kagalou I., Stalikas C., Pilidis G., Leonardos I.D. (2012). Assessment of microcystin distribution and biomagnification in tissues of aquatic food web compartments from a shallow lake and evaluation of potential risks to public health. *Ecotoxicology* , vol.21(4): p.1155-1166.

**ANNEXE 1 : BIOVOLUMES RECOMMANDES SELON LE GENRE DE CYANOBACTERIES**

Nom de genre	Code Sise	Biovolume cellulaire en $\mu\text{m}^3$
<i>Anabaena</i>	CYANO01	99,0
<i>Anabaenopsis</i>	CYANO02	125,0
<i>Aphanizomenon</i>	CYANO03	72,0
<i>Aphanocapsa</i>	CYANO04	2,0
<i>Aphanothece</i>	CYANO05	10,0
<i>Arthrospira</i>		96,0
<i>Calothrix</i>	CYANO06	215,0
<i>Chroococcus</i>	CYANO07	122,0
<i>Chrysoosporum</i>		133,0
<i>Coelomoron</i>	CYANO08	8,1
<i>Coelosphaerium</i>	CYANO09	4,0
<i>Cuspidothrix</i>		95,0
<i>Cyanobium</i>		43,0
<i>Cyanocatena</i>	CYANO45	0,4
<i>Cyanodictyon</i>	CYANO41	2,0
<i>Cyanogranis</i>	CYANO48	1,0
<i>Cyanonephron</i>		2,0
<i>Cylindrospermopsis</i>	CYANO10	70,2
<i>Cylindrospermum</i>	CYANO11	65,7
<i>Dolichospermum</i>		290,0
<i>Eucapsis</i>		14,0
<i>Fischerella</i>	CYANO12	261,3
<i>Geitlerinema</i>	CYANO51	19,7
<i>Glaucospira</i>		36,0
<i>Gloeocapsa</i>		245,0
<i>Gloeotrichia</i>	CYANO13	287,6
<i>Gomphosphaeria</i>	CYANO14	11,0
<i>Hapalosiphon</i>	CYANO15	236,5
<i>Homoeothrix</i>	CYANO40	16,3
<i>Jaaginema</i>		18,8
<i>Komvophoron</i>	CYANO52	80,0
<i>Lemmermanniella</i>	CYANO16	2,2
<i>Leptolyngbya</i>	CYANO42	6,3
<i>Limnothrix</i>	CYANO17	31,0
<i>Lyngbya</i>	CYANO18	56,0
<i>Merismopedia</i>	CYANO19	13,0
<i>Microcoleus</i>	CYANO20	263,0



<i>Microcystis</i>	CYANO21	50,0
<i>Nodularia</i>	CYANO22	170,7
<i>Nostoc</i>	CYANO23	50,1
<i>Oscillatoria</i>	CYANO24	410,0
<i>Pannus</i>	CYANO47	2,9
<i>Phormidium</i>	CYANO25	177,0
<i>Planktolyngbya</i>	CYANO26	4,0
<i>Planktothrix</i>	CYANO39	52,0
<i>Pseudanabaena</i>	CYANO27	43,0
<i>Radiocystis</i>	CYANO43	30,8
<i>Raphidiopsis</i>	CYANO28	70,2
<i>Rhabdoderma</i>	CYANO29	16,0
<i>Rhabdogloea</i>		82,0
<i>Rivularia</i>	CYANO49	171,6
<i>Romeria</i>	CYANO46	4,0
<i>Schizothrix</i>	CYANO30	8,8
<i>Scytonema</i>	CYANO31	1 565,0
<i>Snowella</i>	CYANO34	7,0
<i>Sphaerospermopsis</i>	CYANO50	79,7
<i>Spirulina</i>	CYANO32	177,0
<i>Symploca</i>	CYANO33	55,6
<i>Synechococcus</i>	CYANO35	55,0
<i>Synechocystis</i>	CYANO44	4,0
<i>Tapinothrix</i>		16,3
<i>Trichodesmium</i>	CYANO36	113,0
<i>Umezakia</i>	CYANO37	226,0
<i>Woronichinia</i>	CYANO38	15,0



## ANNEXE 2 : CLÉS DE DETERMINATION VISUELLE D'UNE PROLIFERATION DE CYANOBACTERIES PLANCTONIQUES

CARACTERES GENERAUX DES CYANOBACTERIES	
Couleur	Les cyanobactéries sont appelées « algues bleues », elles sont généralement bleues - vertes, cependant certaines sont de couleur rouge.
Taille des particules	Les particules peuvent être à peine perceptibles de près, leur agglomération peut mesurer seulement quelques millimètres voire moins.
Odeur	Des odeurs de gazon fraîchement coupé ou d'ordures peuvent accompagner un fort développement (efflorescence).
Zone de prolifération	Les proliférations peuvent s'étendre sur tout le plan d'eau ou être très localisées (anses calmes, orientation aux vents dominants).
Localisation dans la colonne d'eau	Les proliférations de cyanobactéries peuvent occuper la surface de l'eau mais aussi la colonne d'eau sur 1 ou plusieurs mètres de profondeur.
Apparence	Les cyanobactéries peuvent présenter différents aspects notamment en fonction du stade de développement : <ul style="list-style-type: none"> <li>× simples particules dispersées pouvant rendre l'eau turbide,</li> <li>× masse importante dans la colonne d'eau - « purée de pois »,</li> <li>× film, trainées de surface ressemblant à un déversement de peinture,</li> <li>× écume colorée.</li> </ul>





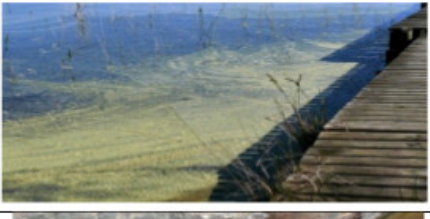
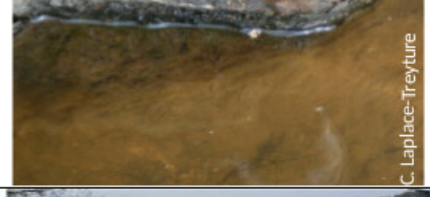

### RAPPEL : EN CAS DE PROLIFÉRATION DE CYANOBACTÉRIES, LE RÉSEAU DE SURVEILLANCE DOIT :









- remplir la fiche d'observations,
- contacter le SMGBL, pour éventuellement effectuer un prélèvement.

Version 3.0

CLE DE DETERMINATION		
1. Observer de près le phénomène et vérifier s'il comporte des « particules », des « éléments » flottants ou en suspension dans la colonne d'eau.	Absence de particules.	Ce n'est pas une prolifération de cyanobactéries
	Présences de particules, d'éléments flottants.	Aller au 2
2. Prendre des gants en latex,  Passez votre main dans la zone de prolifération en écartant légèrement les doigts,  Laissez couler l'eau.	Si de longues masses fibreuses plus ou moins rigides pendent à vos doigts.  C. Laplace-Treytore	Aller au 3
	S'il ne reste rien ou juste quelques morceaux visqueux collés à vos gants.  ASIO Media Library	Aller au 4
3. La masse garde-t-elle sa forme hors de l'eau avec des éléments de formes différentes ?	Oui, avec des feuilles, des tiges et des racines.	Plantes aquatiques - A
	Non, filaments minces de formes identiques.	Algues filamenteuses - B
4. Une partie de la prolifération est-elle fixée au fond au moins partiellement ?	Oui	Aller au 5
	Non	Aller au 6
5. Quelle est la couleur et l'allure de la prolifération ?	Masse floconneuse de couleur jaunâtre à brunâtre.	Probablement un genre de diatomée : <i>Didymosphenia</i> - C
	Tapis assez fins, plus ou moins visqueux de couleur verte à brune.	Périphyton - D
6. Quelle est la couleur et l'aspect de la prolifération ?	Particules flottantes d'apparence poudreuse, de couleur jaunâtre.	Pollens ou spores - E
	Particules brunes en suspension dans la colonne d'eau.	Diatomées planctoniques - F
	Mousse en surface de couleur beigeâtre.	Mousses lacustres - G
	Particules de couleur essentiellement bleu-vert ou rouge, sous forme d'amas, de billes dans la colonne d'eau et/ou en surface.	Cyanobactéries - H

Version 3.0

DESCRIPTION DES DIFFERENTS TYPES DE PROLIFERATIONS				
Type	Noms	Couleurs	Caractéristiques	Photos
A	Plantes aquatiques Macrophytes vasculaires	Vert, brun	Composées de feuilles, tiges, racines, thalles dont tout ou partie peut flotter. <i>Aspect de particules ou de tapis flottants.</i>	 C. Laplace-Treytore
B	Algues filamenteuses Macrophytes non vasculaires	Vert	Filaments minces, très souples qui flottent souvent à la surface de l'eau ou accrochés à un support. <i>Parfois aspect de cheveux mêlés.</i>	 C. Laplace-Treytore
C	<i>Didymosphenia</i> Microalgues de la famille des diatomées	Entre blanc et jaune brunâtre	Filaments formant des amas visibles à l'œil nu. <i>Humide la texture s'apparente à de la laine mouillée et en séchant à du parchemin.</i>	 V. Boucharaychias, 2012
D	Périphyton Algues benthiques	Verdâtre, brun	Tapis visqueux ayant une apparence plus ou moins mousseuse. <i>Lorsqu'il est mort et séché, il peut avoir l'aspect du papier.</i>	 C. Chauvin
E	Pollens ou spores	Jaunâtre	Particules flottantes d'apparence poudreuse.	
F	Diatomées Microalgues siliceuses unicellulaires planctoniques	Brunâtre	Particules en suspension donnant une eau turbide.	 C. Laplace-Treytore
G	Les mousses lacustres	Beigeâtre, blanchâtre	Elles peuvent accompagner une efflorescence de cyanobactéries ou se produire à la suite d'un épisode de vent. Elles sont remarquables lorsqu'elles s'accumulent en bordure.	

H	EXEMPLES D'EFFLORESCENCE DE CYANOBACTERIES OBSERVES	
<p>Simple particules dispersées pouvant rendre l'eau turbide</p>		
<p>Masse importante dans la colonne d'eau type « Purée de pois »</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">M. Roux, CSP, 2001</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">L. Pichhahn</p>
<p>Film, trainées en surface type « Déversement de peinture »</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">L. Pichhahn</p>	
<p>Ecume colorées en bleu-vert ou brunâtres</p>		

**CONTACTS & COMPLÉMENTS D'INFORMATION**

SMGBL - Julien Lauqué - 06 45 49 56 67 - baignades40@orange.fr - <http://smgbl.free.fr>



Version 3.0



**ANNEXE 3 : EXEMPLE DE FICHE DE RENSEIGNEMENTS CYANOBACTERIES EN ZONE DE BAINNADE ET/OU D'ACTIVITES NAUTIQUES (D'APRES UN DOCUMENT DU SMGBL ET D'IRSTEA)**

Fiche de renseignements : cyanobactéries et analyse de toxines dans des zones de baignade et/ou d'activités nautiques			
ZONE DE BAINNADE		OBSERVATEUR	
Zone de baignade		Nom prénom	
Plan d'eau/cours d'eau		Téléphone	
Commune		Structure	
CONTEXTE			
Date et heure d'observation	Le ..... / ..... / ..... à ..... h .....		
Température de l'air (°C)	(°C)	Température de l'eau (°C)	(°C)
Conditions météorologiques	<input type="checkbox"/> Soleil <input type="checkbox"/> Pluie <input type="checkbox"/> Couvert <input type="checkbox"/> Brouillard <input type="checkbox"/> Autre : .....		
Etat de la surface de l'eau	<input type="checkbox"/> Lisse <input type="checkbox"/> Faiblement agitée <input type="checkbox"/> Agitée <input type="checkbox"/> Très agitée		
Vent	<input type="checkbox"/> Nul <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Fort		
Direction du vent	..... <input type="checkbox"/> Vers la zone de baignade <input type="checkbox"/> Vers l'extérieur de la zone de baignade		
PROLIFERATION DE CYANOBACTERIES			
Localisation	<input type="checkbox"/> dans la zone de baignade Précisions : ..... <input type="checkbox"/> à proximité de la zone de baignade ..... <input type="checkbox"/> éloignée de la zone de baignade .....		
Schéma <i>Indiquez la localisation de la prolifération et du(es) prélèvement(s) si réalisé(s)</i>			
Etendue de la prolifération dans la zone de baignade	<input type="checkbox"/> Inconnue <input type="checkbox"/> Généralisée (environ 75%) <input type="checkbox"/> Grande (50 à 75 %) <input type="checkbox"/> Limitée (moins de 50%) <input type="checkbox"/> Très limitée (inférieur à 25%)		
OBSERVATIONS			
Photographies	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Nombre	
Couleur de l'eau si inhabituelle	<input type="checkbox"/> Violet <input type="checkbox"/> Bleu <input type="checkbox"/> Vert <input type="checkbox"/> Jaune <input type="checkbox"/> Orange <input type="checkbox"/> Rouge		
Intensité de la coloration	<input type="checkbox"/> Légèrement coloré <input type="checkbox"/> Moyennement coloré <input type="checkbox"/> Fortement coloré		
Apparence et intensité	<input type="checkbox"/> La densité est faible : particules réparties de façon clairsemée dans la colonne d'eau. <i>(eau anormalement trouble, particules flottant entre deux eaux, traînées clairsemées en surface)</i> <input type="checkbox"/> La densité est moyenne à élevée : particules distribuées dans la colonne d'eau. <i>(soupe au brocoli plus ou moins consistante, purée de pois, agrégats ou amas nombreux ou rapprochés)</i> <input type="checkbox"/> La densité est très élevée : particules concentrées à la surface de l'eau (écume). <i>(films ou traînées opaques à la surface, déversement de peinture, dépôt près du rivage)</i>		
Présence d'écume	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Dépôts sur le rivage	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Odeur	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Commentaires			
PRELEVEMENT			
Nom prénom du préleveur		Date et heure de prélèvement	Le ..... / ..... / ..... à ..... h .....
Type de prélèvement	<input type="checkbox"/> Cyanobactéries <input type="checkbox"/> Toxines	Nombre de prélèvements	
Fixation du prélèvement de cyanobactéries	<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> au lugol <input type="checkbox"/> au glutaraldéhyde <input type="checkbox"/> autre : .....		
Transport au laboratoire	<input type="checkbox"/> Par la collectivité <input type="checkbox"/> Par le laboratoire		

Version 1.0

#### **ANNEXE 4 : PROTOCOLE DE DENOMBREMENT DES CYANOBACTERIES PLANCTONIQUES**

La quantification au microscope est réalisée sur les échantillons phytoplanctoniques ou benthiques fixés au Lugol.

Il est alors recommandé de compter au moins 100 individus pour obtenir un résultat satisfaisant avec une erreur de l'ordre de +/-10 %. Le comptage est réalisé sur un volume d'échantillon de 1 à 25 mL maximum selon la concentration. Le temps de sédimentation varie alors de 25 minutes (pour 1 mL) à 18 heures (pour 25 mL) à raison de 4 heures/cm de hauteur de colonne. Les volumes classiquement employés sont de 1 à 3 mL pour les eaux de baignade.

Pour les EDCH, étant donné que la concentration attendue en cyanobactéries est très faible, un volume de 1 litre doit être filtré sur une membrane polycarbonate de 3 µm de porosité moyenne (diamètre 2,5 cm). Les algues retenues par le filtre doivent être remise en suspension dans un millilitre d'eau déminéralisée directement dans la chambre de sédimentation par un frottement délicat de sa surface avec un gant.

Une première observation à un grossissement faible (100x) d'un millilitre de l'échantillon, déposé en fond de chambre de sédimentation, doit systématiquement être réalisée au départ. Il permet d'avoir une idée de la concentration de l'échantillon, de contrôler la distribution aléatoire, d'observer si des algues flottent en surface et d'identifier les principaux genres présents. Si le nombre d'individus présents semble suffisant pour atteindre l'effort de comptage de 100 individus et que la distribution semble aléatoire alors l'échantillon peut être compté directement sur un millilitre. Dans le cas contraire une sédimentation d'un volume supérieur est à réaliser.

Si des cyanobactéries flottent en surface, il est alors procédé à un éclatement des vésicules gazeuses. Cette étape est réalisée au moyen d'une seringue de 50 à 60 mL dans laquelle une fraction de l'échantillon homogénéisé est placée. L'extrémité de la seringue est bouchée avec le doigt puis le piston est frappé vigoureusement 2 à 3 fois sur une surface plane. L'échantillon est alors transféré dans un flacon, homogénéisé de nouveau puis un millilitre y est prélevé pour observation dans la chambre de sédimentation. La flottabilité des cyanobactéries est de nouveau contrôlée. Si aucune cyanobactérie ne flotte de manière significative alors l'échantillon peut être compté sur un millilitre ou plus si nécessaire.

Le comptage est ensuite réalisé en deux phases. Tout d'abord, un comptage des gros individus est réalisé avec un faible grossissement (100x) sur la chambre entière ou une surface inférieure (plusieurs transects) si les individus sont trop abondants. Un comptage par champs aléatoires ou par transects avec un grossissement plus important (400x voire 600x) est réalisé par suite pour dénombrer toutes les autres cyanobactéries de taille inférieure. Dans le cas de l'utilisation de champs, 20 champs minimum doivent être comptés. Dans le cas de l'utilisation de transects, le comptage d'un transect minimum est requis.

Au cours de ces deux phases successives de comptage au moins 100 individus au total doivent être comptés dans lesquels le nombre de cellules est estimé (cas de colonies et des filaments) ou déterminé (unicellulaires) en suivant les règles de comptage définies dans la norme NF EN 15 204. Le résultat obtenu est alors exprimé en cellules par millilitre (cel/mL).

Pour s'affranchir du problème de la variabilité de la taille des cellules, la conversion des dénombrements en biovolume (biomasse) est alors préconisée par les experts (voir Estimation des biovolumes). Le résultat du dénombrement permet alors d'évaluer la quantité totale de cyanobactéries présentes dans l'échantillon phytoplanctonique, tout en identifiant la présence et la biomasse des genres potentiellement producteurs de cyanotoxines.

## ANNEXE 5 : EXEMPLE D’AFFICHAGE PROPOSES PAR LES ARS



# BAIGNADE : SOYEZ VIGILANT!

Des micro organismes, appelés cyanobactéries, colonisent parfois le fond des rivières, l’été voire en début d’automne. Elles forment à la surface des cailloux des plaques (biofilms) de couleur vert / brun foncé, qui peuvent se détacher et s’accumuler sur les bords (flocs, amas ressemblant à des algues). Elles peuvent être à l’origine d’intoxications mortelles pour les chiens.

Pour éviter les risques, il est important de connaître les précautions de bon sens à mettre en œuvre, simples et dont chacun a la responsabilité. Reconnaître les symptômes d’une intoxication permet également d’adapter votre comportement.

PRÉCAUTIONS à prendre vis à vis  
DES CYANOBACTÉRIES EN RIVIÈRES ?

**Attention aux enfants !**

- Ne pas se baigner en dehors des sites autorisés et surveillés
- Éviter d’ingérer de l’eau
- Ne pas jouer avec des bâtons ou galets ayant été immergés ou avec des dépôts d’algues, ne pas les porter à la bouche.
- Prendre une douche après la baignade
- Ne pas pratiquer des activités de loisirs (canoë, activités nautiques...) dans des zones où des amas d’algues sont accumulés

**Attention aux animaux domestiques !  
(risque de mortalité canine)**

- Tenir les chiens en laisse
- Ne pas les laisser accéder à la rivière / zone de baignade où des amas d’algues sont accumulés

SYMPTÔMES D’UNE INTOXICATION  
AUX TOXINES DE CYANOBACTÉRIES ?

Après une baignade : irritation (de la peau, des yeux...),  
ou boutons...

En cas d’ingestion : tremblements, fièvre,  
douleurs abdominales,  
douleurs musculaires, nausées,  
vomissements...

**Consulter rapidement un médecin**

Après avoir bu l’eau de la rivière,  
ou joué avec des bâtons ou des galets,  
ou mangé des algues :

tremblements des pattes arrière, perte d’équilibre, état anxieux, nausées, yeux globuleux, bave...

**Consulter sans délai un vétérinaire,  
en ayant récupéré si possible  
les éventuelles vomissures**



Biofilms à cyanobactéries





Flocs (biofilms détachés à cyanobactéries)



**Pour plus d’informations :**  
DDCSPP de Loire-et-Cher : ddsapp@loire-et-cher.gouv.fr  
02 54 90 97 90  
Agence régionale de santé : 02 38 77 32 10  
Centre-Val de Loire  
Site Internet des services de l’État en Loire-et-Cher  
<http://www.loire-et-cher.gouv.fr>


  
 Agence Régionale de Santé  
Loire-et-Cher







## **Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir**

---

**Saisines « 2015-SA-0207 » et « 2016-SA-0165 »  
Saisines liées « 2001-SA-0035 », « 2015-SA-0206 »**

### **Rapport d'expertise collective**

**CES « EAUX », CES « ERCA »**

**GT « CYANOBACTÉRIES »**

**Avril 2020**

## Mots clés

---

Cyanobactéries, prolifération, cyanotoxines, microcystines, baignades, EDCH

Cyanobacteria, bloom, harmful blue-green algae, HABs, freshwater HABs, cyanotoxins, microcystins, recreational water, drinking water.

## Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE :** Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

### COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ « EAUX »

---

#### Président

M. Gilles BORNERT – Chef de service – 32<sup>E</sup> Groupe vétérinaire des armées de Rennes – Microbiologie, réglementation, situations dégradées, sûreté des approvisionnements en eau.

#### Membres

Mme Claire ALBASI – Directrice de recherche/Docteur ingénieur – UMR 5503, Laboratoire de génie chimique, CNRS-INPT-UPS, Toulouse – Produits et procédés de traitement de l'eau dont membranes, assainissement, chimie de l'eau, utilisation de ressources en eau alternatives.

Mme Sophie AYRAULT – Responsable du Thème Cycle biogéochimiques et Traceurs dans l'Environnement/Docteur habilité à diriger des recherches – Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement (LSCE) du CEA, Gif-sur-Yvette – Géochimie des métaux dans l'environnement.

M. Jean BARON – Responsable de département/Ingénieur de recherche – Eau de Paris – Matériaux au contact de l'eau, produits et procédés de traitement de l'eau (filières de traitement), corrosion.

M. Jean-Luc BOUDENNE – Professeur – Université Aix-Marseille - Laboratoire Chimie de l'environnement – Métrologie des eaux, chimie et qualité des eaux.

Mme Corinne CABASSUD – Professeure – INSA, Toulouse – Laboratoire d'ingénierie des systèmes biologiques et des procédés, UMR INSA-CNRS-INRA – Produits et procédés de traitement de l'eau dont membranes, chimie de l'eau.

Mme Véronique CARON – Expert médical en santé au travail – INRS – Médecin du travail en charge du risque biologique (zoonotique) et milieu de travail.

M. Jean CARRÉ – Retraité, Docteur en sciences – Hydrogéologie, ressources en eau, périmètres de protection des captages et expérience terrain.

Mme Hélène CELLE-JEANTON – Professeure – Université Franche Comté – Hydrogéologie, hydrogéochimie.

M. Nicolas CIMETIÈRE – Enseignant chercheur – Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes – Analyse et traitement des eaux (EDCH, micropolluants organiques).

M. Christophe DAGOT – Directeur adjoint/Professeur – ENSIL, Limoges – Eaux usées, procédés de traitement, Antibiorésistance, environnement, utilisation de ressources en eau alternatives.

Mme Isabelle DUBLINEAU – Chargée de mission auprès du directeur de la radioprotection de l'Homme/Docteur habilité à diriger des recherches – IRSN, Fontenay-aux-Roses – Toxicologie, Radioéléments.

M. Johnny GASPERI – Chercheur – Université Paris Est Créteil – LEESU – Micropolluants organiques, eaux urbaines, eaux de surface, traitements des eaux usées.

M. Jean-Louis GONZALEZ – Chercheur/Docteur habilité à diriger des recherches – IFREMER – Milieu marin, contaminants chimiques, spéciation, modélisation, échantillonnages passifs.

M. Jean-François HUMBERT – Directeur de recherche/Docteur habilité à diriger des recherches – UMR BIOENCO, INRA, Paris – Microbiologie de l'eau dont cyanobactéries, écologie microbienne.

M. Frédéric HUNEAU – Chef du département Géologie Hydrogéologie – Université de Corse – Hydrogéologie, hydrogéochemie.

M. Yves LÉVI – Professeur de santé publique et environnement – Université Paris Sud – Santé publique, santé environnement, polluants émergents, évaluation de risques sanitaires, écologie microbienne.

M. Laurent MOULIN – Responsable du département recherche et développement – Eau de Paris – Microbiologie, virologie, traitements de désinfection, amibes.

M. Daniel PERDIZ – Maître de conférences/Pharmacien toxicologue – Université Paris 11 Sud – Toxicologie, génotoxicité, perturbateurs endocriniens dans l'eau.

Mme Fabienne PETIT – Enseignant chercheur/Professeur – Université de Rouen/UMR CNRS M2C – Écologie microbienne.

M. Mohamed SARAKHA – Professeur – Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, Université Blaise Pascal – Produits et procédés de traitement de l'eau, photochimie, oxydation avancée, chimie réactionnelle de l'eau.

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT – Professeur – Université d'Auvergne/Faculté de Pharmacie, Clermont-Ferrand – Santé publique et environnement, épidémiologie, évaluation de risques sanitaires.

Mme Anne TOGOLA – Chef de projet de recherche – BRGM – Micropolluants organiques, chimie analytique, eaux souterraines.

Mme Michèle TREMBLAY – Docteur en médecine spécialiste en santé communautaire/Médecin conseil en santé au travail et en maladies infectieuses – Institut de santé publique du Québec/Direction de santé publique de Montréal – Santé travail, microbiologie de l'eau.

Mme Michèle VIALETTE – Chef de service/Docteur habilité à diriger des recherches – Institut Pasteur de Lille – Microbiologie de l'eau dont virologie.

Mme Bénédicte WELTÉ – Retraitée, Docteur en sciences – Produits et procédés de traitement de l'eau (tous procédés, filières de traitement).

## COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ « ERCA »

---

Les travaux ont été suivis et adoptés par le CES « Évaluation des risques physico-chimiques liés aux aliments » (2018-2021).

### Président

M. Bruno LE BIZEC - Professeur des universités - Compétences en chimie analytique.

### Vice-présidents

M. Fabrice NESSLANY - Directeur de laboratoire - Compétences en toxicologie.

Mme Karine TACK - Chercheuse - Compétences en chimie analytique et environnementale, évaluation des risques sanitaires.

### Membres

M. Claude ATGIE – Professeur des universités – Compétences en toxicologie.

M. Pierre-Marie BADOT - Professeur des universités – Compétences en transfert de contaminants et écotoxicologie.

Mme Marie-Yasmine DECHRAOUI BOTTEIN – Chercheuse en toxicologie environnementale – compétences en biotoxines marines.

Mme Martine CLAUW - Professeur des universités - Compétences en toxicologie.

- M. Nicolas DELCOURT – Maître de conférences des universités, pharmacien hospitalier – Compétences en biochimie et toxicologie clinique.
- Mme Christine DEMEILLIERS – Maître de conférences des universités – Compétences en toxicologie.
- M. Erwan ENGEL – Directeur de recherche – Compétences en chimie analytique.
- M. Jérôme GAY- QUEHEILLARD - Maître de conférences des universités - Compétences en impacts digestifs et métabolisme.
- M. Petru JITARU – Responsable de Laboratoire – Compétences en chimie analytique.
- Mme Sonia KHIER – Maitresse de conférences des universités – Compétences en pharmacocinétique.
- Mme Emilie LANCE – Maître de conférences des universités – Compétences en écotoxicologie et cyanotoxines.
- Mme Caroline LANIER – Maître de conférences des universités – Compétences en évaluation des risques sanitaires liés à l'environnement et l'alimentation.
- Mme Raphaële LE GARREC - Maître de conférences des universités - Compétences en toxicologie.
- M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint – Compétences en toxicologie.
- M. Nicolas LOISEAU – Chargé de recherche – Compétences en toxicologie.
- M. David MAKOWSKI – Directeur de recherche – Compétences en statistiques, modélisation.
- M. Eric MARCHIONI - Professeur des universités - Compétences en chimie analytique.
- M. Jean-François MASFARAUD – Maître de conférences des universités – Compétences en transfert de contaminants et écotoxicologie.
- M. César MATTEI - Maître de conférences des universités - Compétences en toxicologie.
- M. Alain-Claude ROUDOT - Professeur des universités - Compétences en modélisation mathématique, expologie.
- M. Yann SIVRY – Maître de conférences des universités – Compétences en chimie analytique.
- Mme Paule VASSEUR - Professeur des universités, émérite - Compétences en toxicologie.

## **GROUPE DE TRAVAIL « CYANOBACTÉRIES »**

---

### **Président**

Mme Catherine QUIBLIER – Maître de Conférences Université Paris Diderot - HDR, Museum National d'Histoire Naturelle – Écologie et toxicité des cyanobactéries planctoniques et benthiques, surveillance.

### **Membres**

- M. Zouher AMZIL – Directeur de recherche - Chimie analytique des toxines de micro-algues et de cyanobactéries.
- Mme Estelle BAURÈS – Ingénieur de recherche - HDR, Ecole des hautes études en santé publique (EHESP) - qualité des eaux dans le domaine santé - Environnement.
- M. Damien BANAS – Université de Lorraine - Dynamique des populations des cyanobactéries en aquaculture.
- M. Ronel BIRÉ – Chargé de projet – Anses – Chimie analytique.
- Mme Valérie FESSARD – Chef d'unité Laboratoire de fougères – Anses – Toxicologie.

Mme Muriel GUGGER – Responsable de la Collection des cyanobactéries à l'Institut Pasteur – Identification des cyanobactéries productrices de toxines et d'autres métabolites.

Mme Emilie LANCE – Maître de conférences des universités – Écotoxicologie et bioaccumulation des cyanotoxines.

M. Christophe LAPLACE-TREYTURE – Ingénieur algologue – Prélèvement, identification et quantification des algues.

Mme Delphine LATOUR – Maître de conférences HDR – Écologie des cyanobactéries.

Mme Anne-Marie LEVET – Responsable de l'unité fonctionnelle « Environnement extérieur et santé », Agence régionale de santé de Normandie – Santé publique et environnement.

M. Benjamin MARIE – Chargé de recherche – Écotoxicologie des cyanobactéries.

M. César MATTEI – Enseignant chercheur Université d'Angers – Toxicologie, neurotoxicologie.

M. Benjamin RICHARD - Ingénieur Santé-Environnement, responsable de la section « eaux de loisirs » Agence régionale de santé Bretagne, délégation départementale du Morbihan.

Mme Brigitte VINÇON LEITE – Chargée de recherche - Ecole des Ponts ParisTech - Modélisation des milieux aquatiques.

Mme Bénédicte WELTÉ – Retraitée – Traitement de l'eau.

## **PARTICIPATION ANSES**

---

### **Coordination scientifique de la saisine 2015-SA-0207**

Mme Nathalie ARNICH – Adjointe au chef d'unité – Unité d'évaluation des risques liés aux aliments (UERALIM).

### **Coordination scientifique de la saisine 2016-SA-0165**

Mme Carole CATASTINI – Chef de projets scientifiques – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau (UERE).

Mme Marie TEYSSANDIER – Chef de projets scientifiques – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau (UERE).

### **Contribution scientifique**

Mme Nathalie ARNICH – Adjointe au chef d'unité – Unité d'évaluation des risques liés aux aliments (UERALIM).

Mme Carole CATASTINI – Chef de projets scientifiques – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Esther CHABOT – Stagiaire – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Fanny DEBIL – Chargée de projet en sciences sociales – Mission Sciences sociales, expertise & société.

Mme Virginie DESVIGNES – Chargée de projet en statistiques – Unité d'évaluation des risques liés aux aliments.

M. Nicolas FARION – Chargé de projets scientifiques et techniques – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Victoria GALLON – Stagiaire – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Chloé GREILLET – Chargée d'étude toxicovigilance – Direction alerte et veille sanitaire.

Mme Pascale PANETIER – Responsable de l'Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Sonia POISSON - Chargée de projets scientifiques et techniques – Unité méthodologie et études.

Mme Marie TEYSSANDIER – Chef de projets scientifiques – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

**Secrétariat administratif**

Mme Angélique LAURENT

Mme Virginie SADE

---

**RAPPORTEURS**

M. Fabrice NESSLANY- Chef de service en génotoxicologie à l'Institut Pasteur de Lille.

**Rapporteurs membres du GT « Cyanobactéries »**

M. Damien BANAS

M. Benjamin MARIE

**Relecteur membre du CES « ERCA » de la saisine 2015-SA-0207**

Mme Marie-Yasmine DECHRAOUI BOTTEIN

---

**AUDITIONS****Asconit international**

Mme Adeline PICOT

**Anses**

M Thierry Chesnot

**Conseil départemental de Seine-Saint-Denis**

Mme Laure HUGUENARD

**Limoges Métropole**

M Jean-Luc VIALLESSECHE

**Limnologie SARL**

M Frédéric PITOIS

**Novakits**

M Sylvain ENGUEHARD

**SAUR**

Mme Frédérique NACKACHE-DANGLLOT

---

**RELECTEURS DU RAPPORT**

M. Nicolas CIMETIERE

M. Jean-François HUMBERT

Mme Fabienne PETIT

M. Christophe ROSIN

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT



## SOMMAIRE

Présentation des intervenants .....	3
Sigles et abréviations .....	18
Glossaire .....	24
Liste des figures .....	27
Liste des tableaux.....	30
<b>1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise.....</b>	<b>34</b>
1.1 Contexte.....	34
1.2 Objet de la saisine.....	35
1.3 Modalités de traitement de la saisine : moyens mis en œuvre et organisation.....	36
1.3.1 Organisation de l'expertise .....	36
1.3.2 Méthodes suivies pour l'expertise.....	36
<b>2 Dynamiques sociopolitiques et économiques de la question des cyanobactéries .....</b>	<b>38</b>
2.1 La trajectoire des cyanobactéries. Un objet d'intervention publique récemment formalisé et cadré en santé. ....	38
2.2 La diversification des acteurs « engagés » dans/par les cyanobactéries : quels impacts sur l'action publique ?.....	39
2.2.1 Panorama des acteurs « engagés » par/dans les cyanobactéries.....	39
2.2.2 Rapports des différents acteurs aux cyanobactéries.....	41
2.2.2.1 Les acteurs gestionnaires .....	41
2.2.2.2 Les usagers.....	42
2.2.2.3 Les acteurs relais .....	44
2.2.3 Les aléas touchant l'intervention publique.....	45
2.3 Conclusion.....	46
<b>3 Les cyanobactéries .....</b>	<b>47</b>
3.1 Diversité morphologique et écologique .....	47
3.2 Les proliférations de cyanobactéries .....	48
3.2.1 Définition des proliférations.....	48
3.2.2 Hydrosystèmes concernés par des proliférations de cyanobactéries .....	50
3.2.3 Facteurs et processus favorisant les proliférations de cyanobactéries .....	50
3.2.4 Caractéristiques des cyanobactéries leur conférant une forte valeur sélective/adaptative.....	52
3.2.5 Effets indésirables des proliférations de cyanobactéries.....	53
3.2.6 Prédiction des proliférations .....	54
3.3 Les cyanobactéries toxiques.....	54
<b>4 Caractérisation des cyanotoxines .....</b>	<b>58</b>
4.1 Les microcystines.....	58

4.1.1	Toxicologie	59
4.1.1.1	ADME	59
4.1.1.2	Mécanismes de toxicité	60
4.1.2	Toxicité	61
4.1.2.1	Toxicité aiguë	61
4.1.2.2	Toxicité subchronique	62
4.1.2.3	Toxicité chronique	63
4.1.2.4	Génotoxicité	63
4.1.2.5	Cancérogénèse	65
4.1.2.6	Reprotoxicité et tératogénèse	66
4.1.2.7	Neurotoxicité	67
4.1.3	Conclusions sur la toxicité des MC et valeurs toxicologiques de référence	69
<b>4.2</b>	<b>La cylindrospermopsine</b>	<b>70</b>
4.2.1	Toxicologie	70
4.2.1.1	Bioaccessibilité	70
4.2.1.2	ADME	70
4.2.1.3	Mécanismes de toxicité	71
4.2.2	Toxicité	71
4.2.2.1	Toxicité aiguë	71
4.2.2.2	Toxicité subchronique	73
4.2.2.3	Génotoxicité	74
4.2.2.4	Cancérogénèse	74
4.2.2.5	Reprotoxicité et tératogénèse	75
4.2.2.6	Immunotoxicité	75
4.2.3	Conclusions sur la toxicité de la cylindrospermopsine, et valeurs toxicologiques de référence	75
<b>4.3</b>	<b>La saxitoxine et ses variants</b>	<b>76</b>
4.3.1	Toxicologie	76
4.3.1.1	ADME	76
4.3.1.2	Mécanismes de toxicité	79
4.3.2	Toxicité	81
4.3.2.1	Toxicité aiguë	81
4.3.2.1.1	<i>Effets aigus et subaigus</i>	82
4.3.2.1.2	<i>Irritation</i>	87
4.3.2.1.3	<i>Sensibilisation</i>	88
4.3.2.2	Toxicité subchronique et chronique	88
4.3.2.3	Génotoxicité	89
4.3.2.4	Cancérogénicité	89
4.3.2.5	Reprotoxicité et tératogénèse	89
4.3.2.6	Neurotoxicité	90
4.3.2.7	Populations à risque	90
4.3.3	Conclusions sur la toxicité de la STX, et valeurs toxicologiques de référence	91
<b>4.4</b>	<b>L'anatoxine-a</b>	<b>91</b>
4.4.1	Toxicologie	92
4.4.1.1	ADME	92
4.4.1.2	Mécanismes de la toxicité	92
4.4.2	Toxicité	93
4.4.2.1	Toxicité aiguë	93
4.4.2.2	Toxicité sub-chronique	94
4.4.2.3	Génotoxicité et cancérogénèse	94
4.4.2.4	Reprotoxicité et tératogénèse	94
4.4.3	Conclusions sur la toxicité de la l'ATX-a	94
<b>4.5</b>	<b>L'anatoxine-a(s)</b>	<b>94</b>
4.5.1	Toxicologie	95
4.5.1.1	Absorption, distribution, métabolisme et excrétion	95

4.5.1.2	Mécanismes de toxicité .....	95
4.5.2	Toxicité .....	95
4.5.2.1	Toxicité aiguë .....	95
4.5.2.2	Génotoxicité, cancérogénèse et toxicités sub-chronique et chronique .....	96
4.5.3	Conclusions sur la toxicité de la l'ATX-a(s) .....	96
<b>5</b>	<b>Epidémiologie des intoxications humaines par les cyanotoxines .....</b>	<b>98</b>
<b>5.1</b>	<b>Intoxications humaines aiguës .....</b>	<b>99</b>
5.1.1	Intoxications aiguës <i>via</i> l'eau destinée à la consommation humaine .....	99
5.1.2	Intoxications aiguës lors de la baignade ou d'activités nautiques .....	103
5.1.2.1	Voies d'exposition rapportées dans les cas d'intoxications humaines liées aux activités récréatives .....	103
5.1.2.2	Cas d'intoxications humaines liés aux activités aquatiques récréatives en France .....	104
5.1.2.3	Etudes épidémiologiques et cas rapportés d'intoxications humaines liés aux activités aquatiques récréatives dans le monde .....	107
<b>5.2</b>	<b>Effets chroniques sur la santé .....</b>	<b>112</b>
<b>5.3</b>	<b>Conclusions sur les intoxications humaines par les cyanotoxines .....</b>	<b>113</b>
<b>6</b>	<b>Détection et quantification des cyanobactéries .....</b>	<b>115</b>
<b>6.1</b>	<b>Détection des proliférations de cyanobactéries .....</b>	<b>115</b>
6.1.1	Observation visuelle directe .....	115
6.1.2	Indicateurs biologiques <i>in situ</i> .....	116
6.1.2.1	Chlorophylle-a .....	116
6.1.2.2	Phycocyanine .....	116
6.1.2.3	Utilisation de sondes fluorimétriques .....	117
6.1.3	Détection à distance .....	118
6.1.4	Indicateurs complémentaires .....	118
6.1.4.1	Paramètres physiques .....	118
6.1.4.1.1	<i>Transparence</i> .....	119
6.1.4.1.2	<i>Turbidité</i> .....	119
6.1.4.2	Paramètres chimiques .....	119
6.1.4.2.1	<i>Oxygène</i> .....	120
6.1.4.2.2	<i>pH</i> .....	120
<b>6.2</b>	<b>Prélèvement, identification et quantification des cyanobactéries .....</b>	<b>120</b>
6.2.1	Objectifs et mise en œuvre des méthodes de prélèvement .....	121
6.2.1.1	Objectifs et définition des prélèvements .....	121
6.2.1.2	Prélèvement et conservation des cyanobactéries planctoniques .....	121
6.2.1.2.1	<i>Modalités du prélèvement</i> .....	121
6.2.1.2.2	<i>Lieu et profondeur de prélèvement</i> .....	122
6.2.1.2.3	<i>Conservation et transport</i> .....	126
6.2.1.3	Prélèvement et conservation des cyanobactéries benthiques .....	127
6.2.1.3.1	<i>Modalités et zones de prélèvement</i> .....	127
6.2.1.3.2	<i>Conservation et transport</i> .....	127
6.2.2	Identification des cyanobactéries planctoniques et benthiques .....	127
6.2.3	Quantification des proliférations et des cyanobactéries .....	128
6.2.3.1	Quantification globale .....	128
6.2.3.1.1	<i>Méthodes basées sur la composition pigmentaire pour le suivi des proliférations planctoniques et benthiques</i> .....	128
6.2.3.1.2	<i>Estimation de la couverture en cyanobactéries benthiques</i> .....	128
6.2.3.2	Quantification en microscopie .....	128
6.2.3.2.1	<i>Dénombrement des cyanobactéries planctoniques</i> .....	128
6.2.3.2.2	<i>Dénombrement des cyanobactéries benthiques</i> .....	130
6.2.3.2.3	<i>Estimation des biovolumes-biomasses</i> .....	130

6.2.3.3	Comptage par utilisation de la cytométrie en flux.....	130
6.2.3.3.1	<i>Cytomètre standard</i> .....	130
6.2.3.3.2	<i>Cytomètre avec imagerie</i> .....	131
6.2.3.4	Biocapteurs génétiques.....	131
<b>6.3</b>	<b>Synthèse des différentes méthodes .....</b>	<b>131</b>
<b>7</b>	<b>Recherche du potentiel toxique par des approches de biologie moléculaire .....</b>	<b>137</b>
<b>8</b>	<b>Détection et quantification des cyanotoxines .....</b>	<b>139</b>
<b>8.1</b>	<b>Méthodes normalisées.....</b>	<b>140</b>
8.1.1	Méthode normalisée sur matrice eau .....	140
8.1.2	Autres méthodes standardisées internationales.....	140
<b>8.2</b>	<b>Méthodes non normalisées .....</b>	<b>141</b>
8.2.1	Préparation de l'échantillon.....	142
8.2.1.1	Matrice eau brute .....	142
8.2.1.1.1	<i>Microcystines</i> .....	142
8.2.1.1.2	<i>Cyanotoxines hydrophiles</i> .....	143
8.2.1.2	Matrice poisson .....	143
8.2.1.2.1	<i>Microcystines</i> .....	143
8.2.1.2.2	<i>Cyanotoxines hydrophiles</i> .....	144
8.2.2	Identification et quantification des cyanotoxines .....	144
8.2.2.1	Méthodes physico-chimiques .....	144
8.2.2.1.1	<i>Microcystines</i> .....	144
8.2.2.1.2	<i>Cyanotoxines hydrophiles</i> .....	145
8.2.2.1.3	<i>Analyse multi-cyanotoxines (microcystines &amp; cyanotoxines hydrophiles) par CL-SM/SM</i> .....	146
8.2.2.2	Méthodes biochimiques ou fonctionnelles .....	146
8.2.2.2.1	<i>Microcystines et inhibition des protéines phosphatases</i> .....	146
8.2.2.2.2	<i>Anatoxine-a et interaction avec le récepteur nicotinique de l'acétylcholine</i> .....	147
8.2.2.2.3	<i>Anatoxine-a(s) et inhibition de l'acétylcholine-estérase</i> .....	147
8.2.2.2.4	<i>Cylindrospermopsine et inhibition de la synthèse protéique</i> .....	147
8.2.2.2.5	<i>Saxitoxine et interaction avec le canal sodium</i> .....	148
8.2.2.3	Méthodes immunologiques ou immunoessais.....	148
8.2.2.3.1	<i>Microcystines</i> .....	148
8.2.2.3.2	<i>Cyanotoxines hydrophiles</i> .....	148
8.2.2.4	Bioessais: <i>in vivo</i> & <i>in vitro</i> .....	149
8.2.2.4.1	<i>Bioessais in vivo</i> .....	149
8.2.2.4.2	<i>In vitro, sur cultures cellulaires</i> .....	150
<b>8.3</b>	<b>Synthèse .....</b>	<b>151</b>
<b>9</b>	<b>Moyens de maîtrise des dangers.....</b>	<b>158</b>
<b>9.1</b>	<b>Prévention et maîtrise de la croissance des cyanobactéries dans les milieux aquatiques.....</b>	<b>158</b>
9.1.1	Réduction des apports en éléments nutritifs par le bassin versant .....	158
9.1.1.1	Contrôle des apports ponctuels.....	159
9.1.1.2	Contrôle des apports diffus.....	160
9.1.2	Traitements chimiques dans le milieu aquatique.....	161
9.1.2.1	Utilisation de sels et polymères d'aluminium ou de fer.....	161
9.1.2.2	Utilisation de chaux ou de carbonate de calcium .....	162
9.1.2.3	Épandage d'argile ou d'argile modifié .....	162
9.1.2.4	Traitement au sulfate de cuivre .....	162
9.1.2.5	Traitement au peroxyde d'hydrogène.....	163

9.1.2.6	Traitement par des molécules induisant une photocatalyse .....	163
9.1.3	Traitements physiques dans le milieu aquatique .....	164
9.1.3.1	Déstratification / mélange artificiel .....	164
9.1.3.2	Oxygénation/aération en profondeur .....	164
9.1.3.3	Dragage des sédiments .....	164
9.1.3.4	Soutirage hypolimnique .....	165
9.1.3.5	Utilisation d'ultrasons .....	165
9.1.4	Biomanipulation .....	165
9.1.4.1	Biomanipulation de la communauté piscicole .....	166
9.1.4.2	Introduction de bivalves filtreurs .....	166
9.1.4.3	Introduction de macrophytes .....	166
9.1.5	Conclusion .....	167
<b>9.2</b>	<b>Eau destinée à la consommation humaine.....</b>	<b>172</b>
9.2.1	Prétraitements .....	172
9.2.1.1	Prétraitements physiques (dégrillage, débouage, dessablage, micro tamisage).....	172
9.2.1.2	Traitements de préoxydation .....	173
9.2.1.2.1	<i>Le chlore et le dioxyde de chlore</i> .....	173
9.2.1.2.2	<i>L'ozone</i> .....	173
9.2.1.2.3	<i>Le permanganate de potassium</i> .....	174
9.2.2	Traitements de clarification .....	174
9.2.2.1	Clarification physico-chimique .....	174
9.2.2.1.1	<i>Coagulation/floculation/décantation ou flottation</i> .....	175
	<b>Coagulation</b> .....	175
	<b>Décantation/flottation</b> .....	176
	<b>Filtration</b> 176	
	<b>Problèmes posés lors du traitement de clarification physico-chimique</b> .....	177
9.2.2.2	Clarification biologique - filtration lente.....	178
9.2.2.3	Clarification physique .....	179
9.2.3	Traitement à la chaux .....	181
9.2.4	Traitements d'adsorption .....	181
9.2.5	Traitements d'oxydation .....	182
9.2.5.1	Oxydation chimique.....	182
9.2.5.1.1	<i>Chlore</i> .....	182
9.2.5.1.2	<i>Dioxyde de chlore</i> .....	184
9.2.5.1.3	<i>Ozone</i> .....	184
9.2.5.1.4	<i>Permanganate de potassium</i> .....	185
9.2.5.2	Oxydation physique.....	185
9.2.5.2.1	<i>Traitement par rayonnements UV</i> .....	186
9.2.5.2.2	<i>Oxydation avancée/photocatalyse</i> .....	186
9.2.6	Conclusion .....	187
<b>10</b>	<b>Recommandations et réglementations françaises et internationales.....</b>	<b>192</b>
10.1	Eaux destinées à la consommation humaine.....	192
10.2	Eaux récréatives.....	203
10.3	Recommandations et réglementations françaises et à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons .....	215
10.3.1	Recommandations et réglementations françaises relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons .....	215
10.3.2	Recommandations et réglementations à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons .....	217
<b>11</b>	<b>État des pratiques en France .....</b>	<b>220</b>

<b>11.1 Eaux destinées à la consommation humaine.....</b>	<b>221</b>
11.1.1 Mise en œuvre du suivi des EDCH .....	221
11.1.1.1 Suivi des eaux brutes .....	221
11.1.1.2 Suivi des eaux traitées .....	223
11.1.1.3 Suivi des eaux distribuées.....	224
11.1.1.4 Autres suivis .....	224
11.1.2 Organisation du contrôle sanitaire.....	224
11.1.2.1 Paramètres du contrôle sanitaire.....	224
11.1.2.2 Période et fréquence du contrôle sanitaire .....	226
11.1.2.3 Stratégie de surveillance .....	227
11.1.3 Coûts du contrôle sanitaire.....	227
11.1.4 Méthodes d'analyses.....	228
11.1.4.1 Dénombrement et identification des cyanobactéries.....	228
11.1.4.2 Analyses de cyanotoxines.....	230
11.1.5 Bancarisation des données .....	232
11.1.6 Gestion du risque sanitaire.....	234
11.1.6.1 Stratégie de gestion .....	234
11.1.6.2 Mesures de gestion sanitaire.....	235
11.1.7 Difficultés de gestion sanitaire.....	236
11.1.8 Signaux sanitaires .....	237
11.1.9 Points à retenir .....	238
<b>11.2 Eaux récréatives.....</b>	<b>239</b>
11.2.1 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des baignades et zones de loisirs nautiques .....	239
11.2.1.1 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux de baignade.....	239
11.2.1.2 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des zones de loisirs nautiques (ZLN).....	240
11.2.2 Organisation de la surveillance au titre du contrôle sanitaire des eaux de baignade .....	241
11.2.2.1 Paramètres de la surveillance .....	241
11.2.2.2 Période et fréquence du contrôle sanitaire .....	243
11.2.3 Protocole de prélèvements.....	244
11.2.4 Coûts du contrôle sanitaire des baignades .....	245
11.2.5 Méthodes d'analyses.....	247
11.2.5.1 Dénombrements et identification des cyanobactéries .....	247
11.2.5.2 Analyse des cyanotoxines.....	248
11.2.6 Bancarisation des données .....	250
11.2.7 Gestion sanitaire.....	251
11.2.7.1 Existence d'un protocole régional.....	251
11.2.7.2 Gestion des usages.....	251
11.2.7.3 Typologie des protocoles de gestion sanitaire.....	252
11.2.7.4 Signalements sanitaires .....	254
11.2.7.5 Difficultés de gestion sanitaire.....	254
11.2.8 Points à retenir .....	255
<b>12 Exploitation des bases de données nationales.....</b>	<b>257</b>
<b>12.1 Analyse des données utilisées.....</b>	<b>257</b>
12.1.1 Origine des données .....	257
12.1.2 Choix des composantes principales.....	258
<b>12.2 Représentation graphique des données .....</b>	<b>258</b>
<b>12.3 Limites de l'exploitation des données extraites.....</b>	<b>259</b>
12.3.1 Quantifications des cyanobactéries .....	259
12.3.2 Spécificités des analyses de cyanotoxines .....	259

<b>12.4 Représentation graphique du dénombrement des cyanobactéries.....</b>	<b>261</b>
12.4.1 Contamination des eaux destinées à la consommation humaine.....	261
12.4.1.1 Eaux de captage.....	261
12.4.1.1.1 Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries.....	261
12.4.1.1.2 Dénombrement des cyanobactéries toxigènes.....	266
12.4.1.2 Eaux destinées à la consommation humaine.....	267
12.4.1.2.1 Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries.....	267
12.4.1.2.2 Dénombrement des cyanobactéries toxigènes.....	271
12.4.1.3 Contamination des eaux de baignades.....	272
12.4.1.3.1 Sites de baignade et de loisirs nautiques.....	272
12.4.1.3.2 Sites de baignade artificielle.....	277
<b>12.5 Conclusion.....</b>	<b>279</b>
<b>13 Estimation de l'exposition <i>via</i> l'eau.....</b>	<b>282</b>
<b>13.1 Voies d'exposition retenues.....</b>	<b>282</b>
13.1.1 Eaux destinées à la consommation humaine (EDCH).....	282
13.1.2 Eaux récréatives.....	282
<b>13.2 Populations exposées.....</b>	<b>283</b>
<b>13.3 Valeurs paramétriques retenues pour l'élaboration des scénarios d'exposition.....</b>	<b>284</b>
13.3.1 Masse corporelle.....	284
13.3.2 Volumes d'eau ingérés.....	284
13.3.2.1 EDCH.....	284
13.3.2.2 Eaux récréatives.....	285
13.3.3 Durée et fréquence d'exposition.....	286
13.3.3.1 EDCH.....	286
13.3.3.2 Eaux récréatives.....	286
13.3.4 Consommation de poissons d'eau douce.....	288
<b>13.4 Caractérisation du risque.....</b>	<b>288</b>
13.4.1 Estimation d'une concentration maximale tolérable de cyanotoxines dans les eaux.....	288
13.4.1.1 EDCH.....	288
13.4.1.2 Eaux récréatives.....	289
13.4.2 Estimation des incertitudes.....	290
13.4.3 Synthèse des valeurs guides.....	291
<b>13.5 Élaboration des seuils de gestion.....</b>	<b>291</b>
<b>14 Estimation de l'exposition <i>via</i> la consommation de poisson d'eau douce</b>	<b>296</b>
<b>14.1 Méthodologie de travail.....</b>	<b>296</b>
14.1.1 Méthode de calculs pour proposer des fréquences de consommation en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsine dans la chair de poisson n'entraînant pas de dépassement de la valeur toxicologie de référence (risque subchronique).....	296
14.1.2 Méthode de calculs pour proposer une concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu).....	298
14.1.3 Modalités de suivi de la contamination des poissons par les cyanotoxines.....	299
<b>14.2 Fréquences de consommation de poisson en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsine dans la chair de poisson.....</b>	<b>300</b>
14.2.1 Pour la microcystine-LR.....	300
14.2.2 Pour la cylindrospermopsine.....	301

<b>14.3</b>	<b>Concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu).....</b>	<b>302</b>
<b>14.4</b>	<b>Pour l'anatoxine-a .....</b>	<b>303</b>
<b>14.5</b>	<b>Corrélation des valeurs guides proposées pour la baignade à un risque lié à la consommation de poissons .....</b>	<b>303</b>
14.5.1	Conclusions .....	305
<b>14.6</b>	<b>Proposition de modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade indépendamment des seuils de cyanobactéries actuels.....</b>	<b>305</b>
<b>15</b>	<b>Synthèse et recommandations.....</b>	<b>308</b>
<b>15.1</b>	<b>Identification des cyanobactéries potentiellement toxigènes .....</b>	<b>310</b>
<b>15.2</b>	<b>Voies d'exposition aux cyanotoxines et cas d'intoxication recensés en France .....</b>	<b>310</b>
<b>15.3</b>	<b>Effets toxiques des cyanotoxines, valeurs toxicologiques de référence.....</b>	<b>311</b>
<b>15.4</b>	<b>Maîtrise des dangers.....</b>	<b>314</b>
<b>15.5</b>	<b>État des lieux de la présence des cyanobactéries et des cyanotoxines en France ...</b>	<b>316</b>
<b>15.6</b>	<b>État des pratiques des agences régionales de santé en matière de contrôle sanitaire et gestion sanitaire des proliférations de cyanobactéries.....</b>	<b>317</b>
<b>15.7</b>	<b>Estimation des risques sanitaires.....</b>	<b>317</b>
<b>15.8</b>	<b>Détection et Quantification des cyanobactéries .....</b>	<b>319</b>
15.8.1	Détection des proliférations .....	319
15.8.2	Prélèvement de cyanobactéries .....	320
15.8.2.1	Prélèvement et conservation des cyanobactéries planctoniques et des cyanotoxines.....	320
15.8.2.1.1	<i>Matériel et flaconnage .....</i>	<i>320</i>
15.8.2.1.2	<i>Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques.....</i>	<i>321</i>
15.8.2.1.3	<i>Prélèvement des ressources d'origine superficielle utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement .....</i>	<i>321</i>
15.8.2.1.4	<i>Conservation et transport .....</i>	<i>321</i>
15.8.2.2	Prélèvement et conservation des cyanobactéries benthiques et des cyanotoxines .....	322
15.8.2.2.1	<i>Matériel et flaconnage .....</i>	<i>322</i>
15.8.2.2.2	<i>Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques.....</i>	<i>322</i>
15.8.2.2.3	<i>Prélèvement des ressources utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement .....</i>	<i>322</i>
15.8.2.2.4	<i>Conservation et transport .....</i>	<i>322</i>
15.8.3	Quantification de la chlorophylle-a, identification et quantification des cyanobactéries .....	323
15.8.3.1	Quantification de la chlorophylle-a dans les échantillons phytoplanctoniques .....	323
15.8.3.2	Identification et quantification des cyanobactéries par microscopie .....	323
15.8.3.2.1	<i>Identification et quantification des cyanobactéries planctoniques .....</i>	<i>323</i>
15.8.3.2.2	<i>Identification des cyanobactéries benthiques .....</i>	<i>324</i>
<b>15.9</b>	<b>Détection et quantification des toxines .....</b>	<b>324</b>
<b>15.10</b>	<b>Contamination des poissons d'eau douce par les cyanobactéries .....</b>	<b>325</b>
15.10.1	Fréquences de consommation à ne pas dépasser en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsines dans la chair de poisson .....	325
15.10.1.1	Microcystine-LR.....	325
15.10.1.2	Cylindrospermopsine.....	326
15.10.1.3	Concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu) .....	327
15.10.1.4	Anatoxine-a .....	327
15.10.2	Possibilité de corréler des seuils de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans les eaux de baignade à un risque lié à la consommation de poisson d'eau douce .....	328



15.10.3	Modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade.....	329
<b>15.11</b>	<b>Stratégie de surveillance des ressources utilisées pour la production d'eau potable et gestion sanitaire .....</b>	<b>331</b>
15.11.1	Cyanobactéries planctoniques .....	331
15.11.2	Cyanobactéries benthiques.....	335
<b>15.12</b>	<b>Stratégie de suivi des eaux récréatives et gestion sanitaire .....</b>	<b>335</b>
15.12.1	Cyanobactéries planctoniques .....	335
15.12.1.1	Eaux de baignade .....	335
15.12.1.2	Zones de loisirs nautiques.....	336
15.12.1.3	Recommandations générales.....	336
15.12.2	Cyanobactéries benthiques.....	338
<b>15.13</b>	<b>Recommandations générales .....</b>	<b>340</b>
<b>16</b>	<b>Bibliographie.....</b>	<b>341</b>
<b>16.1</b>	<b>Publications.....</b>	<b>341</b>
16.1.1	Rapports.....	341
16.1.2	Articles scientifiques.....	344
<b>16.2</b>	<b>Normes.....</b>	<b>402</b>
<b>16.3</b>	<b>Législation et réglementation.....</b>	<b>403</b>
<b>16.4</b>	<b>Sources.....</b>	<b>405</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>.....</b>	<b>407</b>
<b>Annexe 1</b>	<b>: Lettre de saisine.....</b>	<b>408</b>
<b>Annexe 2</b>	<b>: Protocole de la revue systématique relative à la construction des valeurs toxicologiques de références pour la microcystine, la cylindrospermopsine et la saxitoxine .....</b>	<b>410</b>
<b>Annexe 3</b>	<b>: Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines.....</b>	<b>412</b>
<b>Annexe 4</b>	<b>: Détails des circonstances d'expositions aux cyanotoxines relatives à une activité de baignade.....</b>	<b>414</b>
<b>Annexe 5</b>	<b>: Clé de détermination visuelle d'une prolifération de cyanobactéries planctoniques.....</b>	<b>416</b>
<b>Annexe 6</b>	<b>: Questionnaire de recensement des pratiques des ARS en matière de surveillance et de gestion des cyanobactéries et de leurs toxines.....</b>	<b>420</b>
<b>Annexe 7</b>	<b>: Conditions de la requête des bases de données SISE-Eaux et SISE-Baignades.....</b>	<b>429</b>
<b>Annexe 8</b>	<b>: Biovolume en fonction des genres de cyanobactéries .....</b>	<b>431</b>
<b>Annexe 9</b>	<b>: Revue systematique relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanobactéries et leurs toxines associées .....</b>	<b>433</b>
<b>Annexe 10</b>	<b>: Exemple de fiche de renseignements - Cyanobactéries en zone de baignade et/ou d'activités nautiques (d'après un document du SMGBL et d'Irstea) .....</b>	<b>436</b>
<b>Annexe 11</b>	<b>: Protocole de dénombrement des cyanobactéries planctoniques .....</b>	<b>437</b>

**Annexe 12 : Exemple d'affichage proposé par les ARS.....438**

## Sigles et abréviations

ACAP : antioxydant capacity

ACh : acétylcholine

AChE : acétylcholinestérase

ACN : acétonitrile

ADDA : acide-3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-diénoïque

ADME : absorption, distribution, métabolisme et excrétion

AFSSA : agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation

AFSSET : agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail

AHA : acides haloacétiques

ANC : assainissement non collectif

Anses : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARS : agence régionale de santé

ARfD : acute reference dose

AOAC : association of official analytical chemists

AQT : apport quotidien tolérable

ARN : acide ribonucléique

ATX : anatoxine

BMAA: beta-méthylamino-L-alanine

BMD : benchmark dose

BMDL : benchmark dose modelling

BuOH : butanol

BV : biovolume

Canaux Cav : canaux calcium sensibles au potentiel de membrane

Canaux Kv : canaux potassium sensibles au potentiel de membrane

Canaux Nav : canaux sodium sensibles au potentiel de membrane

CAP : centre anti-poison

CAT : catalase

CB : cyanobactérie(s)

CBMN : cytokinesis-block micronucleus test

CES : comité d'experts spécialisé

CG : chromatographie en phase gazeuse

CL : chromatographie en phase liquide

CL-SM/SM: chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

CL/FLD: chromatographie liquide couplée à un détecteur de fluorescence

CLHP: chromatographie liquide haute performance

CL-UV : chromatographie liquide couplée à un détecteur ultra-violet

CIRC : centre international de recherche sur le cancer

CMA : concentration maximale admissible

COD : carbone organique dissous

COT : carbone organique total

CSHPF : conseil supérieur d'hygiène publique de France

CT : produit de la concentration en désinfectant résiduel (C) au bout du temps de contact (T). Utilisé en traitement de désinfection des eaux destinées à la consommation humaine

CYN : cylindrospermopsine

DA : dopamine

DCE : directive cadre sur l'eau

dcSTX : décarbamoyle Saxitoxine

DDASS : direction départementale des affaires sanitaires et sociales

DGS : direction générale de la santé

DJT : dose journalière tolérable

DLM : dose létale minimale

DL<sub>50</sub> : dose létale 50

DMENO : dose minimale avec un effet nocif observable

DOPA : 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid

DSENO : dose sans effet nocif observé (NOAEL en anglais, No observed adverse effect level)

DT-ARS : délégation territoriale des agences régionales de santé

EDCH : eaux destinées à la consommation humaine

EFFLOCYA : efflorescence de cyanobactéries

EFSA : european food safety authority (Agence européenne de Sécurité des aliments)

EI-SM : impact électronique couple à la spectrométrie de masse

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay (méthode immuno-enzymatique)

ENDWARE : european network of drinking water regulator

Éq-STX : équivalent saxitoxine

ERCA : évaluation des risques chimiques dans les aliments

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FAO : food and agriculture organization

FLD : détecteur par fluorescence

FSH : hormone folliculo stimulante

GABA : acide  $\gamma$ -aminobutyrique

GCL : glutamate cystéine ligase

Gluc-STX : glucuronic saxitoxin

GSH : glutathion réduit

GT: groupe de travail

GTX : gonyautoxine

GST : glutathion S-transférase

hATX-a : homoanatoxine-a

HCl : acide chlorhydrique

HED : human equivalent dose

hERG : human ether-a-go-go-related gene

HILIC : chromatographie liquide d'interaction hydrophile

IA : inhibitory avoidance

ICBN : international code of botanical nomenclature (code international de botanique)

ICNP : international code of nomenclature of prokaryotes (code international de nomenclature des procariotes)

IgE : immunoglobuline E

i.m : intramusculaire

i.n : intranasale

i.p : intrapéritonéale

i.t : intratrachéale

i.v : intraveineuse

IPFM : intoxications paralytiques par fruits de mer

ISTISAN : istituto superiore di sanità

KMnO<sub>4</sub> : permanganate de potassium

LB : lower bound (limite basse)

LDTD-APCI

LHN : laboratoire d'hydrologie de Nancy

LOAEL : low observed adverse effect level

Log Kow : logarithme du coefficient de partage octanol-eau

LPS : lipopolysaccharide

MALDI-TOF-SM : spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) et un analyseur à temps de vol (TOF, time-of-flight)

MBA : mouse bio assay

MC : microcystine(s)

MCE : extrait de cyanobactéries microcystiques

MC-LR (MC LR, RR, YR, LA, YM, LW) : différents variants de la microcystine

MC GSH : conjugué glutathione de la microcystine

MDR : multi drug resistance

MeOH : méthanol

MI-SM : mobilité ionique couplé à la spectrométrie de masse

MMPB : acide 2-méthyl-3-méthoxy-4-phénylbutanoïque

MTS : sel de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium

MTT : sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium)

MU : mouse unit

NBD-F : fluoro-nitro-benzoxadiazole

NéoST : néosaxitoxine

NOAEL : no observed adverse effect level

NOD: nodularines

OATP : transporteur d'anion organique

OCDE : organisation de coopération et de développement économique

OMS : organisation mondiale de la santé

OTM : olive tail moment

p.c.: poids corporel

PDA : photodiode array

PES : polyether sulfone

Pgp : P-glycoprotéine

PP : protéines phosphatase

PVDF : polyfluorure de vinyldiène

PGSSE : plan de gestion de la sécurité sanitaire des eaux

PREB : personne responsable des eaux de baignade

PRPDE : personne responsable de la production et de la distribution des eaux

PSP : paralytic shellfish poisoning

PST : paralytic shellfish toxin

RfD : reference dose

RmACh : récepteur muscarinique de l'actétylcholine

RnACh : récepteur nicotinique de l'actétylcholine

RESE : réseau en santé environnement

SNC : système nerveux central

SNP : système nerveux périphérique

SNV : système nerveux végétatif

SOD: superoxyde dismutase

STX : saxitoxine

SM : spectrométrie de masse

SM/HR spectrométrie de masse haute résolution

SM/SM : spectrométrie de masse en tandem

SPME : microextraction sur phase solide

SPE : solid phase extraction liquid chromatography (extraction en phase solide)

SPE-LC-MS/MS : solid phase extraction liquid chromatography tandem mass spectrometry (extraction en phase solide couplée à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse en tandem)

STEP/STEU : station de traitement des eaux usées

TDI : tolerable daily intake

TEF : toxicity equivalent factor

THM : trihalométhanes : composés formés par action du chlore sur la matière organique de l'eau

TFA : acide trifluoroacétique

TTX : tétrodoxtine

UB : upper bound (limite haute)

UF : facteur d'incertitude (Uncertainty Factor)

UF<sub>A</sub> : facteur d'incertitude inter-espèces

UF<sub>D</sub> : facteur d'incertitude au manque de données

UF<sub>H</sub> : facteur d'incertitude interindividuel

UF<sub>H-TK</sub> : composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel

UF<sub>H-TD</sub> : composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel

UF<sub>S</sub> : facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique

UE : union européenne

UF : ultra-filtration

US EPA : united states environment protection agency

UV : ultra-violets

VG : valeur guide

VI : valeur indicative

VMA : valeur maximale admissible

VR : valeur de référence

VTR : valeur toxicologique de référence

XTT : 2,3-Bis-(2-methoxy 4-nitro-5-sulfo-phenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide



## Glossaire

**Autosurveillance** : L'autosurveillance correspond à l'ensemble des mesures mises en œuvre sous la responsabilité de la personne juridiquement responsable des eaux destinées à la consommation humaine et des eaux de baignade, en complément du contrôle sanitaire officiel. L'autosurveillance peut comporter une surveillance visuelle des eaux, la réalisation d'un programme de prélèvements et d'analyses des eaux, le suivi d'indicateurs, dont l'objectif est de vérifier l'efficacité de fonctionnement du système de production et de distribution d'eau ou l'absence de pollution.

**Bassin versant** : Ensemble du territoire dont les eaux s'écoulent vers un même point et qui peut être un cours d'eau, un plan d'eau ou l'océan.

**Bloom** : Anglicisme, correspondant au terme d'efflorescence.

**Chlorophylle-a** : La chlorophylle-a (chl-a) est le pigment photosynthétique le plus commun du règne végétal et la forme majoritaire de la chlorophylle. Ce pigment est présent chez tous les organismes effectuant la photosynthèse. La mesure de sa concentration dans l'eau est utilisée comme indicateur de la biomasse de phytoplancton (indice trophique), et donc de la production primaire et présente l'avantage d'être dosée rapidement. Les concentrations en chlorophylle-a dans l'eau sont habituellement exprimées en µg/L ou mg/m<sup>3</sup>.

**Colonie** : Groupe de cellules jointes entre elles de façon plus ou moins permanente, ou enveloppées dans un même mucilage ou gaine.

**Colonne d'eau** : Masse d'eau qui se trouve entre la surface et le fond du milieu aquatique.

**Contrôle sanitaire des eaux** : Le contrôle sanitaire des eaux relève de la compétence de l'Etat et correspond à l'ensemble des opérations officielles de vérification du respect des dispositions législatives et réglementaires relatives à la sécurité sanitaire des eaux de consommation et des eaux de baignade. Il comprend notamment :

- La réalisation d'un programme de prélèvements et d'analyses de la qualité de l'eau et l'interprétation sanitaire des résultats ;
- L'inspection des eaux de baignade et de l'ensemble du système de production et de distribution des eaux destinées à la consommation humaine (points de captage, stations de traitement, réservoirs et réseaux de distribution) ;
- Le contrôle des mesures de gestion et de sécurité sanitaire mises en œuvre par les personnes juridiquement responsables des eaux destinées à la consommation humaine et des eaux de baignade.

Le contrôle des eaux de consommation et des eaux de baignade est assuré par le ministère en charge de la santé *via* ses services déconcentrés dans les agences régionales de santé.

**Écume** : Ce terme, traduit littéralement de l'anglais "scum", fait référence à une accumulation dense de microalgues à la surface de l'eau. Le terme écume est utilisé dans le sens où de grandes nappes mousseuses et colorées peuvent être observées, le plus souvent sur les rives ou rivages. Ce phénomène est souvent la conséquence de deux mécanismes successifs : l'accumulation de cellules à la surface de la colonne d'eau lorsque les conditions sont calmes, puis une accumulation de ces cellules au niveau des rives par l'intermédiaire de l'action du vent et de conditions environnementales particulières. Ainsi, l'absence d'écume ne traduit pas une absence de prolifération.

**Exposition** : En évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, trois types de durée d'exposition sont définies. L'Anses a décidé de retenir les mêmes durées d'application que l'ATSDR (Anses, 2017) :

Exposition aiguë : 1 à 14 jours ;

Exposition chronique : 15 à 364 jours ;

Exposition subchronique : à partir de 365 jours.

**Eutrophisation** : Processus d'enrichissement en éléments nutritifs et de vieillissement d'un milieu aquatique. Il est caractérisé par une diminution de la qualité des eaux (augmentation des nutriments comme le phosphore, baisse de la transparence et de l'oxygène dissous), une augmentation de la biomasse végétale ou algale, une modification de la communauté de poissons. Ainsi, les milieux, au fur et à mesure de leur enrichissement, peuvent passer de stades oligotrophes à méso- puis eutrophes. Il faut distinguer l'eutrophisation naturelle qui se produit à l'échelle des temps géologiques, de l'eutrophisation anthropique qui correspond à un apport excessif et rapide d'éléments nutritifs dans les eaux, entraînant une prolifération massive des producteurs primaires, dont les cyanobactéries, un appauvrissement en oxygène et conduit à un déséquilibre de l'écosystème.

**Fitness cellulaire**: Terme anglais qui se rapporte à la capacité/valeur adaptative des cellules.

**Macrophyte** : Ce terme englobe tous les végétaux aquatiques visibles à l'oeil nu, c'est-à-dire les plantes supérieures (immergées et émergentes) et les macroalgues.

**Métalimnion** : Le métalimnion représente, en période de stratification thermique, la partie de la colonne d'eau caractérisée par une diminution rapide de la température avec la profondeur. Dans cette région de la colonne d'eau, la diffusion est faible, ce qui limite les échanges entre la couche supérieure (épilimnion) et la couche inférieure (hypolimnion).

**Nutriment** : Élément essentiel pour la croissance, la survie et la reproduction d'un organisme donné. On distingue les macronutriments (Carbone, Hydrogène, Azote, Oxygène, Phosphore, Soufre, Calcium et Silice) et les micronutriments (e.g Manganèse, Fer).

**Oligotrophe** : Un milieu oligotrophe est un milieu pauvre en éléments nutritifs. Dans un milieu oligotrophe, les eaux sont peu minéralisées, bien oxygénées et la transparence de l'eau est forte. La biomasse phytoplanctonique est faible et les espèces peu diversifiées. Par cascade, les organismes consommant ce phytoplancton sont également peu nombreux et adaptés à ces conditions environnementales. Les poissons rencontrés sont essentiellement des salmonidés, habitués à des eaux claires et peu riches.

**Phycocyanine** : pigment photosynthétique de la famille des phycobilines. Majoritaire chez les cyanobactéries et de longueur d'onde d'absorbance maximale de 620 nm. La phycocyanine n'absorbe pas la lumière dans les longueurs d'onde bleues d'où le terme « algues bleues » fréquemment utilisé dans le langage courant pour les cyanobactéries.

**Phycotoxines** : Désigne l'ensemble des toxines produites par certaines espèces de microalgues marines et d'eau douce. En eau douce, les problèmes causés par les phycotoxines sont souvent le résultat des proliférations de cyanobactéries produisant des cyanotoxines, principalement des hépatotoxines (ex. microcystine), neurotoxines (ex. anatoxines) et dermatotoxines (ex. lyngbiatoxines). En eau marine, les principales phycotoxines sont diarrhéiques (ex. DSP produite par *Dinophysis* sp.), paralysantes (ex. PSP produite par *Alexandrium* sp.) et amnésiantes (ex. ASP produite par *Pseudonitzschia* sp.).

**Picocyanobactérie** : Cyanobactérie de taille de l'ordre du micromètre et inférieure.

**Rupture de la stabilité et destratification** : Processus ayant lieu généralement en automne en milieu tempéré et lac profond et au cours duquel la colonne est brassée (vent, refroidissement de l'eau de surface) et perd son organisation en couches successives de température homogène présente en été.

**Stratification thermique**: Une stratification thermique peut s'établir dans les plans d'eau (en période estivale pour les lacs de régions tempérées) lorsqu'une différence de température entre l'eau de surface et l'eau du fond s'établit pendant plusieurs jours. La colonne d'eau se trouve divisée en trois strates de températures différentes. La couche supérieure, ou Epilimnion, présente des températures homogènes et élevées ; la couche profonde ou Hypolimnion présente des températures homogènes et froides ; la zone intermédiaire, ou Métalimnion, montre une diminution de la température avec la profondeur. Dans les lacs profonds, la stratification peut s'établir pour l'ensemble de la période estivale et la destratification survient alors à l'automne après la diminution des températures atmosphériques et l'augmentation de la fréquence des épisodes ventés. Dans les lacs peu profonds ou dans les régions où les variations de températures sont relativement faibles entre les différentes saisons, des épisodes de stratification et destratification peuvent se succéder dans le temps de manière plus ou moins rapprochée.

**Zone de baignade** : Au sens de la directive 2006/7/CE, une eau de baignade est définie comme toute partie des eaux de surface dans laquelle l'autorité compétente s'attend à ce qu'un grand nombre de personnes se baignent et dans laquelle elle n'a pas interdit ou déconseillé la baignade de façon permanente. Cette directive est transposée dans le droit français par le décret n° 2008-990 du 18 septembre 2008 relatif à la gestion de la qualité des eaux de baignade et des piscines.

**Zone de radiers** : partie d'un cours d'eau peu profonde (quelques centimètres à quelques dizaines de centimètres) où l'écoulement est rapide et dont la surface est hétérogène avec la présence de graviers et galets.

## Liste des figures

Figure 1 : exemples de prolifération de cyanobactéries planctoniques .....	49
Figure 2 : galets recouverts de biofilms à <i>Phormidium</i> (aussi appelé <i>Kamptomena</i> ou <i>Microcoleus</i> ) et biofilms se développant sur les végétaux (plaques de couleur foncée) dont les extrémités flottent dans le courant .....	49
Figure 3 : structure chimique de la microcystine-LR, avec une leucine (L) et une arginine (R), acides aminés de type L en positions 2 et 4 .....	59
Figure 4 : structure chimique de la cylindrospermopsine .....	70
Figure 5 : structure chimique de la saxitoxine .....	76
Figure 6 : voie métabolique proposée pour les réactions d'oxydation et de glucuronidation des toxines des coquillages paralytiques (PST) .....	78
Figure 7 : relation structure-fonction du Nav .....	80
Figure 8 : structure chimique de l'anatoxine-a .....	92
Figure 9 : structure chimique de l'anatoxine-a(s) .....	95
Figure 10 : répartition annuelle des cas d'intoxications humaines par des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018. ....	104
Figure 11 : répartition régionale des cas d'intoxications humaines à des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 à 31/12/2018. ....	105
Figure 12 : répartition départementale des cas d'intoxications humaines à des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018. ....	105
Figure 13 : répartition par sexe et par âge des cas d'expositions symptomatiques à des cyanobactéries, rapportés aux centres antipoison (CAP) entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018. ....	106
Figure 14 : répartition des circonstances d'exposition aux cyanobactéries. ....	106
Figure 15 : stratégie pour l'analyse des cyanotoxines lipophiles et hydrophiles dans l'eau et les organismes aquatiques .....	139
Figure 16 : principes de traitement d'une eau de surface (en pointillés étapes optionnelles) .....	172
Figure 17 : exemple de modèle de gestion des risques des cyanobactéries dans l'eau .....	193
Figure 18 : gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries dans les eaux de baignade en France .....	204
Figure 19 : départements ayant répondu au questionnaire (en vert) .....	220
Figure 20 : mise en œuvre d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux brutes par les Agences régionales de santé (en nombre de départements) .....	222
Figure 21: typologie des sites d'eau utilisée pour la production d'eaux destinées à la consommation humaine faisant l'objet d'un suivi de la part des Agences régionales de santé (valeur exprimée en proportion de départements mettant en œuvre un suivi) .....	222
Figure 22 : répartition des départements en fonction de l'année de mise en œuvre du suivi et représentation géographique des départements métropolitains concernés (en bleu) .....	223

Figure 23 : mise en œuvre d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux traitées (en nombre de départements).....	223
Figure 24 : répartition des départements en fonction de l'année de mise en œuvre du suivi.....	223
Figure 25 : paramètres recherchés par les départements dans le cadre du suivi des cyanobactéries .....	224
Figure 26 : paramètres recherchés par les départements dans le cadre du suivi des cyanotoxines (en proportion de départements).....	225
Figure 27 : modalités de mise en œuvre de la surveillance par les ARS en nombre de départements .....	226
Figure 28 : stratégie de surveillance mise en œuvre par les départements .....	227
Figure 29 : coût du contrôle sanitaire des cyanobactéries et de leurs toxines (exprimé en hors taxe en euros par échantillon analysé).....	228
Figure 30 : techniques analytiques mises en œuvre pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries.....	229
Figure 31 : délais analytiques mis en œuvre pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries	229
Figure 32 : techniques analytiques mises en œuvre pour l'analyse des cyanotoxines .....	230
Figure 33 : fractions analysées pour le dosage des cyanotoxines en eau brute .....	231
Figure 34 : fractions analysées pour le dosage des cyanotoxines en eau traitée .....	231
Figure 35 : délais analytiques mis en œuvre pour l'analyse des cyanotoxines .....	232
Figure 36 : bancarisation des résultats des analyses des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans SISE-Eaux par les départements .....	232
Figure 37 : paramètres bancarisés sous SISE-Eaux d'alimentation en nombre de départements.....	233
Figure 38 : évolution de la bancarisation des données par paramètre dans la base SISE-Eaux d'alimentation (en nombre de départements) .....	233
Figure 39 : stratégies de gestion mises en œuvre par les départements sur les EDCH (en nombre de départements).....	234
Figure 40 : mise en œuvre de mesures de gestion sanitaire par les délégations territoriales des Agences régionales de santé (en nombre de départements).....	235
Figure 41 : nature des mesures de gestion sanitaire mises en œuvre par les départements (en nombre de départements).....	236
Figure 42 : difficultés de gestion rencontrées par les départements (en nombre de départements).....	237
Figure 43 : signaux sanitaires portés à la connaissance des Agences régionales de santé en lien possible avec la présence de cyanobactéries .....	237
Figure 44 : répartition géographique des suivis de cyanobactéries et cyanotoxines dans les eaux de baignade .....	239
Figure 45 : période de démarrage du suivi des cyanobactéries (eaux de baignade) .....	240
Figure 46 : répartition géographique des suivis de cyanobactéries et cyanotoxines dans les zones de loisirs nautiques.....	240
Figure 47 : paramètres de la surveillance des cyanobactéries (eaux de baignade).....	241
Figure 48 : toxines recherchées à la demande des ARS (eaux de baignade).....	242
Figure 49 : paramètres de terrain recherchés à la demande des ARS (eaux de baignade).....	242

Figure 50 : fréquence de suivi des paramètres liés aux cyanobactéries (eaux de baignade) .....	243
Figure 51 : illustration graphique des prix en fonction des différentes analyses .....	246
Figure 52 : méthodes d'analyse pour le dénombrement des cyanobactéries (eaux de baignade) .....	247
Figure 53 : délais de transmission des dénombrements de cyanobactéries (eaux de baignade) .....	248
Figure 54 : méthodes d'analyse des cyanotoxines (eaux de baignade) .....	248
Figure 55 : expression du résultat des analyses de cyanotoxines (eaux de baignade).....	249
Figure 56 : délais de transmission des analyses de cyanotoxines (eaux de baignade) .....	249
Figure 57 : bancarisation des paramètres de suivi des cyanobactéries (eaux de baignade) .....	251
Figure 58 : principes de gestion sanitaire de l'usage pêche sur les sites de baignade surveillés .....	252
Figure 59 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 5000 et 200 000 cell.mL <sup>-1</sup> - France métropolitaine- Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017 .....	262
Figure 60 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 200 000 et 500 000 cell.mL <sup>-1</sup> - France métropolitaine - Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017.....	263
Figure 61 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieurs à 500 000 cell.mL <sup>-1</sup> - France métropolitaine - Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017 .....	264
Figure 62 : représentation cartographique du pourcentage de résultats des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 5 000 et 200 000 cell.mL <sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017.....	267
Figure 63 : représentation cartographique du pourcentage de résultats des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 200 000 et 500 000 cell.mL <sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017.....	268
Figure 64 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieurs à 500 000 cell.mL <sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017 .....	269
Figure 65 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 20 000 et 100 00 cell.mL <sup>-1</sup> – Eaux de baignade - France métropolitaine et île de la Réunion - 2010 à 2017.....	273
Figure 66 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieurs à 100 00 cell.mL <sup>-1</sup> – Eaux de baignade - France métropolitaine et île de la Réunion - 2010 à 2017 .....	274
Figure 67 : arbre trachéobronchique .....	283
Figure 68 : distribution des nombres de cellules (cell.mL <sup>-1</sup> ), biovolumes (mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> ) et concentrations en microcystines (µg.L <sup>-1</sup> ) en échelle log de la base SISE-Baignades .....	292
Figure 69 : relation entre les concentrations en microcystines et les biovolumes en cyanobactéries (en échelle log). La ligne continue représente le modèle d'équation $Y \text{ (mm}^3\text{.L}^{-1}\text{)} = e^{[0,67155 \times \ln X(\mu\text{g/L}) + 0,66227]}$ . Les lignes en pointillées représentent l'intervalle de confiance à 95 % du modèle. Les lignes vertes représentent les valeurs recherchées en microcystines de 0,2 et 1 µg.L <sup>-1</sup> .....	293
Figure 70 : distribution des biovolumes totaux et de cyanobactéries (mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> ) et concentrations en chlorophylle-a (µg/L) en échelle log de la base DCE-Plan d'eau .....	294
Figure 71 : corrélation entre les biovolumes de cyanobactéries et les concentrations en chlorophylle-a (en échelle log). La ligne continue représente le modèle d'équation $Y \text{ (}\mu\text{g.L}^{-1}\text{)} = e^{[0,187561 \times \ln X(\text{mm}^3\text{/L}) + 2,306044]}$ .	

Les lignes en pointillées représentent l'intervalle de confiance à 95% du modèle. La ligne verte représente la valeur recherchée de 1,939 µg. L<sup>-1</sup>..... 295

Figure 72 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des EDCH vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.....	334
Figure 73 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.....	337
Figure 74 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries benthiques .....	339
Figure 75 : conditions de la requête de la base SISE-Eaux.....	429
Figure 76 : conditions de la requête de la base SISE-Baignades.....	430

## Liste des tableaux

Tableau I : les acteurs gestionnaires.....	40
Tableau II : les acteurs usagers .....	40
Tableau III : les acteurs relais.....	40
Tableau IV : rapports des acteurs gestionnaires aux cyanobactéries.....	41
Tableau V : rapports des acteurs usagers aux cyanobactéries .....	43
Tableau VI : rapports des acteurs-relais aux cyanobactéries .....	44
Tableau VII : Aléas de l'intervention publique .....	45
Tableau VIII : taxons producteurs de cyanotoxines en eaux douce et marine présentant une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres .....	56
Tableau IX : valeurs toxicologiques pour la MC-LR acquises <i>in vivo</i> avec des voies d'administration orale ou intranasale.....	67
Tableau X : valeurs de toxicité aiguë estimées sur rongeurs de la CYN ou d'extraits de cyanobactéries en contenant par différentes voies d'administration. ....	72
Tableau XI : valeurs toxicologiques pour la cylindrospermopsine acquises <i>in vivo</i> lors d'études subchroniques.....	73
Tableau XII : résultats d'études expérimentales de toxicologie aiguë de la STX et de ses variants par différentes types de voies orales chez différentes espèces de vertébrés.....	85
Tableau XIII : résultats d'études expérimentales de toxicologie aiguë de la STX et de ses variants par différentes voies (intraveineuse, intrapéritonéale, sous-cutanée et intramusculaire) chez différentes espèces de vertébrés.....	87
Tableau XIV : valeurs toxicologiques repères de l'ATX-a, sur souris, par différentes voies d'administration	93
Tableau XV: valeurs toxicologiques repères de l'ATX-a(s).....	96
Tableau XVI : cas rapportés ou suspectés d'intoxications aiguës par les cyanotoxines suite à la consommation d' EDCH ou lors d'usage médical (hémodialyse).....	100
Tableau XVII : cas rapportés d'intoxications humaines par des cyanotoxines lors d'activités récréatives, classés par ordre chronologique.....	109

Tableau XVIII : cas rapportés d'intoxications chroniques par cyanotoxines dans l'eau de consommation humaine .....	113
Tableau XIX : modalités et dispositifs de prélèvements dans les différentes masses d'eau douce (d'après Leitão & Couté, 2005).....	123
Tableau XX : caractéristiques des fixateurs .....	126
Tableau XXI : méthodes de détection et de suivi des proliférations phytoplanctoniques et benthiques, spécificité vis-à-vis des cyanobactéries.....	132
Tableau XXII : méthodes de référence et alternatives définies dans les lignes directrices du Drinking-Water Quality Management de Nouvelle-Zélande .....	141
Tableau XXIII : comparaison des différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines .....	153
Tableau XXIV : moyens de lutte contre les proliférations de cyanobactéries planctoniques.....	168
Tableau XXV : efficacité des différentes étapes de traitement des eaux sur les cyanobactéries et leurs toxines.....	188
Tableau XXVI : valeurs sanitaires de référence disponibles au niveau international pour l'EDCH .....	194
Tableau XXVII : gestion des risques liés aux cyanobactéries : lignes directrices et réglementations étrangères pour l'eau destinée à la consommation humaine .....	195
Tableau XXVIII : exemples de valeurs guides proposées dans des États des États-Unis d'Amérique pour l'eau destinée à la consommation humaine.....	201
Tableau XXIX : seuils d'effets sur la santé proposés par l'Organisation mondiale de la santé pour les eaux récréatives.....	203
Tableau XXX : guides et réglementations internationales de gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries dans les eaux récréatives.....	206
Tableau XXXI : lignes directrices et réglementations encadrant les mesures de gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries et des toxines associées dans les eaux récréatives aux États-Unis	213
Tableau XXXII : recommandations et réglementations françaises relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons .....	216
Tableau XXXIII : recommandations et réglementations à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons .....	218
Tableau XXXIV : taux de réponse aux questionnaires.....	221
Tableau XXXV : paramètres terrain recherchés.....	226
Tableau XXXVI : exemples de seuils de gestion utilisés par les Agences régionales de santé pour les cyanotoxines (hors microcystines) dans les eaux destinées à la consommation humaine .....	235
Tableau XXXVII : protocoles de prélèvement rapportés par les Agences régionales de santé (eaux de baignade).....	244
Tableau XXXVIII : bancarisation des principaux paramètres de surveillance (eaux de baignade) .....	250
Tableau XXXIX : protocoles de gestion sanitaire adoptés par les ARS (eaux de baignade).....	252
Tableau XL : difficultés de gestion rapportées par les ARS (eaux de baignade).....	255
Tableau XLI : liste des genres de cyanobactéries identifiés dans les eaux de captages en France de 2010 à 2017 classés des plus fréquents aux moins fréquents (sur 1171 prélèvements).....	265



Tableau XLII : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup> , nombre de points de prélèvement et maximum et médiane des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries toxigènes dans les eaux de captage de 2010 à 2017 .....	267
Tableau XLIII : liste des genres de cyanobactéries identifiés dans les eaux traitées en France classés des plus fréquents au moins fréquents (sur 295 prélèvements) .....	270
Tableau XLIV : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup> , nombre de points de prélèvement et maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries potentiellement toxigènes dans le cas des eaux destinées à la consommation humaine .....	272
Tableau XLV : liste des genres de cyanobactérie les plus fréquemment identifiés (classés des plus fréquents au moins fréquents) lors de prélèvement dans le cas du contrôle sanitaire des sites de baignades et de loisirs nautiques sur la période 2010 à 2017 .....	275
Tableau XLVI : nombre de résultats, pourcentage de résultats supérieurs à 0 cell.mL <sup>-1</sup> , nombre de points de prélèvement, maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries toxigènes dans le cas des sites de baignade et de loisirs nautiques sur la période de 2010 à 2017 .....	277
Tableau XLVII : liste des genres de cyanobactéries les plus fréquemment rencontrés lors des prélèvements dans le cas des sites de baignade artificielle sur la période de 2010 à 2017 (sur 152 prélèvements) .....	277
Tableau XLVIII : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup> , nombre de points de prélèvement, maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries potentiellement toxigènes dans le cas des sites de baignade artificielle sur la période de 2010 à 2017 .....	279
Tableau XLIX : synthèse des données issues des bases SISE-Eaux et SISE-Baignades.....	280
Tableau L : ratios de la consommation hydrique totale quotidienne rapportée à la masse corporelle (au P95) selon les classes d'âge chez les adultes et enfants seuls consommateurs de chaque catégorie d'eau en France .....	285
Tableau LI : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour l'EDCH .....	286
Tableau LII : modalités de pratique des activités aquatiques.....	287
Tableau LIII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour les eaux récréatives .....	287
Tableau LIV : concentration maximale tolérable de cyanotoxines (microcystine, cylindrospermopsine et saxitoxine) dans l'EDCH .....	289
Tableau LV : concentrations maximales tolérables calculées pour trois cyanotoxines (microcystine, cylindrospermopsine et saxitoxine) et pour chaque classe de population considérée.....	290
Tableau LVI : concentrations maximales tolérables en cyanotoxines proposées pour l'EDCH et les eaux récréatives.....	291
Tableau LVII : estimation de la taille de portion moyenne de poisson et poids moyen dans la population ..	298
Tableau LVIII : taille de portion (g) de poisson selon la population aux percentiles 95 et 97,5 .....	298
Tableau LIX : répartition du nombre d'individus considérés dans l'étude de Bukaveckas <i>et al.</i> (2017), à partir des données brutes transmises par les auteurs .....	300
Tableau LX : fréquences de consommation de poisson à ne pas dépasser selon la contamination en MC-LR, pour les adultes et les enfants .....	301
Tableau LXI : fréquences de consommation de poisson à ne pas dépasser selon la contamination en CYN, pour les adultes et les enfants .....	302
Tableau LXII : estimation de la concentration maximale en STX à ne pas dépasser pour des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges .....	303

Tableau LXIII : nombre de poissons à prélever selon l'espèce.....	306
Tableau LXIV : contaminations moyennes en MC-LR de la chair de poisson en fonction de l'espèce et de la période de prélèvement.....	306
Tableau LXV : nombre de poissons à prélever selon l'espèce et la période de collecte des données .....	307
Tableau LXVI : valeurs toxicologiques de référence retenues pour trois cyanotoxines retrouvées en eau douce et dans les poissons d'eau douce.....	313
Tableau LXVII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour l'EDCH .....	318
Tableau LXVIII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour les eaux récréatives.....	318
Tableau LXIX : concentrations maximales tolérables en cyanotoxines proposées pour l'EDCH et les eaux récréatives.....	319
Tableau LXX : fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en MC-LR, pour les adultes et les enfants.....	326
Tableau LXXI : fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en CYN, pour les adultes et les enfants.....	326
Tableau LXXII : estimation de la concentration maximale en STX à ne pas dépasser pour des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges .....	327
Tableau LXXIII : détail des circonstances d'exposition relatives à une activité de baignade .....	414

# 1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

## 1.1 Contexte

Les cyanobactéries sont des bactéries photosynthétiques à Gram négatif dont la pigmentation varie du bleu-vert au rouge. Elles sont encore parfois désignées, à tort du point de vue biologique, sous le terme d'algues bleues. Les cyanobactéries se développent dans les milieux terrestres et aquatiques, qu'ils soient saumâtres, marins ou dulçaquicoles. Lorsque les conditions environnementales (température, nutriments) leur sont favorables, elles peuvent alors proliférer de manière massive et rapide (en quelques jours), on parle alors d'efflorescence (ou « bloom » en anglais). Dans certains cas, ces proliférations entraînent un changement de couleur de l'eau, une odeur nauséabonde et/ou leur accumulation à la surface de l'eau. Certaines espèces de cyanobactéries produisent des toxines appelées cyanotoxines qui peuvent présenter des effets néfastes pour la santé humaine et animale. La présence de cyanobactéries est observée de plus en plus fréquemment, sur tous les continents, expliquant la préoccupation internationale croissante au regard des conséquences écologiques, sanitaires et économiques associées.

En 1998, le programme EFFLOCYA, initié par les ministères en charge de la santé et de l'environnement, a mis en évidence le fait que la prolifération de cyanobactéries capables de libérer des toxines dans les eaux brutes utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine (EDCH) et les eaux de baignades constitue un risque sanitaire émergent.

Suite à ces travaux, le ministère chargé de la santé a saisi en 2001 l'Agence française de la sécurité sanitaire des aliments (Afssa) afin d'effectuer une évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries dans les EDCH. Cette demande a été complétée en mars 2004 par une saisine de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) par les ministères chargés de l'environnement et de la santé. L'Afsset devait évaluer les risques sanitaires encourus par les baigneurs et les autres usagers des plans et cours d'eau et proposer des valeurs limites de qualité relatives à la concentration de cellules et/ou toxines dans les eaux de baignade. En juillet 2006, les deux agences ont publié un rapport commun (Afssa – Afsset, 2006) en réponse à ces deux saisines.

L'Agence recommandait alors d'acquérir des connaissances sur les toxines et les ressources dans le but de pouvoir évaluer les risques liés aux cyanotoxines. C'est ainsi que depuis la parution de ce rapport, de nombreux résultats d'analyses de cyanotoxines et cyanobactéries dans les ressources utilisées pour produire de l'EDCH, dans les EDCH elles-mêmes et les eaux récréatives ont été colligés par les Agences régionales de santé (ARS).

Ces données ont entre autres choses révélé la présence de cyanobactéries susceptibles de produire des cyanotoxines - pour lesquelles il n'existe aucune valeur sanitaire acceptable dans des retenues d'eau destinées à produire de l'EDCH - que ce soit en métropole ou dans les territoires ultramarins, où peu de données sont cependant disponibles. Par ailleurs, malgré les recommandations formulées en 2006, il existe toujours des difficultés et une grande disparité dans la gestion des risques des eaux de baignade contaminées par des cyanobactéries. Pour ces différentes raisons, la Direction Générale de la Santé (DGS) a sollicité l'Anses afin qu'elle actualise son expertise de 2006 à la lumière des nouvelles connaissances disponibles.

## 1.2 Objet de la saisine

La DGS a saisi l'Anses le 19 juillet 2016 d'une demande d'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les EDCH et les eaux de loisirs.

La consultation de l'Anses fait suite d'une part, à la présence de cyanobactéries toxigènes dans des retenues utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine (EDCH) et d'autre part, à l'observation d'efflorescences de cyanobactéries dans des plans d'eau en 2014 et 2015 ayant conduit à une interdiction temporaire des activités récréatives (baignade, activités nautiques), mais aussi des activités de pêche professionnelle et de loisir compte tenu du risque de contamination des poissons par des cyanotoxines.

La DGS a ainsi sollicité l'Agence afin qu'elle procède à une expertise scientifique et technique permettant d'actualiser :

- la liste des espèces de cyanobactéries toxigènes susceptibles d'être identifiées dans l'eau douce (ressources destinées à la production d'EDCH ou plans d'eau destinés à la baignade, aux activités récréatives et/ou à la pêche) ;
- les valeurs limites de qualité relatives à la concentration de cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation et les eaux de baignade.

L'Anses a attribué le numéro de saisine 2016-SA-0165 à ces demandes.

La Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la DGS ont également demandé à l'Anses d'apporter des éléments d'éclairage vis-à-vis de la contamination des poissons d'eau douce en particulier sur les points suivants :

- l'état des connaissances concernant la toxicocinétique des différentes cyanotoxines chez les poissons d'eau douce susceptibles d'être consommés par l'Homme, notamment :
  - leur capacité de bioaccumulation, en précisant le cas échéant la distribution des toxines dans les différents organes/tissus ;
  - le possible lien entre les concentrations en toxines mesurées dans l'eau et/ou les cyanobactéries et celles mesurées dans les poissons ;
  - la vitesse d'élimination des toxines ;
- les différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons à recommander ;
- les éléments d'éclairage concernant la levée d'une interdiction de consommation des poissons suite à un épisode d'efflorescence de cyanobactéries (retour sous un seuil de concentration cellulaire ou de biomasse de cyanobactéries dans l'eau par exemple).

Dans un deuxième temps et de manière coordonnée avec la saisine n°2016-SA-0165, il a été demandé à l'Anses :

- de proposer des seuils sanitaires dans les poissons sur la base d'une actualisation des connaissances toxicologiques disponibles sur les différentes cyanotoxines susceptibles d'entraîner des effets toxiques aigus ou chroniques chez l'Homme ;
- d'étudier la possibilité de corrélérer les seuils de gestion des risques sanitaires pour la baignade qui auront été actualisés à un risque lié à la consommation de poissons ;
- de proposer des modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade et indépendamment des seuils de cyanobactéries actuels.

L'Anses a attribué deux numéros de saisine à ces demandes :

- la saisine n°2015-SA-0206 portant sur la première partie de la demande relative à l'état des connaissances ; celle-ci a été traitée sous forme d'un appui scientifique et technique (AST) mettant

en œuvre une revue systématique de la littérature, dont les travaux ont été finalisés le 12 juillet 2016 (Anses, 2016a) ;

- la saisine n°2015-SA-0207, pour la seconde partie de la demande, relative à la proposition de concentrations maximales de cyanotoxines dans les poissons d'eau douce et aux modalités de surveillance.

## 1.3 Modalités de traitement de la saisine : moyens mis en œuvre et organisation

### 1.3.1 Organisation de l'expertise

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétence des comités d'experts spécialisés (CES) « Eaux » et « Évaluation des risques physico-chimiques dans les aliments (ERCA) ». L'Anses a confié l'instruction des saisines (2016-SA-0165 et 2015-SA-0207) au groupe de travail (GT) « Cyanobactéries », constitué le 6 janvier 2017 suite à un appel à candidatures.

Deux rapporteurs au sein du GT « Cyanobactéries » ont été nommés pour réaliser l'expertise initiale des travaux relatifs à la saisine n°2015-SA-0207, complétée par une expertise interne au sein de l'Unité d'Évaluation des risques liés aux aliments (UERALIM) de la Direction de l'Évaluation des Risques (DER) pour la revue systématique de la littérature et le traitement statistique des données.

Les travaux d'expertise du GT « Cyanobactéries » relatifs à la saisine 2015-SA-0207 ont été soumis régulièrement au CES « ERCA » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques lors des réunions plénières organisées entre le 11 avril 2019 et le 23 octobre 2019. Le document produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES et par le relecteur nommé pour réaliser une relecture critique du document. Les travaux ont été adoptés par le CES « ERCA » réuni le 23 octobre 2019.

Les travaux d'expertise du GT « Cyanobactéries » relatifs à la saisine 2016-SA-0165 ont été présentés au CES « Eaux » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques régulièrement entre le 10 octobre 2017 et le 4 février 2020. Le rapport et la synthèse tiennent compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES et par les relecteurs nommés pour réaliser une relecture critique du rapport. Le rapport a été adopté par le CES « Eaux » réuni le 7 janvier 2020 et la synthèse le 4 février 2020.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques sur le site unique DPI-santé mis en œuvre par le Ministère chargé de la santé (<https://dpi-declaration.sante.gouv.fr>).

### 1.3.2 Méthodes suivies pour l'expertise

Le chapitre relatif aux sciences humaines et sociales est lié à plusieurs démarches. Il fait appel aux hypothèses issues des analyses constructivistes des problèmes publics et des risques (Rochefort *et al.*, 1994 ; Spector *et al.*, 2000 ; Borraz *et al.*, 2005 ; Gilbert, 2013). Ces perspectives consistent à ne pas considérer un problème ou un risque comme naturel ou existant en soi, mais faisant l'objet d'un processus de « fabrication », par des acteurs. Pour qu'une situation devienne problème public, il faut que des acteurs « s'engagent », se mobilisent pour dénoncer son caractère inacceptable ou problématique et pour l'inscrire sur l'agenda d'administrations ou d'acteurs politiques (Lagroye *et al.*, 2012 ; Henry *et al.*, 2012). Les

principales sources bibliographiques mobilisées relèvent de la littérature grise, de publications académiques, de communications de colloques scientifiques et institutionnels, de la presse locale. Il existe très peu d'enquêtes en sciences sociales portant spécifiquement sur le sujet « cyanobactéries ». Seuls quelques travaux d'anthropologie (perceptions des risques) ou d'économie (études coûts-avantages) au Canada et aux Etats-Unis ont été recensés. Par ailleurs, des études portant sur des sujets connexes type algues vertes et plus largement sur des phénomènes naturels et risques environnementaux (Paolisso *et al.*, 2001 ; Berdanina, 2000 ; Kempton *et al.*, 2000) ont été ponctuellement référencées, dans la mesure où elles peuvent inspirer des hypothèses ou des interrogations pertinentes. Enfin, il faut insister sur le prisme essentiellement générique et englobant de ce travail<sup>1</sup>, prisme contraint par le manque de données et la territorialisation marquée de la question des cyanobactéries.

La synthèse des données toxicologiques a été rédigée sur la base des rapports de l'Agence européenne de sécurité des aliments (European Food Safety Authority ou EFSA) publiée en 2009 et 2016 (EFSA, 2009 et 2016) complétée par des recherches bibliographiques réalisées entre novembre 2017 et décembre 2018. Le détail de ces recherches bibliographiques est présenté en annexe 2. En outre, d'autres études soumises par des experts ont permis de compléter ces recherches bibliographiques.

Afin de répondre à la question relative à l'existence des données permettant de corréler les seuils actualisés de gestion des risques sanitaires pour la baignade, à un risque lié à la consommation de poissons, la méthodologie a pris en compte les éléments suivants :

- Les données du rapport d'appui scientifique et technique (AST) du 12 juillet 2016 relatif à l'état des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines (Anses, 2016).
- Une mise à jour de la revue systématique de la littérature depuis la publication de ce rapport, en relation avec les questions 1 et 3 de la saisine. La recherche bibliographique a porté sur la période du 22 février 2016 au 31 décembre 2018.

Une revue systématique a pour objectif d'identifier de façon méthodique et transparente, d'évaluer et de synthétiser toutes les données disponibles et pertinentes afin de répondre à une question précise. Cette méthodologie vise à minimiser les biais et maximiser la transparence afin de permettre un examen plus fiable du poids de la preuve sur un sujet spécifique.

Le protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines et les résultats de différentes étapes de sélection sont présentés en annexe 3.

---

<sup>1</sup> Les différents tableaux du chapitre 2 synthétisent les différentes données des sources référencées en bibliographie.

## 2 Dynamiques sociopolitiques et économiques de la question des cyanobactéries

Avant d'investir plus avant les caractéristiques environnementales et sanitaires liées à la présence de cyanobactéries dans les masses d'eau, il est souhaitable de s'interroger, avec l'aide des sciences humaines et sociales (SHS), sur la manière dont les cyanobactéries sont devenues un « problème public »<sup>2</sup> et un « risque sanitaire ».

### 2.1 La trajectoire des cyanobactéries. Un objet d'intervention publique récemment formalisé et cadré en santé.

Sur la période récente des années 1970 à 1990 incluses, il est possible de distinguer très schématiquement plusieurs phases pour comprendre la manière dont les cyanobactéries sont devenues « problème public et risque sanitaire ». Ces phases ne se substituent pas les unes aux autres : elles tendent davantage à se cumuler. Certains acteurs y ont joué un rôle clé ; en particulier, les acteurs scientifiques restent structurants pour chacune de ces phases.

#### *Phase 1 : l'objet scientifique*

Jusqu'aux années 1970, les cyanobactéries relèvent principalement d'un sujet relatif à la biologie et l'environnement, et intéressant les acteurs scientifiques.

#### *Phase 2 : l'objet de signalement*

Les années 1970 marquent l'entrée des cyanobactéries dans leur deuxième cycle de vie : le signalement local. C'est le cas de fleurs d'eaux à cyanobactéries et d'écumes vertes en Bretagne (Austruy, 2012).

#### *Phase 3 : le problème public environnemental*

Les années 1980 et 1990 prolongent la phase du signalement, touchant non seulement l'état des eaux mais aussi l'état des personnes (constats de dermatites chez des baigneurs). D'autres genres de cyanobactéries continuent par ailleurs d'être découverts en cette période. Ainsi, le genre de cyanobactérie le plus commun dans les océans, *Prochlorococcus*, n'a été découverte en 1988. Néanmoins, ces années 80-90 relèvent principalement de la troisième phase de la question des cyanobactéries : celui de leur problématisation publique et de leur gestion environnementale, où les agences de bassin<sup>3</sup> sont particulièrement impliquées. Les mesures de gestion incluent à la fois des actions de prévention telles que la diminution des rejets de phosphore et des actions sur la filière de traitement. Elles peuvent également s'inscrire dans des politiques publiques plus larges, comme celles dédiées à la gestion des nitrates dans les plans d'eau découlant de la directive 91/2676/CE dite directive « Nitrates ». Cette situation s'inscrit dans un contexte où la coordination interministérielle de la question des eaux passe dans les mains de l'administration environnementale (sans déposséder d'autres administrations de sujets liés à l'eau). Dans le même temps, les acteurs scientifiques ouvrent la voie à la problématisation sanitaire des cyanobactéries. Ainsi, pour la première fois en 1993, un laboratoire rennais met en évidence la présence de cyanobactéries toxiques dans les eaux françaises.

#### *Phase 4 : le risque sanitaire*

La fin des années 1990 et le début des années 2000 relèvent d'une période charnière sur ce point. Elles sont marquées par le développement de dispositifs et réflexions ayant pour objectif de lutter contre l'eutrophisation qui a connu son pic dans les années 1970-80 et les impacts sanitaires des cyanobactéries.

---

<sup>2</sup> Situation ou sujet gérées par les autorités publiques

<sup>3</sup> Aujourd'hui dénommées agences de l'eau

Des cas d'intoxication aux cyanobactéries sont reportés, comme dans l'Adour (Martin, 2006). C'est dans ce cadre que se développe la « mise en risque sanitaire » (*i.e.*, le fait de penser un problème comme un risque sanitaire) du problème cyanobactéries, associée à une gestion également pensée en termes sanitaires. Cette mutation idéologique a la particularité d'être opérée au niveau local par des acteurs environnementaux publics. À cet égard, les risques sanitaires liés aux cyanobactéries illustrent particulièrement bien l'avancée de ces acteurs sur le terrain de la santé publique, avancée dont la formalisation progresse depuis le milieu des années 1990<sup>4</sup>.

Pour autant, les acteurs environnementaux administratifs sont suivis au début des années 2000 par les acteurs sanitaires publics centraux. Ces derniers développent un ensemble de recommandations de gestion pour les services déconcentrés. Dans le même temps, la mise en risque sanitaire reste largement soutenue par des acteurs scientifiques. Ceux-ci ont créé le Groupement d'intérêt scientifique Cyanobactéries (GIS) au tout début des années 2000 avec comme buts de mieux fédérer la recherche sur ces micro-organismes et d'organiser les relations entre les scientifiques et les acteurs institutionnels et privés concernés par cette problématique. En 2003, les recommandations de la DGS suivent les travaux de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF). Plus tôt, en 1998, le programme de recherche EFFLOCYA avait considéré la prolifération des cyanobactéries dans les eaux de baignade ou dans les EDCH comme un risque sanitaire émergent en raison de la présence potentielle de cyanotoxines.

## 2.2 La diversification des acteurs « engagés » dans/par les cyanobactéries : quels impacts sur l'action publique<sup>5</sup> ?

Les années 2000 jusqu'à nos jours sont marquées par des signalements de cyanobactéries toujours plus nombreux (Coulon, 2016). En parallèle, la vision ou cadrage principalement sanitaire de l'intervention publique semble se confirmer. Dans le même temps, les acteurs « engagés » dans/par les cyanobactéries, notamment privés et locaux, se multiplient<sup>6</sup>. Ils révèlent des représentations variées des cyanobactéries et de leur gestion. Ces représentations peuvent faire écho, se conjuguer comme remettre en question la perspective sanitaire structurant principalement l'action publique actuelle. Des divergences et tensions entre les acteurs, leurs objectifs et leurs options d'intervention se dessinent.

### 2.2.1 Panorama des acteurs « engagés » par/dans les cyanobactéries

Il est possible de schématiser et classifier les différentes catégories d'acteurs associées à la question des cyanobactéries : gestionnaires, usagers et relais. Pour autant, les catégories collectives ici proposées restent des typifications ne préjugant pas de la cohérence absolue des acteurs. Les cyanobactéries peuvent ainsi faire l'objet de représentations diverses au sein d'un même groupe d'acteur, tel que les résidents riverains de plans d'eau (Dubé, 2012). À titre de comparaison, c'était aussi le cas des marées rouges en Floride, où les résidents permanents et « vacanciers » ne partageaient pas la même conception du risque (Kuhar et al., 2009). Pour les riverains permanents, le risque des marées rouges s'avère plus fréquent et durable. Les vacanciers considèrent quant à eux les marées rouges comme phénomène naturel sporadique.

---

<sup>4</sup> D'un point de vue administration en particulier. L'administration environnementale n'était pas été dénuée d'une logique anthroposantitaire à sa création en 1971. Ses rapports à la santé se sont toutefois et toujours présentés comme complexes. Ils oscillent entre prise en compte explicite, intégration latente ou contradiction.

<sup>5</sup> L'expression n'exclut évidemment pas la présence d'acteurs privés, c'est même là une caractéristique forte de l'action publique contemporaine, devenue moins « stato-centrée ».

<sup>6</sup> Pour rappel, chaque territoire présentant une configuration d'acteurs singulière. On les présente ici de manière globale.



Tableau I : les acteurs gestionnaires

ACTEURS GESTIONNAIRES DES EAUX AFFECTEES PAR LES CYANOBACTERIES	
ACTEURS ÉTATIQUES (sens extensif)	ACTEURS TECHNIQUES
Administration centrale	Entreprises de traitement des eaux
Services déconcentrés	
Communautés locales et territoriales (CLT)	

Tableau II : les acteurs usagers

ACTEURS USAGERS DES EAUX AFFECTEES PAR LES CYANOBACTERIES		
ACTEURS FAISANT USAGE LUCRATIF DIRECT DES EAUX	ACTEURS FAISANT USAGE LUCRATIF INDIRECT DES EAUX	ACTEURS FAISANT USAGE NON LUCRATIF DES EAUX <sup>7</sup>
Entreprises et associations de loisirs nautiques	Collectivités locales (tourisme et développement économique local)	Grand public, vacanciers, scolaires
Agriculteurs/éleveurs/pisciculteurs	Riverains (valeur des propriétés)	Associations environnementales
	Acteurs avoisinants de l'hôtellerie et de la restauration	Associations de pêche, de chasse
		Associations de loisirs nautiques
		Collectivités locales (impacts réputationnels sur le territoire, pas systématiquement monétisables)

Tableau III : les acteurs relais

ACTEURS-RELAIS <sup>8</sup>		
ACTEURS MEDIATIQUES	ACTEURS DE SOIN	ACTEURS TECHNOSCIENTIFIQUES
Principalement médias locaux	Structures de soin humain	Opérateurs de recherche (type centre national de la recherche scientifique)
	Structures de soin vétérinaire	Instituts d'expertise (ANSES ; IRSTEA <sup>9</sup> ; OFB <sup>10</sup> volet expertise ; MNHN <sup>11</sup> )
		Laboratoires d'analyse

<sup>7</sup> Choix d'une critérisation économique ici. Autres critères possibles ou spécification non nécessaire à l'analyse.

<sup>8</sup> Du problème et de sa gestion.

<sup>9</sup> Institut de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

<sup>10</sup> Office français de la biodiversité

<sup>11</sup> Muséum national d'histoire naturelle

## 2.2.2 Rapports des différents acteurs aux cyanobactéries

À chacun de ces types d'acteurs, un ensemble de visions (du problème et de sa gestion) et d'actions peut être associé. Elles sont présentées ci-après de manière globale.

### 2.2.2.1 Les acteurs gestionnaires

Dans un premier temps, les conceptions et ressources génériques des différents gestionnaires des cyanobactéries peuvent être présentées (tableau IV). Notons que les acteurs environnementaux en font toujours partie. Leur intervention se pense en termes environnementaux et sanitaires. Au niveau local, les agences de l'eau travaillent ponctuellement à l'information publique du risque sanitaire des cyanobactéries comme à la mise en place d'actions pour lutter contre l'eutrophisation<sup>12</sup>. En parallèle, au niveau national, l'OFB est investie dans la connaissance<sup>13</sup> du problème cyanobactéries, mais essentiellement dans une perspective environnementale.

**Tableau IV : rapports des acteurs gestionnaires aux cyanobactéries**

GESTIONNAIRES	Cadrages ou visions du problème	Modes et capacités de gestion
<b>Ministère en charge de la santé/DGS</b>	Santé ; consommation ; technoscience	Recommandations d'action ; impulsions ; instruments (circulaires) ;
<b>Ministère en charge de la santé/Agence régionale de santé (ARS)</b>		<p>Contrôle, évaluation, inspections ; information et sensibilisation du public ; gestion subsidiaire ; prélèvements ; réglementations ; recommandations ; restrictions et interdictions ; financement de dispositifs communaux ; instruments (logiciels SISE-Eaux/SISE-Baignades, fiche informative ; valeurs-seuils ; indicateurs...) ; principe de précaution</p> <p><b>Au niveau local, il existe une grande hétérogénéité non pas tant des instruments en soi, mais des manières dont ils sont effectivement mis en œuvre sur les différents territoires (exemple des valeurs-seuils).</b></p> <p><b>Dans le cas de la consommation de poissons, la gestion se fait régulièrement au cas par cas au niveau local, sans être encadrée juridiquement de manière globale et systématique</b></p>
<b>Ministère en charge de l'agriculture/Direction générale de l'alimentation</b>	Agroalimentaire ; santé ; consommation	Contrôle ; suivi ; réglementation/régulation : instruments (circulaires, décrets)
<b>Ministère en charge de l'agriculture/Direction de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt</b>		Coordination travail des DDPP Contrôle ; suivi ; inspection ; police ; mandat sanitaire des vétérinaires
<b>Agences de l'Eau</b>	Environnement ; santé	Information publique ; conception de contrats territoriaux et plans d'action ; instruments (indicateurs de qualité des eaux) ; financements d'études et de recherche

<sup>12</sup> <http://www.journaldelenvironnement.net/article/l-agence-adour-garonne-s-attaque-auxcyanobacteries,34430>

<sup>13</sup> Elle dispose en parallèle d'une capacité de police des eaux.

<b>Direction départementale de la protection des populations</b>	Santé ; sécurité	Surveillance ; contrôle ; suivi ; inspection ; police ; mandat sanitaire des vétérinaires
<b>Préfecture</b>		Contrôle ; réglementation ; instruments (arrêtés)
<b>Direction départementale des territoires</b>	Santé ; sécurité ; agroalimentaire	Gestion et police eaux ; organisation chasse et pêche
<b>Collectivités locales</b>	Santé ; environnement ; consommation ; loisirs ; tourisme* ; économie  *A voir au cas par cas, en fonction des capacités de diversification économique du territoire et de ses capacités/volontés d'orientation touristique	Surveillance ; coordination, impulsion ; instruments (contrats Etat-région ; schémas ; pancartes d'information ; roselières...)
<b>Traiteurs privés d'eau potable (entreprises, syndicats d'entreprises)</b>	Santé ; consommation ; technique	Ingénierie du traitement de l'eau ; exploitation

### 2.2.2.2 Les usagers

Par ailleurs, la catégorie des « usagers » des eaux mérite attention. Sa prise en compte appelle deux remarques. Tout d'abord, la perspective adoptée jusqu'alors, celle dudit problème « cyanobactéries », est à interroger. Il est possible que cette terminologie de *cyanobactéries* ait principalement du sens pour les gestionnaires et moins pour les usagers, qui pourraient davantage évoquer « pollution », « algues », *etc.* Ce cas de figure s'est effectivement retrouvé avec le terme « micropolluants », objet d'un plan *ad hoc* sans constituer un terme socialement usité et compris. D'autre part, l'étude des acteurs usagers en souligne parfois la complexité du statut. Certains sont à la fois « victimes » et « producteurs » du risque, *via* la génération, par leurs activités, de nutriments favorisant le développement des cyanobactéries. Ainsi peuvent y contribuer les agriculteurs par les rejets et épandages issus de pratiques de culture et d'élevage ; les pêcheurs par l'usage d'appâts et le remous des fonds d'eaux ; les riverains par les lessives ou le jardinage (Jaouen, 2015). Les conflits d'usage sont donc souvent au cœur des débats entre acteurs quand il s'agit de déterminer les responsabilités de chacun dans ce phénomène.

À l'échelle internationale, quelques travaux académiques se sont penchés sur le rapport des usagers aux cyanobactéries. Ils nous signalent que l'exposition aux cyanobactéries peut être comprise par les usagers comme risque sanitaire. Néanmoins, cette compréhension peut évoluer et présenter plusieurs facettes (encadré I).

#### Encadré I. Le cas québécois. Les représentations sociales des cyanobactéries

Quelques résultats issus d'une étude anthropologique portant sur les représentations des cyanobactéries au Québec peuvent être ici présentés (Dubé, 2012). Ce travail souligne que la conception de la gravité du risque par les populations est entretenue par les médias et l'information des autorités publiques<sup>14</sup>. À l'inverse, l'expérience personnelle – notamment par observation, nourrit la représentation de l'innocuité des cyanobactéries (Turbow et al., 2004). Plus largement, diverses variables peuvent influencer la compréhension sociale des risques liés à l'eau : proximité aux plans d'eau, type d'usages, fréquentation (Dewailly et al., 1999 ; Burger et al., 1999), mais également avis scientifiques et décisions publiques (Dewailly et al., 1999 ; Belleville et al., 2009).

<sup>14</sup> De manière générale, plus les mesures de gestion sont restrictives, plus la gravité perçue augmente, dans le sens d'une surévaluation du risque sanitaire.

Néanmoins, les usagers ne se représentent pas uniquement les cyanobactéries comme un risque sanitaire (voir *supra*, tableau V). Ils peuvent les associer à d'autres types de risques, notamment sociaux et économiques. Cette situation est particulièrement renseignée en France par les littératures grises, publications médiatiques et associatives.

**Tableau V : rapports des acteurs usagers aux cyanobactéries**

USAGERS	Cadrages ou visions du problème	Demandes	Mobilisations
<b>ENTREPRISES LOISIRS NAUTIQUES</b>	Loisirs/économie/santé	- Accès et usage des eaux moins restrictifs  - Protection de la santé animale/humaine  - Information et participation à la gestion	Rôle de « guetteurs » et d'alerte (Bretagne)
<b>ASSOCIATIONS LOISIRS AQUATIQUES</b>			
<b>ASSOCIATIONS CHASSE</b>	Santé/consommation agroalimentaire (gibier d'eau)	- Action de l'Etat	Idem  + interpellation des pouvoirs publics
<b>ASSOCIATIONS PECHE /AAPMA</b>	Environnement/loisirs/santé/consommation agroalimentaire		
<b>PUBLIC</b> Dont touristes, scolaires, propriétaires de maisons avoisinantes...	Santé/environnement/consommation/loisirs  Esthétique naturelle/économie		(cas recensés au Québec d'associations de riverains mobilisés sur le sujet)
<b>AGRICULTEURS ELEVEURS et PISCICULTEURS</b>	Santé/économie		
<b>ASSOCIATIONS ENVIRONNEMENTALES</b> ex: Eaux et rivières de Bretagne ; Bretagne vivante ; Rance Environnement etc.	Environnemental/  Biodiversité/  Santé/  Consommation/  Sociopolitique	Idem.  + Protection des écosystèmes  + Réforme des modes d'élevage et de culture	Rôle de « guetteurs » et alerte  Interpellation des pouvoirs publics  Dénonciation d'un problème considéré trop « discret »  Information, communication (publications, réunions, séminaires)

Encadré 2. Des impacts sociaux et économiques recensés au niveau international

Aux Etats-Unis, au Royaume Uni et en Australie, différentes études ont souligné les impacts des cyanobactéries, en termes socioéconomiques (Steffensen, 2008 ; Pretty et al., 2003 ; Hoagland et al., 2002). Elles induisent un usage diminué – volontaire ou contraint, des eaux. Elles génèrent ainsi des pertes économiques (touristiques, immobilières, agri/piscicoles). On pourrait ajouter la perte de bien-être par les atteintes qu'elles portent à certaines activités de loisirs.

### 2.2.2.3 Les acteurs relais

De manière générale, l'implication des acteurs médiatiques est régulièrement entendue comme alimentant la gravité socialement perçue d'un phénomène (Martin *et al.*, 2008). À l'inverse, et dans le domaine de l'eau en particulier, l'absence des médias serait interprétée par le public comme un indicateur d'innocuité et de qualité, permettant alors (la reprise) des activités aquatiques (Lepesteur *et al.*, 2008).

**Tableau VI : rapports des acteurs-relais aux cyanobactéries**

ACTEURS RELAIS	Cadrages ou visions du problème	Actions
<b>MEDIAS</b>	Santé	Moins investis sur la question cyanobactéries que sur d'autres phénomènes analogues, type algues vertes.  - <i>Le Télégramme</i> = 219 articles recensés depuis 2008 avec l'item cyanobactéries (aspects : action publique, décès d'animaux, constat de présence de mobilisations sociales dans une moindre mesure ...). En comparaison 7686 résultats pour l'item « algues vertes »  - <i>Ouest France</i> = 35 articles recensés depuis 2008  -Voir aussi presse locale (Auvergne Rhône-Alpes, Indre, Puy de Dôme, Vienne, Centre (aspects économiques et touristiques particulièrement développés)
<b>SOINS</b>	Santé	Curative
<b>TECHNOSCIENTIFIQUES</b>	Technoscience + cadrages variés et/ou cumulés selon coloration institutionnelle (santé, environnement...)	Connaissances sur l'écologie des cyanobactéries/toxines ; connaissances sur les expositions (humaine et animale) et les risques ; prélèvements ; mesures....

Finalement, la prise en compte des représentations souligne la complexité de leur nature et distribution, au sein et entre les différentes catégories d'acteurs :

- ainsi, un même type d'acteur peut faire part de représentations variées des cyanobactéries, par exemple considérer qu'il s'agit là d'un problème aussi bien sanitaire que technoscientifique ;
- de plus, un même cadrage peut présenter de multiples facettes, comme le cadrage économique associé aux cyanobactéries. Publics comme privés, les enjeux économiques renvoient par exemple au manque à gagner pour le tourisme direct ou avoisinant (hôtellerie, restauration) des plans d'eaux. Ils peuvent aussi concerner l'agriculture (contamination d'animaux d'élevage ou bien les coûts de changement concernant les pratiques d'épandage par exemple). Les enjeux économiques concernent également des surcoûts de traitement de potabilisation pour les collectivités. Pour information, dans le cas états-unien s'ajoute à ces enjeux celui du prix des propriétés privées à proximité des plans d'eaux affectés (Wolf, Klaiber, 2017) ;
- les préoccupations économiques rappellent l'existence de visions partagées par des acteurs hétérogènes. Elles renvoient effectivement à un cadrage très partagé de la question des cyanobactéries entre une grande variété d'acteurs (particuliers, collectivités locales, entreprises, agriculteurs).

### 2.2.3 Les aléas touchant l'intervention publique

Les différentes visions du problème cyanobactéries et de sa gestion s'ancrent dans des choix d'action, des revendications, des mobilisations. Elles sont également rattachées à des objectifs et des intérêts singuliers. Les différentes conceptions sur la question des cyanobactéries peuvent alors entrer en compétition, et même opposer différents acteurs. Ainsi, la logique économique des professionnels du tourisme peut s'opposer à la logique sanitaire des ARS. Au sein d'une même catégorie d'acteur, le conflit peut également exister, la cohérence du collectif (comme le « public ») s'effriter. Même une conception globalement partagée des cyanobactéries (exemple de la conception économique, partagée par différents acteurs) peut être source de tensions. Elle peut en fait renvoyer à des buts divergents ou des options d'intervention antagonistes. À titre d'exemple, le souci économique exprimé par une entreprise de loisirs nautiques n'est pas le même que celui d'un agriculteur. La première aura besoin d'accéder aux eaux de loisirs et souffrira de leur fermeture pour cause de contamination. Le second cherchera à préserver son troupeau et défendra la restriction d'accès à un plan d'eau contaminé. Par ailleurs, la question des cyanobactéries peut également s'ancre/réactiver des tensions « classiques », dépassant ladite question, à l'instar des conflits existant entre agriculteurs et associations environnementales (Dubé, 2012). La mobilisation associative autour des cyanobactéries peut s'inscrire plus largement dans la dénonciation de pratiques agricoles intensives, comme c'est le cas en Bretagne (Eaux&Rivières de Bretagne, 2007).

Toute cette configuration suggère la complexité de la tâche d'arbitrage structurellement dévolue aux autorités publiques, complexité parmi d'autres dans la gestion des cyanobactéries. Cette complexité renvoie alors à une pluralité d'aléas, non purement « techniques » ou « naturels » (tableau VII).

Outre la régulation d'intérêts privés divergents, les autorités publiques se voient confrontées à leurs propres tensions. Elles concernent par exemple les incertitudes technoscientifiques liées aux expositions aux cyanobactéries et leur prise en compte dans la décision publique, ou encore les délais d'analyse des eaux. Ces tensions singulières aux acteurs publics peuvent également relever du choc d'objectifs. Une commune par exemple peut autant viser la protection de la santé de sa population (choix d'interdiction de baignade par arrêté municipal) que se soucier de son attractivité et dynamisme économiques locaux (choix de maintien de baignade). Ce choc d'objectifs peut également concerner des acteurs différents, à l'exemple d'une commune et de l'ARS. Plus largement, les cyanobactéries rappellent le caractère problématique des relations inter-institutionnelles et inter-niveaux, qu'il s'agisse du rapport entre centre et périphérie, entre administrations centrales et déconcentrées, entre administrations et collectivités locales. Certes, le principe de subsidiarité n'est pas frontalement remis en question ; il se justifie effectivement face à la forte disparité territoriale de la question cyanobactéries. Néanmoins, des demandes d'harmonisation émergent (Martin, 2006). L'action publique relative aux cyanobactéries est ainsi appelée à réinventer un équilibre interscalaire : entre prise en compte des variations locales d'un côté et constitution d'un cadre de référence à l'échelle de plusieurs zones de l'autre.

Tableau VII : Aléas de l'intervention publique

Type d'aléa	Exemples	Enjeux associés
<b>Environnement naturel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conditions environnementales et difficulté de contrôle et anticipation du développement des cyanobactéries</li> <li>• Forte variabilité de répartition sur un même plan d'eau</li> </ul>	Logique influençant les relations inter-acteurs et les modalités/possibilités de mise en cause/d'imputation de responsabilité/demande de réparation ?
<b>Technoscience</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incertitudes sur certains aspects : exemple des diversité et inégalités d'exposition</li> <li>• Disséminations des données entre différents acteurs</li> <li>• Arbitraire des valeurs seuils</li> <li>• Délais d'attente des analyses en laboratoire</li> <li>• Difficulté de traitements complets</li> </ul>	
<b>Budget</b>	Possibilité de coûts supplémentaires de retraitement pour les CLT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relation Etat/collectivités locales et distribution des responsabilités</li> <li>• Diminution des moyens des collectivités locales et budgets publics</li> </ul>

Type d'aléa	Exemples	Enjeux associés
<b>Hétérogénéité territoriale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fortes disparités écosystémique, institutionnelle, historique, sociale, économique des territoires (contrainte pour les gestionnaires centraux, voire régionaux)</li> <li>Délai d'adoption de recommandations/circulaires au niveau central, problématique pour les acteurs locaux</li> <li>Attente d'orientations plus précises mais non directives de l'échelle centrale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Relations centre/périphérie</li> <li>Relations Etat/collectivités locales et distribution des responsabilités</li> <li>Choix d'échelle d'action publique pertinente (bassin, département, zone, région...)</li> </ul> <p>Le problème des cyanobactéries souligne les apports et limites du principe de subsidiarité</p>
<b>Pluralité des acteurs publics et privés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Arbitrages à opérer et/ou compromis à trouver entre intérêts et visions divergents</li> <li>Mises en causes et tensions</li> <li>Problème d'intercompréhension des acteurs : <ul style="list-style-type: none"> <li>manque ou limite de circulation de l'information</li> <li>problème de terminologie (multiplicité et/ou incompréhensions des définitions données même terme</li> <li>manque de formalisation et de précisions impactant la clarté et l'appropriation des réglementations)</li> <li>manque de concertation</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Gestion des rationalités plurielles, caractéristiques de l'action publique environnementale, avec confrontations « classiques », type associations environnementales versus agriculteurs</li> </ul>
<b>Réglementation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Délai d'adoption de recommandations/circulaires centrales par les échelons locaux</li> <li>Mise en oeuvre non systématique des levées d'arrêtés d'interdiction/restriction</li> </ul>	
<b>Réception et observance sociales des mesures de restriction/ interdiction (accès ; consommation)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Variabilité du suivi des recommandations publiques</li> <li>Difficulté de contrôle, notamment des zones « sauvages » non aménagées</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A considérer au cas par cas</li> <li>Restent fondamentalement multifactorielles (INSPQ, 2009 ; Larrue, 1996 ; Levallois, 1998) (risque perçu, impact perçu sur le mode de vie, représentation de l'émetteur de la mesure, participation sociale à la mesure etc.)</li> <li>Une tendance à l'observance se remarque cependant dans le cas de mesures contraignantes avec sanction (Abric, 1994)</li> </ul>

## 2.3 Conclusion

Les cyanobactéries ne sont devenues un problème public et un risque sanitaire que récemment. Cette compréhension sanitaire a la particularité de n'avoir pas été et de n'être toujours pas uniquement portée par des acteurs de santé. Elle structure principalement l'action publique relative aux cyanobactéries aujourd'hui. Pour autant, la diversification récente des acteurs « engagés » dans/par ce problème, palpable d'un point de vue social et local, remet en question cette perspective. D'autres conceptions des risques associés aux cyanobactéries et de leur gestion émergent, des objectifs entrent en concurrence. L'intervention publique se voit complexifiée par la régulation d'enjeux « non strictement sanitaires » qu'elle doit intégrer dans ses arbitrages et compromis. À bon nombre d'égards, le problème cyanobactéries reste dynamique. De même, il illustre remarquablement les mutations générales (implications de différents types d'acteurs, dont des acteurs privés ; prégnance du paradigme du risque) et spécifiques (avancées d'acteurs environnementaux sur le terrain de la santé publique ; développement de la compréhension sanitaire des problèmes publics ; appel au principe de précaution) de l'action publique contemporaine. Aujourd'hui frémissant, le cadrage climatique de la question des cyanobactéries, émergeant dans les communautés scientifiques, abonderait également en ce sens.

## 3 Les cyanobactéries

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques, ubiquistes qui se développent dans les eaux, les sols et les milieux extrêmes. Apparues il y a environ 3 milliards d'années, les cyanobactéries, ont eu un rôle fondamental dans l'expansion de la vie terrestre en produisant l'oxygène de notre atmosphère actuelle. Ces micro-organismes phototrophes autotrophes, dont la pigmentation peut varier du bleu-vert au rouge, produisent de l'oxygène à partir de l'H<sub>2</sub>O, et fixent le CO<sub>2</sub>, grâce à la photosynthèse oxygénique. Certains genres sont capables de fixer l'azote atmosphérique. Tout comme le chloroplaste des cellules végétales actuelles, les cyanobactéries possèdent deux photosystèmes, où se localisent les pigments photosynthétiques, tels que la chlorophylle-a et des phycobiliprotéines. Il est aujourd'hui admis que le chloroplaste de la cellule végétale, qui renferme de la chlorophylle-a, résulte d'une endosymbiose avec une cyanobactérie ancestrale (Delwiche et Palmer, 1997). Si la photosynthèse oxygénique est probablement apparue sur la planète grâce à des cyanobactéries, cette voie métabolique est aussi spécifiquement retrouvée chez les végétaux et les algues. C'est pourquoi, les cyanobactéries, micro-organismes photosynthétiques, ont longtemps été classées comme un taxon majeur des végétaux, dénommées algues bleues. Cette classification biologique a été mise à mal dans les années 60, lorsque les différences fondamentales entre procaryotes et eucaryotes, notamment l'organisation de la cellule ont été définies. En effet, à la différence des eucaryotes, les cyanobactéries ne possèdent pas de noyau, ce sont donc des procaryotes.

Pour autant, le passage du terme « algues bleu-vert ou cyanophytes », selon la nomenclature des botanistes, au terme « cyanobactéries », selon la nomenclature en bactériologie s'est effectuée en plusieurs étapes. En 1978, Stanier et ses collègues proposent que la nomenclature des cyanobactéries, historiquement régie par le Code international de nomenclature botanique/Code international de nomenclature des algues, champignons et plantes (ICBN), soit désormais régie par les dispositions du Code international de nomenclature des bactéries (ICNB) (Stanier *et al.*, 1978). Le repositionnement en systématique bactérienne des cyanobactéries a ainsi fait l'objet d'une modification récente, du code international de nomenclature des procaryotes (ICNP) (Orren et Garrity, 2014). Toutefois, il est précisé que les noms des genres et espèces de cyanobactéries valablement publiés dans le passé dans le Code (ICBN), conservent leur place dans la nomenclature (De Reviers, 2002 et 2003).

Les efflorescences (bloom en anglais) de cyanobactéries s'observent sur tous les continents et s'expliquent par une prolifération massive de cyanobactéries lorsque les conditions leur sont favorables. Elles sont une source de préoccupation croissante en termes de risques sanitaires associés pour l'Homme et l'animal (Vichi *et al.*, 2016). En effet, certaines espèces de cyanobactéries peuvent produire et libérer des cyanotoxines et d'autres composés bio-actifs, capables d'agir sur différentes cibles comme le foie et le système nerveux. La voie d'exposition de l'Homme aux cyanotoxines est principalement l'ingestion d'EDCH, ainsi que les expositions générées lors de la pratique d'activités récréatives aquatiques, ou lors de la consommation de chair d'organismes aquatiques (poissons, crustacés, mollusques) voire de cultures irriguées par des eaux contaminées (Peng *et al.*, 2010, Teslai *et al.*, 2016a ; Anses, 2016 ; Svircev *et al.*, 2017a).

### 3.1 Diversité morphologique et écologique

Selon leur morphologie, les cyanobactéries ont été classées en cinq sections différentes, bien qu'aucun de ces groupes n'apparaît monophylétique dans les analyses moléculaires (Tomitani *et al.*, 2006 ; Schirrmeyer *et al.*, 2012). Dans les classifications traditionnelles, des critères morphologiques ont été utilisés pour distinguer ces sections (équivalentes aux ordres en classification botanique). Les cyanobactéries de la section I (Chroococcales) et II (Pleurocapsales) sont des coccoïdes unicellulaires. Les cellules de la section I se divisent par fission binaire, tandis que celles de la section II peuvent également subir une fission multiple pour produire de petites cellules facilement dispersables appelées baeocytes. Les cyanobactéries des sections III à V forment des filaments de complexité morphologique variable. À la différence des cyanobactéries filamenteuses de la sous-section III (Oscillatoriales), les cellules végétatives des



cyanobactéries des sous-sections IV (Nostocales) et V (Stigonematales), peuvent se différencier en hétérocytes (cellules spécialisées dans la fixation de l'azote en conditions aérobies), ou en akinètes, (qui confèrent une résistance aux stress environnementaux comme le froid et la dessiccation). Les akinètes, structures à paroi épaisse, riches en réserves, permettent la survie des cyanobactéries dans les sédiments, lorsque les conditions environnementales sont défavorables à leur maintien dans la colonne d'eau.

Les cyanobactéries peuvent vivre libres ou en symbiose avec d'autres organismes. Leurs caractéristiques physico-chimiques de croissance sont très variées et expliquent leur aptitude à coloniser la plupart des habitats qu'ils soient aquatiques ou terrestres. Un grand nombre d'espèces sont adaptées aux environnements extrêmes (glaciers, sources chaudes, cendres volcaniques). Ainsi, certaines espèces du genre *Synechococcus* isolées dans des sources thermales sont capables de se multiplier à des températures plus élevées que 70°C, des picocyanobactéries ont été observées dans des environnements où le pH est voisin de 4, et des espèces appartenant au genre *Prochlorococcus* ont une activité photosynthétique pour de large gamme d'éclairements qui peut varier de 1 à 2000  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Certains genres de cyanobactéries sont **planctoniques**, comme *Microcystis* ou *Planktothrix*. Ils possèdent des vésicules gazeuses intracellulaires leur conférant une flottabilité. La présence de ces vésicules facilite l'accumulation des genres planctoniques à la surface des plans d'eau. D'autres, sont dit **benthiques** lorsque les cyanobactéries se développent sur le fond des masses d'eau, notamment sur les sédiments.

En milieu aquatique, les cyanobactéries sont (i) planctoniques, en suspension dans la colonne d'eau où l'existence de vésicules gazeuses intracellulaire leur confère une flottabilité qui facilite leur accumulation à la surface des masses d'eau soit (ii) benthiques, quand elles se développent sur le substrat notamment sur les galets au fond des cours d'eau. Certaines sont capables de se développer massivement dans les lacs, les réservoirs et les rivières (*i.e.* les genres *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Phormidium*), d'autres dans les récifs coralliens (*Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Hydrocoleum*, *Symploca*) ou d'autres encore à la surface des mers et océans (*Nodularia*, *Trichodesmium*).

## 3.2 Les proliférations de cyanobactéries

### 3.2.1 Définition des proliférations

#### Proliférations de cyanobactéries planctoniques

Les proliférations de cyanobactéries planctoniques (figure 1) ont été très largement étudiées depuis plus d'une vingtaine d'années en raison de leur recrudescence et de leur caractère ubiquiste sur l'ensemble de la planète (par exemple : Haande *et al.*, 2011; Taranu *et al.*, 2015; Zhang Y. *et al.*, 2016a). Elles sont caractérisées par la production, sur une période de quelques jours, quelques semaines voire plusieurs mois, d'une biomasse phytoplanctonique importante. Cette augmentation de biomasse coïncide avec une forte diminution de la diversité spécifique dans le compartiment phytoplanctonique puisqu'une ou quelques espèces de cyanobactéries deviennent alors très largement dominantes. Elles peuvent provoquer une coloration de l'eau qui dépend des pigments majoritairement présents dans l'espèce qui domine.

Les cyanobactéries planctoniques se développent dans l'ensemble de la zone euphotique de la colonne d'eau ou à une profondeur bien précise. Dans ce dernier cas, les proliférations sont le plus souvent observées à la surface, où elles forment des agrégats flottants appelés fleurs d'eau, écumes ou mousses. Plus rarement, ces phénomènes surviennent en profondeur en fonction des disponibilités en nutriments et en énergie lumineuse, et en lien avec les caractéristiques écologiques et physiologiques des espèces impliquées, notamment leur composition pigmentaire.

Il est très difficile de définir un seuil de biomasse caractérisant l'apparition d'une prolifération de cyanobactéries planctoniques. En effet, celui-ci peut dépendre de l'écosystème aquatique concerné et en particulier de son statut trophique. Ainsi, dans les milieux oligo-mésotrophes comme les grands lacs alpins, des concentrations en chlorophylle-a de 30 à 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  représentent des valeurs très élevées de biomasse. En revanche ces mêmes valeurs sont considérées comme moyennes dans les milieux eutrophes. Il peut donc être important de prendre en compte l'évolution temporelle de la biomasse pour définir, dans un milieu donné, une situation de prolifération.

Dans tous les cas, c'est l'association des deux processus, augmentation de la biomasse phytoplantonique et dominance d'une ou quelques espèces de cyanobactéries, qui **permettra de conclure à la mise en place d'une prolifération de cyanobactéries.**



Figure 1 : exemples de prolifération de cyanobactéries planctoniques

### Proliférations de cyanobactéries benthiques

Les proliférations de cyanobactéries benthiques (figure 2) ont fait l'objet d'un nombre beaucoup plus restreint de travaux (revue dans Quiblier *et al.*, 2013). Elles se traduisent par le développement de biofilms sur le substrat des milieux aquatiques concernés, dont la composante microbienne photosynthétique est alors dominée par une ou quelques espèces de cyanobactéries.

Plus encore que pour les proliférations de cyanobactéries planctoniques, l'établissement de seuils de biomasse permettant de conclure à une prolifération de cyanobactéries benthiques est très difficile. **L'appréciation de la mise en place d'une prolifération va reposer à la fois sur la dominance des cyanobactéries dans les biofilms, l'augmentation des surfaces recouvertes par ces biofilms dominés par des cyanobactéries, et l'augmentation de l'épaisseur de ces biofilms.** Comme pour les cyanobactéries planctoniques, il peut donc être important, pour juger de la mise en place d'une prolifération de cyanobactéries benthiques, de **prendre en compte l'évolution temporelle du développement des biofilms** à cyanobactéries, pour pouvoir conclure, dans un milieu donné, à une situation de prolifération.



Figure 2 : galets recouverts de biofilms à *Phormidium* (aussi appelé *Kamptomena* ou *Microcoleus*) et biofilms se développant sur les végétaux (plaques de couleur foncée) dont les extrémités flottent dans le courant

Bien qu'utilisé dans la réglementation, il n'existe pas de définition nationale ou internationale de l'expression « proliférations de cyanobactéries ». Ces proliférations apparaissent comme des phénomènes de nature dynamique qu'il est difficile de caractériser avec précision par des valeurs seuils de biomasse, d'abondance ou encore de temps de doublement.

Les phénomènes pouvant apparaître de manière très rapide, l'observation de la dynamique des populations se fait par la mise en oeuvre d'un programme d'échantillonnages et de dénombrements dont la fréquence devra permettre de suivre le développement complet de ces phénomènes. **Ainsi, la meilleure connaissance possible de l'historique et de l'évolution de la qualité et du comportement d'une ressource donnée permettra de mieux définir, pour cette ressource, les périodes critiques pour la mise en place et le développement des proliférations.**

### 3.2.2 Hydrosystèmes concernés par des proliférations de cyanobactéries

Des proliférations de cyanobactéries planctoniques et benthiques ont été répertoriées dans le monde entier, sous toutes les latitudes et jusqu'en moyenne altitude. Les proliférations de cyanobactéries planctoniques surviennent majoritairement en eaux stagnantes, dans des plans d'eaux naturels ou artificiels ou dans des rivières lentes. Les proliférations de cyanobactéries benthiques sont répertoriées le plus souvent dans des rivières de moyen gabarit, dans des zones de radier caractérisées par de faibles profondeurs et des courants relativement faibles, et parfois également en eaux stagnantes (en général le long des berges ou sur le fond des lacs peu profonds ayant une grande transparence de leurs eaux) (Quiblier *et al.*, 2013 ; McAllister *et al.*, 2016 ; Echenique-Subiabre, 2016). Des épisodes récents de proliférations de cyanobactéries benthiques en France (entre autres dans la Loire et le Cher) ont montré qu'elles pouvaient également être observées dans des cours d'eau de plus grand gabarit à la suite de périodes d'étiage prolongées (résultats non publiés).

Outre le cas le plus général des plans d'eau et des rivières, des milieux particuliers comme par exemple les bassins de traitement des stations d'épuration des eaux usées par lagunage, sont parfois l'objet de proliférations et peuvent contribuer à l'ensemencement des hydrosystèmes récepteurs en cyanobactéries ainsi qu'en toxines. Ainsi Vasconcelos et Peirera (2001) ont observé un tel événement au Portugal et mesuré dans le bassin de traitement des concentrations en hépatotoxines de l'ordre de 50 µg équiv.MC-LR.L<sup>-1</sup>. Par ailleurs, même si à notre connaissance aucun cas n'a été publié, les baignades artificielles constituent également des réservoirs d'eaux stagnantes potentiellement susceptibles d'accueillir des proliférations de cyanobactéries.

Les eaux souterraines quant à elles, ne sont pas concernées par les proliférations en raison de l'absence de lumière. Il en est de même pour les réservoirs d'eau potable totalement obscurs. Dans le cas où ils seraient éclairés, un risque ponctuel de prolifération ne peut pas être exclu si du phosphore biodisponible est présent.

### 3.2.3 Facteurs et processus favorisant les proliférations de cyanobactéries

Il convient lorsque l'on considère les facteurs favorisant les proliférations de cyanobactéries, de distinguer les proliférations de cyanobactéries planctoniques et les proliférations de cyanobactéries benthiques.

#### Proliférations de cyanobactéries planctoniques

Ces proliférations sont le plus souvent associées, selon la communauté scientifique, à trois facteurs et processus principaux :

- des concentrations élevées en nutriments dont le phosphore et/ou l'azote, qui sont souvent les éléments nutritifs limitants dans les plans d'eau. Ces concentrations élevées peuvent traduire l'eutrophisation des milieux ;
- une stabilité élevée de la colonne d'eau au moment du développement de l'efflorescence et dans la période précédant cet événement ;

- des conditions météorologiques favorables en termes de luminosité et de température.

Les nombreux travaux menés sur les proliférations de cyanobactéries planctoniques dans les plans d'eau ont témoigné de l'importance du rôle de l'eutrophisation<sup>15</sup> liée aux activités anthropiques dans la multiplication de ces phénomènes au cours des dernières décennies (O'Neil *et al.*, 2012). La plupart des proliférations de cyanobactéries planctoniques surviennent dans des milieux eutrophes dont les charges en phosphore, principalement sous forme d'orthophosphates, sont élevées ( $> 50 \mu\text{g.L}^{-1}$  en P). Cependant la cyanobactérie *Planktothrix rubescens* est adaptée aux milieux mésotrophes (Dokulil et Teubner, 2012) et peut proliférer dans des systèmes en voie de restauration comme ce fut le cas dans le lac du Bourget en France pendant les années 1990 et 2000 (Humbert *et al.*, 2001 ; Jacquet *et al.*, 2005) lors de la diminution du stock de phosphore dans le lac et avant d'atteindre, après 2009, un stade oligo-mésotrophe (Jacquet *et al.*, 2014).

Concernant la stabilité de la colonne d'eau, de nombreux travaux d'écologie comparative ont souligné le rôle fondamental de ce facteur dans le développement des proliférations de cyanobactéries planctoniques (Jacoby *et al.*, 2000, Persaud *et al.*, 2015). La stabilité permet la sélection des espèces les plus compétitives et peut induire des situations de dominance, alors que des perturbations intermédiaires génèrent des changements dans la dominance des espèces et favorisent la richesse et la diversité spécifique (Barbiero *et al.*, 1999 ; Flöder et Sommer, 1999). L'affinité des cyanobactéries planctoniques pour des eaux peu turbulentes a d'ailleurs conduit au développement de techniques de limitation des blooms basées sur la rupture de la stabilité de la colonne d'eau conduisant à sa déstratification (Visser *et al.*, 1996 ; Mantzouki *et al.*, 2016).

### Proliférations de cyanobactéries benthiques

Relativement peu de travaux se sont intéressés au déterminisme des proliférations de cyanobactéries benthiques (Quiblier *et al.*, 2013), au contraire des espèces planctoniques pour lesquels de nombreux travaux sont publiés. Une grande partie des données disponibles est issue de travaux menés en Nouvelle-Zélande où les proliférations de cyanobactéries benthiques du genre *Phormidium* (aussi appelée *Kamptonema* ou *Microcoleus*) sont récurrentes dans de nombreuses rivières. Outre la température et la lumière, les caractéristiques hydrologiques (débit, vitesse du courant) apparaissent comme étant des facteurs déterminants. Les proliférations sont ainsi particulièrement importantes en été après des périodes prolongées de débits faibles et dans les zones de radiers (McAllister *et al.*, 2016 ; Echenique-Subiabre, 2016, Echenique-Subiabre *et al.*, 2018a et b). Selon Heath *et al.* (2015), il existe une réponse de type « en cloche » entre le pourcentage de recouvrement par des biofilms à *Phormidium* sp. et l'augmentation de la vitesse du courant (développement optimal lorsque la vitesse du courant est comprise entre 0,6 et 1,1 m.s<sup>-1</sup>). Sur la durée, c'est surtout la fréquence des crues qui déterminerait l'importance des proliférations de cyanobactéries benthiques (revue dans Quiblier *et al.*, 2013), ces crues pouvant limiter le développement des biofilms en croissance et conduire au détachement des biofilms plus épais.

Contrairement aux cyanobactéries planctoniques, il semble que les cyanobactéries benthiques soient capables de se développer massivement dans une gamme d'environnements plus vaste du point de vue de leur statut trophique, y compris dans des milieux oligotrophes et mésotrophes, le courant dans les rivières assurant l'apport régulier de nutriments. Ainsi, les proliférations importantes de *Phormidium/Kamptonema/Microcoleus* observées en Nouvelle-Zélande interviennent dans des rivières où les concentrations en phosphore dissous mesurées dans l'eau ne dépassent pas 0,01 mg.L<sup>-1</sup> et celles d'azote dissous 0,8 mg.L<sup>-1</sup> (McAllister *et al.*, 2016). En France, dans le Tarn où des proliférations de *Phormidium/Kamptonema/Microcoleus* sont observées tous les ans (Echenique-Subiabre, 2016), elles sont en moyenne de l'ordre de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> et 3,5 mg.L<sup>-1</sup> respectivement pour le phosphore et l'azote dissous. Néanmoins, des études récentes ont suggéré que les sédiments fins, sous les biofilms, pouvaient également constituer une source importante de nutriments qui contribueraient au développement des cyanobactéries (Wood *et al.*, 2015) de même que des remontées d'eau issues de la nappe phréatique (McAllister *et al.*, 2016).

Qu'il s'agisse de proliférations de cyanobactéries planctoniques ou benthiques un questionnement revient de manière récurrente depuis une dizaine d'années sur l'impact des changements climatiques sur ces

<sup>15</sup> voir glossaire

proliférations et leur devenir sur le long terme. Sachant que les proliférations surviennent dans la majorité des cas en période estivale, la crainte exprimée est que l'augmentation des températures mais aussi des événements pluvieux extrêmes au printemps favoriseraient ces phénomènes dont le nombre, l'intensité et la durée pourraient s'accroître (Paerl et Huisman, 2009 ; O'Neil *et al.*, 2012 ; Moe *et al.*, 2016). Néanmoins, s'agissant des cyanobactéries planctoniques, les changements climatiques peuvent également se traduire par des périodes de sécheresses prolongées qui limiteraient les apports en nutriments pendant de longues périodes, ce qui pourrait conduire au contraire à une limitation des proliférations.

Les effets respectifs des nutriments, de la température et de leur interaction sur la croissance des cyanobactéries ont été étudiés sur un ensemble de 1076 lacs aux Etats-Unis (Rigosi *et al.*, 2014). Aucune synergie entre température et nutriments n'a été généralement observée, les nutriments étant le plus souvent le principal facteur de contrôle. L'importance relative de ces deux facteurs et de leur interaction dépend de l'état trophique du lac mais aussi des genres cyanobactériens présents. Certaines cyanobactéries sont plus sensibles aux nutriments et d'autres à la température. Par ailleurs, les nutriments semblent jouer un rôle plus important dans les lacs oligotrophes, alors que c'est la température dans les lacs mésotrophes. Dans certains lacs eutrophes et hyper-eutrophes des interactions significatives entre nutriments et température ont été observées.

### 3.2.4 Caractéristiques des cyanobactéries leur conférant une forte valeur sélective/adaptative

La capacité de cyanobactéries planctoniques et benthiques à proliférer et donc à exclure les autres espèces phytoplanctoniques ou phytobenthiques peut être reliée à différentes caractéristiques plus ou moins partagées par les différentes espèces de cyanobactéries. Ces caractéristiques peuvent être classées selon qu'elles leur confèrent un avantage pour acquérir et/ou stocker de l'énergie (lumière et nutriments), pour survivre dans des conditions environnementales défavorables ou pour échapper à la prédation (autrement nommée broutage) :

- La tolérance à une large gamme de température selon les espèces considérées ;
- La possibilité de réguler leur flottaison permet à certaines espèces planctoniques d'ajuster leur position dans la colonne d'eau grâce à des mécanismes physiologiques qui reposent sur la présence de vésicules gazeuses et la réserve de polysaccharides qui servent de ballast. Ainsi, les cellules peuvent se déplacer verticalement de la surface, où elles profitent au mieux de l'énergie lumineuse, vers des couches d'eau plus profondes si les concentrations en nutriments y sont plus élevées suite à un relargage de nutriments depuis les sédiments en conditions réductrices voire anoxiques. Elles peuvent aussi occuper, pendant plusieurs mois, une couche bien précise dans la colonne d'eau, à l'exemple de *P. rubescens* qui se localise préférentiellement dans le métalimnion<sup>16</sup>. Dans certains cas, elles s'accumulent en surface (exemple de *Microcystis*) formant ainsi une couche de quelques millimètres d'épaisseur qui, en réduisant la pénétration de la lumière dans la colonne d'eau, limite le développement d'autres espèces du phytoplancton. Enfin, ce contrôle de la flottaison limite les processus de sédimentation et leur permet de proliférer dans des milieux stagnants ;
- La capacité à effectuer la photosynthèse sous des intensités lumineuses extrêmement faibles. Les cyanobactéries montrent en effet, une forte affinité pour la lumière liée à la possession de certains pigments accessoires (phycocyanine, allophycocyanine et phycoérythrine) localisés à la surface des thylacoïdes (membranes internes où siègent les appareils du photosystème qui réalisent la photosynthèse) qui leur permettent d'exploiter différentes longueurs d'onde du spectre de la lumière (revue dans Oliver *et al.*, 2012). Considérant les cyanobactéries benthiques, qui se développent principalement sur le fond des masses d'eau où l'accès à la lumière peut être plus limité, cette affinité pourrait constituer un avantage compétitif au sein même des biofilms. Par ailleurs, certaines cyanobactéries benthiques ont la capacité de se déplacer à l'intérieur d'un biofilm en réponse à une réaction de phototactisme positif (revue dans Stal, 2012) ;

<sup>16</sup> Voir glossaire

- La différenciation en hétérocytes qui sont des cellules spécialisées dans la fixation de l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) confère à certaines cyanobactéries filamenteuses (regroupées dans l'ordre des Nostocales avec par exemple les genres *Aphanizomenon*, *Anabaena/Dolichospermum*, *Cylindrospermopsis*) la possibilité de se développer dans des milieux très appauvris en azote dissous (Mur *et al.*, 1999). D'autres cyanobactéries unicellulaires ou filamenteuses (Pancrace *et al.*, 2017) ne possédant pas d'hétérocytes sont également capables de fixer l'azote atmosphérique.
- Certaines espèces de cyanobactéries ont des capacités importantes de stockage du phosphore (réserves de polyphosphate) et de l'azote (sous forme de cyanophycine et de phycocyanine) dans les cellules. D'autres sont capables d'utiliser des formes très variées du carbone (Oliver et Gant, 2000). Ces aptitudes ne sont pas développées de façon égale chez toutes les espèces de cyanobactéries, ce qui reflète une grande diversité dans les stratégies mises en œuvre au sein de ce phylum pour s'adapter et proliférer dans des environnements très divers.
- Les akinètes sont des cellules de résistance générées par les cyanobactéries appartenant à l'ordre des Nostocales (par exemple *Anabaena/Dolichospermum* et *Aphanizomenon*) en conditions environnementales particulièrement défavorables. Ces akinètes leur permettent de résister, par exemple, au gel ou à la sécheresse (Kaplan-Levy et Rucker, 2010), mais surtout d'assurer la survie hivernale et donc la continuité du cycle de développement. Ces akinètes peuvent ainsi perdurer plusieurs dizaines d'années dans les sédiments en conservant leur intégrité (Wood *et al.*, 2009 ; Legrand *et al.*, 2017). Lorsque les conditions environnementales redeviennent propices à leur développement, les akinètes germent et des filaments sont très rapidement générés à partir de ces cellules, ce qui peut être considéré comme un avantage sélectif pour la recolonisation d'un milieu. Les cyanobactéries ne formant pas d'akinètes, passent l'hiver à la surface du sédiment où les cellules végétatives entrent en vie ralentie. Plusieurs études ont montré que les cellules de *Microcystis*, par exemple, pouvaient résister plusieurs années dans les sédiments (Brunberg et Blomqvist 2002, 2003, Misson *et al.*, 2012).
- La faculté des cyanobactéries à mieux échapper à la prédation que les microalgues semble liée (i) à l'organisation pluricellulaire de nombreux genres (filaments ou trichomes comme chez les genres *Anabaena/Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Oscillatoria* ; colonies comme chez les genres *Microcystis*, *Aphanothece*) de ces organismes; (ii) à la formation de mucilage et gaines (*Microcystis*, *Lyngbya*) ; (iii) à la capacité à synthétiser des toxines qui peuvent avoir un impact direct (mortalité, baisse de fécondité, réduction du taux de filtration, de la croissance, *etc.*) sur les organismes aquatiques susceptibles de les consommer (DeMott *et al.*, 1991 ; Guo, 2006 ; Jang *et al.*, 2003 ; Rohrlack *et al.*, 2001).

### 3.2.5 Effets indésirables des proliférations de cyanobactéries

Les effets des proliférations sont multiples :

#### **Sur l'environnement et le cadre de vie :**

- Modification de l'aspect de la ressource par une coloration inhabituelle (bleue, rouge ou verte), irisations en surface, masses de cellules se déplaçant au gré des vents ou des accumulations de biofilms ;
- Nuisances olfactives liées à la production de métabolites odorants ou lors de la décomposition de la prolifération.

#### **Sur les usages anthropiques de l'eau :**

- Coloration, odeur et texture de l'eau pouvant décourager la baignade ;
- Perturbation du fonctionnement des procédés de traitement des eaux d'alimentation, notamment mécaniquement par colmatage des filtres ou des membranes, ou par consommation accrue en réactifs de traitement et génération de sous-produits de désinfection et par dérèglement des réactions de floculation par suite des changements rapides de pH des eaux entrant dans la filière ;
- Dégradation, par la présence de métabolites odorants, de la qualité organoleptique des eaux d'alimentation mal traitées ;

- Troubles cutanés ou des muqueuses suite à des baignades dans des eaux affectées par des efflorescences ;
- Induction de risques sanitaires le plus souvent par ingestion ou inhalation.

#### **Sur les organismes du milieu :**

- Perturbation de la biodiversité de l'écosystème aquatique car les proliférations s'effectuent le plus souvent au détriment du développement des autres micro-organismes photosynthétiques (compétition pour les nutriments et la lumière) ;
- Perturbation des réseaux trophiques aquatiques du fait de leur moindre consommation par certains organismes brouteurs ;
- Baisse de fitness et/ou mortalités de poissons, par intoxication ou diminution de la teneur en oxygène de l'eau lors de leur décomposition ou en raison des modifications de pH et de transparence de l'eau ;
- Mortalités d'oiseaux, par intoxication directe ou *via* leur alimentation (e.g mollusques, poissons.) ;
- Intoxication d'animaux terrestres domestiques ou sauvages lors de l'abreuvement.

### **3.2.6 Prédiction des proliférations**

Dans l'état actuel des connaissances, il est encore extrêmement difficile de prédire le développement d'une prolifération de cyanobactéries dans les plans d'eau et les cours d'eau, de même que son intensité et sa durée.

La modélisation de la dynamique des cyanobactéries et des processus qui la contrôlent a fait l'objet de nombreux travaux (Belov et Giles, 1997 ; Carraro *et al.*, 2012a ; Elliott, 2012 ; Guven et Howard, 2006 ; Hense et Beckmann, 2010 ; Howard *et al.*, 1996).

L'application de ces modèles porte sur deux échelles de temps, (1) à long terme, sur plusieurs décennies, pour prévoir l'impact des changements globaux, notamment du changement climatique, sur la dynamique des cyanobactéries (e.g. Elliott, 2012; Howard et Easthope, 2002) et (2) à court terme, à l'horizon d'une à deux semaines (e.g. Huang *et al.*; 2012; Li *et al.*, 2014a) pour la gestion des usages de certains milieux aquatiques (baignade, sports nautiques, eau potable). Certains de ces modèles sont développés dans le but d'être intégrés dans des systèmes d'alerte (Zhang *et al.*, 2013a) mais peu sont encore utilisés de façon opérationnelle.

Si la prédiction des proliférations reste encore très difficile à ce jour, les outils de modélisation doivent cependant permettre, à terme, de mieux cerner les paramètres environnementaux essentiels dans le déclenchement d'une prolifération de cyanobactéries puis dans son intensité et sa durée.

## **3.3 Les cyanobactéries toxiques**

Plus de 1000 métabolites spécialisés produits par les cyanobactéries des eaux douces et salées sont répertoriés à ce jour (Dittmann *et al.*, 2015). Ces métabolites peuvent présenter des activités toxiques (cyanotoxines) mais aussi des activités antimicrobiennes, antifongiques ou antivirales.

Est considérée comme cyanotoxine toute métabolite produit par une cyanobactérie induisant un effet néfaste sur la santé de l'Homme et/ou de l'animal. Ces molécules sont synthétisées dans les cellules et sont le plus souvent libérées dans le milieu à l'occasion de la sénescence, de la mort et/ou de la lyse cellulaire. En phase de croissance, les toxines sont pour la plupart intracellulaires, seuls 10 à 20 % de la teneur totale en toxines sont extracellulaires (Jones et Orr, 1994). Seule exception à ce jour, la cylindrospermopsine est libérée en proportion importante dans le milieu par les cellules en croissance (Chiswell *et al.*, 1999).

Une même toxine peut être produite par différentes espèces de cyanobactéries. Ainsi, les microcystines sont synthétisées par des espèces du genre *Microcystis*, mais également par des espèces des genres *Anabaena*, *Planktothrix* ou encore *Hapalosiphon*.

Une même espèce de cyanobactéries peut produire différentes toxines. C'est ainsi que *Anabaena spiroides* peut produire de l'anatoxine-a mais également des microcystines ou que certains *Kamptomena* peuvent

produire à la fois de l'anatoxine-a et de la cylindrospermopsine (Méjean *et al.*, 2009 ; Mazmouz *et al.*, 2010).

Enfin, la quantité de toxine produite par unité de biomasse est très variable au sein même d'une espèce, au cours d'une efflorescence, en fonction des conditions environnementales, de la phase de croissance ou des cellules considérées. Les toxines sont uniquement produites par les cellules qui possèdent l'ensemble des gènes permettant leur synthèse. Ainsi par exemple, une efflorescence de *Planktothrix* contient un mélange de cellules capables de produire les microcystines (génotypes *mcy-*) et de cellules incapables de le faire (génotypes *mcy+*) faute de posséder ces gènes ou ne n'en possédant qu'une partie (Yéprémian *et al.*, 2007 ; Briand *et al.*, 2008).

Le tableau VIII liste les familles de cyanotoxines qui présentent une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres. Cette liste a été élaborée à partir de revues issues d'une analyse de la littérature récente et après vérification des informations contenues dans les publications originelles citées dans ces revues (Metcalf *et al.*, 2012 ; Dittman *et al.*, 2015 ; JRC, 2016 et 2017 ; Salmaso *et al.*, 2017a et b). N'ont été retenues dans le tableau VIII que les occurrences qui ont pu être attestées sur des souches isolées et clairement identifiées à partir de caractères morphologiques et génétiques établis, garante du niveau de confiance minimal requis pour ce type d'observations. La quatrième colonne regroupe les genres reportés couramment dans la littérature et qui sont des modèles pour l'étude de ces molécules (principaux genres de cyanobactéries producteurs avérés). Les autres genres reportés sont moins étudiés pour la production de ces toxines. Ces genres peuvent contenir des organismes typiquement planctoniques (*i.e.* *Microcystis*) ou typiquement benthiques (*i.e.* *Phormidium*/ *Kamptonema*/ *Microcoleus*). Toutefois, les recherches de ces dernières années ont démontré que des organismes considérés comme strictement planctoniques sont également présents dans le benthos (*i.e.* *Anabaena*, *Nodularia*, *Planktothrix*) et peuvent pour certaines produire les mêmes toxines (*i.e.* *Planktothrix* sp. PCC 11201 isolé du fond d'une rivière en Nouvelle-Zélande produit des microcystines (Pancrace *et al.*, 2017)).

Parmi les cyanotoxines les plus couramment détectées dans les eaux douces, les microcystines sont les toxines les plus étudiées dans le domaine de la toxicologie (Buratti *et al.*, 2017). Initialement isolées de la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa*, elles peuvent être produites par plusieurs autres genres de cyanobactéries. Il existe 246 variants de microcystines, décrits à ce jour résultant de variations structurales (substitution de deux acides aminés, modifications dans les groupements latéraux) (Catherine *et al.*, 2017 ; EFSA, 2016).

Au même titre que pour celles des autres bactéries à Gram négatif, la membrane externe des cyanobactéries contient des lipopolysaccharides (LPS) qui sont souvent cités comme étant toxiques (Durai et Choi, 2015). Cependant, les données disponibles quant à la réelle toxicité des LPS des membranes des bactéries font encore largement débat (Stewart *et al.*, 2006a). De plus, la composition en LPS de ces membranes semble très variable chez les cyanobactéries en fonction des conditions environnementales dans lequel elles vivent. Les études traitant directement de la toxicité des LPS de cyanobactéries restent rares et concernent le plus souvent des fractions enrichies en LPS qui peuvent également contenir d'autres molécules potentiellement toxiques. Il apparait donc pour l'heure difficile de conclure quant à une toxicité avérée des LPS des cyanobactéries



**Tableau VIII : taxons producteurs de cyanotoxines en eaux douce et marine présentant une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres**

(nota : les genres identifiés dans le tableau ne produisent pas systématiquement de toxines)

Toxines	Milieu	Morphotype	Principaux genres de cyanobactéries producteurs avérés	Autres genres de cyanobactéries producteurs avérés
<b>Microcystines (MC)</b>	Eau douce et milieu terrestre (cyanobactéries en symbiose avec des champignons pour former des lichens), eaux saumâtres estuariennes	Unicellaire colonial	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanocapsa</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Radiocystis</i> , <i>Woronichinia</i>
		Filamenteux	<i>Planktothrix (Oscillatoria)</i>	<i>Annamia</i> , <i>Geitlerinema</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Trichodesmium</i> , <i>Plectonema</i>
		Filamenteux avec hétérocyte	<i>Anabaena</i>	<i>Anabaenopsis</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Trichormus</i>
		Filamenteux avec hétérocyte et ramification	<i>Hapalosiphon</i>	<i>Fischerella</i>
<b>Anatoxine-a (ATX)</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Anabaena</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Cylindrospermum</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Raphidiopsis/Cylindrospermopsis</i>
		Filamenteux	<i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus</i> <i>Oscillatoria</i> (organismes benthiques)	<i>Pseudanabaena</i> , <i>Tychonema</i>
<b>Anatoxine-a(s)</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Dolichospermum (Anabaena)</i>	
<b>Cylindrospermopsines (CYN)</b>	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Raphidiopsis/Cylindrospermopsis</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Chrysochlorum</i>
		Filamenteux avec hétérocyte et ramification	<i>Umezakia</i>	

Toxines	Milieu	Morphotype	Principaux genres de cyanobactéries producteurs avérés	Autres genres de cyanobactéries producteurs avérés
		Filamenteux	<i>Kamptonema/Phormidium/Microcoleus Oscillatoria</i> (Organismes typiquement benthiques)	<i>Lyngbya</i>
<b>Saxitoxines (STX)</b>	Eau douce (et marine par d'autres producteurs)	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Anaebaena, Dolichospermum, Raphidiopsis/Cylindrospermopsis,, Cuspidothrix, Raphidiopsis, Scytonema</i>
	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya</i> (Organismes typiquement benthiques)	<i>Hydrocoleum, Trichodesmium</i>
<b>Béta-méthylamino-L-alanine (BMAA )</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Leptolyngbya</i>	
<b>Nodularines</b>	Eau marine/saumâtre (et eau douce selon Foss <i>et al.</i> , 2016)	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Nodularia</i>	<i>Nostoc</i>
<b>Lyngbyatoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya</i> (Organismes typiquement benthiques)	<i>Moorea (Moorena)</i>
<b>Aplysiatoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya</i> (Organismes typiquement benthiques)	<i>Moorea (Moorena), Leibleinia</i>
<b>Palytoxines</b>	Eau marine	Filamenteux	<i>Trichodesmium</i>	

**Remarque :**

Les noms de genres entre parenthèses correspondent à des synonymes et à des taxa redistribués (par exemple, une partie des *Anabaena* et des *Aphanizomenon* proches génétiquement forment le nouveau taxon *Dolichospermum*) alors que les noms de genres séparés par des « / » correspondent à des complexes de morpho-espèces dont l'identification et l'appellation peuvent être à l'heure actuelle sujettes à controverse. La classification de ces organismes évolue elle aussi, notamment à la lumière des connaissances acquises tout récemment sur les génomes et l'histoire évolutive et adaptatives de ces organismes.

## 4 Caractérisation des cyanotoxines

La quantité et la qualité des études épidémiologiques et expérimentales relatives aux différentes cyanotoxines sont d'une manière générale hétérogènes. Les corpus de données étant inégaux, la caractérisation des différentes cyanotoxines peut donc être plus ou moins détaillée dans cette partie. En outre, les données toxicologiques concernant les variants de certaines cyanotoxines telles que la MC et la STX peuvent également être disparate.

S'agissant de la STX, de nombreux rapports de cas d'intoxications humaines sont disponibles dans la littérature. Le mécanisme de toxicité de la STX détaillé dans ces rapports, est également bien détaillé dans les études expérimentales. À l'inverse, la majorité des données toxicologiques relatives à la MC et la CYN disponibles à ce jour sont issues d'études réalisées chez l'animal, car il existe peu d'études épidémiologiques. Pour chacune de ces cyanotoxines, la majorité des études expérimentales ont par ailleurs été réalisées chez des rongeurs avec des expositions par voie intrapéritonéale (i.p), non représentatives des voies d'expositions potentielles pour l'Homme.

Au cours de la présente expertise, des VTR ont pu être proposées pour la MC (Anses, 2019a), la CYN (Anses, 2019b) et la STX (Anses, 2020). Cependant, du fait du profond manque de données concernant les ATX-a et ATX-a(s), aucune VTR n'a pu être élaborée pour ces cyanotoxines.

### 4.1 Les microcystines

Les MC sont des hepta-peptides cycliques dont 246 variants ont été identifiés à ce jour (Spoof et Catherine, 2017). Les MC ont en commun la présence de l'acide aminé non protéique ADDA [(2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyl-4,6-decadienoic acid]. La diversité de la structure chimique des différentes MC (figure 3) s'explique par la variation de deux acides aminés en position 2 et 4, qui leur confèrent des différences de solubilité dans l'eau, d'accumulation dans les organes cibles, ainsi que de potentielles différences de toxicité, bien que celles-ci restent peu étudiées (Craig *et al.*, 1993 ; Gupta *et al.*, 2003). Les données toxicologiques concernant les variants de MC sont parcellaires. La MC-LR est le variant le plus étudié, notamment sa toxicité aiguë. Les études toxicologiques sont réalisées soit avec des MC purifiées soit avec des extraits de cyanobactéries productrices de MC, ce qui peut conduire à des différences de toxicité car les composés et métabolites spécialisés présents dans ces extraits peuvent avoir des effets additifs, synergiques ou antagonistes. Les données de toxicité aiguë, sub-chronique ou chronique, rapportées dans cette partie sont majoritairement issues d'études menées *in vivo* sur vertébrés, dans lesquelles la voie d'administration est réaliste par rapport à une contamination humaine (*i.e.*, voie orale). Concernant les phénomènes d'absorption, distribution, métabolisme et excrétion (ADME) et les mécanismes de toxicité cellulaire (ou mode d'action toxique) des MC, des études *in vivo* avec voies d'administration i.p ou i.v (intraveineuse), ou des essais *in vitro*, ont été considérés en absence de données concernant la voie orale.

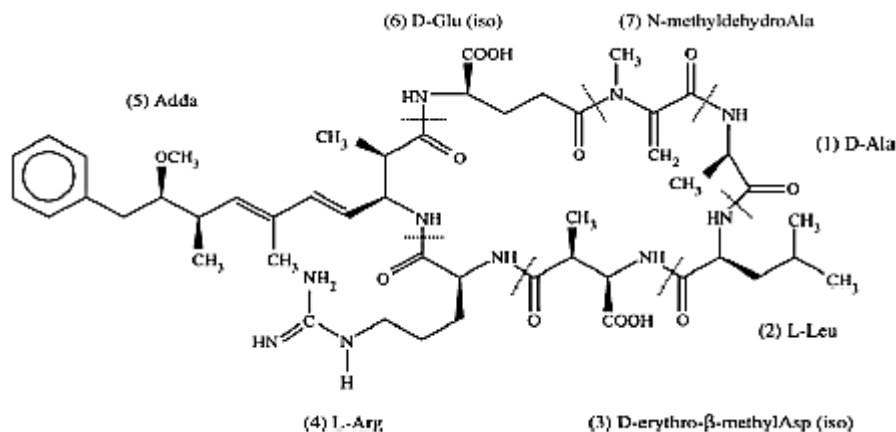


Figure 3 : structure chimique de la microcystine-LR, avec une leucine (L) et une arginine (R), acides aminés de type L en positions 2 et 4

## 4.1.1 Toxicologie

### 4.1.1.1 ADME

#### Absorption

Les MC sont des composés plutôt hydrosolubles qui ne franchissent pas facilement les membranes cellulaires par transport passif (Vestervik et Meriluoto, 2003). Certains variants plus hydrophobes pourraient présenter des paramètres cinétiques significativement différents, mais peu d'informations sont disponibles actuellement. Un système de transport des ions organiques utilisé par les acides biliaires, les transporteurs OATP (Organic Anion Transporter Protein) (OATP 1B1, 1B2, 1B3), permet aux MC de traverser activement les membranes. Ce système de transport favorise l'organotropisme pour les organes exprimant ces transporteurs (en particulier le foie, mais aussi la muqueuse intestinale, les reins, les poumons, le placenta et la barrière hémato-encéphalique), comme observé *in vivo* (Runnegar et Falconer, 1982 ; Eriksson *et al.*, 1990 ; Hooser *et al.*, 1991 ; Falconer *et al.* 1992a ; Cheng *et al.*, 2005 ; Lu *et al.*, 2008 ; Fischer *et al.*, 2010 ; Feurstein *et al.*, 2009). Par ailleurs, des études menées *in vivo* chez des rongeurs (voie ip) ont montré la présence de plusieurs types d'OATP dans les testicules, cellules de Sertoli ou dans les spermatogonies (Klaassen et Aleksunes *et al.*, 2010 ; Svoboda *et al.*, 2011 ; Zhou *et al.*, 2012). Cependant, le transport des MC par ces OATP à travers les membranes cellulaires des testicules n'a pas été démontré (Wang *et al.*, 2012), sauf pour les spermatogonies (Zhou *et al.*, 2012).

#### Distribution

Les données *in vivo* suggèrent que la voie d'administration (i.p ou i.v *versus* orale) influence fortement la cinétique de distribution des MC et la dose retrouvée dans les organes cibles (Robinson *et al.*, 1991a ; Lin et Chu, 1994 ; Dietrich et Hoeger, 2005). Suite à une injection i.p ou i.v de MC chez la souris ou le rat, 70 % de la dose est rapidement localisée dans le foie, mais aussi dans une moindre mesure dans les reins, l'intestin grêle et le gros intestin, l'estomac, les poumons et le cerveau (Falconer *et al.*, 1986 ; Runnegar *et al.*, 1986 ; Brooks et Codd, 1987 ; Robinson *et al.*, 1989 et 1991 a et b ; Hooser *et al.*, 1991 ; Lin et Chu, 1994 ; Nishiwaki *et al.*, 1994 ; Ito *et al.*, 1997a). Ces administrations i.p ou i.v engendrent une accumulation significativement plus importante dans le foie (supérieure d'un facteur 80), qu'une administration par voie orale. Dans ce dernier cas, une plus forte proportion de la dose initiale de MC reste localisée dans le tube digestif, puis est ensuite retrouvée dans le plasma sanguin, le foie, les poumons et les reins (Nishiwaki *et al.*, 1994 ; Ito *et al.*, 1997b ; Ito et Nagai, 2000). Enfin, l'administration intratrachéale de MC-LR (100 µg.kg<sup>-1</sup>) s'accompagne d'une absorption rapide (5 min) à partir du poumon, puis d'une présence de MC-LR dans les reins (10 min), l'intestin grêle (45 min) puis dans le foie (60 min, avec atteinte hépatique à 90 min) (Ito *et al.*, 2001).

Par ailleurs, comme évoqué plus haut, des études menées *in vivo* chez des rongeurs ont montré que les testicules peuvent constituer des organes cibles secondaires des MC (Ding *et al.*, 2006 ; Li *et al.*, 2008 ; Xiong *et al.*, 2009 ; Chen *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2012). Chez la souris, l'exposition maternelle à de la MC-LR (10 et 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), à deux jours de gestation, et l'exposition des descendants jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour post-natal, entraîne une accumulation de MC-LR dans la prostate ou les testicules des descendants, avec des teneurs encore détectables à 90 jours de vie (Zhang *et al.*, 2017a et b).

## Métabolisme

La métabolisation des MC se fait principalement dans le foie par conjugaison avec le glutathion (GSH), conjugaison spontanée à pH alcalin ou catalysée par les enzymes glutathion-S-transférases (GST) présentes dans le cytosol (Kondo *et al.*, 1992, 1996 ; Takenaka, 2001 ; Buratti *et al.*, 2011, 2013 ; Buratti et Testai, 2015). Ce conjugué MC-GSH est retrouvé *in vivo* et *in vitro* chez différents organismes : végétaux (*Ceratophyllum demersum*), invertébrés (*Daphnia magna*, *Dreissena polymorpha*, *Artemia salina*), poissons (*Danio rerio*) et mammifères (rat et souris) (Kondo *et al.*, 1996 ; Takenaka, 2001 ; Huang *et al.*, 2008a ; Šetlíková et Wiegand, 2009 ; He *et al.*, 2012). Un conjugué à la cystéine (MC-CYS) a également été identifié *in vitro* (Kondo *et al.*, 1992) et *in vivo* (Pflugmacher *et al.*, 2001). Ces conjugués MC-GSH et MC-CYS, plus polaires, se sont révélés moins toxiques chez la souris que le composé parent, même s'ils conservent une certaine toxicité (dose létale  $\text{DL}_{50}$  entre 217 et 630  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  chez la souris) (Kondo *et al.*, 1992 ; Kondo *et al.*, 1996 ; Metcalf *et al.*, 2000 ; Ito *et al.*, 2002 ; Botha *et al.*, 2004). Par ailleurs, Manubolu *et al.* (2014) ont étudié les dynamiques de dégradation des MC-LR, RR, YR par la flore microbienne de rumen de bovins *in vitro* en conditions anaérobies (incubation à des concentrations de MC de 0,05 - 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). La flore microbienne dégrade par voie enzymatique de 8,9 % à 36 % des MC dans un délai d'une à deux heures pour la MC-LR et de une à trois heures pour les MC-YR et RR, et uniquement lorsque les concentrations d'exposition n'excèdent pas 0,5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

## Excrétion

Chez le porc, une injection par voie i.v de dihydroMC-LR radiomarquée (75  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) et une exposition de l'anse iléale à la même dose ont respectivement montré une excrétion par voie biliaire et par le sang veineux portal (métabolisme de premier passage) (Stotts *et al.*, 1997). L'excrétion de la MC-LR chez la souris et le porc suit une courbe bi-phasique dans le plasma ou dans le sang (chez ces deux modèles animaux, la demi-vie varie de moins de 2 min à 42 min), démontrant une élimination rapide (Falconer *et al.*, 1986 ; Robinson *et al.*, 1991a ; Stotts *et al.*, 1997). Chez la souris ou le rat, des instillations de MC-LR intra-trachéales, et des injections i.p ou i.v ont révélé sa présence majoritairement dans le foie, en raison de la fixation hépatique, et secondairement dans des organes excréteurs comme les reins (urine) et l'intestin (matière fécale), en partie sous la forme du composé d'origine (Falconer *et al.*, 1986 ; Robinson *et al.*, 1991a ; Ito *et al.*, 2002). Les conjugués MC-GSH sont partiellement transformés en conjugués MC-CYS dans les reins de rats, et excrétés sous cette forme *via* l'urine (Li *et al.*, 2015a,b,c ; Li *et al.*, 2018). La présence de MC libres dans les urines de mammifères suggère également une action hydrolytique des enzymes rénales sur ces conjugués et leur réversibilité de ces derniers (Robinson *et al.*, 1991a ; Li *et al.*, 2018). Les seules données concernant la cinétique des MC chez l'homme ont été obtenues auprès de patients dialysés au Brésil (Caruaru, Rio), qui présentaient des concentrations de MC pouvant atteindre jusqu'à 28,8  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dans le sérum plus de 50 jours après l'exposition (dose initiale inconnue) (Soares *et al.*, 2006 ; Hilborn *et al.*, 2007).

Il est important de noter que les niveaux d'absorption, de distribution et d'excrétion des MC peuvent varier d'un facteur trois à quatre en fonction des variants considérés (Meriluoto *et al.*, 1990), en relation avec des différences inter-variants observées pour : i) le transport par les transporteurs OATP1B1 et 1B3, comme montré sur des hépatocytes humains (Fischer *et al.*, 2010) ; ii) la biotransformation, avec un plus fort taux de conjugaison pour les MC-RR (Buratti et Testai, 2015). Selon ces auteurs, ces variations de toxicocinétique peuvent expliquer la différence de toxicité entre les variants de MC.

### 4.1.1.2 Mécanismes de toxicité

Après pénétration dans le cytoplasme des cellules, les MC se lient à des protéines phosphatases (PP) à sérine/thréonine, en deux étapes, avec une liaison non covalente suivie d'une liaison covalente bloquant l'accès au site catalytique (Harada *et al.*, 1990 ; Maynes *et al.*, 2004, 2006 ; Campos et Vasconcelos, 2010). *In vitro*, les MC inhibent les PP de type 1 et 2A (PP1 et PP2A) à des concentrations de l'ordre du nanomolaire (Hoeger *et al.*, 2007 ; Monks *et al.*, 2007 ; Vesterkvist *et al.*, 2012). *In vivo*, chez le rat et la souris, exposés à des doses supérieures à 32  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , l'inhibition des PP1 et PP2A par les MC entraîne une

modification de l'état de phosphorylation de nombreuses protéines impliquées dans la transduction de signaux cellulaires, perturbant l'homéostasie et les fonctions cellulaires (Gehring, 2004). Il en résulte des effets divers listés dans deux revues (Liu et Sun, 2015 ; Zhou *et al.*, 2015), et en particulier :

- Une perte de l'intégrité du cytosquelette (altération des microfilaments, des filaments intermédiaires et des microtubules), et en conséquence une modification de la morphologie des hépatocytes (Runnegar et Falconer, 1986 ; Falconer et Yeung, 1992 ; Sun *et al.*, 2014). Ces effets histopathologiques ont aussi été observés *in vivo* dans les testicules de rats ayant reçu des doses répétées de MC-LR par voie ip (Chen *et al.*, 2013) ;
- Une apoptose des hépatocytes mais aussi des cellules glomérulaires et tubulaires proximales (Lankoff *et al.* 2003 ; Li *et al.*, 2011a ; Rai *et al.*, 2018). L'apoptose des cellules de testicules de souris a également été notée à de faibles doses de MC-LR administrées par voie orale (Chen *et al.*, 2011) ;
- L'induction d'un stress oxydant : production de radicaux libres associés aux anions superoxydes, modification des niveaux de protéines contrôlant l'activité des enzymes de détoxification (Ma *et al.*, 2018 a et b) et des niveaux de glutathion cellulaires (Ding *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2016a), peroxydation des lipides (dans des hépatocytes de rat selon Wei *et al.*, 2008, et dans les testicules de lapin selon Liu *et al.*, 2010). La MC-LR peut également induire des dommages oxydants sur les macromolécules (protéines, acides nucléiques, lipides) (Gehring *et al.*, 2004 ; Zegura *et al.*, 2004 ; Botha *et al.*, 2004 ; Bouaïcha et Maatouk, 2004), ainsi que la modification de l'expression de micro-ARN (régulateurs traductionnels) dans les hépatocytes (Xu *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2018).
- L'atteinte des hépatocytes conduit à une toxicité hépatique centro-lobulaire avec des zones hémorragiques importantes pouvant provoquer la mort lors d'expositions aiguës. Lors d'expositions répétées à des doses inférieures à 20  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  p.c., l'inhibition des PP entraîne une prolifération cellulaire promotrice de tumeur et une hypertrophie hépatique (Gehring, 2004 ; Svirčev *et al.*, 2010).

## 4.1.2 Toxicité

Le tableau IX rapporte les valeurs de toxicité aiguë, sub-chronique et chronique disponibles à ce jour pour la MC.

### 4.1.2.1 Toxicité aiguë

Seules les données acquises par voie orale, ou par voie intranasale (inhalation), sont considérées comme représentatives des deux principales voies d'exposition humaine.

Par voie orale (en gavage) et selon la souche de souris ou de rat, la DL<sub>50</sub> de la MC-LR, à 24 h, varie entre 5 et 10,9  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Yoshida *et al.*, 1997 ; Fawell *et al.*, 1999a ; Rao *et al.*, 2005). Par voie intranasale, les DL<sub>50</sub> de la MC-LR observées chez les souris sont beaucoup plus faibles et varient de 43 à 250  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  (Fitzgeorge *et al.*, 1994). À titre de comparaison, chez les rongeurs, les DL<sub>50</sub> de la MC-LR administrée par voies i.v, i.p et intratrachéale (i.t) sont respectivement de 28  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , 30 à 150  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , et 50 à 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  (Lovell *et al.*, 1989 ; Miura *et al.*, 1991 ; Kondo *et al.*, 1992 ; Kuiper-Goodman *et al.*, 1999 ; Sivonen et Jones 1999 ; Ito *et al.*, 2001).

Les DL<sub>50</sub> par voie orale des autres variants de MCs n'ont pas été évaluées à ce jour. Par voie i.p, elles sont comprises entre 50 et 600  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , et les DL<sub>50</sub> des MC-LA, MC-YR, et MC-YM sont du même ordre de grandeur que celles de la MC-LR, alors que celle de la MC-RR est 10 fois plus élevée (Sivonen et Jones, 1999).

Chez les mammifères, l'intoxication aiguë par les MC (voie orale) se caractérise par des dommages gastro-intestinaux, rénaux et hépatiques (e.g., déstructuration tissulaire, apoptose, modification de la composition des gènes fonctionnels intestinaux), et par une augmentation du poids relatif du foie (Fitzgeorge *et al.*, 1994 ; Ito *et al.*, 1997b ; Rao *et al.*, 2005), pouvant mener à une hémorragie massive et une mort en quelques heures. L'exposition aiguë par voie orale à des doses allant de 0,2 à 4  $\text{mg.kg}^{-1}$  et jusqu'à 3,5  $\text{g.kg}^{-1}$  de MC-LR induit des dommages à l'ADN dans le foie (Rao *et al.*, 2005 ; Gaudin *et al.*, 2008), et des apoptoses des hépatocytes à 46  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  (Huang *et al.*, 2011).

Par voie intranasale, des lésions hépatiques dose-dépendantes et un effet cumulatif ont été obtenus chez la souris. L'application d'une dose de MC-LR de  $31,3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  n'entraîne pas d'augmentation de poids du foie. Administrée pendant 7 jours, cette dose entraîne une augmentation de la masse du foie de 75 %, associée à une nécrose de l'épithélium de la muqueuse nasale et des effets sur le système respiratoire et les glandes surrénales. Il faut une dose de  $500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  pour obtenir ces effets avec une seule administration (Fitzgeorge *et al.*, 1994).

#### 4.1.2.2 Toxicité subchronique

L'administration par gavage de MC-LR pure (0, 40, 200 ou  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ) à des souris mâles pendant 13 semaines induit des altérations hépatiques incluant une inflammation chronique, et une dégénérescence hépatocytaire engendrant un impact biochimique (ie., niveau de transaminases sériques élevé, taux de protéines totales sériques diminué) dans le groupe exposé à la dose de  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ . Les individus du groupe exposé à  $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  présentent de légères atteintes hépatiques (Fawell *et al.*, 1999a). Dans cette étude, la dose de  $40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  est considérée comme étant la DSENO (Dose Sans Effet Nocif Observé).

Par ailleurs, Heinze *et al.* (1999) ont mis en évidence des dommages hépatiques (lésions et masse relative du foie augmentée de 17%) et une modification de la biochimie sérique permettant de déterminer une DMENO (Dose Minimale avec un Effet Nocif Observable) de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  chez le rat, par voie orale (eau de boisson, 28 jours, MC-LR pure). Une DMENO de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  est aussi observée chez la souris exposée par gavage toutes les 48 h pendant un mois à la MC-LR ( $50$  et  $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) issue d'extraits purifiés de *Microcystis aeruginosa* (Sedan *et al.*, 2015). Comme l'exposition a été réalisée tous les deux jours, les auteurs ont extrapolé une DMENO de  $25 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ , mais cette extrapolation ne peut être retenue dans le cadre de détermination de doses quotidiennes réglementaires. Les effets associés sont des modifications histologiques dans le foie (vacuolisation, stéatose), une diminution du nombre de lymphocytes intra-épithéliaux dans le petit intestin, une augmentation des teneurs en lipides sanguins, et une modification de certains marqueurs du stress oxydant dans le foie (augmentation de la peroxydation des lipides, diminution de l'activité SOD (superoxyde dismutase) et de la quantité de glutathion).

Une autre exposition subchronique de souris mâles à la MC-LR (de  $0,04$  à  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ) administrée par voie orale pendant 10 semaines a permis de définir une DMENO de  $40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  avec des effets divers : augmentation de la masse du foie, du nombre de lymphocytes et de vacuoles lipidiques autour de la veine centrale hépatique, modification des variables biochimiques hépatiques et sanguines (cholestérol total et lipoprotéines), et modification du microbiote intestinal (Zhang *et al.*, 2016b). La même valeur de DMENO de  $40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  est rapportée par He *et al.* (2017) chez des souris mâles gavées toutes les 48 h pendant 90 jours à des doses de MC-LR allant de  $40$  à  $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Les effets observés sont des augmentations des concentrations en bilirubine et albumine, une modification de l'expression de 57 protéines hépatiques (associées au métabolisme lipidique, à l'immunité et à la protéolyse), une modification du profil métabolique sérique et hépatique, une augmentation du contenu lipidique et des effets histopathologiques hépatiques (infiltrats inflammatoires, hypertrophie des hépatocytes, apoptose, dommages ultra-structuraux), ainsi qu'une augmentation des concentrations de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis factor).

Il a été rapporté chez des souris exposées par voie orale à la MC-LR purifiée, pendant 6 mois à des doses de  $1$ ,  $10$  et  $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Wang *et al.*, 2016) ou pendant 8 semaines à des doses de  $1$ ,  $40$  et  $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Zhang *et al.*, 2010) des valeurs de DSENO et de DMENO de  $1$  et  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectivement (exprimées par litre de boisson). Ces valeurs concernent des effets i) hépatiques (infiltration de lymphocytes et stéatose, augmentation du poids relatif du foie, modification de l'expression des enzymes hépatiques) ou ii) pulmonaires (collapsus et épaississement des septa alvéolaires, rupture de l'intégrité de la jonction cellulaire).

Par voie nasale, chez des souris mâles, des inhalations quotidiennes (30, 60 ou 120 minutes pendant 7 jours) de MC-LR (entre  $3$  et  $12,5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ) n'entraînent pas de signe clinique (analyses sanguines, poids des organes, histologie du foie, des voies respiratoires, glandes surrénales, reins, rate, thymus, tube digestif et testicules). Seules des lésions dans la cavité nasale (nécroses et atrophie de l'épithélium olfactif) ont été observées (Benson *et al.*, 2005). Les auteurs proposent une DSENO par inhalation de  $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ . A *contrario*, des doses quotidiennes de MC-LR ( $6,7 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ ) administrées par voie intranasale pendant 30 jours chez la souris mâle n'entraînent pas de lésions de l'épithélium nasal mais provoquent des modifications histologiques pulmonaires (collapsus alvéolaire, quantités accrues de polynucléaires neutrophiles) et une augmentation des paramètres liés à la mécanique respiratoire (pression, élasticité, résistance) (Oliveira *et al.*, 2015).

#### 4.1.2.3 Toxicité chronique

L'administration orale à des souris, par l'eau de boisson et pendant un an, d'extraits de *Microcystis* (équivalent à 750-12000  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  de MC-YM) provoque une augmentation dose-dépendante de la mortalité individuelle, des bronchopneumonies et des niveaux d'alanine aminotransférase (signe de cytolysé hépatique), ainsi qu'une réduction de la masse corporelle (Falconer, 1988). L'administration de MC-LR (0.2, 8 et 16  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) via l'eau de boisson à des souris pendant 180 jours (Zhang *et al.*, 2010) ou 270 jours (Zhang *et al.*, 2013b) engendre (à partir de 8  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) une diminution significative de la masse corporelle et une augmentation relative de la masse du foie, ainsi qu'une augmentation de la phosphorylation de protéines kinases.

Chez des souris, l'ingestion chronique, via l'eau de boisson et pendant 12 mois, de MC-LR purifiée (doses de 1, 5, 10, 20 ou 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) entraîne des lésions oxydantes de l'ADN des cellules hépatiques (à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), une diminution de l'intégrité des ADN mitochondriaux (ADNmt) et nucléaires et une amplification des ADNmt (à 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Li *et al.*, 2015b). Les auteurs observent également une dérégulation du fonctionnement des mitochondries et des cellules hépatiques pour toutes les doses étudiées (Li *et al.*, 2015b), et estiment une DMENO de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Une exposition similaire (même modèle, mêmes doses et temps d'exposition) a permis de définir une DSENO de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ainsi qu'une DMENO de 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour des effets histologiques et métaboliques dans les poumons (augmentation de l'épaisseur du septum alvéolaire et des zones de collapsus, modification de l'expression des gènes mitochondriaux dans les cellules pulmonaires, modification des niveaux de cytokines inflammatoires) (Li *et al.*, 2016a).

*A contrario*, une étude plus ancienne a montré que des souris femelles BALB/c âgées de six semaines ayant reçu pendant 18 mois 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC-LR dans l'eau de boisson (quantité cumulée ingérée de 35,5 mg par souris) n'ont pas montré de signe de toxicité (survie, masse corporelle, consommation d'aliments, histopathologie du foie) ou d'accumulation de MC-LR (Ueno *et al.*, 1999). Il est quand même rapporté une hausse importante des taux de cholestérol chez 22 % des souris traitées au 18<sup>ème</sup> mois. Enfin, des souris ayant reçu par gavage 100 doses de 80  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de MC-LR sur une période de 28 semaines ne montrent pas de changement de la masse moyenne du foie, mais des lésions légères au niveau des hépatocytes situés près de la veine centrale hépatique chez la moitié des individus (Ito *et al.*, 1997b).

**Les données de toxicité chronique, établies pour la MC-LR principalement, fournissent des résultats contrastés. Les effets rapportés sont une histopathologie du foie et une perturbation métabolique (métabolisme des lipides et métabolisme mitochondrial).**

#### 4.1.2.4 Génotoxicité

La mutagenèse et la génotoxicité de la MC-LR ou d'extraits de cyanobactéries microcystiques (MCE) ont été évaluées à travers une multiplicité de systèmes d'essai présentant différents niveaux d'organisation (bactéries, cellules eucaryotes, animaux), mesurant différents paramètres biologiques (altérations primaires de l'ADN, mutations géniques et chromosomiques) selon des conditions expérimentales mises en œuvre très hétérogènes (méthode, niveau et temps d'exposition).

**Sur la base de l'ensemble des résultats de tests *in vitro* d'altérations primaires de l'ADN, et en ne prenant en compte que les effets considérés comme significatifs par leurs auteurs, il n'est pas possible d'attribuer ces effets à une génotoxicité intrinsèque de la MC-LR. La démonstration d'un mode d'action génotoxique de type oxydatif direct n'est pas probante.**

Concernant l'induction de mutations chromosomiques, nous avons considéré les résultats significatifs de cinq études réalisées sur différents modèles cellulaires, dans différentes conditions opératoires, avec des temps de traitement parfois très longs (plus de 24 heures). Ces résultats ont été obtenus sur des extraits de cyanobactéries dont les teneurs en MC-LR sont parfois inconnues (Abramsson-Zetterberg *et al.*, 2010). Dans certains cas, des résultats statistiquement significatifs ont été obtenus via un système d'essai non standardisé basé sur des cellules génétiquement modifiées, dans des conditions expérimentales limitées (une seule dose), et après un temps long d'exposition de 30 jours qui pourrait conduire à des phénomènes secondaires (Huang *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2015). En revanche, aucune induction du nombre de cellules micronucléées n'a été observée dans les lymphocytes humains binucléés traités jusqu'à 10  $\mu\text{g MC-LR.mL}^{-1}$  (Zegura *et al.*, 2011), mais des résultats significatifs ont été observés avec des cellules humaines HepG2 traités pendant 24h à 5 et 20  $\mu\text{M}$  (soit d'environ 5 et 20  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) sans qu'aucun mode d'action éventuel ne puisse être proposé (Dias *et al.*, 2014). En outre, l'occurrence d'un mécanisme aneugène ne peut pas être ici affirmée.



Concernant l'induction de mutations géniques, au cours de trois tests d'Ames (système bactérien) utilisant différentes conditions expérimentales, la MC-LR pure ne s'est pas révélée mutagène avec ou sans activation métabolique vis-à-vis des souches classiquement requises (à l'exception de la souche de *Salmonella typhimurium* TA102 mais qui a été substituée par les souches d'*Escherichia Coli* WP2 uvrA et WP2 [pKM101]), permettant de mettre en évidence des événements mutationnels de type décalage du cadre de lecture et substitution de paires de bases. Les seules réponses « positives » ont été observées sur des extraits de cyanobactéries, contenant entre autres des microcystines (Ding *et al.*, 1999 ; Sieroslawska *et al.*, 2013), confirmant la présence de substance(s) mutagène(s). Le seul test de mutations géniques disponible sur cellules de mammifères (Wang *et al.*, 2015) correspond à un système d'essai non standardisé basé sur des cellules génétiquement modifiées. Les données relatives à ce système d'essai sont restreintes dans la littérature et les conditions expérimentales très limitées (une seule dose), ce qui complique l'évaluation de ses performances en termes de sensibilité et de spécificité. Les résultats sont majoritairement négatifs avec une augmentation statistiquement significative de la fréquence de mutation observée exclusivement après un temps très long d'exposition de 30 jours qui pourrait conduire à des phénomènes secondaires (tels que des processus inflammatoires compatibles avec l'implication de la NOS (oxyde nitrique synthase)) interférant avec ce type de détection.

Globalement, ces résultats permettent de conclure que la MC-LR n'est pas mutagène *in vitro* sur un système bactérien alors que les réponses mutagènes observées pour des extraits de cyanobactéries contenant des microcystines sont dues à la présence d'autre(s) substance(s) mutagène(s). L'induction de mutations géniques est le paramètre biologique qui est sans doute le mieux renseigné qualitativement.

Le test des comètes *in vivo* a également été réalisé sur plusieurs éléments d'essai (MC, MCE), divers organes cibles, différentes espèces. Des augmentations statistiquement significatives de la fragmentation de l'ADN *in vivo* ont été rapportées dans quatre études dont deux qui ont étudié des MCE, on ne peut donc pas exclure que la réponse génotoxique observée soit due à d'autre(s) substance(s) que la MC-LR.

Pour les essais sur la MC-LR pure, ces effets significatifs pourraient être directement liés aux conditions expérimentales utilisées menant à des effets secondaires non intrinsèques à la MC-LR tels que :

- l'interférence avec la méthode d'isolement, en utilisant la méthode de broyage des cellules utilisée par Sasaki *et al.*, (1998) ;
- l'intégration dans le comptage principal des cellules fortement endommagées qui devraient être comptabilisées indépendamment. Ces cellules doivent en effet être exclues du comptage car leur état peut être lié à des phénomènes cytotoxiques (apoptose, nécrose) et non pas à la génotoxicité ;
- l'utilisation de l'Olive Tail Moment (OTM) comme paramètre de quantification de la fragmentation de l'ADN connu pour surestimer la réelle fragmentation ;
- le non suivi des critères d'interprétation définis par la ligne directrice de l'OCDE No. 489, permettant d'évaluer la significativité biologique de ces effets ;
- l'augmentation transitoire de la fragmentation de l'ADN observée par Dias *et al.* (2014) qui ne peut pas être considérée comme biologiquement significative.

Par ailleurs, l'étude de Gaudin *et al.* (2008) a également mis en évidence des effets statistiquement significatifs sur la fragmentation de l'ADN mais les niveaux de fragmentation sont considérés comme très faibles et en l'absence de données historiques, ceux-ci ne peuvent pas être considérés comme biologiquement significatifs.

Sur l'ensemble des résultats de tests des comètes *in vivo*, tests d'altération primaire de l'ADN, il ne peut pas être conclu que la MC-LR soit génotoxique *in vivo*, ni par voie orale, ni par voie ip. On considère que les données des tests mesurant l'induction d'anomalies chromosomiques stables, en particulier *in vivo* dans les systèmes de mammifères, sont à considérer pour déterminer un effet génotoxique (Brusick *et al.*, 2016). Cinq tests du micronoyau *in vivo* sont disponibles.

L'étude de Zhang *et al.* (2011) réalisée sur un mélange de trois MC [MC-RR + MC-LR + MC-YR] a mené à des augmentations statistiquement significatives de l'induction de micronoyaux. Néanmoins, il faut également souligner la présence de nombreuses autres substances dans le mélange en plus des trois MC (1,41 mg.g<sup>-1</sup>), qui peuvent être à l'origine des effets génotoxiques observés. On ne peut donc pas exclure que la réponse génotoxique observée pour cet extrait est due à d'autre(s) substance(s) que la MC-LR et autres MC.

Aucune augmentation de la fréquence des érythrocytes polychromatiques micronucléés n'a été retrouvée au niveau du sang périphérique de souris mâles CBA exposées par voie ip aux doses allant de 10 à 55 µg MC-LR.kg<sup>-1</sup> (Abramsson-Zetterberg *et al.*, 2010). La MC-LR a induit une augmentation significative de la fréquence de réticulocytes micronucléés après un traitement unique de souris mâles à la seule dose de MC-LR de 37,5 µg.kg<sup>-1</sup> par voie ip (Dias *et al.*, 2014). Or, dans cette même étude, aucune augmentation biologiquement significative de la fragmentation de l'ADN n'a été mise en évidence dans le test des comètes. L'hypothèse d'un mode d'action aneugène de la MC-LR a été avancée. Néanmoins, les conditions expérimentales étant trop restreintes (une seule dose testée) et la probabilité d'un mécanisme d'inhibition des protéines phosphatases par la MC-LR dans ces conditions opératoires totalement hypothétiques, le niveau de preuve est donc insuffisant pour confirmer un mode d'action génotoxique de type aneugène, même si cette hypothèse ne peut pas *a priori* être totalement écartée.

Enfin, les résultats de la publication de Dong *et al.* (2008) ne peuvent être retenus. En effet, d'une part cette évaluation sur spermatocytes ne fait référence à aucun essai réglementaire de génotoxicité sur cellules germinales. Par ailleurs, cette étude ne donne que très peu de détails quant aux protocoles mis en œuvre et le résultat des fréquences de micronoyaux n'est pas présenté. De plus, il faut également souligner qu'à ce jour, aucune publication n'a mis en évidence de substances génotoxiques exclusivement sur cellules germinales.

L'ensemble des résultats de tests d'induction d'aberrations chromosomiques *in vivo*, ne permet pas de conclure que la MC-LR est génotoxique *in vivo*, ni de mettre en avant un quelconque mode d'action.

Aucune étude évaluant l'induction de mutations géniques *in vivo* par la MC-LR n'est publiée.

Enfin, l'hypothèse d'un mode d'action oxydant/nitrosant (direct et/ou indirect) de la MC-LR conduisant à des effets génotoxiques a été proposée. Les résultats ne permettent pas d'affirmer que l'induction d'une oxydation initiale directe intrinsèque à la MC-LR existe et lorsqu'elle a été retrouvée, elle semble même plutôt due à des phénomènes interférant (e.g. peroxydation lipidique) pouvant être à l'origine d'une oxydation secondaire. Certains auteurs ont aussi démontré que des extraits MCE augmentaient les taux de malondialdéhyde *in vivo* (Li *et al.*, 2011b).

**Sur la base d'un examen critique de l'ensemble des données sur la génotoxicité de la microcystine-LR associé à une évaluation par une approche de type « poids de la preuve », il n'est pas possible de statuer sur le caractère génotoxique de la microcystine-LR.**

#### 4.1.2.5 Cancérogénèse

Un effet promoteur de tumeur des MC a été démontré *in vivo* par voie i.p et par voie orale (Nishiwaki-Matsushima *et al.*, 1992 ; Sekijima *et al.*, 1999). Les données issues d'administration par voie ip ne sont pas considérées dans ce rapport mais il est intéressant de noter qu'il semble exister une différence d'intensité des effets entre les deux voies d'administration. Chez la souris, l'administration subchronique par voie ip de MC-LR (20 µg.kg<sup>-1</sup>) provoque l'apparition de nodules hépatiques contrairement à l'administration d'une dose plus forte (80 µg.kg<sup>-1</sup>) par voie orale (Ito *et al.*, 1997a, 1997b).

Par voie orale, des extraits de *Microcystis* (contenant jusqu'à 40 µg MC.L<sup>-1</sup>) administrés *via* l'eau de boisson à des souris ayant reçu des applications cutanées d'une substance carcinogène (diméthylbenzantracène) engendrent une accélération de la formation de tumeurs de la peau, ainsi qu'une augmentation de la masse des tumeurs (Falconer, 1991). Une expérience menée chez des souris ayant reçu deux doses orales de N-méthyl-N-nitrosourée n'a en revanche montré aucun effet d'accélération de la formation de tumeurs dans l'intestin ou le foie (Falconer et Humpage, 1996). L'administration chronique chez la souris *via* l'eau de boisson, pendant un an, d'extraits de *M. aeruginosa* (750 à 12 000 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> en équivalent MC-YM), provoque des dommages hépatiques ainsi qu'une augmentation des bronchopneumonies et de la mortalité dans les groupes recevant les plus fortes concentrations. Si aucun cancer du foie n'a été induit, une promotion tumorale a été signalée (Falconer *et al.*, 1988). L'administration de MC-LR *via* l'eau de boisson (1, 5, 10, 20, 40, et 80 µg.L<sup>-1</sup>) à des souris pendant 3, 6, 9, et 12 mois engendre, pour les concentrations les plus élevées (40 et 80 µg.L<sup>-1</sup>) et après 9 et 12 mois, la présence de nodules tumoraux hépatiques et une augmentation du nombre de cellules atypiques (Xu *et al.*, 2018).

D'autres études menées *in vivo* ne reportent aucun effet cancérogène. Chez la souris, l'administration orale de MC-LR (80 µg.kg<sup>-1</sup>) répétée 100 fois dans une période de 28 semaines ne provoque pas de formation de nodule (Ito *et al.*, 1997b). Dans l'étude de Labine et Minuk (2015), aucune tumeur hépatique n'a été mise en évidence chez des souris ayant reçu 1 mg.L<sup>-1</sup> de MC-LR *via* l'eau de boisson pendant 28 semaines.

**Les données de carcinogénèse concernant la MC-LR ne sont pas suffisamment probantes, mais il existe des données suffisantes concernant l'accélération de la formation de tumeurs par la MC-LR après pré-traitement avec des agents carcinogènes. Le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer) a classé la MC-LR comme possiblement carcinogène pour les humains (Groupe 2B) sur la base d'études menées *in vivo* avec une voie d'administration ip (IARC, 2010).**

#### 4.1.2.6 Reprotoxicité et tératogénèse

Les valeurs de DSENO et DMENO concernant des paramètres reprotoxiques et de tératogénèse sont plus souvent exprimées en  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , alors que les valeurs décrites pour des paramètres individuels de toxicité subchronique le sont en  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  (de 40 à 50  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  par voie orale). Chez la souris mâle, l'administration par voie orale de MC-LR *via* l'eau de boisson (1 à 30  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), pendant 90 jours, provoque une fibrose accrue du tissu testiculaire, une diminution significative et dose dépendante (à partir de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) du nombre de spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation du nombre d'anomalies spermatiques (à partir de 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Chen *et al.*, 2016b, 2017).

Des souris mâles ayant reçu de la MC-LR (0, 1, 3,2 ou 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , équivalent à 0, 0,25, 0,79 et 2,5  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) *via* l'eau de boisson pendant trois ou six mois n'ont pas présenté de signe clinique de toxicité ni de modification de la masse corporelle ou de la masse des testicules (Chen *et al.*, 2011). Les auteurs observent cependant une chute du nombre de spermatozoïdes et de leur motilité ainsi que des anomalies spermatiques à partir de 3,2 et de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et après trois ou six mois d'exposition. Les taux de testostérone sériques sont plus faibles et les niveaux d'hormones lutéinisantes (LH) et d'hormones folliculostimulantes (FSH) plus élevés après 3 mois d'exposition à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Après six mois d'exposition, l'augmentation des taux de FSH et de LH est dose-dépendante à 3,2 et 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Les taux de testostérone sont significativement diminués après 3 mois d'exposition à la plus forte dose (10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) et après 6 mois d'exposition à 3,2 et 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Une atrophie testiculaire est observée après 6 mois d'exposition à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , associée à un élargissement de la lumière des tubules séminifères, un amincissement de l'épithélium spermatogène, ainsi qu'une destruction des cellules de Leydig, de Sertoli et des spermatozoïdes matures. Le nombre de cellules apoptotiques augmente significativement après trois mois à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , et après six mois à partir de 3,2  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Cette étude peut permettre l'établissement d'une DSENO de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (environ 0,25  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) associée aux impacts sur le nombre et la motilité des spermatozoïdes.

Une étude ultérieure de Chen *et al.* (2016b) permet de définir une DMENO de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC-LR concernant les fibroses du tissu testiculaire. La même valeur de DMENO de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$  concernant des effets tératogènes chez de jeunes souris mâles est proposée par Zhang *et al.* (2017a) après exposition à la MC-LR par voie orale (eau de boisson, 1, 10 et 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) entre le 2<sup>ème</sup> jour de gestation et le 21<sup>ème</sup> jour post-natal. Les effets observés sur les descendants à 30 jours de vie, aux doses 10 et 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , sont une perte de masse corporelle significative et une diminution significative dose-dépendante du ratio poids de la prostate/masse corporelle, avec une diminution des taux sériques d'œstradiol et une accumulation de MC-LR dans la prostate. La distance ano-génitale est significativement plus faible à toutes les doses d'exposition 90 jours après la naissance. À 90 jours, pour les doses 10 et 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , les auteurs observent une réduction significative des taux sériques de testostérone et du ratio androgène/œstrogène, une augmentation de l'expression des récepteurs aux androgènes dans l'épithélium prostatique, et un développement perturbé de la prostate (nécrose, inflammation, hyperplasie, fibrose). Les mêmes auteurs (Zhang *et al.*, 2017b) ont exposé des souris gestantes à deux jours de gestation puis des descendants jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour post-natal à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  par eau de boisson et ont constaté une diminution de la masse corporelle, de l'indice testiculaire et de la prolifération cellulaire dans les testicules des descendants, ainsi qu'une augmentation de l'apoptose cellulaire et des dommages dans la structure des tissus testiculaires.

L'exposition de souris femelles à la MC-LR (1, 10 et 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) par l'eau de boisson pendant trois ou six mois a permis de définir respectivement une DSENO de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , et une DMENO de 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Les effets observés sont (i) diminution de l'indice gonado-somatique, du niveau d'œstradiol et de la fertilité (diminution de survie des descendants dose-dépendant), et (ii) l'augmentation de l'atrésie des follicules ovariens, et d'anomalie du cycle œstral (Wu *et al.*, 2015).

Cependant, il est à noter que des études plus anciennes rapportent des valeurs de DSENO ou DMENO en  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  concernant la reprotoxicité. Par exemple, l'étude de Fawell *et al.* (1999) rapporte une toxicité maternelle et des retards de poids et d'ossification du squelette sur la descendance des souris traitées par gavage du 6<sup>ème</sup> au 15<sup>ème</sup> jour de la gestation avec une dose de MC-LR pure de 2000  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ . À la dose de 600  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ , aucun signe de toxicité n'est observé chez les progénitures et les mères (DSENO = 600  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ).

#### 4.1.2.7 Neurotoxicité

Des épisodes d'intoxication humaine impliquant des MC ont montré que, parallèlement aux symptômes hépatotoxiques, il pouvait exister des signes neurologiques périphériques ou centraux (céphalées, surdité, acouphène et cécité transitoire) suggérant que ces toxines peuvent agir sur le système nerveux et y causer des effets délétères (Carmichael *et al.*, 2001 ; Azevedo *et al.*, 2002). Ces effets neurotoxiques des MC ont été longtemps négligés, mais font l'objet depuis quelques années d'un regain d'attention. Il a été montré *in vitro* qu'un analogue structural de la MC-LR radiomarquée est susceptible de passer la barrière hémato-encéphalique, *via* des protéines cérébrales normalement impliquées dans le transport d'ions organiques (Fischer *et al.*, 2005). L'étude de la neurotoxicité de la MC-LR a été menée *in vivo* sur des rats par des injections intra-hippocampiques (1 et 10 µg.L<sup>-1</sup>). Des tests comportementaux montrent que les fonctions cognitives (apprentissage et mémoire) sont fortement altérées (Li *et al.*, 2014b et c). *In situ*, des lésions histologiques sont observées dans l'hippocampe, mettant en jeu des mécanismes supposés de stress oxydant. *In vitro*, des variants structuraux de la MC-LR (MC-LW et MC-LF) induisent une neurotoxicité sur des neurones immatures de cervelet de souris, notamment des effets cytotoxiques, pro-apoptotiques et neurodégénératifs (hyperphosphorylation de la protéine Tau, condensation de la chromatine, réduction des neurites) pour des concentrations micromolaires de toxines (Feurstein *et al.*, 2011). Enfin, une analyse protéomique montre que le niveau d'expression de 45 protéines neuronales est modifié dans des neurones d'hippocampe traités avec la MC-LR (0,3 et 3 µM) pendant 48 h. Parmi ces protéines, l'expression de la phosphatase calcineurine est significativement augmentée, ce qui participe à la neurotoxicité induite par apoptose qui est attribuée à la MC-LR (Li *et al.*, 2015d). Ces effets pourraient tout à la fois participer à la toxicité aiguë des MC et à leur toxicité chronique.

Enfin, l'exposition à la MC-LR par gavage de rats Sprague-Dawley femelles gestantes (1, 5 et 20 mg de MC-LR/kg masse corporelle à raison d'une prise tous les deux jours pendant huit semaines) est traduite par des effets négatifs sur le développement du système nerveux de la progéniture âgée de 28 à 60 jours. Le test de la piscine de Morris, qui évalue l'apprentissage et la mémoire, montre notamment que l'exposition progestative à la MC-LR provoque des effets neurotoxiques à long terme sur les rats de la génération F1. Ces déficits comportementaux sont susceptibles d'être corrélés à une augmentation du stress oxydant au niveau cérébral (Li *et al.*, 2015c).

**Tableau IX : valeurs toxicologiques pour la MC-LR acquises *in vivo* avec des voies d'administration orale ou intranasale**

Toxicité	Voie administration	Valeurs repères	Source
Aiguë	Orale	DL <sub>50</sub> = 5 mg.kg <sup>-1</sup> (souris, gavage)	Fawell <i>et al.</i> , 1999a
		DL <sub>50</sub> = 10,9 mg.kg <sup>-1</sup> (souris, gavage) DL <sub>50</sub> = 9,6g.kg <sup>-1</sup> (souris, dose unique)	Yoshida <i>et al.</i> , 1997 Rao <i>et al.</i> , 2005
	Intranasale	36 µg.kg <sup>-1</sup> < DL <sub>50</sub> < 122 µg.kg <sup>-1</sup>	Fitzgeorge <i>et al.</i> , 1994

Toxicité	Voie administration	Valeurs repères	Source
Subchronique	Orale	DSENO = 40 µg.kg-1.j-1 (souris, gavage, 13 semaines)	Fawell <i>et al.</i> , 1999a
		DMENO = 50 µg.kg-1.j-1 (rat, eau de boisson, 28 jours)	Heinze, 1999
		DMENO = 50 µg.kg-1 (souris, gavage, toutes les 48h, 30 jours) DSENO = 1 µg.L-1	Sedan <i>et al.</i> , 2015
		DMENO = 10 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 6 mois)	Wang <i>et al.</i> , 2016a
		DMENO = 40 µg.kg-1.j-1 (souris, gavage, 10 semaines)	Zhang <i>et al.</i> , 2016a
		DMENO = 40 µg.kg-1.j-1 (souris, gavage, toutes les 48h, 90 jours)	He <i>et al.</i> , 2017
	Intranasale	DSENO = 3 µg.kg-1.j-1 (souris, inhalation, 7 jours)	Benson <i>et al.</i> , 2005
		DMENO = 6,7 ng.kg-1.j-1 (souris, inhalation, 30 jours)	Oliveira <i>et al.</i> , 2015
Chronique	Orale	DMENO = 1 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 12 mois)	Li <i>et al.</i> , 2015b
		DSENO = 1 µg.L-1	Li <i>et al.</i> , 2016a
		DMENO de 5 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 12 mois)	
Embryotoxicité	Orale	DSENO = 600 µg.kg-1.j-1 (souris, gavage, 10 jours)	Fawell <i>et al.</i> 1994, Fawell <i>et al.</i> 1999a
Reprotoxicité et Tératogénèse (expositions subchroniques et chroniques)	Orale	DMENO = 1 µg.kg-1 (souris, intragastrique, toutes les 48h, 8 semaines)	Li <i>et al.</i> , 2015
		DSENO = 10 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 3 mois)	Wu <i>et al.</i> , 2015
		DMENO = 40 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 3 mois)	Wu <i>et al.</i> , 2015
		DSENO = 1 µg.L-1 (souris, , eau de boisson, 6 mois)	Wu <i>et al.</i> , 2015
		DMENO = 10 µg.L-1 (souris, , eau de boisson, 6 mois)	Wu <i>et al.</i> , 2015
		DSENO = 1 µg.L-1 (souris, , eau de boisson, 3 et 6 mois)	Chen <i>et al.</i> , 2011
		DMENO = 1 µg.L-1 (souris, eau de boisson, 90 jours)	Chen <i>et al.</i> , 2016b
		DMENO = 1 µg.L-1 (souris, , eau de boisson, 65 jours)	Zhang <i>et al.</i> , 2017a

### 4.1.3 Conclusions sur la toxicité des MC et valeurs toxicologiques de référence

Concernant la toxicité aiguë des MC, par voie orale (en gavage) et selon la souche de souris ou de rat, la DL<sub>50</sub> de la MC-LR, à 24 h, varie entre 5 et 10,9 mg.kg<sup>-1</sup>. Par voie intranasale (in), les DL<sub>50</sub> observées chez les souris sont plus faibles et varient de 36 à 122 µg.kg<sup>-1</sup>.

Concernant les toxicités subchroniques et chroniques des MC par voie orale, des DSENO et DMENO comprises entre 40 et 50 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> étaient jusqu'à présent admises, avec des effets principalement rapportés sur le foie (dommages histologiques, modification du métabolisme des lipides) et sur des variables biochimiques sériques et sanguines. Des effets pulmonaires (lésions, collapsus alvéolaires) ont également été observés lors d'expositions subchroniques à des doses inférieures à 12,5 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> par voie orale ou intranasale. L'étude de Fawell *et al.* (1994), qui a déterminé une DSENO de 40 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>, a été retenue par divers organismes (OMS en 1998, NHMRC en 2004, INSPQ en 2005, Santé Canada en 2012) pour établir une Dose Journalière Tolérable (DJT) par voie orale de 0,04 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> avec application d'un facteur de sécurité de 1000 (pour les variations intra et inter-espèces, pour le manque de données sur la toxicité chronique et la cancérogénicité, et pour tenir compte des connaissances réduites dans le domaine de la toxicité de la reproduction), ou une Valeur Toxicologique de Référence (VTR) de 0,4 µg.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup>, avec application d'un facteur de sécurité de 100.

Une dose de référence (RfD) de 0,05 µg.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup> a été calculée par l'US EPA en 2015 en utilisant l'étude de Heinze (1999) dans laquelle une DMENO de 50 µg.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup> est établie après administration de MC-LR pure par voie orale via l'eau de boisson à des rats pendant 28 jours (US EPA, 2005a). L'US EPA applique un facteur de sécurité de 900 (100 pour les variations intra et inter espèces, 3 pour l'utilisation d'une DMENO au lieu d'une DSENO et 3 pour l'incertitude dans les données) (US-EPA-2015a et b). La même démarche a été effectuée par Santé Canada en 2016 pour un Apport Quotidien Tolérable (AQT) de 0,056 µg.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup> (Santé Canada, 2016).

Cependant, des études plus récentes (Zhang *et al.*, 2016a ; He *et al.*, 2017) rapportent l'apparition d'effets toxiques (notamment hépatotoxicité, reprotoxicité et neurotoxicité) à des doses d'exposition égales ou inférieures à la DSENO utilisée actuellement (40 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>). En retenant une consommation de 2 L d'eau par jour pour un adulte de 60 kg, si l'eau représente 80 % des apports quotidiens en MC, la concentration maximale de MC-LR admissible dans l'eau de boisson est de 1 µg.L<sup>-1</sup>. Cependant, des valeurs de DMENO plus basses de 5 et 10 µg.L<sup>-1</sup> ont été obtenues respectivement par Whang *et al.* (2016) et par Li *et al.* (2016a) pour des effets pulmonaires (collapsus alvéolaires, épaississement des septa, modification des jonctions cellulaires) et par Wu *et al.* (2015) pour des effets reprotoxiques, après expositions subchroniques et chroniques chez la souris. De même, Chen *et al.* (2016b) et Li *et al.* (2015b) signalent respectivement des effets reprotoxiques (fibrose testiculaire) et métaboliques (variation de l'expression des gènes mitochondriaux et nucléaires, dérégulation du fonctionnement des mitochondries) lors d'expositions subchroniques et chroniques chez la souris, avec des DMENO de 1 µg.L<sup>-1</sup>. Enfin, Zhang *et al.* (2017a) ont observé des effets tératogènes (effet sur la masse des foetus et la distance ano génitale à 90 jours de vie) et déterminé une DMENO de 1 µg.L<sup>-1</sup> après une exposition maternelle de 65 jours par voie orale.

**Ainsi, une VTR plus protectrice pour une exposition subchronique à de faibles doses de MC-LR par voie orale peut être établie. L'analyse de ces études récentes a permis de définir des DSENO/DMENO inférieures à 40 µg.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup> et de proposer une nouvelle VTR basée sur l'effet reprotoxique comme effet critique pertinent** (Anses, 2019a). Les effets sur la reproduction les plus pertinents sont observés au niveau de l'appareil reproducteur mâle, d'un point de vue histologique mais aussi fonctionnel (altération de la qualité spermatique avec diminution de la mobilité spermatique et du nombre de spermatozoïdes et augmentation du nombre d'anomalies spermatiques, par altération des tubes séminifères, des cellules de Leydig, des cellules germinales et des cellules de Sertoli). L'étude clé utilisée est celle de Chen *et al.* (2011) dans laquelle est rapportée une relation dose réponse pour plusieurs effets reprotoxiques (qualité spermatique, augmentation du taux de LH/FSH et diminution du taux de testostérone) dans une gamme de doses étudiées relativement basses (0, 1, 3, 2 et 10 µg.L<sup>-1</sup>).

**La nouvelle VTR reprotoxique par voie orale proposée pour la MC-LR est de 1 ng.kg<sup>-1</sup>.pc.j<sup>-1</sup> (Anses, 2019a).**

## 4.2 La cylindrospermopsine

La cylindrospermopsine (CYN) est un alcaloïde de 415 Da possédant une unité guanidine tricyclique (figure 4). La CYN est un inhibiteur de synthèse protéique (Terao *et al.*, 1994 ; Froschio *et al.*, 2003). La toxine affecterait la phase d'élongation lors de la synthèse protéique (Froschio *et al.*, 2003) sans que la cible soit le ribosome (Bain *et al.*, 2007). Il a été montré que le groupe sulfate de la CYN ne joue aucun rôle dans l'activité toxique et l'absorption par les cellules (Runnegar *et al.*, 2002). Des études récentes *in vitro* avec des variants synthétisés montrent l'importance du groupement hydroxyle sur le C7 pour l'activité biologique (Cartmell *et al.*, 2017).

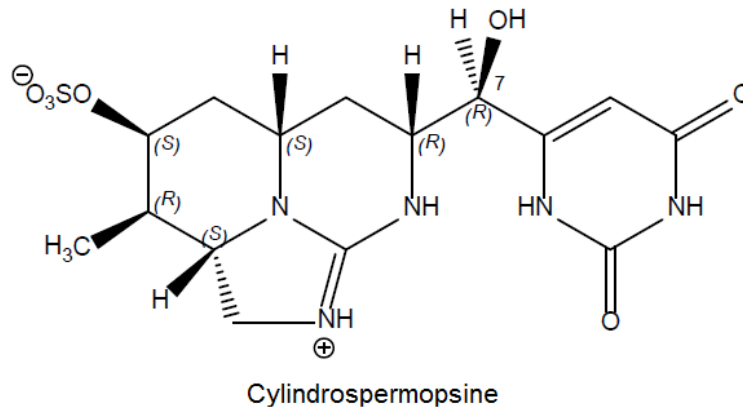


Figure 4 : structure chimique de la cylindrospermopsine

### 4.2.1 Toxicologie

#### 4.2.1.1 Bioaccessibilité

Récemment, des études portant sur les effets de différents procédés de cuisson sur la concentration en CYN dans des muscles de poisson supplémentés ont montré que la CYN diminuait entre 10 et 40 % (Maisanaba *et al.*, 2017 ; Prieto *et al.*, 2017 ; Guzman-Guillen *et al.*, 2017) alors qu'aucune diminution n'est observée avec des matrices « moules » (Freitas *et al.*, 2016). Cependant, il est rapporté la formation de sous-produits tels que la 7-epi-CYN (Maisanaba *et al.*, 2017) pour lesquels les données de toxicité ne sont pas disponibles. Des données complémentaires de digestion *in vitro* sur matrices « muscle de poisson » et « moule » montrent également une diminution de la concentration en CYN sous l'effet des enzymes digestives (Maisanaba *et al.*, 2017 ; Freitas *et al.*, 2016).

#### 4.2.1.2 ADME

##### Absorption

Les données *in vitro* avec un modèle de cellules intestinales humaines montrent que la CYN passe difficilement la barrière intestinale (environ 20% après 24 h d'exposition) (Fernandez *et al.*, 2014). Ce passage s'effectuerait *via* une voie paracellulaire passive mais l'implication de transporteurs actifs de type Pgp (P-glycoprotéine) ou MDR (Multi-Drug Resistance) est également probable (Pichardo *et al.*, 2017). La pénétration de la CYN dans les cellules rénales est lente et progressive et le transporteur de la base uracile n'est pas impliqué (Froschio *et al.*, 2009).

Les études *in vivo* par administration orale chez la souris montrent que la CYN est absorbée au niveau intestinal puisqu'elle provoque des effets sur des organes systémiques (Chernoff *et al.*, 2018 ; Bazin *et al.*, 2012 ; Humpage et Falconer 2003 ; Shaw *et al.*, 2001) même s'il existe très peu d'études ayant investigué cette voie d'administration, la majorité des travaux ayant été réalisée par exposition ip.

## Distribution

Après injection ip chez la souris, la CYN se distribue principalement dans le foie et les reins où les effets toxiques sont également observés (Hawkins *et al.*, 1985, 1997; Shaw *et al.*, 2000, 2001) mais des lésions sont également observées au niveau du poumon, de l'intestin et des glandes surrénales. Quelques travaux avec de la CYN marquée au C<sup>14</sup> et administrée en ip à des souris indiquent que la toxine se distribue dans le foie, les reins et la rate mais qu'elle est également retrouvée dans le sang, le poumon et le cœur (Norris *et al.*, 2001). Après une simple dose ip de 200 µg.kg<sup>-1</sup>, la toxine est retrouvée majoritairement dans le foie et les reins 5 à 7 jours après l'injection.

Après administration orale de la CYN ou d'extraits de cyanobactéries contenant de la CYN, les effets toxiques sont rapportés au niveau de l'intestin, du foie, du rein, de la rate, du thymus, du cœur et des poumons (Shaw *et al.*, 2001 ; Bazin *et al.*, 2012 ; Falconer *et al.*, 1999 ; Seawright *et al.*, 1999).

Après administration intratrachéale d'un extrait purifié de culture de *Cylindrospermopsis raciborskii* (équivalent à 70 µg.kg<sup>-1</sup> de CYN), si la toxine est retrouvée à faible concentration dans le poumon, elle est en revanche principalement retrouvée dans le foie 2 h seulement après l'administration (Oliveira *et al.*, 2012).

## Métabolisme

Même si des éléments suggèrent que la CYN peut être métabolisée en particulier par des cytochromes P450 (Bazin *et al.*, 2010 a et b ; Norris *et al.*, 2002 ; Shaw *et al.*, 2000, Runnegar *et al.*, 1994), les études menées *in vitro* n'ont pas permis de mettre en évidence la formation de métabolites (Kittler *et al.*, 2016).

## Excrétion

L'excrétion s'effectue majoritairement par les urines mais aussi dans les fèces après administration ip (Norris *et al.*, 2001). Après une administration ip de 200 µg.kg<sup>-1</sup> à des souris, presque 80 % de la dose injectée est excrétée après 24 h (environ 68 % par l'urine et 8,5 % par les fèces) mais avec de fortes variabilités inter-individuelles.

### 4.2.1.3 Mécanismes de toxicité

Les effets cellulaires ont été rapportés dans une revue récente (Pichardo *et al.*, 2017). En dehors de l'inhibition de la synthèse protéique, plusieurs publications ont rapporté l'induction de stress oxydant (Poniedzialek *et al.*, 2015 ; Lopez-Alonso *et al.*, 2013 ; Humpage *et al.*, 2005 ; Runnegar *et al.*, 1994) avec en particulier une déplétion en glutathion en raison de l'inhibition de synthèse, ce qui provoque ultérieurement la cytotoxicité (Runnegar *et al.*, 1995).

## 4.2.2 Toxicité

### 4.2.2.1 Toxicité aiguë

Après administration ip de CYN à des rats (24 et 72 h), des effets sont rapportés au niveau du foie avec la libération d'enzymes au niveau sérique, l'induction d'un stress oxydant et des altérations histopathologiques (nécrose, infiltration de cellules inflammatoires) (Dordevic *et al.*, 2017). Des résultats similaires sont observés avec un extrait de *C. raciborskii* contenant de la CYN (Dordevic *et al.*, 2017). Les souris affectées après injection d'un extrait de *C. raciborskii* sont décrites comme anoxiques, avec de faibles diarrhées et, à la nécropsie, l'observation de congestion et hémorragie au niveau du foie, congestion et œdème au niveau du petit intestin et congestion des poumons, des reins et des surrénales (Hawkins *et al.*, 1985, 1997). Certaines souris ayant survécu 24 h montrent des thromboses avec accumulation de fibrine dans les veines porte alors que celles survivant cinq jours présentent des foies avec une accumulation de lipides dans les hépatocytes (Hawkins *et al.*, 1985). D'autres travaux ont montré que, sept à quatorze jours après une seule injection ip, le rein était également un organe cible avec l'induction d'œdème et de fibrose, en particulier au niveau des tubules proximaux (Moares et Magalhaes, 2018). L'oxydation de la structure uracile de la CYN provoque une très forte diminution de la toxicité : pas de mortalité par i.p avec 10 µg.kg<sup>-1</sup> et absence de



symptômes toxiques pathologiques et physiologiques pendant les 10 jours suivant l'administration (Banker *et al.*, 2001).

Les études par voie orale sont peu nombreuses. Elles montrent cependant qu'une toxicité aiguë (mortalité) est atteinte chez la souris après une seule administration de quelques mg.kg<sup>-1</sup> (Bazin *et al.*, 2012 ; Shaw *et al.*, 2001). La DL<sub>50</sub> a été estimée autour de 6,0 mg.kg<sup>-1</sup> après cinq jours, la totalité des souris traitées avec 8 mg.kg<sup>-1</sup> étant mortes entre 24 et 48 h (Shaw *et al.*, 2001). L'examen histologique du foie et des reins montre l'induction d'apoptose et l'absence d'inflammation (Bazin *et al.*, 2012). Des effets sont rapportés au niveau de l'estomac et de l'intestin avec des extraits de culture sans que l'on puisse attribuer sans conteste à la seule CYN ces effets (Seawright *et al.*, 1999).

Après administration intratrachéale d'un extrait purifié de culture de *Cylindrospermopsis raciborskii* (équivalent à 70 µg.kg<sup>-1</sup> de CYN), des altérations sont observées au niveau du poumon (Oliveira *et al.*, 2012).

Des effets cutanés (hypersensibilité) ont également été rapportés sur rongeur après application de CYN ou d'extraits de *C. raciborskii* (Stewart *et al.*, 2006b) mais n'ont pas été retrouvés lors d'application de patchs contenant des extraits de *C. raciborskii* sur la peau de patients (Stewart *et al.*, 2006a).

**Tableau X : valeurs de toxicité aiguë estimées sur rongeurs de la CYN ou d'extraits de cyanobactéries en contenant par différentes voies d'administration.**

Voie d'administration	Espèce	Valeur repère	Toxine	Source
Intrapéritonéale	Souris mâles (souche CH3)	DL <sub>50</sub> = 2 100 µg.kg <sup>-1</sup> à 24h Et DL <sub>50</sub> = 200 µg.kg <sup>-1</sup> à 5 et 6 j	CYN purifiée mais % de purification non précisé	Ohtani <i>et al.</i> , 1992
Intrapéritonéale	Souris mâles (souche Swiss)	DL <sub>50</sub> = 70-600 µg.kg <sup>-1</sup> (24 h) et 30-400 µg.kg <sup>-1</sup> (7 j)	Extraits de <i>C. raciborskii</i> contenant différents niveaux de CYN	Falconer <i>et al.</i> , 1999
Intrapéritonéale	Souris blanches mâles	DL <sub>50</sub> = 64 ± 5 mg de culture séchée et congelée.kg <sup>-1</sup> Mortalité de toutes les souris en 6 à 9h avec 168 mg.kg <sup>-1</sup>	Extrait de <i>C. raciborskii</i>	Hawkins <i>et al.</i> , 1985
Intrapéritonéale	Souris mâles (souche Swiss)	DL <sub>50</sub> = 52 mg.kg <sup>-1</sup> à 24h et 32 mg.kg <sup>-1</sup> à 7 j	Extrait de <i>C. raciborskii</i>	Hawkins <i>et al.</i> , 1997
Gavage	Souris (souche Quackenbush)	DL <sub>50</sub> = 6 000 µg.kg <sup>-1</sup> à 5 j	CYN	Shaw <i>et al.</i> , 2001
Gavage	Souris mâles	Mortalité d'1 souris/4	CYN (pureté 98%)	Bazin <i>et al.</i> , 2012

Voie d'administration	Espèce	Valeur repère	Toxine	Source
	(souche Swiss)	avec 2 000 µg.kg <sup>-1</sup> à 24 h		
Gavage	Souris mâles (souche Swiss) ; administrations séparées de 2 semaines	MLD (7 j) = 2500 mg.kg <sup>-1</sup> , soit 13,8 mg CYN.kg <sup>-1</sup> Mort de 70% des souris dans la 1 <sup>ère</sup> semaine suivant la 2 <sup>e</sup> administration de 1 500 µg.kg <sup>-1</sup>	Extrait de <i>C. raciborskii</i>	Falconer et Humpage, 2001
Instillation intratrachéale	Souris (souche Balb/c)	Pas de mortalité avec 70 µg.kg <sup>-1</sup> jusqu'à 96 h	CYN semi-purifiée	Oliveira <i>et al.</i> , 2012

#### 4.2.2.2 Toxicité subchronique

Les études de toxicité subchronique après administration orale sont peu nombreuses mais elles montrent comme les études de toxicité aiguë, des altérations au niveau hépatique et rénal. Shaw *et al.* (2001) déterminent une DSENO de 150 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> après 14 jours d'administrations orales répétées. Une DSENO de 30 µg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> a été établie à partir d'une étude de onze semaines avec un traitement par gavage (Humpage et Falconer, 2003).

**Tableau XI : valeurs toxicologiques pour la cylindrospermopsine acquises *in vivo* lors d'études subchroniques.**

Voie d'administration/durée/modèle animal	Doses testées	Valeurs déterminées	Effets	Référence
Ip/14 j/ souris	0 à 25 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	DMENO = 5 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Cytoplasme hépatocellulaire spumeux	Shaw <i>et al.</i> , 2001
Ip/90j/souris	75 à 300 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	DMENO = 75 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Effets sur les ratios hépatiques et rénaux / masses, diminution de l'urée dans le sang,  Augmentation des monocytes sériques, et de multiples signes histopathologiques	Chernoff <i>et al.</i> , 2018
Orale /14 j/ souris	0 à 300 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	DMENO = 50 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Infiltration lipidique dans le foie	Shaw <i>et al.</i> , 2001
Orale (eau de boisson)/ 21 j/ souris et rat	200 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> (800 µg CYN/L)	DSENO = 200 µg.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Pas d'effets histologiques sur plusieurs tissus y compris foie et rein	Shaw <i>et al.</i> , 2001
Orale (eau de boisson)/3 semaines/souris	0,6 mg/L <i>ad libitum</i>	DMENO = 0,6 mg.L <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Augmentation de l'hématocrite et apparition de globules rouges déformés (acanthocytes) dès 1	Reisner <i>et al.</i> , 2004

Voie d'administration/durée/modèle animal	Doses testées	Valeurs déterminées	Effets	Référence
			semaine d'exposition  Diminution du cholestérol dans le foie et augmentation dans le plasma  Augmentation de la masse du foie et des testicules	
Orale (eau de boisson)/42 semaines/souris	Milieu provenant de culture d' <i>Aphanizomenon</i> et contenant des niveaux variables en CYN (exposition à une dose non régulière au cours des 42 semaines)  Estimation entre 10 et 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ entre le début et la fin du traitement	DMENO = 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (données hématocrite prises en compte)	Augmentation de l'hématocrite et apparition de globules rouges déformés (acanthocytes) dès la première observation à 16 semaines d'exposition  Augmentation du poids du foie et des reins	Sukenik <i>et al.</i> , 2006
Orale (eau de boisson)/90 j/souris	Extrait de culture de <i>C. raciborskii</i>	DSENO = 150 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$	Pas d'effets histologiques sur différents organes y compris foie et rein	Shaw <i>et al.</i> , 2001

Même si d'autres organes sont affectés, la CYN touche principalement le foie (niveau centro-lobulaire avec vacuolisation des hépatocytes) et le rein (altération des glomérules, accumulation de matériel protéique dans les tubules distaux et nécrose des tubules proximaux) (Falconer *et al.*, 1999 ; Seawright *et al.*, 1999 ; Terao *et al.*, 1994). Le groupe de Sukenik rapporte également des effets sanguins (Reisner *et al.*, 2004 ; Sukenik *et al.*, 2006). L'injection i.p de 79,80  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  à des rats montre des altérations hépatiques (augmentation des enzymes AST et ALT sériques, dilatation de la veine centrale et dégénération hydropique puis nécrose lytique focale et infiltration de lymphocytes) (Đorđević *et al.*, 2017).

#### 4.2.2.3 Génotoxicité

Si la CYN n'induit aucune mutation sur procaryotes (Sieroslawska, 2013), elle s'avère être génotoxique en provoquant la formation de micronoyau *in vitro* sur cellules de mammifères (Humpage *et al.*, 2005 ; Lankoff *et al.*, 2007 ; Bazin *et al.*, 2010a). Des dommages à l'ADN *in vivo* ont également été observés en particulier au niveau du colon et de la moelle osseuse à des niveaux de l'ordre du  $\text{mg.kg}^{-1}$  par voie orale, et de 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  en i.p (Bazin *et al.*, 2010b) mais avec l'induction d'une forte toxicité. Récemment des dommages au niveau du foie ont également été rapportés après une administration i.p de 79,80  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  à des rats (Đorđević *et al.*, 2017). Des effets similaires sont rapportés avec des extraits de culture de *C. raciborskii*.

#### 4.2.2.4 Cancérogénèse

Des données préliminaires sur l'effet cancérogène de la CYN signalent un effet initiateur avec l'induction de foyers néoplasiques principalement au niveau du foie après seulement 30 semaines et trois administrations d'un extrait de culture de *C. raciborskii* contenant de la CYN (Falconer et Humpage, 2001). Cependant, les résultats de cette expérimentation ne suffisent pas à eux-seuls pour conclure, même si ces observations obtenues *in vivo* sont en accord avec le potentiel transformant obtenu *in vitro* à faibles doses de toxine sur cellules SHE (Maire *et al.*, 2010).

#### 4.2.2.5 Reprotoxicité et tératogénèse

Lors d'expériences *in vitro*, la CYN a montré qu'elle dispose d'une capacité de liaison avec le récepteur à l'œstrogène (Liu *et al.*, 2018). Des effets ont été rapportés *in vitro* après traitement de cellules de la granulosa (Young *et al.*, 2008).

Aucun effet sur différents paramètres de la reproduction et aucune toxicité fœtale n'ont été signalés après 20 jours de traitement par gavage de 0,03, 0,3 et 3  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  entre le 1<sup>er</sup> et le 20<sup>e</sup> jour de gestation (Sibaldo de Almeida *et al.*, 2013). En revanche, après plusieurs jours d'administration i.p (doses entre 8 et 128  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ), des effets de toxicité maternelle et de tératogénicité (perte de poids, diminution de la viabilité) ont été observés (Rogers *et al.*, 2007 ; Chernoff *et al.*, 2011, 2014).

#### 4.2.2.6 Immunotoxicité

Cet effet a été peu étudié. Des effets *in vitro* ont été observés sur des lymphocytes, affectant leur prolifération et leur viabilité après activation (Poniedzialek *et al.*, 2014b) ainsi que sur des neutrophiles avec l'altération de leur stimulation (Poniedzialek *et al.*, 2014a). *In vivo*, Terao *et al.* (1994) rapporte une nécrose massive des lymphocytes dans la zone corticale du thymus après injection i.p de 0,2  $\text{mg.kg}^{-1}$ . De même, une lymphophagocytose dans la rate et le thymus, indicatrice d'une réponse immunotoxique a été observée lors d'administrations répétées à des souris (Shaw *et al.*, 2000).

### 4.2.3 **Conclusions sur la toxicité de la cylindrospermopsine, et valeurs toxicologiques de référence**

Les seules données toxicologiques relatives à la CYN disponibles à ce jour sont issues d'études réalisées chez l'animal, car il existe peu d'études épidémiologiques.

Les études expérimentales disponibles manquent de précisions concernant l'absorption et le métabolisme de la CYN. Cependant, certaines études suggèrent une absorption par le tractus gastro-intestinal (Humpage et Falconer, 2002-2003 ; Sukenik *et al.*, 2006 ; Chernoff *et al.*, 2018) et une métabolisation par le système des cytochromes P450 (Runnegar *et al.*, 1995 ; Shaw *et al.*, 2000 ; Norris *et al.*, 2002 ; Froschio *et al.*, 2003). La CYN et ses métabolites semblent être principalement excrétés par l'urine et les fèces au regard des données disponibles par voie intrapéritonéale (Norris *et al.*, 2001).

Les études par voie orale, peu nombreuses au regard du nombre d'études réalisées par voie i.p, montrent qu'une toxicité aiguë (mortalité) est atteinte chez la souris après une seule administration de quelques  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Bazin *et al.*, 2012 ; Shaw *et al.*, 2001). D'une manière générale, les études de toxicité aiguë, subchronique et chronique réalisées chez le rongeur mettent principalement en évidence des effets hépatiques : cytolysse hépatique, infiltration de cellules inflammatoires et de lipides (Shaw *et al.*, 2000, 2001 ; Bazin *et al.*, 2012) et des effets rénaux : nécrose tubulaire, altération du tubule proximal, altération des glomérules (Bazin *et al.*, 2012).

Ces effets ont pu être corrélés à une augmentation de certains paramètres biochimiques et des modifications histologiques. Pour le foie, une augmentation des transaminases (ASAT, ALAT) et des phosphatases alcalines a été relevée ainsi que des altérations histologiques (anomalies de pigmentation, altérations et hypertrophie des hépatocytes, inflammation, cytolysse hépatique). Au niveau des reins surviennent des altérations morphologiques et histologiques au niveau des tubules et de la zone médullaire.

Aucune étude *in vivo* par voie orale n'a permis de caractériser les effets de la CYN sur la reproduction et le développement. L'exposition répétée par voie intrapéritonéale à de faibles doses de CYN (moins de 3  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) n'a pas montré d'effets sur le développement (Almeida *et al.*, 2013).

Sur la base des résultats des tests de génotoxicité, les résultats des études *in vitro* sont en faveur de l'existence d'un effet génotoxique de la CYN ; les résultats *in vivo* restent très parcellaires et une seule étude réalisée par gavage a montré des résultats positifs au niveau du colon sur six organes investigués (Bazin *et al.*, 2010b).

S'agissant du potentiel cancérigène de la CYN, une étude préliminaire chez le rongeur exposé par voie orale (Falconer et Humpage, 2001) suggère un effet initiateur de la CYN : l'induction de foyers néoplasiques est observée principalement au niveau du foie. Une étude *in vitro* (Maire *et al.*, 2010) conforte ces observations par la mise en évidence de transformations de la morphologie cellulaire dues au potentiel

cancérogène de la CYN à de très faibles doses. Néanmoins, il n'est pas possible de statuer sur l'effet potentiel cancérogène de la CYN, au regard des données disponibles très peu nombreuses. Les experts du CES ont retenu l'étude de Chernoff *et al.* (2018) comme étude clé. Cette étude de 90 jours permet d'évaluer les effets subchroniques par voie orale de la CYN chez des souris CD-1 mâles et femelles gavées quotidiennement à des doses de 0 ; 75 ; 150 ou 300  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  de CYN. En raison des incertitudes liées aux valeurs de BMD obtenues par le RIVM à l'aide du logiciel de l'EFSA (EFSA 2017), la dose critique retenue est donc la plus faible dose testée qui permet d'établir une DMENO de 75  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ , sur la base de l'augmentation du poids du foie et des reins observée chez le mâle.

Suite à un ajustement allométrique et considérant un facteur d'incertitude global de 75, une VTR subchronique par voie orale de 0,14  $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$  est proposée pour la CYN. Cette VTR subchronique par voie orale est associée à un indice de confiance moyen. Il s'agit d'une VTR transitoire susceptible d'être réévaluée si de nouvelles études subchroniques par voie orale sont amenées à être publiées et à alimenter les connaissances sur la toxicité relative à l'ingestion de CYN.

### 4.3 La saxitoxine et ses variants

La saxitoxine (STX) et ses variants, communément appelées famille des STX, doivent leur nom à la palourde d'Alaska à partir de laquelle la STX a été purifiée, *Saxidomus giganteus*, en 1957 (Schantz *et al.*, 1957 ; Llewellyn, 2006). La STX est une toxine guanidinique (figure 5) responsable d'intoxications paralysantes après consommation de mollusques (en anglais « paralytic shellfish poisoning » ou PSP) ou de crustacés mais également de poissons. La STX et ses variants sont majoritairement produits par certaines espèces de dinoflagellés marins : *Alexandrium sp.*, *Gymnodinium sp.*, *Pyrodinium sp.*, étant donné leur prévalence importante par rapport aux cyanobactéries productrices de toxines (Hackett *et al.*, 2013). Ces espèces de cyanobactéries, principalement dulcicoles, proviennent des genres : *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya* et *Planktothrix*. Depuis sa découverte dans des mollusques, 57 variants structuraux de la STX ont été décrits (Wiese *et al.*, 2010).

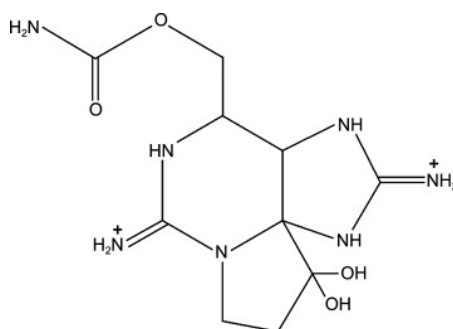


Figure 5 : structure chimique de la saxitoxine

#### 4.3.1 Toxicologie

##### 4.3.1.1 ADME

###### Absorption

Lors d'une exposition par voie orale, la STX et ses variants franchissent la barrière intestinale par des voies para- et transcellulaires, comme le prouvent des observations *in vitro* (cellules Caco-2 et IEC-6) et *ex vivo* (biopsies d'intestin humain) (Andrinolo *et al.*, 2002a et b ; Torres *et al.*, 2007). Après le passage de la barrière intestinale, la STX accède à la circulation sanguine générale malgré l'effet de premier passage hépatique, ce lui donne accès au système nerveux périphérique (SNP) qui est sa cible principale. Cependant, les études expérimentales *in vivo* montrent que l'absorption intestinale limite la toxicité de la

STX et de ses variants, par rapport aux autres voies qui s'affranchissent du passage intestinal (Andrinolo, *et al.*, 2002b ; Torres *et al.*, 2007). En effet, les diverses études détaillées par suite (Tableau XII et XIII) montrent que lors d'une injection i.p, i.v ou intra-musculaire (i.m) chez des souris, les doses létales 50 % (DL<sub>50</sub>) sont plus faibles que par administration par voie orale.

Enfin, selon l'étude de Selwood *et al.* (2017), la toxicité de la STX et de ses variants est plus élevée par gavage que par voie alimentaire chez les souris. Selon les auteurs, lors d'une exposition par gavage le contenu gastrique semi-solide des rongeurs ne permettrait pas le mélange des toxines administrées, qui circuleraient donc autour du contenu gastrique et pénétreraient ainsi rapidement dans le duodénum afin d'être absorbées. À l'inverse, lors d'une administration par voie alimentaire, la quantité de toxines à tester se mélangerait avec le contenu gastrique des rongeurs de la même manière que les toxines se répartissent dans le contenu liquide de l'estomac humain. Ceci entraînerait une libération relativement lente dans les zones d'absorption du tractus gastro-intestinal et entraînerait de fait une toxicité moindre.

Lors d'une exposition par voie cutanée, les résultats d'une étude suggèrent que les toxines - dont le logarithme du coefficient de partage octanol-eau<sup>17</sup> (Log Kow) sont de l'ordre de -2 à -3, ce qui en fait donc de mauvais candidats pour une pénétration transcutanée - peuvent également pénétrer l'épiderme *via* des plaies éventuelles ou les pores de glandes sudorales (Rapala *et al.*, 2005).

### Distribution

Lors d'une administration par voie i.p chez le rat à des doses de 5 et 10 µg.kg<sup>-1</sup>, une partie de la STX traverse la barrière hémato-encéphalique et est retrouvée dans différentes régions du cerveau (Cianca *et al.*, 2007). Après injection intraveineuse unique chez le rat, la STX se distribue rapidement dans la circulation sanguine puis dans le reste de l'organisme (Garcia *et al.*, 2004 ; Andrinolo *et al.*, 1999).

Chez l'Homme, la STX et ses variants sont également distribués dans de nombreux organes, tissus et fluides biologiques : cerveau, bile, liquide céphalo-rachidien, foie, rate, cœur, thyroïde, glandes surrénales, reins, pancréas et poumons et ce quelle que soit la voie considérée.

### Métabolisme

La conversion métabolique de la STX et ses variants chez les mammifères reste imparfaitement caractérisée (Llewellyn, 2006). Toutefois, un cas d'intoxication humaine a rapporté de manière précise que la STX était majoritaire dans le tractus digestif à hauteur de 82 %, alors que l'urine ne contenait que 48,7 % de STX, les variants néoSTX et décarbamoylsaxitoxine (dcSTX) étant les plus importants des autres variants identifiés (Llewellyn *et al.*, 2002). Cette différence de variants met en évidence que la STX est métabolisée en divers variants tels que la néoSTX et la dcSTX dans le corps humain. Des analyses de fluides biologiques, sang et urine, prélevés sur des personnes intoxiquées, ont montré la prédominance de certains composés (STX, C1) par rapport à d'autres qui leur sont structurellement proches (GTX2).

D'autre part, l'étude de Garcia *et al.* publiée en 2004, relative à des cas d'intoxication humaine par la STX et ses variants en Patagonie, a montré que les toxines présentes dans le contenu gastrique étaient la STX et les gonyautoxines (GTX1, GTX2, GTX3, GTX4 et GTX5). La quantité de chacune de ces toxines présente dans le contenu gastrique s'est avérée d'après les échantillons biologiques des personnes intoxiquées, être la quantité observée la plus élevée de tout l'organisme. Les analyses d'échantillons d'urine et de bile ont montré dans cette étude que les variants néoSTX et GTX4 / GTX1, deux variants de STX avec un groupe hydroxyle (-OH) dans le N1 du noyau tétrahydropurine, constituaient les toxines majoritairement présentes dans ces échantillons.

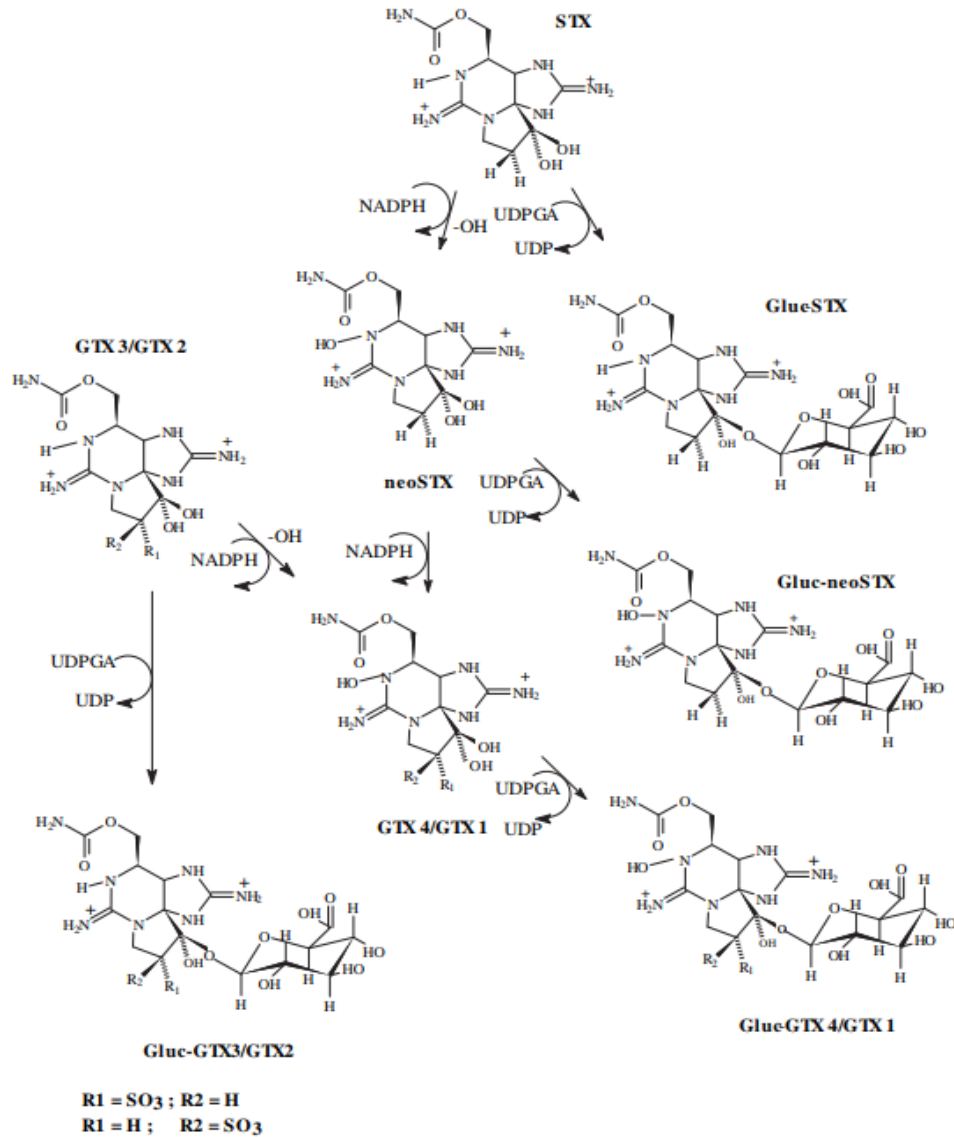
Néanmoins, la néoSTX n'était pas présente dans les échantillons de contenu gastrique, ce qui indique que l'oxydation de N1 dans le noyau de la tétrahydropurine STX entraînait la formation de néoSTX, de la même manière que les variants GTX3 / GTX2 ont été transformés en variants GTX4 / GTX1. Outre cette transformation métabolique, l'hydrolyse du groupe carbamoyle de STX pour former son variant décarbamoyle, la dcSTX, a également été détectée dans le foie, les reins et les poumons (Garcia *et al.*, 2004).

Ces deux résultats montrent que la STX et ses variants initialement présents dans le contenu gastrique subissent des transformations métaboliques pendant les 3 à 4 heures de l'intoxication humaine avant le

<sup>17</sup> Log Kow : Il correspond au ratio entre la concentration de substance dans l'octanol et celle dans l'eau à l'équilibre. Il est corrélé à la solubilité dans l'eau et reflète indirectement les potentiels de bioaccumulation et de bioconcentration d'une substance.

décès des individus. La transformation majoritaire de la STX et des variants GTX3 / GTX2 est l'oxydation enzymatique de N1 dans le noyau de la tétrahydropurine, produisant respectivement des variants néoSTX et GTX4 / GTX1.

L'étude de Garcia *et al.* (2010), résume les réactions d'oxydation et de glucuronidation séquentielles à partir de la STX (figure 6).



**Figure 6 : voie métabolique proposée pour les réactions d'oxydation et de glucuronidation des toxines des coquillages paralytiques (PST)**

Source Garcia *et al.*, 2010

La STX et ses variants sont donc bien métabolisés avant d'être éliminés. Cependant, le métabolisme de la STX et de ses variants chez l'Homme devrait être davantage caractérisé, en particulier pour déterminer s'il résulte d'une métabolisation par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques de l'organisme et/ou est le résultat d'une modification par les bactéries du tractus digestif avant son passage dans la circulation. En effet, chez des bactéries (des genres *Vibrio* et *Pseudoalteromonas*) présentes dans les organismes invertébrés marins, la métabolisation des STX montre une conversion des GTX en STX et néoSTX. Chez certains organismes marins vecteurs d'intoxication humaine, la STX et ses variants sont susceptibles d'être métabolisés et peuvent ainsi conduire à la formation d'autres variants de la STX. La connaissance de l'ensemble des voies de métabolisation/détoxication pourrait permettre d'améliorer la prise en charge et le traitement des personnes intoxiquées (Wiese *et al.*, 2010).

## Excrétion

Les réactions d'oxydation (phase I) et de glucuronidation (phase II) sont le point de départ du métabolisme et de l'excrétion de ces toxines. Les glucuronides qui en résultent, qui sont souvent le produit final du métabolisme, sont éliminés majoritairement *via* les urines ou minoritairement par la bile (Garcia *et al.*, 2010 ; Testai *et al.*, 2016a). L'efficacité de l'excrétion des STX dépend également de leur affinité pour les différents sous-types de canaux sodium ( $\text{Na}^+$ ) voltage-dépendants, appelés  $\text{Nav}$ .

D'autres études corroborent ces résultats, notamment celles qui montrent que les variants GTX-2 et -3 sont principalement excrétés par filtration glomérulaire chez l'Homme et l'animal (Andrinolo *et al.*, 1999 ; Andrinolo *et al.*, 2002a). Récemment, un cas de PSP en Alaska a attesté de l'élimination par voie rénale de la STX ainsi que d'autres PST lors d'une analyse de l'urine de la patiente par chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Coleman *et al.*, 2018).

Selon les études, les espèces considérées et la matrice biologique retenue, la demi-vie d'élimination est comprise entre 1h30 et 10 h, ce qui est en accord avec la courte durée des symptômes observés lors d'intoxication (Kao, 1993a ; Andrinolo *et al.*, 1999 ; Gessner *et al.*, 1997).

S'agissant d'une potentielle élimination fécale, les études expérimentales montrent que cette voie semble être largement minoritaire voire inexistante. En effet, une étude réalisée avec du saxitoxinol tritié a mis en évidence que 60 % des molécules radiomarquées étaient excrétées dans les urines tandis qu'aucune radioactivité n'était mise en évidence dans les fécès (Hines *et al.*, 1993). Une seconde étude centrée sur la toxicocinétique de la STX a quant à elle montré que 68 % de la STX injectée était éliminée par les urines, sans investiguer les autres voies possibles d'élimination. Cette étude suppose néanmoins que la rétention de STX dans le corps, le métabolisme et l'excrétion dans les matières fécales sont des explications potentielles à la non excrétion dans les urines (Stafford et Hines, 1995). Toutefois, l'élimination fécale semble peu probable car une autre étude expérimentale postérieure ayant contrôlé spécifiquement cette voie d'élimination a écarté cette possibilité, démontrant que l'élimination urinaire était la seule voie d'élimination (Andrinolo *et al.*, 1999).

Par analogie avec le métabolisme de la STX, une étude expérimentale récente réalisée chez des rats, focalisée sur le métabolisme de la tétrodotoxine (TTX), de structure, mode d'action et toxicité proches de la STX, a mis en évidence que l'excrétion biliaire de la toxine représentait 0,43 % de l'élimination totale (Hong *et al.*, 2017).

### 4.3.1.2 Mécanismes de toxicité

La STX et ses variants sont de puissantes neurotoxines inhibitrices des canaux  $\text{Nav}$  des cellules neuronales et musculaires, ainsi que – à des concentrations supérieures – des canaux calcium voltage-dépendants ( $\text{Ca}_v$ ) (Hackett *et al.*, 2013) et potassium voltage-dépendants ( $\text{K}_v$ ) (Kvitek et Bretz, 2004) des cellules excitables (neurones, myocytes cardiaques, fibres musculaires squelettiques et lisses) (Kao, 1993b). Le blocage des canaux  $\text{Nav}$  empêche la dépolarisation membranaire et ainsi (i) la propagation de l'influx nerveux dans les nerfs périphériques et (ii) la contraction des muscles squelettiques (Su *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2003). La STX affecte principalement le SNP mais peut, selon les doses d'exposition, avoir des conséquences sur la chronotropie et la dromotropie cardiaque (Gad, 2014). Ce blocage de la communication neuronale ainsi que des jonctions neuromusculaires aboutit à une paralysie musculaire et respiratoire chez les mammifères. Cette intoxication se manifeste par des signes neurologiques centraux typiques tels que l'ataxie et des convulsions ainsi que des signes périphériques tels qu'une détresse respiratoire et une paralysie musculaire entraînant la mort en quelques minutes (Testai *et al.*, 2016), d'où le terme de « paralytic shellfish toxin » (PST) (Narahashi, 1972 ; Kao, 1993b). Ce mécanisme de toxicité, commun avec la TTX, est à lui seul capable de rendre compte de l'ensemble des symptômes observés chez l'Homme et expérimentalement sur chez les animaux de laboratoire.

#### Inhibition des canaux $\text{Nav}$

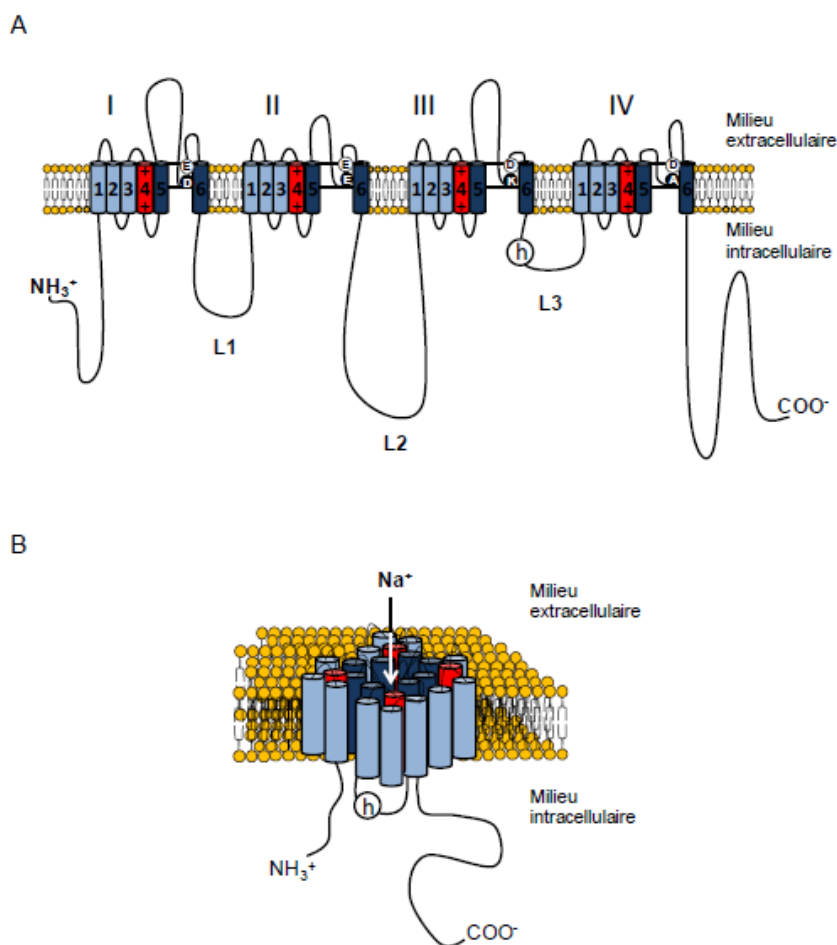
Les canaux  $\text{Nav}$  sont des protéines membranaires exprimées dans le système nerveux central (SNC) et le SNP, la musculature squelettique et lisse et le système cardiovasculaire. Ils assurent les flux transmembranaires passifs d'ions  $\text{Na}^+$ , selon le gradient électrochimique, à savoir du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Dans les cellules excitables, ils sont responsables de la phase ascendante du



potentiel d'action, c'est-à-dire la phase de dépolarisation (Eijkelkamp *et al.*, 2012). Ils sont également exprimés dans des cellules non excitables (cellules gliales, endothéliales, tumorales) où leur fonction est peu caractérisée. Il existe neuf sous-types de canaux  $\text{Na}_v$ , inégalement exprimés dans l'organisme : on les note  $\text{Na}_v$  1.1 à  $\text{Na}_v$  1.9 (Eijkelkamp *et al.*, 2012). Le canal ionique est formé d'une sous-unité alpha ( $\alpha$ ) contenant le pore membranaire, et d'une (ou deux) sous-unités beta ( $\beta$ ).

La sous-unité  $\alpha$  du canal est constituée de 4 domaines homologues, numérotés de I à IV, reliés entre eux par trois boucles cytoplasmiques également appelées « linker » (L1, L2 et L3). Chaque domaine est formé de 6 segments transmembranaires, S1 à S6, liés par de petites boucles intracellulaires et extracellulaires. Les 4 boucles extra-cellulaires, appelées boucle « P » (pour « permeation loops ») relient les segments S5 et S6 transmembranaires de chaque domaine et forment la partie extracellulaire du canal ionique (Cervenka *et al.*, 2010). Chacune de ces boucles P contient deux acides aminés spécifiques, et se replie dans le pore du canal, formant ainsi le filtre de sélectivité du canal  $\text{Na}_v$  (figure 7-A).

Le pore, qui conduit les ions  $\text{Na}^+$ , représente l'ensemble des segments S5 et S6 et des boucles P (Yu *et al.*, 2005).



**Figure 7 : relation structure-fonction du  $\text{Na}_v$**

Source (Bourdin, 2013)

De nombreuses molécules toxiques ciblent le canal  $\text{Na}_v$  (au niveau de la sous-unité  $\alpha$ ) et en modifiant les propriétés biophysiques, aboutissant à une activation ou une inhibition du canal (Ahern *et al.*, 2016 ; Duran-Riveroll *et al.*, 2016). La STX, de poids moléculaire d'environ 300 Da (Shen *et al.*, 2018), fait partie de ces molécules. Elle possède une forte affinité pour le site 1 du canal  $\text{Na}_v$  et inhibe sa perméabilité aux ions  $\text{Na}^+$  en obturant le pore du canal (Ritchie et Rogart, 1977 ; Kao *et al.*, 1983a). Cette affinité de la STX pour le filtre de sélectivité des canaux  $\text{Na}_v$  est due à la polarité de la toxine grâce à ses résidus chargés.

La STX et ses variants interagissent en effet avec les acides aminés formant les bords du pore et jouent le rôle de bouchon physique en obturant de manière sélective et réversible (Thottumkara *et al.*, 2014 ; Zepeda

*et al.*, 2014) l'extérieur du canal ce qui empêche les ions  $\text{Na}^+$  d'accéder au canal et bloque donc les courants d'ions  $\text{Na}^+$  (figure 7-B) (Shen *et al.*, 2018). L'inhibition des canaux  $\text{Na}_v$  interrompt la communication neuronale et la contractilité musculaire par blocage du potentiel d'action. La STX et la TTX ont des affinités différentes en fonction des sous-types de canaux  $\text{Na}_v$  : elles exercent leur activité inhibitrice pour des concentrations de l'ordre du nanomolaire (nM) vis-à-vis des sous-types  $\text{Na}_v1.1-1.4$ , 1.6, 1.7 ( $\text{Cl}_{50}$  de 4 à 25 nM), et pour des concentrations en micromoles ( $\mu\text{M}$ ) pour les sous-types  $\text{Na}_v1.5$ , 1.8, 1.9 ( $\text{Cl}_{50}$  de 5,7 à 60  $\mu\text{M}$ ) (Rogart, 1981). Par suite, le blocage de ce potentiel d'action inhibe la libération de l'acétylcholine (ACh) des motoneurones cholinergiques.

Cette affinité pour des sites moléculaires bien précis des canaux  $\text{Na}_v$  a également été démontrée par une étude de substitution d'acides aminés par mutagenèse chez le rat (Noda *et al.*, 1989). En effet, la substitution d'un résidu d'acide glutamique, situé dans la boucle P du domaine I des canaux  $\text{Na}_v1.2$  chez les rats mutés en un résidu glutamine (E386Q) empêche la STX et la TTX de se fixer aux canaux. Ces canaux deviennent donc ainsi résistants à la STX et la TTX, même à des concentrations supérieures à 10  $\mu\text{M}$ . Sans mutation de ces sites moléculaires, l'effet des STX est léthal lorsqu'elles parviennent aux fibres musculaires squelettiques des voies respiratoires.

En plus de cet effet sur les canaux  $\text{Na}_v$ , la STX peut également cibler les canaux  $\text{Ca}_v$  et  $\text{K}_v$ . Elle peut être séquestrée par des protéines circulantes, notamment de type « transferrin-like » (Llewellyn *et al.*, 1997 ; Yotsu-Yamashita *et al.*, 2001).

### Inhibition des canaux $\text{Ca}_v$

Les études s'intéressant à l'impact de la STX sur les canaux  $\text{Ca}_v$  (Hackett *et al.*, 2013) sont beaucoup moins nombreuses que celles relatives à l'inhibition des canaux  $\text{Na}_v$ . Ceci étant, la STX fut reconnue dès les années 1980 comme potentiel inhibiteur des courants calciques des canaux  $\text{Ca}_v$  (Jones et Marks, 1989). Les canaux  $\text{Ca}_v$  sensibles au potentiel de membrane sont structurellement organisés comme les canaux  $\text{Na}_v$ . À l'instar des canaux  $\text{Na}_v$ , il existe différents sous-types de canaux  $\text{Ca}_v$ , exprimés de manière différentielle dans les tissus biologiques : les canaux de types L (contraction musculaire), N, P et Q (libération de neurotransmetteurs), R (excitabilité neuronale) et T (régulation de la fréquence des potentiels d'action). Ces sous-types, outre les fonctions auxquelles ils sont associés, se différencient par leurs propriétés biophysiques et leur sensibilité à différentes molécules toxiques (Heinemann *et al.*, 1992). La STX, à des concentrations de l'ordre du micromolaire, bloque partiellement les canaux  $\text{Ca}_v$  myocardiques de type L et agirait sur d'autres propriétés biophysiques du canal, perturbant ainsi le flux d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  (Su *et al.*, 2004).

### Inhibition des canaux $\text{K}_v$

L'impact de la STX et de ses variants sur les canaux  $\text{K}_v$  est comme pour les canaux  $\text{Ca}_v$  très peu détaillée dans la littérature scientifique.

Les canaux  $\text{K}_v$  sont une famille hétérogène de protéines membranaires assurant les flux d'ions potassium ( $\text{K}^+$ ). À des concentrations de l'ordre du micromolaire, la STX cible le canal hERG (« human Ether-à-go-go-Related Gene ») qui contribue à la phase de repolarisation des cellules cardiaques et modifie ainsi l'activité du canal, plutôt que de le bloquer comme un inhibiteur classique. La toxine déstabilise l'état inactivé et stabilise l'état fermé. Les canaux hERG liés à la toxine nécessitent une plus forte dépolarisation transmembranaire pour parvenir à l'ouverture du canal, ce qui en réduit la conductance potassique globale (Wang *et al.*, 2003).

## 4.3.2 Toxicité

### 4.3.2.1 Toxicité aiguë

Les études expérimentales disponibles ont majoritairement été réalisées en exposant les animaux *via* plusieurs voies d'exposition différentes : eau de boisson, gavage, voie i.v ou i.p. Ces études de toxicologie aiguë décrivent essentiellement des  $\text{DL}_{50}$  sans que les auteurs n'aient tenté de caractériser une relation dose-effet, car le mécanisme de toxicité de la STX et de ses variants rend l'établissement d'une relation dose-effet extrêmement difficile.

Les cas d'intoxications humaines aiguës disponibles confirment néanmoins le mécanisme de toxicité de la STX et de ses variants observés dans les études expérimentales, qui reste donc identique quelle que soit l'espèce exposée à la toxine.

#### 4.3.2.1.1 Effets aigus et subaigus

##### Données chez l'Homme

Le nombre annuel de cas de PSP dans le monde est estimé à 1600, dont environ 300 seront mortels. Au cours de certains de ces épisodes d'intoxications humaines, les taux de mortalité ont atteint 40% (FAO, 2003). De ce fait, de nombreuses études relatent des épisodes d'intoxication par la STX ou ses variants chez l'Homme.

Ces études présentent l'inconvénient majeur d'estimer la quantité de toxines à laquelle les individus sont exposés *via* le bioessai sur souris appelé « Mouse Bio Assay » (MBA) qui était jusqu'au 1<sup>er</sup> janvier 2019 la méthode de référence pour la détection des PST en Europe. Le MBA pour les toxines paralysantes constitue une méthode biologique validée par l'AOAC (« Association of Official Analytical Chemist ») pour la recherche de toxines lipophiles. Il permet de détecter et quantifier la toxicité globale des coquillages, basée sur la réponse biologique de l'animal. Le test est déclaré positif si au moins 2 souris sur 3 meurent dans les 24 h suivant l'injection (Afssa, 2008a ; Anses, 2019c). Malheureusement le MBA, en plus de ses inconvénients éthiques, présente divers biais et ne permet pas d'estimer avec certitude les quantités de toxines auxquelles les individus intoxiqués sont exposés. En effet, le MBA permet seulement d'établir une corrélation approximative entre les doses de toxines testées et le délai avant apparition des symptômes, et l'unité du résultat obtenu : le « mouse unit » dépend notamment de la souche de souris utilisée. D'autre part, le MBA prend en compte l'ensemble des PST pouvant être à l'origine d'un PSP, et n'est donc pas spécifique de la STX. Enfin, le MBA a l'inconvénient d'être réalisé par voie i.p, peu représentative des scénarios d'exposition humaine (Testai *et al.*, 2016a). Ce test a donc été remplacé par la méthode de chromatographie liquide couplée à un détecteur à fluorescence, dite méthode de « Lawrence », qui est désormais la méthode officielle de l'AOAC<sup>18</sup>.

Les PSP incluent majoritairement des signes neurologiques et musculaires. Elles sont bien caractérisées pour l'ingestion de nourriture d'origine marine. Les symptômes chez l'Homme après la consommation d'aliments contaminés vont d'effets neurologiques et gastro-intestinaux légers à une paralysie respiratoire fatale (Arnich et Thébault, 2018). Plus précisément, des symptômes tels que des paresthésies de type picotements, fourmillements ou engourdissement péribuccal et des extrémités, apparaissent rapidement. Ces signes précoces peuvent être suivis de parésies et de paralysies musculaires, engageant le pronostic vital en cas d'atteinte des muscles respiratoires.

D'autres symptômes tels que des céphalées, une hypersalivation, une soif intense, des sueurs, des vomissements, une diarrhée et des douleurs digestives peuvent également avoir lieu lors d'une intoxication (Rapala *et al.*, 2005). Au-delà de 12 heures, quand les troubles respiratoires n'ont pas entraîné le décès de la personne intoxiquée, l'évolution est favorable en quelques heures à quelques jours. Il n'existe à ce jour aucun traitement spécifique : la prise en charge est donc symptomatique, pour les troubles qui le nécessitent.

La méta-analyse la plus récente réalisée à partir de cas d'intoxications humaines, a cherché à établir une relation significative entre l'exposition à la STX et ses variants et la gravité des symptômes (Arnich et Thébault, 2018). Cette méta-analyse, fondée sur un panel de 16 études dont 12 avaient été utilisées par les experts du « Panel on Contaminants in the Food Chain » de l'EFSA, met en évidence une dose minimale critique de 0,37 µg éq-STX.kg<sup>-1</sup> p.c correspondant à une probabilité supérieure à 10 % de présenter les symptômes. Ceci signifie que 10 % des personnes exposées à cette dose de 0,37 µg éq-STX.kg<sup>-1</sup> p.c. auraient des symptômes (sans tenir compte de leur gravité). Cette dose minimale critique a été élaborée sur la base d'un modèle *logit* ou *probit*, explorant la relation entre la dose et la gravité des symptômes. Les probabilités de survenue des symptômes, divisés en cinq classes par les auteurs en fonction de la consommation de toxines ingérées, ont ensuite été prédites *via* un modèle ordinal permettant d'aboutir à cette dose de 0,37 µg éq-STX.kg<sup>-1</sup> p.c. Ce résultat correspond dans la méta-analyse à la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %, et est décrit comme comparable à l'approche BMDL (« lower bound of the

<sup>18</sup> Règlement (UE) 2017/1980 de la Commission du 31 octobre 2017 modifiant l'annexe III du règlement (CE) n° 2074/2005 en ce qui concerne la méthode de détection des toxines paralysantes (« paralytic shellfish poison » - PSP)

benchmarck dose confidence interval ») ou limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose repère. La relation effet-dose permettant d'établir cette dose minimale critique a nécessité d'écarter 2 études sans raison évidente, parmi les 16 retenues par les auteures, dont une (Gessner et Middaugh, 1995) également utilisée par l'EFSA.

La dose critique retenue par les auteures, de la méta-analyse est comparée à la DMENO de 1,5 µg éq-STX.kg<sup>-1</sup> p.c. définie par l'EFSA, celle-ci représente une dose environ quatre fois inférieure à la DMENO établie par l'EFSA (Arnich et Thébault, 2018).

### Données chez l'animal

Lors des études expérimentales, les animaux sont généralement exposés à la STX ou ses variants par prise de nourriture, gavage, voie i.v ou i.p. Les valeurs des DL<sub>50</sub> sur vertébrés sont de l'ordre de quelques microgrammes par kilogramme (µg.kg<sup>-1</sup>) à plusieurs centaines de µg.kg<sup>-1</sup>, en fonction de la voie d'administration (Tableau XII).

Trois études expérimentales réalisées chez des souris, ont été considérées comme les plus informatives sur la toxicité de la STX et de ses variants chez l'animal : Munday *et al.*, 2013 ; Selwood *et al.*, 2017 ; Finch *et al.*, 2018, possédant le même « design » d'étude et ayant été réalisées par les mêmes équipes de chercheurs.

Les toxines utilisées dans ces trois études ont toutes été purifiées dans le même laboratoire, le « National Research Council of Canada » (NRC). Les animaux utilisés, des souris femelles de souche « Swiss albino », ont toutes été élevées au centre « AgResearch » basé à Ruakura en Nouvelle-Zélande. Ces animaux avaient le même accès (non limité) à la même nourriture et la même eau potable issue des robinets du centre d'expérimentation.

En outre, ces trois études ont calculé des doses létales médianes *via* le test du MBA, suivant la ligne directrice 425 de l'OCDE. Selon cette ligne directrice, un premier animal reçoit une dose du matériel d'essai à un niveau inférieur au niveau de la meilleure estimation de la DL<sub>50</sub>. Si cet animal survit, la dose pour l'animal suivant est augmentée d'un facteur 10. Si l'animal meurt, le même facteur diminue la dose pour l'animal suivant. La posologie est maintenue jusqu'à ce que 4 renversements soient atteints, un renversement étant une situation dans laquelle la mort est observée à une dose particulière mais pas à la dose immédiatement inférieure, ou une situation dans laquelle un animal survit à une dose donnée mais meurt à la prochaine dose plus élevée selon la méthode de calcul.

Après l'exposition aiguë à la STX ou à ses variants, les animaux étaient surveillés selon les mêmes modalités pendant 14 jours, dans les trois études.

L'étude de Munday *et al.* (2013) met en évidence que les toxicités aiguës de tous les variants de la STX par gavage sont significativement plus faibles que celles par injection i.p, et que les toxicités aiguës par l'alimentation sont plus faibles que celles par gavage. D'autre part, la néoSTX est rapportée comme significativement plus toxique que la STX par gavage et par l'alimentation. Les GTX-1 & 4 sont selon les résultats de l'étude significativement moins toxiques que la STX par gavage, mais de toxicité similaire par l'alimentation. La dcSTX et les GTX-2 & 3 sont significativement moins toxiques que la STX, à la fois par gavage et par alimentation. Il est important de souligner que les facteurs d'équivalence de toxicité, communément appelés TEF (« Toxicity Equivalence Factors ») en anglais, relatives aux variants de la STX, présentent une grande disparité de valeurs dans la littérature scientifique. L'étude de Selwood *et al.* (2017) suggère d'ailleurs de réviser les valeurs définies par l'EFSA en 2009.

Les indicateurs les plus sensibles des effets sublétaux mentionnés dans l'étude de Munday *et al.* (2013) sont une respiration abdominale, la léthargie et une diminution du comportement exploratoire des souris. L'étude signale qu'une diminution de la force de préhension n'est observée qu'à des doses légèrement inférieures à la DL<sub>50</sub>. Par ailleurs, bien que les premiers symptômes soient identiques quelle que soit la voie d'administration, leur apparition est retardée de 20 à 40 minutes lors d'une administration orale. Les délais de décès, et de récupération aux doses sublétales, sont également plus longs par voie orale que ceux enregistrés après administration par injection i.p. L'étude de Munday *et al.* (2013) rapporte que par gavage, les décès surviennent 5 à 7 heures après l'administration de doses létales et la récupération après l'administration de doses sublétales n'est pas complète avant 4 à 8 heures après l'administration. *Via* l'alimentation, les animaux décèdent dans les 7 heures suivant l'administration et, à des doses sublétales, restent léthargiques jusqu'à 10 heures.

L'étude de Selwood *et al.* (2017) ne présente pas de résultats pour la STX en elle-même, mais développe les résultats de variants de la STX, à savoir : GTX5, GTX6, dcGTX-2 & 3, dcnéoSTX, N-sulfocarbamoyle gonyautoxine 1 et 2 (C1 & 2) ainsi que 3 et 4 (C3 & 4). Cette étude relate également que quelques minutes après l'administration d'une dose létale de PST, les souris sont prostrées et présentent une respiration abdominale rapide. Au cours de l'intoxication, la fréquence respiratoire diminue jusqu'à l'arrêt respiratoire. Celui-ci est précédé d'une exophtalmie et d'une cyanose 20 minutes après l'administration de PST, à l'exception des toxines C3&4 (Selwood *et al.*, 2017). À des doses sublétales, les souris présentent un état léthargique, avec respiration abdominale et à des doses proches de la DL<sub>50</sub>, une diminution de la fréquence respiratoire a également été observée. Suite à l'administration d'une dose sublétale, la période de récupération des souris s'étend de 1 à 5 heures post-injection, à la suite de laquelle les souris ne présentent pas de séquelles. Par voie orale, les symptômes d'intoxication sont identiques à ceux qui sont observés par voie i.p, mais tout comme pour l'étude de Munday *et al.* (2013), le délai d'apparition est plus important (jusqu'à une heure après l'administration *per os*). Le temps de récupération après administration d'une dose sublétale de toxines est également étendu (Selwood *et al.*, 2017).

Afin de déterminer les DSENO des variants de la STX, l'étude suit également la ligne directrice OCDE n°425 mais les auteurs prennent comme paramètre principal un "effet toxique" plutôt que le décès des animaux. À la différence de l'étude de Munday *et al.* (2013), l'étude de Selwood *et al.* (2017) mentionne que le comportement exploratoire des souris est évalué en transférant les souris dans une nouvelle cage et en observant leurs mouvements. La respiration abdominale et la léthargie sont quant à elles évaluées visuellement.

L'étude de Selwood *et al.* (2017) étant fondée sur la caractérisation de la toxicité des variants susmentionnés de la STX, la conclusion principale de l'étude est que les TEF actuellement utilisés et définis par l'EFSA (EFSA, 2009) pour certains de ces variants devraient être révisés sur la base des données de toxicité par voie orale disponibles. Cette conclusion mentionne en outre qu'un rapport d'un groupe d'experts de la FAO est arrivé en 2016 à une recommandation similaire (FAO/WHO, 2016).

L'étude de Finch *et al.* (2018) conforte les résultats des DL<sub>50</sub> de la STX obtenues dans l'étude de Munday *et al.* (2013) car les résultats sont sensiblement similaires (Tableau XII).

Cependant le but initial de l'étude étant de caractériser la toxicité de mélanges de STX et de TTX, les résultats de cette étude sont discutés au regard de cet objectif. L'étude met en évidence que les signes cliniques de toxicité induits par la STX et la TTX administrées par voie orale ne sont pas différenciables. Pour les deux toxines administrées individuellement ainsi que pour les mélanges, les premiers effets toxiques observables chez les souris sont une posture voûtée et un état léthargique. Ce symptôme est généralement retrouvé à toutes les doses toxiques testées. Aux doses les plus fortes, les mouvements des souris les plus gravement affectées sont caractérisés par un évasement des pattes postérieures, des paralysies, ainsi que des tremblements de l'ensemble du corps. Comme dans les autres études expérimentales, les temps d'apparition des signes cliniques, le délai avant le décès et le délai de récupération observés lors de l'administration par gavage et par alimentation, sont prolongés par rapport à ceux observés lors d'administration par voie i.p.

À la dose de 1 270 nmol.kg<sup>-1</sup> de STX dans l'étude de Finch *et al.* (2018), une seule souris sur trois du groupe exposé à la STX *via* la nourriture, a présenté au moins l'un des effets toxiques (changement dans la posture, fréquence respiratoire ou mouvements des animaux) investigués. Ces derniers ont été recensés par les auteurs lors de la surveillance des souris de manière continue pendant un intervalle de 3 heures, au cours duquel tout effet toxique est noté. Les auteurs rapportent qu'à la dose de 1 140 nmol.kg<sup>-1</sup> aucune souris ne présentait d'effets toxiques tandis qu'à la dose de 1 470 nmol.kg<sup>-1</sup>, les deux souris testées présentaient l'ensemble des effets toxiques mentionnés ci-dessus. La DSENO retenue par les auteurs pour cette voie d'administration, seule voie pour laquelle une DSENO est définie dans l'étude, est la valeur 1 270 nmol.kg<sup>-1</sup>.

La toxicité par voie orale, qui reproduit le mode principal d'exposition humaine (tableau XII), est moins élevée que par injection i.v (tableau XIII). Les administrations de la STX par voie i.v, i.p et intramusculaire (i.m) s'avèrent en effet être les plus toxiques (tableau XIII), puisqu'elles s'affranchissent du passage de la barrière intestinale. Cependant, elles ne sont pas représentatives d'une exposition naturelle chez l'Homme ou l'animal.

Tableau XII : résultats d'études expérimentales de toxicologie aiguë de la STX et de ses variants par différentes types de voies orales chez différentes espèces de vertébrés

Voie d'administration	Espèce	Valeur repère (en $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )	Toxine	Source
Gavage		DL <sub>50</sub> = 1,190	STX	Munday <i>et al.</i> , 2013
		DSENO = 0,544		
		DL <sub>50</sub> = 0,700	NéoSTX	
		DSENO = 0,276		
		DL <sub>50</sub> = 2,600	dcSTX	
		DSENO = 0,890		
		DL <sub>50</sub> = 1,61	GTX-1 & 4	
		DSENO = 0,820		
		DL <sub>50</sub> = 2,230	GTX-2 & 3	
		DSENO = 1,230		
	Souris	DL <sub>50</sub> = 1,890	GTX5	Selwood <i>et al.</i> , 2017
		DSENO = 5,12		
		DL <sub>50</sub> = 31,1	GTX6	
		DSENO = 7,9		
		DL <sub>50</sub> = 7,13	dcGTX-2 & 3	
		DSENO = 2,53		
		DL <sub>50</sub> = 5,5	dcNéoSTX	
		DSENO = 2,13		
		DL <sub>50</sub> = 35	C1 & 2	
		DSENO = 15		
DL <sub>50</sub> = 42,7	C3 & 4			
DSENO = 25,5				
		DL <sub>50</sub> = 1,237	STX	Finch <i>et al.</i> , 2018
Nourriture		DL <sub>50</sub> = 3,20	STX	Munday <i>et al.</i> , 2013
		DL <sub>50</sub> = 1,26	NéoSTX	
		DL <sub>50</sub> = 8,68	dcSTX	
		DL <sub>50</sub> = 3,42	GTX-1 & 4	
		DL <sub>50</sub> = 5,59	GTX-2 & 3	
		DL <sub>50</sub> = 50	GTX5	Selwood <i>et al.</i> , 2017

Voie d'administration	Espèce	Valeur repère (en $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )	Toxine	Source
		DSENO = 17,1		
		DL <sub>50</sub> > 188	GTX6	
		DSENO = ND <sup>19</sup>		
		DL <sub>50</sub> 29,6	dcGTX-2 & 3	
		DSENO = 10		
		DL <sub>50</sub> = 14,3	dcnéoSTX	
		DSENO = 4,36		
		DL <sub>50</sub> = 74,0	C1 & 2	
		DSENO = 17,4		
		DL <sub>50</sub> = ND	C3 & 4	
		DSENO = ND		
		DL <sub>50</sub> = 2,85	STX	Finch <i>et al.</i> , 2018
		DSENO = 1,27	STX	
ND	Souris	DL <sub>50</sub> = 0,011 – 0,028	STX	Wiberg et Stephenson, 1960 ; Cheymol et Toan, 1969
ND	Souris	DL <sub>50</sub> = 0,88	STX	Wiberg et Stephenson, 1960
ND	Rat	DL <sub>50</sub> = 0,64	STX	
ND	Lapin	DL <sub>50</sub> = 0,60	STX	Cheymol et Toan, 1969
ND	Cochon d'Inde	DL <sub>50</sub> = 0,45	STX	
ND	Chien	DL <sub>50</sub> = 0,60	STX	
ND	Chat	DL <sub>50</sub> = 0,84	STX	
ND	Pigeon	DL <sub>50</sub> = 0,30	STX	Cheymol <i>et al.</i> , 1968

<sup>19</sup> ND : Non déterminé

**Tableau XIII : résultats d'études expérimentales de toxicologie aiguë de la STX et de ses variants par différentes voies (intraveineuse, intrapéritonéale, sous-cutanée et intramusculaire) chez différentes espèces de vertébrés**

Voie d'administration	Espèce	DL <sub>50</sub> (en $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )	Toxine	Source
Intrapéritonéale	Souris	0,0278	STX	Munday <i>et al.</i> , 2013
		0,0089	NéoSTX	
		0,0354	dcSTX	
		0,0146	GTX-1 & 4	
		0,0367	GTX-2 & 3	
	Souris	0,125	GTX5	Selwood <i>et al.</i> , 2017
		0,227	GTX6	
		0,04	dcGTX-2 & 3	
		0,478	dcnéoSTX	
		0,4	C1 & 2	
		0,48	C3 & 4	
		0,024	STX	
	Rat	0,035	STX	Cheymol et Toan, 1969
Intraveineuse	Souris	0,0278	STX	Munday <i>et al.</i> , 2013
	Lapin	0,013	STX	Cheymol et Toan, 1969
	Poulet	0,010	STX	
Sous-cutanée	Souris	0,043	STX	Davio, 1985
Intramusculaire	Rat	0,023	STX	Kohane <i>et al.</i> , 2000

Le mécanisme de toxicité de la STX et de ses variants, désormais bien documenté et détaillé précédemment en partie 4.3.1.1, correspond aux symptômes présentés par les diverses espèces animales exposées aux toxines.

#### 4.3.2.1.2 Irritation

##### Données chez l'Homme

Lors de la contamination de lacs finlandais par des efflorescences de diverses espèces de cyanobactéries productrices de STX – majoritairement *Anabaena lemmermannii* - plusieurs cas d'intoxication d'enfants âgés de 2 à 10 ans se sont traduits par une irritation cutanée et oculaire. Ces effets toxiques, associés à des signes systémiques tels que des douleurs abdominales et de la fièvre, sont imputés par les auteurs à la STX et ses variants, seules toxines présentes dans les échantillons des lacs concernés (Rapala *et al.*, 2005).

La toxicité cutanée engendrée par la contamination d'eaux récréatives par des cyanobactéries est attribuée aux lipopolysaccharides (LPS), constituants de la paroi cellulaire de l'ensemble des cyanobactéries. Les



LPS, retrouvés en effet chez toutes les bactéries Gram-négatives, peuvent provoquer des réactions d'irritation et allergiques dans les tissus humains et animaux (Pilotto *et al.*, 2004). D'autres espèces de cyanobactéries, non productrices de STX, peuvent donc également mener à une irritation cutanée.

Il existe cependant un manque de connaissances sur l'occurrence et la toxicité des LPS cyanobactériens, combiné à la diversité des structures des LPS dans les cyanobactéries.

Du fait de l'exposition concomitante par voie orale et par voie cutanée lors d'une baignade, les risques liés à cette multi-exposition ne sont pas négligeables.

#### **Données chez l'animal**

Aucune donnée n'est disponible à ce jour pour la STX et ses variants.

#### **4.3.2.1.3 Sensibilisation**

##### **Données chez l'Homme**

Aucune donnée spécifique de la STX et ses variants n'est disponible à ce jour. Toutefois, d'une manière générale, la sensibilité individuelle aux cyanobactéries dans les eaux de baignade est très variable, parce qu'il peut s'agir aussi bien de réactions allergiques que de réactions directes aux toxines. Les pigments cyanobactériens peuvent provoquer de graves réactions allergiques chez les personnes sensibles (Cohen et Reif, 1953). Les cyanobactéries ont des caractéristiques communes avec les pneumallergènes courants en suspension dans l'air et des études ont montré des réponses allergiques aux cyanobactéries chez des patients souffrant de rhinite et/ou d'asthme allergique. Un cas détaillé récent rapporte l'intoxication d'une jeune fille de 11 ans, hospitalisée pour une réaction allergique se manifestant par un œdème facial grave avec œdème périorbitaire et une éruption cutanée prurigineuse érythémateuse sur les bras et les mains après avoir joué et nagé dans le lac Ontario au parc de « Presque Isle State » (Geh *et al.*, 2016). L'analyse d'un échantillon du sérum de la patiente a montré une augmentation des immunoglobulines E (IgE) spécifiques à l'extrait de cyanobactéries, en excluant d'autres causes sous-jacentes. Cependant, l'identité des espèces de cyanobactéries et des toxines produites demeure incertaine dans l'étude.

##### **Données chez l'animal**

Aucune donnée n'est disponible à ce jour pour la STX et ses variants.

#### **4.3.2.2 Toxicité subchronique et chronique**

##### **Données chez l'Homme**

Aucune donnée n'est disponible sur la toxicité subchronique/chronique des PST, bien que l'hypothèse d'une exposition humaine à de faibles doses sur des périodes de temps longues soit tout à fait plausible.

##### **Données chez l'animal**

S'agissant des données de toxicologie subchronique/chronique, les effets mis en évidence dans les études expérimentales concernent majoritairement la neurotoxicité induite par la STX et ses variants. Une diminution transitoire du poids corporel et de la consommation de nourriture après administration répétée (12 semaines) par voie sous-cutanée de 6  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de néoSTX est observée chez le rat Sprague Dawley (Zepeda *et al.*, 2014). À cette dose, l'étude met également en évidence une cholestase à la fin de la période de traitement, suivie d'un retour à la normale après cette période. À des doses plus faibles de 1 à 3  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , aucun effet significatif n'est rapporté dans l'étude par rapport au groupe contrôle.

#### 4.3.2.3 Génotoxicité

Il n'existe que très peu d'études de la génotoxicité de la STX et de ses variants. L'étude de Melegari *et al.* (2015) s'est intéressée au potentiel cytotoxique et génotoxique de la STX, en examinant ses effets sur deux lignées cellulaires de mammifères : la lignée Neuro 2A (N2A), une lignée cellulaire de neuroblastome de souris et la lignée cellulaire Vero, dérivée de cellules rénales de singe vert Vero. Ces deux lignées ont été exposées à plusieurs concentrations de STX allant de 0,5 à 64 nM pour déterminer la viabilité cellulaire, l'induction de l'apoptose (test de fragmentation d'ADN) et la formation de micronoyaux (MN) (« cytokinesis-block micronucleus test » ou CBMN) après 24 heures d'incubation. Les résultats de cette étude n'ont démontré aucun changement significatif dans la fréquence des cellules binucléées présentant des MN dans les cellules N2A et Vero exposées à la STX, indiquant l'absence de génotoxicité dans ces conditions d'essai (Melegari *et al.*, 2015).

À l'inverse, des effets génotoxiques ont été mis en évidence sur le poisson dulcicole *Hoplias malabaricus* (Da Silva *et al.*, 2011). Ce travail a évalué les effets d'une injection i.p d'un extrait de *C. raciborskii* (0,08 µg/100 g) produisant de la STX, après 20 jours, sur le cerveau. Des dosages d'activités enzymatiques caractéristiques ont été réalisés, montrant une augmentation de l'activité de la SOD. Réciproquement, l'activité d'autres enzymes (catalase (CAT), GST et glutathion peroxydase (GPx)) a diminué. Le test des comètes a montré des effets génotoxiques des extraits contenant des cyanobactéries productrices de STX. Ces résultats issus d'échantillons collectés de cerveau des poissons, traduisent des effets délétères sur l'ADN, les protéines et les lipides, *via* un mécanisme pro-apoptotique.

L'étude de Da Silva *et al.* (2014), a confirmé ces derniers résultats en exposant des cellules neuronales de *H. malabaricus* à une concentration de 3 µg L<sup>-1</sup> d'éq-STX. En effet, lors de cette exposition, le test des comètes a montré une augmentation du nombre de dommages à l'ADN (Da Silva *et al.*, 2014).

#### 4.3.2.4 Cancérogénicité

La STX n'a pas encore été étudiée quant à son caractère cancérogène par le CIRC. Ceci est dû à un profond manque de données, qui ne permettent pas de déterminer le potentiel cancérogène de la STX.

#### 4.3.2.5 Reprotoxicité et tératogénèse

##### **Données chez l'Homme**

Aucune étude sur la toxicité potentielle sur la reproduction et le développement chez l'Homme n'est disponible à ce jour pour la SXT et ses variants.

##### **Données chez l'animal**

Aucune étude sur la toxicité potentielle sur la reproduction et le développement chez l'animal n'est disponible à ce jour pour la SXT et ses variants. Cependant, deux études ont évalué l'impact de la STX sur le développement du poisson-zèbre : dans chacune, la STX a été ajoutée au milieu, à des concentrations plus élevées que celles auxquelles une personne est susceptible d'être exposée sur une longue période, de sorte qu'il est difficile d'extrapoler à l'Homme ces données expérimentales (Oberemm *et al.*, 1999 ; Lefebvre *et al.*, 2004). L'exposition de larves de poissons-zèbres à la STX (229 µg éq-STX.L<sup>-1</sup>) pendant 7 jours a induit une diminution des fonctions sensori-motrices dès 48 heures et une paralysie après 4 jours. À une dose 2 fois supérieure (481 µg éq-STX.L<sup>-1</sup>), la toxine a entraîné un œdème au niveau de plusieurs organes (œil, péricarde, sac vitellin). Enfin, une paralysie des larves, dont l'intensité dépend du stade de développement, a été constatée. L'étude note que ces effets morphologiques et sensorimoteurs sublétaux étaient réversibles, si ces larves étaient ensuite placées dans une eau exempte de toute toxine. Les poissons-zèbres exposés transitoirement à la STX au cours du développement larvaire (2 à 4 jours après fertilisation) avaient une croissance et une survie réduites (Lefebvre *et al.*, 2004). Des résultats comparables avaient été générés sur le même modèle, à des concentrations de 10 à 500 µg.L<sup>-1</sup> de STX (Oberemm *et al.*, 1999).

#### 4.3.2.6 Neurotoxicité

La consommation répétée par des rats femelles Wistar pendant 30 jours d'eau contaminée par *Cylindrospermopsis raciborskii*, cyanobactérie productrice de STX et de néoSTX, à des concentrations de 3 et 9 µg.L<sup>-1</sup> de STX, a montré que l'activité antioxydante totale (« Total Antioxidant Capacity » ou ACAP) est perturbée et est caractérisée par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO, soit « Reactive Oxygen Species » ou ROS en anglais) associée à une diminution des défenses antioxydantes (Ramos *et al.*, 2014). En effet, les rattes dont l'eau de boisson a été supplémentée en STX (3 et 9 µg.L<sup>-1</sup>) pendant 30 jours ont présenté des modifications de l'ACAP, due à un phénomène adaptatif consécutif à la production d'ERO dans le cerveau, notamment l'hippocampe, et dans le foie (Ramos *et al.*, 2014).

À la concentration de 3 µg.L<sup>-1</sup>, les rattes testées dans l'étude présentaient une diminution de l'activité de la glutamate cystéine ligase (GCL) dans le cortex ainsi qu'une augmentation de la concentration de glutathion dans le cerveau et le foie. À la concentration la plus élevée testée dans l'étude de Ramos *et al.* (9 µg.L<sup>-1</sup>), d'autres rats présentaient une augmentation de l'ACAP dans l'hippocampe ainsi que de l'activité de la GCL et de la glutathion-S-transférase dans le cortex et l'hippocampe (Ianora *et al.*, 2011).

Dans l'étude de Ramos *et al.* (2014), une peroxydation lipidique était enregistrée aux deux concentrations dans le foie malgré un mécanisme adaptatif anti-oxydant. Par conséquent, l'étude conclut que l'ingestion chronique de STX peut altérer les défenses anti-oxydantes dans le foie, sans nécessairement s'accompagner d'un phénomène de stress oxydant à proprement parlé dans le cerveau.

À une concentration de 9 µg d'éq-STX.L<sup>-1</sup> via la consommation d'eau potable contaminée à *C. raciborskii* pendant 30 jours également, l'étude de Diehl *et al.* (2016) a montré que les rats présentaient une diminution des performances de la mémoire, mise en évidence par les tests de l'évitement intérieur (« Inhibitory Avoidance » ou IA) et du labyrinthe aquatique de Morris (« Morris water maze » ou MWM). En effet, les résultats suggèrent un effet amnésiant de la STX sur les mémoires aversives et spatiales des rats. En revanche, le test du MWM n'a pas montré de variation de la vitesse de nage des animaux, n'indiquant pas de dysfonction des muscles squelettiques dans l'étude.

Enfin, l'effet de la STX sur les niveaux d'acides aminés neurotransmetteurs (aspartate, glutamate, GABA) dans le cerveau a été étudié. Une injection i.p de SXT (5 et 10 µg.kg<sup>-1</sup> p.c) sur de jeunes rats mâles pendant 30 à 120 minutes a produit une augmentation des niveaux d'aspartate et de glutamate dans le cerveau, même si localement, des diminutions des concentrations d'aspartate, glutamate, taurine (tous trois excitateurs) et de GABA (inhibiteur) (Cianca *et al.*, 2009) ont été observées. En outre, l'administration aiguë intra-péritonéale de STX à dose sublétales chez le rat Sprague-Dawley a également montré une altération aiguë de la production de dopamine (DA) et de son métabolite, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) (Cianca *et al.*, 2011).

La STX perturbe donc l'homéostasie de certaines voies de neurotransmission centrales. D'autre part, étant donné que l'excitabilité neuronale joue un rôle important dans le développement normal du SNC, une exposition prolongée aux PST peut affecter la neurogenèse (Brackenbury *et al.*, 2010).

#### 4.3.2.7 Populations à risque

D'après une étude de cas relative à une épidémie d'intoxication par des mollusques (*Amphichaena kindermani*) entre juillet et août 1987, sur la côte pacifique du Guatemala, les enfants semblent être la population la plus sensible. Sur les 187 personnes intoxiquées dans cette étude et présentant des symptômes, les enfants de moins de 6 ans avaient un taux de mortalité plus élevé (50 %) que les personnes de plus de 18 ans (7 %).

La DL minimale pour un enfant de 25 kg est estimée à 3 493 *mouse unit* (mu) soit 140 µg.kg<sup>-1</sup> p.c. ; alors que dans cette étude quatre autres patients décédés n'ont mangé qu'un seul plat à base de palourdes (30 à 85 g de chair). En utilisant l'estimation HPLC de 7 500 µg de STX / 100 g de chair, la DL calculée pour ces patients est de : 11 000 à 35 000 µg soit 480 à 1 400 µg.kg<sup>-1</sup> p.c. Les enfants de moins de 6 ans semblent donc être plus sensibles aux PST que les adultes. Par ailleurs, l'étude relate que le taux d'attaque<sup>20</sup> le plus élevé concerne en revanche la population des 13 – 17 ans (33,3/1000) (Rodrigue *et al.*, 1990).

<sup>20</sup> Le taux d'attaque est un indicateur épidémiologique représentant l'incidence des nouveaux cas au cours d'une épidémie dans une population donnée au cours d'une période définie.

### 4.3.3 Conclusions sur la toxicité de la STX, et valeurs toxicologiques de référence

Chez l'Homme, les effets les plus bénins apparaissant après une intoxication par la STX ou ses variants sont des paresthésies buccales, engourdissements autour des lèvres, étourdissements, céphalées, nausées, vomissements ainsi que des vertiges. Ces symptômes sont suivis d'asthénie, de faiblesse musculaire et de discours incohérents. Lors d'une intoxication, ces symptômes évoluent rapidement vers des paralysies musculaires, des difficultés respiratoires sévères, qui peuvent conduire jusqu'au décès (Arnich et Thébaud, 2018).

La diversité d'études a conduit les experts du « Panel on Contaminants in the Food Chain » de l'EFSA à évaluer la toxicité de la STX et de ses variants, ce qui leur a permis de déterminer en 2009 une « Acute reference Dose » (ARfD) de  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.c d'équivalent de STX (noté  $\mu\text{g}\text{ éq-STX}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.c), sur la base de 14 études recensant plus de 500 cas d'intoxications humaines. Pour obtenir cette valeur, les experts du comité de l'EFSA ont conclu à une DMENO de  $1,5 \mu\text{g}\text{ éq-STX}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.c sur la base d'un ensemble de symptômes qualifiés de « bénins » dans le rapport de l'EFSA. Cet ARfD a été calculée car l'Efsa estimait qu'il n'était pas possible de définir une « tolerable daily intake » (TDI) soit une dose journalière admissible (DJA).

Compte tenu des limites associées aux études épidémiologiques, liées notamment à la difficulté de caractériser précisément les expositions des individus intoxiqués, il a été proposé de déterminer une VTR sur la base de l'une des trois études expérimentales sélectionnées, car ces dernières constituent les études les plus récentes et adaptées à l'élaboration d'une VTR. Ce sont les études de Munday *et al.* (2013), Selwood *et al.* (2017) et Finch *et al.* (2018), détaillées précédemment. **La dysfonction des muscles squelettiques engendrée par le blocage des canaux  $\text{Na}$ , observée dans l'étude de Munday *et al.* (2013), a été retenue comme effet critique.**

**L'étude de Munday *et al.* (2013) a été choisie comme étude clé** car elle est la seule à étudier les effets toxiques de la STX *via* le test de la force de préhension (« grip strength ») en plus des observations qualitatives pendant 14 jours des symptômes chez les animaux après l'exposition à la STX, réalisées au cours des trois études.

**La dose critique retenue correspond à la DSENO observée par gavage, de  $544 \text{ nmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ , soit  $163 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Une attention particulière doit être portée sur la difficulté d'établir une relation dose-effet quant à la toxicité de la STX et de ses variants, du fait de leur mécanisme de toxicité.**

**Ainsi, une VTR aiguë de  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.c.j<sup>-1</sup> par voie orale est proposée pour la STX, basée sur la dysfonction des muscles squelettiques observée dans l'étude de Munday *et al.* (2013).** Un niveau de confiance **faible** a été attribué à cette VTR qui est susceptible d'être réévaluée si de nouvelles études de toxicité aiguë par voie orale utilisant la méthode HPLC sont publiées et permettent d'alimenter les connaissances sur la toxicité relative à l'ingestion de la STX. Enfin, comme mentionné précédemment, la toxicité importante de la STX amène à mettre en garde sur la gravité des intoxications possibles si la VTR proposée est dépassée.

## 4.4 L'anatoxine-a

L'anatoxine-a (ATX-a, masse moléculaire 165 Da) ou 2-acétyl-9-azabicyclo[4.2.1]non-2-ène est une amine secondaire bicyclique (figure 8), dérivé d'alkaloïde, dont le mode d'action révèle le caractère neurotoxique puissant, avec une implication dans des épisodes de mortalités d'animaux. L'ATX-a existe principalement sous forme cationique et s'avère photosensible à pH alcalin, et se dégrade en composés non toxiques. Elle n'est pas stable dans l'eau. L'homoanatoxine-a, (2-(propan-1-oxo-1-yl)-9-azabicyclo[4.2.1]non-2-ène), de masse moléculaire 179 Da, est un variant de l'anatoxine-a (un groupe méthyl supplémentaire sur la chaîne latérale) et en partage le mode d'action (Araoz *et al.*, 2010).

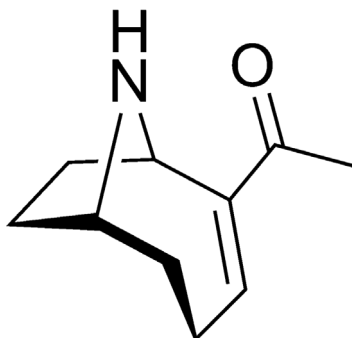


Figure 8 : structure chimique de l'anatoxine-a

## 4.4.1 Toxicologie

### 4.4.1.1 ADME

Il n'existe pas de données de cinétique pour l'ATX-a chez les mammifères. Cependant, les études de toxicité indiquent que la toxine serait très rapidement absorbée après ingestion et largement distribuée. Elle franchit la barrière hémato-encéphalique chez le rat, ce qui contribue à sa toxicité aiguë (Rowell et Wonnacott, 1990 ; Stolerman *et al.*, 1992). Le potentiel de bioaccumulation serait faible.

### 4.4.1.2 Mécanismes de la toxicité

L'ATX-a agit sur les synapses cholinergiques, largement distribuées dans le système nerveux des vertébrés. L'acétylcholine (ACh) est en effet le principal neurotransmetteur du SNP et l'un des plus importants du SNC. Les synapses cholinergiques du SNP sont présentes au niveau des jonctions neuromusculaires et du système nerveux autonome et de ses effecteurs (cœur, viscères, glandes exo/endocrines). Deux types de récepteurs de l'acétylcholine permettent de médier son action dans la cellule post-synaptique : des récepteurs ionotropiques (dits récepteurs nicotiniques, notés RnACh) et des récepteurs métabotropiques (dits récepteurs muscariniques, notés RmACh). Après avoir agi sur ces récepteurs, l'ACh est hydrolysée par l'acétylcholinestérase, une enzyme présente dans la fente synaptique. Cette réaction permet de recycler la choline dans la cellule présynaptique.

L'ATX-a est un agoniste cholinergique puissant des RnACh et dans une moindre mesure des RmACh. Au niveau des jonctions neuromusculaires, la (+)-ATX-a est un agoniste plus puissant que l'acétylcholine pour stimuler la contraction musculaire, en raison d'une plus grande affinité pour les RnACh. L'activité agoniste de l'ATX-a pour les RmACh est moins bien caractérisée : de fait, il semble que l'affinité de la toxine pour les RnACh soit largement supérieure à celle pour les RmACh (Aronstam et Witkop, 1981 ; Aracava *et al.*, 1987). La dépolarisation qui s'ensuit active la cellule post-synaptique. L'ATX-a n'est pas hydrolysée par l'acétylcholinestérase et les récepteurs cholinergiques sont donc sur-stimulés. Cette stimulation excessive des RnACh perturbe la réponse de l'organe effecteur, qui peut être un ganglion nerveux (système nerveux autonome), un neurone (SNC) ou une fibre musculaire (contraction soutenue) (Spivak *et al.*, 1980 ; Wonnacott *et al.*, 1992 ; Thomas *et al.*, 1993).

À l'échelle moléculaire, l'ATX-a active très efficacement le RnACh  $\alpha_{12}\beta\gamma\delta$  (type musculaire). La dépolarisation qui s'ensuit induit un blocage neuromusculaire et la contraction du muscle squelettique. Le blocage neuromusculaire résulte de la dépolarisation et de la désensibilisation de la membrane des fibres musculaires (Spivak *et al.*, 1980). D'autres études ont montré que l'ATX-a cible également les RnACh de types neuronaux  $\alpha_7$  et  $\alpha_4\beta_2$  (Thomas *et al.*, 1993). En se fixant aux RnACh, l'ATX-a active l'ouverture des canaux cationiques, générant un influx d'ions  $\text{Na}^+$  dans la cellule post-synaptique et un efflux d'ions  $\text{K}^+$ , ce qui entraîne une dépolarisation de la membrane. L'exposition prolongée à l'ATX-a provoque la désensibilisation des RnACh, ce qui conduit au blocage de la transmission neuromusculaire (Spivak *et al.*, 1980). L'homoanatoxine-a (hATX-a) agit de manière comparable, c'est un analogue de l'ATX-a : leurs affinités pour les RnACh sont comparables (Wonnacott *et al.*, 1992).

En plus de ces effets de blocage de la transmission neuromusculaire, et compte-tenu du fait que les RnACh sont présents dans le SNV, leur activation au niveau des interneurons des ganglions parasympathiques induit la libération d'ACh qui stimule les RmACh. En conséquence, l'ATX-a altère le système cardiovasculaire : elle provoque une diminution de la fréquence cardiaque et une augmentation de la pression artérielle, et des modifications des échanges gazeux ( $pO_2$  et  $pCO_2$ ), ce qui conduit à une hypoxie et un arrêt respiratoire, ainsi qu'une acidose observée à la mort des animaux (Adeymo et Sire'n, 1992). Au niveau du système adrénérgique, l'ATX-a agit sur les RnACh et stimule la sécrétion de catécholamines (dopamine, adrénaline et noradrénaline) dont les effets sont multiples dans le SNC et le SNP (fonction cardiaque, fonctions métaboliques). La (+)-ATX-a franchit la barrière hémato-encéphalique et exerce son effet d'agoniste des RnACh, mais de manière moins efficace que sur les jonctions neuromusculaires (Carmichael *et al.*, 1977; Stolerman *et al.*, 1992). Les effets les plus toxiques de la (+)-ATX-a sont donc dus à une stimulation excessive des muscles striés des voies respiratoires, susceptible d'entraîner un arrêt respiratoire (Spivak *et al.*, 1980; Aronstam et Witkop, 1981; Swanson *et al.*, 1986).

## 4.4.2 Toxicité

### 4.4.2.1 Toxicité aiguë

Les organismes aquatiques peuvent être exposés naturellement à l'ATX-a par voie orale, cutanée ou respiratoire (Kuiper-Goodman *et al.*, 1999 ; Carmichael *et al.*, 2001 ; Draisci *et al.*, 2001). L'ATX-a provoque, d'une manière générale, la paralysie des organismes intoxiqués. Chez la souris, en injection i.p sont observés en quelques minutes hyperventilation, tremblements, convulsions légères, mictions, hypersalivation, hyperactivité, contractions musculaires, puis diminution de l'activité locomotrice, paralysie musculaire et arrêt respiratoire. À dose sub-létale, on constate une rétrocession des symptômes observés. Cependant, et bien que les animaux puissent se rétablir d'une dose sub-létale, des altérations du comportement pourraient avoir des effets significatifs sur la reproduction et les interactions des animaux intoxiqués dans leur niche écologique (Osswald *et al.*, 2007).

La toxicité aiguë montre des effets rapides (2 à 6 min après administration) avec paralysie musculaire et respiratoire. Il existe une différence de toxicité entre les 2 énantiomères, l'ATX-a(+) est plus toxique que la forme (-). La  $DL_{50}$  est estimée à 260-317  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  par i.p et est  $> 16000 \mu\text{g.kg}^{-1}$  par voie orale chez la souris (tableau XIV). L'homoanatoxine A présente la même  $DL_{50}$  i.p et les mêmes symptômes mais avec un délai avant la mort allant de 7 à 12 min. Par gavage, l'hATX-a est 10 fois moins toxique mais les données ont été obtenues avec des extraits (Kuiper-Goodman *et al.*, 1999 ; Wonnacott et Gallagher, 2006 ; Metcalf et Codd, 2014).

**Tableau XIV : valeurs toxicologiques repères de l'ATX-a, sur souris, par différentes voies d'administration**

Voie d'administration	Espèce	Valeurs repères	Références
Orale	souris	$DL_{50} = 16,2 \text{ mg.kg}^{-1}$	Stevens & Krieger, 1991
Intrapéritonéale	souris	$DL_{50} = 260 \mu\text{g.kg}^{-1}$	Stevens & Krieger, 1991
	souris	$DL_{50} = 386 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (+)ATX-a hydrochloride	Valentine <i>et al.</i> , 1991
	souris	$DL_{50} = 913 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (±)ATX-a hydrochloride	Valentine <i>et al.</i> , 1991
Intraveineuse	rat	$DL_{50} = 5,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$	Cook <i>et al.</i> , 1988
	rat	$DL_{50} = 85 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (+)ATX-a	Adeymo et Sirén, 1992
	rat	$DL_{50} = 400 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (±)ATX-a	

#### 4.4.2.2 Toxicité sub-chronique

Des données de toxicité sub-chronique par gavage ou additionnée à l'eau de boisson sont disponibles (Osswal *et al.*, 2007). En raison de mortalités observées dans les groupes avec des doses plus élevées, la DSENO a été estimée à  $98 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  chez la souris *per os* (28 jours), mais l'incertitude sur cette donnée est très élevée (Fawell *et al.*, 1999). Aucune donnée concernant l'hATX-a n'a été publiée. Une étude fournit des données d'intoxication chronique à l'ATX-a sur souris, par voie orale (0 à  $2,46 \text{ mg d'ATX-a}\cdot\text{kg}^{-1}$  pendant 4 semaines. Les auteurs ne relèvent pas de symptôme particulier en intoxication chronique (Fawell *et al.*, 1999). Des valeurs de DSENO/DMENO sont par ailleurs disponibles en exposition par voie i.p chez la souris mâle pendant 7 jours, sur la physiologie spermatique (Yavasoglu *et al.*, 2008).

#### 4.4.2.3 Génotoxicité et cancérogénèse

Aucune donnée n'est disponible sur cellules de mammifères ou *in vivo*. Aucune donnée de cancérogénèse n'est disponible pour les 2 toxines.

#### 4.4.2.4 Reprotoxicité et tératogénèse

Des effets reprotoxiques chez les souris mâles ont été observés avec le mélange racémique d'ATX-a par i.p. Une toxicité maternelle est rapportée à  $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  i.p chez la souris mais sans générer de malformation ni de mortalité chez les fœtus. À l'inverse, des effets chez les fœtus sans toxicité maternelle sont obtenus chez le hamster (Astrachan *et al.*, 1980 ; Fawell *et al.*, 1999 ; MacPhail *et al.*, 2005 ; Rogers *et al.*, 2005). Sur des souris femelles gestantes, aucun signe de toxicité n'est observé sur la descendance. La DSENO (terratogénicité à 28 jours) est établie à  $2,46 \text{ mg d'anatoxine-a}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$  (Fawell *et al.*, 1999).

### 4.4.3 Conclusions sur la toxicité de la l'ATX-a

Il n'existe aucune donnée épidémiologique sur une intoxication humaine incriminant formellement l'ATX-a, même si dans plusieurs cas, elle est suspectée d'être à l'origine de symptômes chez l'homme. En revanche, de nombreuses intoxications animales impliquant des cyanobactéries productrices d'ANT-a ont été décrites, les plus récentes en 2017 dans le Maine-et-Loire. Les symptômes observés expérimentalement soulignent son caractère neurotoxique, en exposition aiguë : hyperventilation, tremblements, convulsions légères, mictions, hypersalivation, hyperactivité, contractions puis paralysie musculaire et arrêt respiratoire consécutif (Jakubowska *et al.*, 2015).

Il n'existe pas de seuil réglementaire pour l'ANT-a en France. Des valeurs guides ont été proposées localement dans certains pays ( $5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  dans la chair de poisson en Californie ;  $40$  et  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dans l'eau de boisson pour le bétail et les chiens, respectivement, comme valeurs guides (aiguë et subchronique) en Californie ;  $3,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  d'EDCH au Québec utilisée comme dose maximum acceptable provisoire ;  $6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  et  $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dans l'EDCH pour l'ANT-a et l'homoANT-a respectivement, en Nouvelle-Zélande, utilisée comme dose maximale admissible provisoire ;  $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  et  $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dans l'EDCH comme valeur guide en Ohio et en Oregon respectivement)<sup>21</sup>. Aucune VTR n'existe actuellement en Europe pour l'ANT-a ou l'homo-ANTa.

## 4.5 L'anatoxine-a(s)

L'anatoxine-a(s)<sup>22</sup> est un organophosphoré naturel (masse moléculaire 253 Da), non structuellement apparenté à l'anatoxine-a (figure 9).

<sup>21</sup> Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA Supporting publication 2016-EN-998. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>

<sup>22</sup>Le « s » d'anatoxine-a(s) se réfère au facteur de salivation, l'un des symptômes caractéristiques des intoxications aux anti-cholinestérasiques

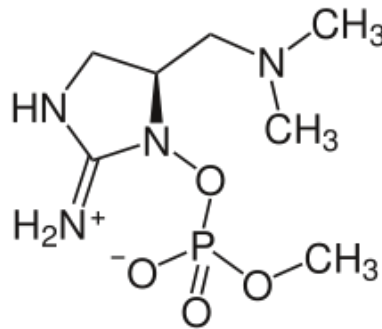


Figure 9 : structure chimique de l'anatoxine-a(s)

## 4.5.1 Toxicologie

### 4.5.1.1 Absorption, distribution, métabolisme et excrétion

Pas de donnée.

### 4.5.1.2 Mécanismes de toxicité

L'anatoxine-a(s) (ATX-a(s)) inhibe de manière irréversible des cholinestérases, principalement l'acétylcholinestérase (Mahmood et Carmichael, 1986). Son activité est donc comparable à celle des anticholinestérasiques naturels ou synthétiques, tels que les insecticides organophosphorés (malathion, diazinon), les carbamates (physostigmine et pyridostigmine) ou les agents de guerre chimique organophosphorés (sarin, tabun, soman) (Cook *et al.*, 1988, Pita *et al.*, 2003). Il semble que l'ATX-a(s) cible les cholinestérases du SNP. En conséquence, l'activité des cholinestérases du SNC et de la rétine n'est pas affectée par la toxine (Briand *et al.*, 2003). Enfin, sur des organismes aquatiques – poissons et crabes – des extraits de cyanobactérie *Anabaena spiroides* qui produit l'ATX-a(s) inhibent l'activité AChE (Monserrat *et al.*, 2001).

## 4.5.2 Toxicité

### 4.5.2.1 Toxicité aiguë

En administration par voie i.p chez les souris, l'ATX-a(s) induit des symptômes comparables à une intoxication aux organophosphorés, rappelant donc des effets muscariniques et nicotiniques : hypersécrétion lacrymale, salivaire et nasale, mictions, fasciculations musculaires, dyspnée, et insuffisance respiratoire (Mahmood et Carmichael, 1986, Onodera *et al.*, 1997).

L'ATX-a(s) provoque une hypersalivation, qui est un des symptômes caractéristiques des intoxications aux anti-cholinestérasiques. La DL<sub>50</sub> i.p. chez la souris est estimée entre 20 et 60 µg.kg<sup>-1</sup> avec un temps de survie de 5 à 30 min (tableau XV). Aucune donnée de toxicité aiguë par voie orale n'est disponible. L'ATX-a(s) a été incriminée dans l'intoxication de diverses espèces animales, notamment des chiens, des oiseaux et de porcs en Amérique du Nord (Mahmood *et al.*, 1988), ainsi que et d'oiseaux sauvages au Danemark (Henriksen *et al.*, 1997).



Tableau XV: valeurs toxicologiques repères de l'ATX-a(s)

Voie d'administration	Espèce	DL <sub>50</sub> (µg.kg <sup>-1</sup> )	Référence
Intrapéritonéale	Souris	20-31	Monserat <i>et al.</i> , 2001
		40-60	Wolf et Frank, 2002 Mahmood et Carmichael, 1986
Intrapéritonéale	Rat	20	Monserat <i>et al.</i> , 2001

#### 4.5.2.2 Génotoxicité, cancérogénèse et toxicités sub-chronique et chronique

Très peu de données sont disponibles sur cellules de mammifères ou *in vivo*. Sur des lymphocytes humains, l'ATX-a(s) induirait des cassures chromosomiques (Sanseverino *et al.*, 2017). Aucune donnée de cancérogénèse ou de toxicité sub-chronique ou chronique n'est actuellement disponible.

#### 4.5.3 Conclusions sur la toxicité de la l'ATX-a(s)

La toxicité de l'ATX-a(s) est très imparfaitement caractérisée : seul son mode d'action est bien connu, car – à l'instar des organophosphoré synthétique – elle agit comme inhibiteur irréversibles des choliestérases, ce qui en fait une neurotoxine à action rapide, susceptible d'affecter les réseaux cholinergiques du SNC et du SNP. Il n'existe aucune VTR pour l'ATX-a(s) et la Nouvelle-Zélande est le seul pays à proposer une valeur de 1 µg.L<sup>-1</sup> dans l'EDCH, correspondant à une dose maximale admissible provisoire (Chorus, 2012 ; EFSA, 2016 )<sup>23</sup>.

<sup>23</sup> Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA Supporting publication 2016-EN-998. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>; Chorus, , 2012. Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Compiled and edited by Dr. Ingrid Chorus, published by the Federal Environment Agency (Umweltbundesamt) Germany, 151 pages. <http://www.uba.de/uba-info-medien-e/4390.htm>

**POINTS À RETENIR**

- Les épisodes d'intoxications humaine et animale n'ont identifié que rarement les cyanotoxines à l'origine des symptômes.
- La majorité des données de toxicité disponibles sur les cyanotoxines concernent les microcystines ; cependant, quel que soit le groupe de cyanotoxines, les données n'ont été obtenues majoritairement qu'avec un seul variant alors que chaque groupe peut contenir jusqu'à plusieurs centaines de variants.
- Si les différentes cyanotoxines ont d'abord été classées en fonction d'un organe cible (système nerveux, foie, ou épiderme), il s'avère que les effets ne se limitent pas toujours à une seule fonction physiologique.
- Il n'existe que peu de données relatives aux mécanismes d'absorption, distribution, métabolisation, excrétion (toxicocinétique) des cyanotoxines permettant d'évaluer leur devenir dans l'organisme après administration.
- Les études de toxicité aiguë ont permis de caractériser les effets des cyanotoxines sur modèles animaux et des valeurs de DL<sub>50</sub> par exposition orale sont disponibles pour la plupart de ces toxines.
- En revanche, très peu d'études se sont penchées sur leur toxicités sub-chronique et chronique sauf pour la microcystine LR.
- Les cibles physiologiques et moléculaires de chaque cyanotoxine sont assez bien connues, et permettent de comprendre les symptômes aigus qu'elles induisent chez l'animal.
- De nouvelles VTR sont proposées : une VTR sub-chronique par voie orale pour la MC-LR, une VTR sub-chronique par voie orale pour la cylindrospermopsine, une VTR aiguë par voie orale pour la STX.
- L'anatoxine-a apparaît comme une neurotoxine émergente en France ; l'anatoxine-a(s) comme la cyanotoxine la moins bien caractérisée. Aucune VTR n'est disponible pour ces deux toxines.

## 5 Epidémiologie des intoxications humaines par les cyanotoxines

Les proliférations de cyanobactéries dans les eaux douces induisent un risque de contamination par les cyanotoxines. Un risque sanitaire aigu et/ou chronique plus ou moins important, en fonction des toxines, des doses, des voies et des durées d'exposition, peut être associé à une exposition tant chez l'Homme que chez l'animal. De nombreux cas d'intoxication létale d'animaux ont été observés consécutivement à l'ingestion de cyanotoxines, *via* l'eau contaminée par des efflorescences de cyanobactéries (Chorus et Bartram, 1999 ; Briand *et al.*, 2003 ; Wood *et al.*, 2016 ; Svirčev *et al.*, 2017a ; 2019). En France, durant les étés 2002 et 2003, 37 chiens dans le Tarn et 2 dans le Jura ont présenté des troubles neurologiques après s'être baignés ou avoir bu l'eau de la rivière, et 28 d'entre eux sont morts.

Au cours de l'été 2017, une vingtaine de nouveaux cas d'intoxication chez des chiens ont été rapportés, dans le bassin de la Loire, avec des manifestations cliniques essentiellement d'ordre neurologique.

Le plus ancien cas d'intoxication humaine documenté mentionne la mort de soldats Chinois ayant bu une eau verte en provenance d'une rivière il y a environ 1000 ans (Chorus et Bartram, 1999). Les cas d'intoxication humaine sont plus rares que les intoxications animales, notamment en raison de la maîtrise du risque d'exposition (contrôle sanitaire des EDCH et des sites de baignade). Toutefois, l'exposition humaine aux cyanotoxines est possible par différentes voies dont les principales sont (Drobac *et al.*, 2013) :

- l'ingestion d'eau potable mal traitée ou d'eau non traitée (en particulier dans les pays du Sud) ;
- l'inhalation, l'ingestion accidentelle d'eau ou le contact cutané avec des cyanobactéries et des cyanotoxines lors d'activités récréatives ;
- la consommation de denrées végétales contaminées par l'eau d'irrigation ;
- la consommation de denrées animales (poissons) provenant d'eaux contaminées ;
- la prise orale de compléments alimentaires contaminés ;
- la voie intraveineuse (dialyse).

Dans ce chapitre ne sont abordés que les cas d'intoxication humaine liés aux activités récréatives, à la consommation d'eau de boisson ou l'ingestion de poissons contaminés, pour lesquels la cyanotoxine impliquée a été identifiée ou la présence de cyanobactéries potentiellement toxiques a été confirmée, ainsi que les intoxications chroniques telles qu'elles sont décrites dans la littérature.

Le nombre réel de cas d'intoxications humaines est très probablement sous-estimé, en raison de (i) la difficulté du diagnostic, (ii) la méconnaissance de la problématique par le personnel soignant, (iii) l'absence de procédures de report, et (iv) le manque d'analyses associées des cyanotoxines potentiellement incriminées. Malgré cette sous-estimation, deux méta-analyses montrent que les cyanotoxines ont un impact significatif sur la santé humaine et animale à travers le monde (Wood, 2016 ; Svirčev *et al.*, 2019).

Les cyanotoxines les plus souvent incriminées dans des épisodes d'intoxication humaine sont les microcystines et dans une moindre mesure les anatoxines (Wood, 2016 ; Svirčev *et al.*, 2019). Les saxitoxines sont incriminées dans des intoxications, mais uniquement d'origine marine produites par des dinoflagellés (Testai *et al.*, 2016). La plupart des cas d'intoxications humaines a été analysée rétrospectivement avec peu de données disponibles concernant la concentration en cyanotoxines lors de l'exposition.

La sémiologie d'une exposition aux cyanotoxines est hétérogène, et les symptômes d'intoxication aiguë sont fonction du mode d'action de la ou des toxine(s) absorbée(s) :

- symptômes gastro-intestinaux : diarrhées, vomissements, nausées, douleurs abdominales (Dillenberg et Dehnel, 1960 ; Turner *et al.*, 1990 ; El Saadi *et al.*, 1995 ; Pilotto *et al.*, 1997 ; Annadotter *et al.*, 2001 ; Stewart *et al.*, 2006) ;

- irritations oculaires et cutanées : irritations, éruptions, prurit (El Saadi *et al.*, 1995 ; Pilotto *et al.*, 1997 ; Stewart *et al.*, 2006c et d) ;
- fièvre (Dillenberg et Dehnel, 1960 ; Turner *et al.*, 1990 ; Pilotto *et al.*, 1997) ;
- douleurs pleurétiques, toux sèche, respiration sifflante, difficulté à respirer (Turner *et al.*, 1990 ; Stewart *et al.*, 2006b) ;
- symptômes neurologiques ou neuromusculaires : céphalées, vertiges, myalgies (Dillenberg et Dehnel, 1960 ; Turner *et al.*, 1990) ;
- insuffisances hépatiques, lésions hépatiques (Falconer *et al.*, 1983 ; Carmichael *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2009a ; Li *et al.*, 2011b) et rénales (Lin *et al.*, 2016) sévères.

Les délais d'apparition des symptômes, dépendant du type de toxine impliquée, de la dose et de la voie d'exposition, sont très variables : quelques minutes voire quelques heures pour les symptômes cutanés et les troubles neurologiques, plusieurs heures pour les toxines hépatiques. Quelles que soient les voies d'exposition considérées, les symptômes les plus couramment reportés sont des symptômes gastro-intestinaux, des états fébriles et des irritations cutanées. Considérant uniquement l'ingestion ou l'inhalation de cyanobactéries, des toxicités hépatiques et des neurotoxicités sont plus fréquemment décrites (Wood, 2016 ; Svirčev *et al.*, 2019) (tableau XVI)

## 5.1 Intoxications humaines aiguës

### 5.1.1 Intoxications aiguës *via* l'eau destinée à la consommation humaine

L'ingestion d'EDCH contaminée par des cyanotoxines est à l'origine des cas fréquents d'intoxication humaine aiguë (tableau XVI). Une eau provenant d'une source présentant une prolifération de cyanobactéries est susceptible de contenir des toxines libérées lors de la lyse cellulaire (*e.g.*, microcystines) ou excrétées par les cyanobactéries (*e.g.*, anatoxines) (Chorus et Bartram, 1999). Les risques pour la santé humaine sont d'autant plus élevés s'ils sont associés à l'ingestion d'eau contenant de grandes quantités de cyanotoxines (intoxication aiguë), ou à l'ingestion fréquente de petites doses sur un temps prolongé (intoxication chronique) (Svirčev *et al.*, 2010).

D'une manière générale, la présence de cyanotoxines dans l'eau de boisson n'est pas rare et a été mentionnée en Asie, Europe et Océanie au cours des dix dernières années (Buratti *et al.*, 2017). La problématique de la consommation d'eau contenant des cyanotoxines se pose avec acuité dans les régions où l'approvisionnement en eau de consommation ou d'irrigation se fait par stockage (barrages, réservoirs, puits, bassins de rétention) susceptibles d'accumuler des cyanobactéries toxigènes, ou des cyanotoxines.

D'après les données issues de la base de données Sise – Eaux extraites sur la période 2010-2017, en France, les concentrations de MC dans l'eau de consommation dépassent rarement  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ <sup>24</sup>, soit la valeur guide de l'OMS pour l'eau de boisson (OMS, 2017), ce qui illustre une maîtrise de la production d'EDCH vis-à-vis de ce contaminant.

---

<sup>24</sup> Valeur guide en France selon l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualités des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R.1321-2, R.1321-3, R.1321-7 et R.1321-38 du code de la santé publique.

**Tableau XVI : cas rapportés ou suspectés d'intoxications aiguës par les cyanotoxines suite à la consommation d' EDCH ou lors d'usage médical (hémodialyse)**

Référence	Lieu, année, contexte de la contamination	Nombre de cas et symptômes rapportés	Cyanobactérie et/ou cyanotoxine impliquée ou suspectée
Tisdale, 1931	Charleston, Virginie Etats-Unis, 1930. Développement d'une prolifération sur un bras du fleuve rivière Ohio et Potomac, lors d'une sécheresse exceptionnelle. Traitement : préchloration, sédimentation, filtration, chloration, sulfate de cuivre (CuSO <sub>4</sub> ), aération, charbon activé, permanganate, ammonium, déchloration : tous inefficaces pour réduire le goût, l'odeur, ou la teneur en toxines.	Gastro-entérites (douleur abdominale, nausée, vomissement, diarrhée) chez 5000 à 8000 personnes, sur 60 000 habitants	<i>Microcystis sp.</i>
Zilberg, 1966	Harare, Zimbabwe, 1960-1965. Ville approvisionnée en eau potable par un réservoir d'eau lors d'une prolifération de cyanobactéries saisonnière. Aucun agent infectieux détecté. Populations infantiles sans symptômes dans d'autres zones alimentées en eau sans cyanobactérie.	Gastro-entérites saisonnières chez l'enfant	<i>Microcystis aeruginosa</i>
Lippy et Erb, 1976	Pennsylvanie, Etats-Unis, 1975. Cas survenus dans les 5 jours suivant le traitement de la ressource au CuSO <sub>4</sub> . Traitement : filtration, chloration.	Gastro-entérites touchant 62 % de la population raccordée sur 5 jours	Plus de 100 000 cell.L <sup>-1</sup> des genres <i>Schizotrix</i> , <i>Plectonema</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Lyngbya</i> . Lipopolysaccharide
Bourke <i>et al.</i> , 1983	Palm Island, Australie, 1979. Cas survenus dans la semaine ayant suivi le traitement de la ressource au CuSO <sub>4</sub> . Traitement : préchloration, clarification au sulfate de cuivre, filtration, chloration.	Hépto-entérites, 148 hospitalisations (enfants surtout)	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> . Cylindrospermopsine
Falconer <i>et al.</i> 1983a	Armidale, Australie, 1981. Modification des paramètres biologiques après le traitement de la ressource au CuSO <sub>4</sub> (1 ppm).	Plusieurs gastro-entérites, atteinte hépatique.	<i>Microcystis sp.</i>
Teixeira <i>et al.</i> , 1993	Itaparica Dam, Brésil, 1988. Développement d'une immense prolifération de cyanobactéries dans le réservoir.	2000 gastro-entérites sur 42 jours, dont 88 mortelles (surtout des enfants)	<i>Anabaena sp.</i> , <i>Microcystis sp.</i>

Référence	Lieu, année, contexte de la contamination	Nombre de cas et symptômes rapportés	Cyanobactérie et/ou cyanotoxine impliquée ou suspectée
Annadotter <i>et al.</i> , 2001	Région de Malmö, Suède, 1994. Mélange accidentel d'eau de rivière non traitée avec de l'eau de boisson traitée en période de prolifération de cyanobactéries	Nausées, douleurs abdominales, vomissements, diarrhée accompagnée de douleurs musculaires, maux de tête et fièvre (121 personnes)	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Microcystis sp.</i> MCs
El Saadi <i>et al.</i> , 1995	Murray River, Australie. 1995. Cas survenus pendant la période d'efflorescences de cyanobactéries dans la rivière : symptômes gastro-intestinaux chez les consommateurs d'eau traitée (chlorée) et gastro-intestinaux/dermatologiques chez les personnes utilisant l'eau de rivière non traitée à des fins domestiques, par rapport à celles utilisant l'eau de pluie (contrôle)	Symptômes gastro-intestinaux (102 cas) et/ou dermatologiques (86 cas)	<i>Dolichospermum circinale</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Aphanizomenon sp.</i> , <i>Planktothrix sp.</i>
Dunn, 1996, Jochimsen <i>et al.</i> 1998, Pouria <i>et al.</i> 1998, Carmichael <i>et al.</i> , 2001, Azevedo <i>et al.</i> , 2002	Caruaru, Brésil, 1996. Évènement survenu après une période de sécheresse. Traitement municipal de l'eau : décantation, filtration sur sable, chloration. A l'unité de dialyse : filtration sur sable, charbon, résine échangeuse d'ions et filtration « micropore ».	Unité d'hémodialyse : les 116 patients de l'unité ont présenté des symptômes neurologiques et des signes d'hépatotoxicité, 52 décès enregistrés parmi les 131 sujets fréquentant une unité d'hémodialyse	Dunn, 1996, Jochimsen <i>et al.</i> 1998, Pouria <i>et al.</i> 1998, Carmichael <i>et al.</i> , 2001, Azevedo <i>et al.</i> , 2002
Soares <i>et al.</i> , 2006	Rio de Janeiro, Brésil, 2001. Prolifération de cyanobactéries dans un réservoir d'eau de Funil et dans le fleuve Guandu, qui alimentent tous les deux en eau potable Rio de Janeiro, Brésil. MCs détectées dans de l'eau traitée et utilisée au centre de dialyse rénale de l'hôpital Clementino Fraga Filho de l'Université fédérale de Rio de Janeiro.	Unité d'hémodialyse : 44 personnes exposées à des doses sublétales de MC. Symptômes classiques d'hépatotoxicité	<i>Microcystis spp.</i> <i>Anabaena spp.</i>
Gunnarsson et Sanseovic, 2001	Windhoek, Namibie, 2000. Présence de cyanobactéries dans l'eau de boisson traitée et corrélation entre l'incidence de diarrhées et la concentration de chlorophylle-a dans l'eau.	Augmentation saisonnière de troubles gastro-intestinaux et hépatiques	<i>Microcystis sp.</i> , <i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Anabaena sp.</i> , <i>Merismopedia sp.</i>
Svirčev <i>et al.</i> , 2017b	Uzice, Serbie, 2013. Présence de cyanobactéries et de cyanotoxines dans le réseau d'eau traitée (décembre 2013).	Incidence significative de troubles gastro-intestinaux et symptômes dermatologiques au cours des efflorescences pendant la période 2012-2015	<i>Planktothrix rubescens</i>
McCarty <i>et al.</i> , 2016	Lucas County, Ohio, Etats-Unis, 2014. Contamination en MCs d'une réserve d'eau municipale à un niveau supérieur au seuil défini par l'EPA (1 µg.L <sup>-1</sup> ). Alerte donnée rapidement dans la zone d'habitation impactée.	Symptômes gastro-intestinaux principalement (diarrhée, nausée, vomissement). Dans 16.2% des foyers, au moins une personne s'est plainte de symptômes en relation avec la contamination.	MC (jusqu'à 3,19 µg.L <sup>-1</sup> dans l'eau de boisson)

Il apparaît que les cas rapportés ou suspectés d'intoxications humaines impliquent l'exposition à des cyanotoxines, libérées consécutivement à la sénescence naturelle d'une efflorescence, ou la destruction d'une efflorescence par application d'un traitement algicide.

Les études épidémiologiques décrites ci-dessus manquent d'informations quantitatives sur l'exposition ou sont biaisées par d'autres facteurs comme la co-exposition avec des contaminants dans l'eau de boisson ou des pathologies chroniques (maladies rénales, alcoolisme) (Falconer *et al.*, 1983 ; Ueno *et al.*, 1996).

Tisdale (1931) relate le développement d'une épidémie de troubles intestinaux dans la ville de Charleston (Etats-Unis). Cette épidémie, qui n'a pu être attribuée à un agent infectieux, a coïncidé avec l'envahissement de la ressource en eau par des cyanobactéries à l'origine d'un goût et d'une odeur très désagréables. Les autorités sanitaires ont conseillé aux habitants de boire cette eau, dont les paramètres microbiologiques étaient conformes aux critères définis pour l'eau potable, plutôt que d'utiliser des sources ou des puits de qualité douteuse. L'épidémie a concerné plusieurs milliers de personnes, soit 10 à 15 % de la population des quartiers alimentés par cette ressource, pendant la semaine où l'odeur et le goût de l'eau potable étaient les plus prononcés. Les signes cliniques sont ceux d'une gastro-entérite aiguë et afebrile.

En Australie, une épidémie grave, le « Palm Island Mystery Disease », est apparue en 1979 après le traitement d'un réservoir avec du sulfate de cuivre. Le signalement fait par des consommateurs pour mauvais goût et odeur désagréable de l'eau a motivé l'intervention des autorités. Dans la semaine suivant le traitement, de nombreux enfants ont développé une gastro-entérite sévère. Au total 140 enfants et 10 adultes ont dû être hospitalisés. Les signes cliniques, outre une atteinte hépatique, indiquaient des lésions rénales étendues. La surveillance de ce site a permis d'attribuer cette intoxication à la production de CYN par *Cylindrospermopsis raciborskii* (Hawkins *et al.*, 1985). Une étude épidémiologique ultérieure sur l'incident a confirmé l'existence d'un lien avec l'approvisionnement en eau (Bourke *et al.*, 1983).

Toujours en Australie, Falconer *et al.* (1983a) rapportent l'apparition de troubles hépatiques suite au traitement algicide par le cuivre appliqué sur une prolifération de *Microcystis* produisant de la MC-YM dans le réservoir d'Armidale (Nouvelle-Galles du Sud). L'étude cas témoin souligne l'augmentation significative des  $\gamma$ -glutamyl transférases sanguines dans le groupe consommant l'eau du réservoir par rapport au groupe utilisant d'autres ressources pour produire de l'EDCH. Cette enzyme sérique constitue un indicateur sensible des lésions hépatiques.

Ces deux derniers incidents soulignent l'importance des suivis environnementaux dans le cas de traitements systématiques de retenues d'eau par des algicides.

Enfin, au Brésil en 1988, une épidémie de gastro-entérites a été attribuée à la consommation de l'eau du barrage d'Itaparica dans la région de Bahia (Teixera *et al.*, 1993). Environ 2000 cas, dont 88 se révélèrent mortels et touchèrent principalement des enfants, ont été enregistrés sur une période de 42 jours dans les seuls quartiers alimentés par cette ressource. Ni agent infectieux, ni métaux lourds n'ont pu être mis en évidence dans l'eau, mais des cyanobactéries appartenant aux genres *Anabaena* et *Microcystis* y étaient présentes à des concentrations de l'ordre de 100 à plus de 900 000 cellules par mL.

En février 1996, le centre de dialyse rénal de Caruaru au Brésil a été alimenté avec de l'eau brute uniquement chlorée. Ceci a conduit à l'intoxication par voie parentérale de 126 personnes en traitement. Par la suite, 108 patients, soit 85 %, ont développé des lésions hépatiques et 60 personnes sont décédées des suites de cette intoxication. Outre l'atteinte hépatique, les patients ont manifesté des symptômes neurologiques aigus : malaises, troubles auditifs et visuels, convulsions, ainsi que des désordres hématologiques, biochimiques et cardiovasculaires (Jochimsen *et al.*, 1998 ; Pouria *et al.*, 1998). Les toxines en cause (identifiées à partir de biopsies hépatiques et de prélèvements sanguins) sont les microcystines - YR, -LR et -AR. La concentration moyenne en MC hépatiques chez les personnes décédées était de 223 ng.g<sup>-1</sup>. La modélisation à partir de données de toxicodynamie permet d'estimer une concentration en microcystines dans l'eau de 19,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , soit une valeur 20 fois supérieure à la valeur guide de l'OMS retenue pour l'eau de boisson. D'après Carmichael *et al.* (2001), il serait possible de retrouver dans l'environnement de telles concentrations en MC.

Cet accident souligne la grande vulnérabilité des dialysés vis-à-vis de l'exposition aux cyanotoxines par rapport aux consommateurs d'eau de boisson.

En conclusion, cette série d'intoxications chez les dialysés souligne les limites des systèmes de traitement de l'eau concernés pour éliminer les cyanotoxines. La sensibilité individuelle, éventuellement associée à une exposition plus importante, semble prédisposer certains individus à développer des formes graves

d'intoxication. Cependant, l'observation d'une incidence des troubles de l'ordre de 10 à 60 % selon les épisodes indique une insuffisance générale des procédés de traitement courants, assurant par ailleurs une bonne conformité aux critères sanitaires en vigueur. La spécificité de ces épidémies réside dans l'intoxication par des toxines libres, résultant de la sénescence naturelle ou de la destruction brutale des efflorescences. L'analyse de ces événements justifie d'accorder une attention particulière aux procédés de traitement capables d'éliminer les cyanotoxines libres ou les cyanobactéries sans provoquer leur lyse.

Il est à noter qu'aucune donnée d'intoxication aiguë n'est disponible dans les pays du Sud (à l'exception du Brésil) alors que ces pays connaissent des proliférations importantes de cyanobactéries dans les ressources utilisées pour la production d'eau potable et que les filières de traitement sont peu adaptées à l'élimination des cyanobactéries et de leurs toxines. Par ailleurs, dans ces pays, une partie importante des populations utilise de l'eau non traitée pour la cuisine mais aussi pour la boisson, ce qui expose les populations à un risque qui n'a pas été jusqu'ici évalué.

## 5.1.2 Intoxications aiguës lors de la baignade ou d'activités nautiques

Environ la moitié des cas d'intoxication humaine répertoriée est associée aux activités récréatives.

### 5.1.2.1 Voies d'exposition rapportées dans les cas d'intoxications humaines liées aux activités récréatives

Il est rare que les voies d'exposition humaine aux cyanotoxines lors des activités récréatives soient identifiées et il est probable que ces voies d'exposition soient co-occurentes : voie orale lors d'ingestion accidentelle d'eau contenant une biomasse de cyanobactéries, inhalation et contact cutané (*cf* chapitre 13). C'est ainsi par exemple qu'en Angleterre, des soldats ont développé différents symptômes (malaise, irritations de la gorge, toux, fièvre, douleurs abdominales, vomissements, diarrhées, pneumonies) après les pratiques de nage et de canoë dans un lac présentant une prolifération de cyanobactéries. Les analyses des virus et bactéries potentiellement responsables des symptômes étaient négatives alors que la présence de MC a été confirmée dans les échantillons d'eau (Turner *et al.*, 1990 ; Pearson, 1990). Les voies d'exposition suggérées dans ce cas sont l'inhalation, l'ingestion et la voie cutanée.

#### Contact cutané-muqueux

La principale voie d'exposition rapportée au cours d'activités aquatiques est le contact cutané-muqueux. Des cas d'irritations cutanées, oculaires ou nasales accompagnées ou non de signes digestifs, voire de fièvre, ont été reportés chez des personnes s'étant baignées ou ayant pratiqué certaines activités nautiques dans des étendues d'eau soumises à des proliférations de cyanobactéries (Billings, 1981 ; Turner *et al.*, 1990 ; Pilotto *et al.*, 1997).

#### Voie orale - ingestion accidentelle d'eau

L'ingestion accidentelle d'eau lors d'activités aquatiques peut entraîner l'ingestion des cyanotoxines dissoutes ou de cyanobactéries productrices de cyanotoxines. Des symptômes de diarrhée, de vomissements, de fièvre, de maux de tête et de gorge, de toux sèche ont été rapportés (Carmichael, 1995 ; Rapala *et al.*, 200b). Ces signes sont souvent plus tardifs que les irritations cutanées. Un cas de décès suite à une baignade dans une efflorescence de cyanobactéries a été suggéré, mais non confirmé, dans le Wisconsin aux Etats-Unis. Cinq adolescents ont développé des symptômes gastro-intestinaux 48 h après la baignade et l'un d'entre eux est décédé suite à une défaillance cardiaque. L'analyse de selles et de sang a révélé la présence de cyanobactéries. L'anatoxine-a a été proposée comme étant la toxine impliquée, malgré le délai entre l'exposition et le décès. Cependant, ce cas n'a pas fait l'objet d'une publication scientifique (Behm, 2003 ; Weirich et Miller, 2014), et l'identification de l'anatoxine a été ultérieurement remise en question (Carmichael *et al.*, 2004 ; James *et al.*, 2005).

#### Voie nasale - inhalation

Les cyanobactéries et les cyanotoxines peuvent s'aérosoliser dans des gouttelettes transportées dans l'air (Lewandowska *et al.*, 2017 ; May *et al.*, 2018 ; Facciponte *et al.*, 2018), et se déposer respectivement dans les voies aériennes supérieures et profondes (Wood et Dietrich, 2011 ; Facciponte *et al.*, 2018). Des cas de pneumonie ont été attribués à la pratique du canoë dans une eau contaminée par une efflorescence



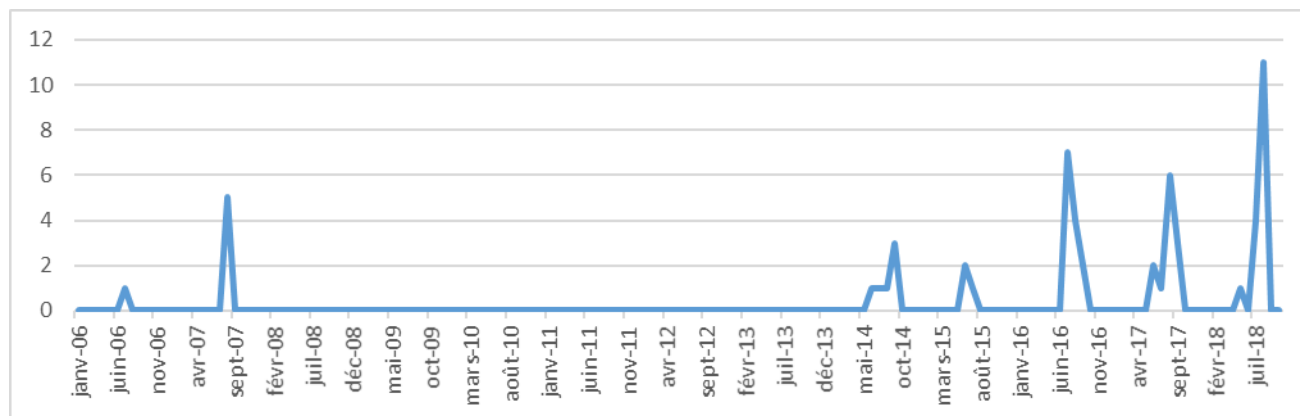
dominée par *Microcystis aeruginosa* productrice de MC-LR (Turner *et al.*, 1990). En Australie, plusieurs jet skieurs ont présenté une détresse respiratoire sévère en lien avec l'inhalation d'aérosols contenant la cyanobactérie *A. circinalis* (*Dolichospermum*) productrice de STX (Falconer, 1996b). Des irritations du système respiratoire ont également été rapportées par des particuliers suite à l'arrosage d'une pelouse avec de l'eau provenant d'un réservoir ayant fait l'objet d'un traitement contre les cyanobactéries (Backer, 2002).

Une exposition prolongée à de fortes concentrations environnementales de MC (> 100 µg.L<sup>-1</sup>) engendre probablement une contamination par les diverses voies, et est associée à des symptômes rapportés plus sévères : malaise, maux de tête, pneumonie, vertiges, myalgie, dommages hépatique (Turner *et al.*, 1990 ; Trevino-Garrison *et al.*, 2015). Récemment, un jet skieur ayant subi une immersion prolongée dans une efflorescence de cyanobactéries avec ingestion accidentelle d'eau et inhalation a développé des symptômes gastro-intestinaux associés à des signes de détresse respiratoire et d'atteintes hépatiques sévères (Giannuzzi *et al.*, 2011).

### 5.1.2.2 Cas d'intoxications humaines liés aux activités aquatiques récréatives en France

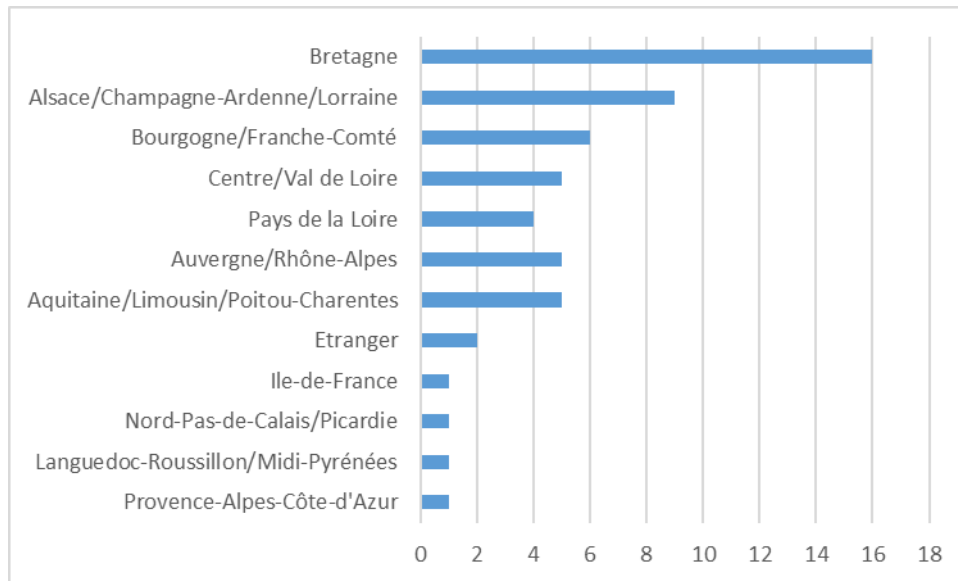
En France, les cas d'intoxications humaines (population générale et travailleurs) aux cyanotoxines sont recensés par les centres antipoison (CAP). Au total, 95 cas d'exposition à des cyanobactéries ont été répertoriés entre le 1<sup>er</sup> janvier 2006 et le 31 décembre 2018. Parmi ces 95 cas, 58 étaient symptomatiques, répartis en 42 dossiers, dont 29 dossiers correspondent à des cas d'exposition individuels et 13 dossiers à des cas d'expositions collectifs. La majorité des cas observés a eu lieu entre 2016 et 2018 (13 cas en 2016, 12 cas en 2017 et 16 cas en 2018), pour la plupart en période estivale (juin, juillet et août) (figure 10). En termes de répartition géographique, les expositions ont eu lieu majoritairement au nord de la Loire (figures 11 et 12). La région où le nombre de cas est le plus important est la Bretagne avec 27,6 % des cas et le département d'Ille-et-Vilaine est le plus concerné avec 15,5 % des cas d'exposition. Il s'agissait principalement d'enfants ou de jeunes adultes, présentant des symptômes de type hépato-digestif, cutané et neurologique. L'exposition aux cyanobactéries a eu lieu principalement lors d'une baignade mais aussi lors de la pratique d'une activité nautique, ou de pêche à pied pratiquée dans un cadre professionnel ou non.

Le détail des cas symptomatiques est présenté dans le tableau en annexe 4 (Source : Système d'Information des CAP, SICAP).



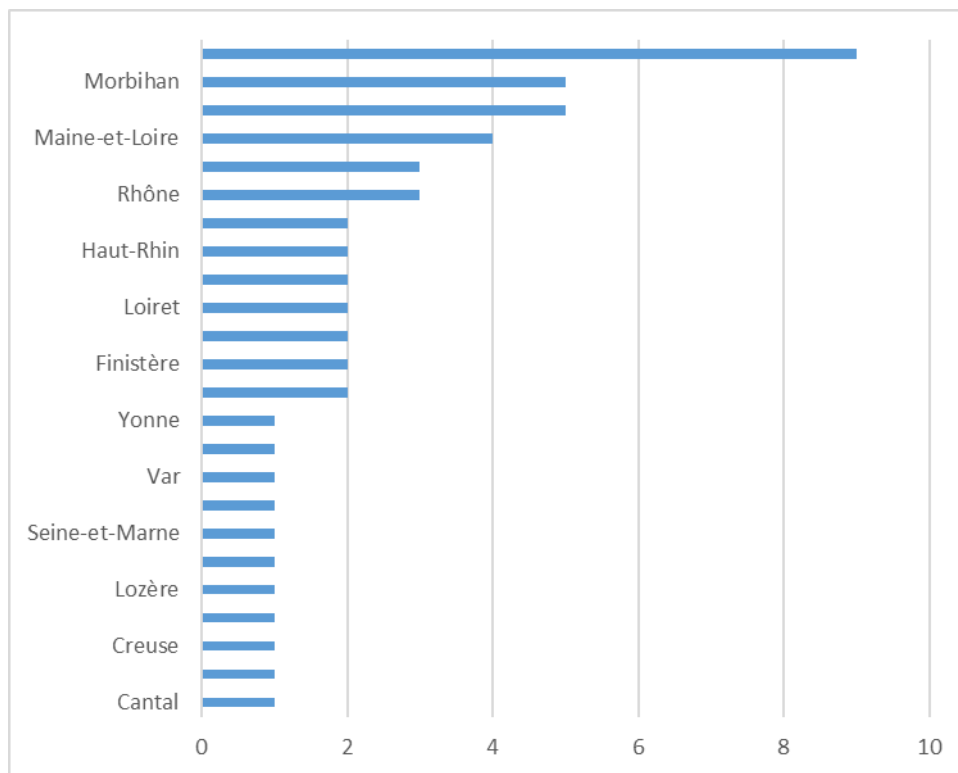
**Figure 10 : répartition annuelle des cas d'intoxications humaines par des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018.**

Source : SICAP.



**Figure 11 : répartition régionale des cas d'intoxications humaines à des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 à 31/12/2018.**

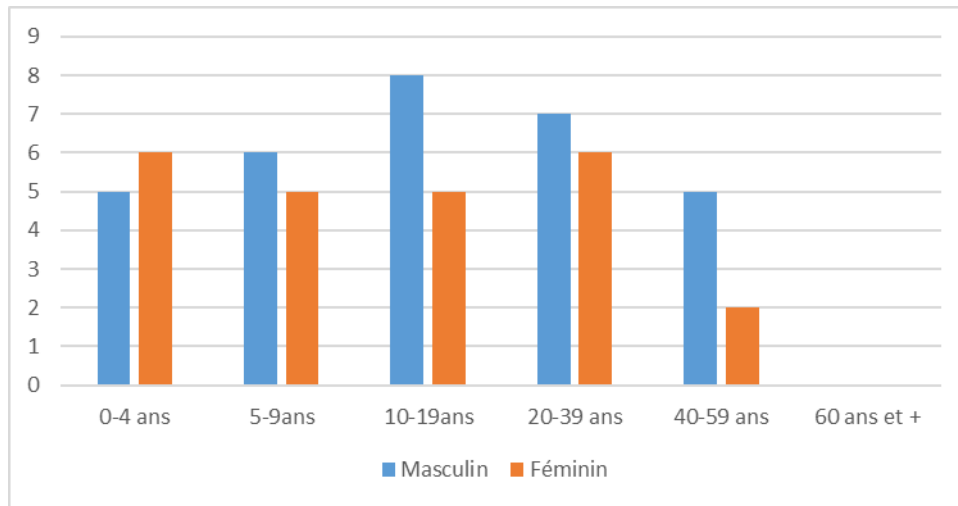
Source : SICAP.



**Figure 12 : répartition départementale des cas d'intoxications humaines à des cyanobactéries rapportés aux CAP entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018.**

Source : Greillet et al., 2020

Le sexe ratio H/F était de 1,15 (H : 31, F : 27) (figure 13). Les cas étaient âgés en moyenne de 18,2 ans ( $\pm$  15,1 ans) (médiane : 12 ans). L'âge n'était pas renseigné pour 4 cas. Lorsque celui-ci était renseigné, il variait de 2 à 59 ans et les personnes âgées de plus de 40 ans ne représentaient que 12 % des cas.



**Figure 13 : répartition par sexe et par âge des cas d'expositions symptomatiques à des cyanobactéries, rapportés aux centres antipoison (CAP) entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018.**

Source : Greillet et al., 2020

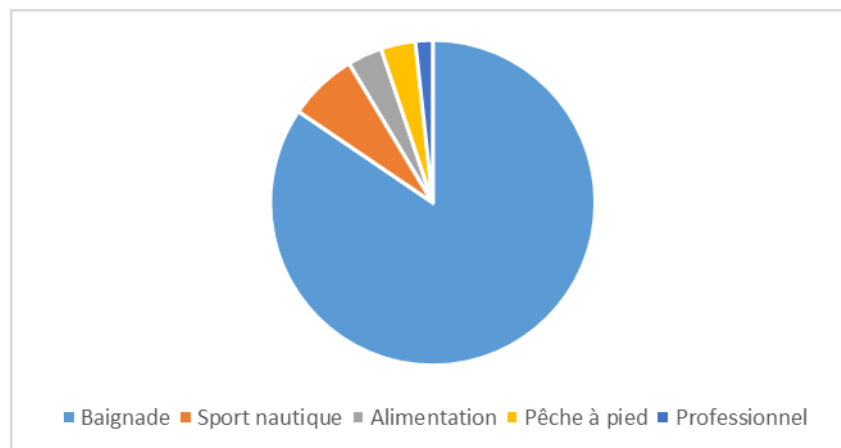
Concernant la symptomatologie, des symptômes hépato-digestifs (diarrhées, vomissements, nausées, douleurs abdominales) ont été rapportés pour 75,9 % des cas, des symptômes cutanés (éruption, prurit) pour 34,5 % des cas, des symptômes neurologiques ou neuromusculaires (céphalées, vertiges, myalgies) pour 25,9 % des cas, des altérations de l'état général (avec hyperthermie) pour 24,1 % des cas, et des symptômes neurosensoriels ou respiratoires pour 5,2 % des cas.

La symptomatologie était qualifiée de gravité bénigne (PSS1) dans 75,9 % des cas et de gravité moyenne (PSS2) dans 24,1 %. Il n'y a pas eu de cas dont la gravité de la symptomatologie était qualifiée de forte.

L'imputabilité de ce symptôme aux cyanobactéries s'est révélée « probable » ou « possible » pour l'ensemble des cas.

Tous les cas d'exposition sont survenus de façon accidentelle. Quarante-huit cas (84,9 %) ont été exposés lors d'une baignade dans un lac, un étang ou une rivière, quatre cas lors de la pratique d'un sport nautique (canoë, planche à voile.), deux cas en pratiquant de la pêche à pied, trois cas dans un contexte alimentaire (un cas associé à l'ingestion d'eau du robinet, un cas *via* l'ingestion d'eau brute d'un lac, un cas associé à l'ingestion de poissons) et enfin un cas dans un contexte professionnel (figure 14).

Le détail des circonstances d'exposition est présenté à l'annexe 2.



**Figure 14 : répartition des circonstances d'exposition aux cyanobactéries.**

En France, le nombre de cas d'intoxications reste peu élevé mais est probablement très sous-estimé pour les raisons suivantes : i) la plupart des intoxications individuelles aux cyanobactéries passent inaperçues, les

symptômes étant peu spécifiques et généralement d'intensité modérée chez l'Homme, ii) il existe un manque de connaissance de cette problématique et un manque d'investigation des causes (peu de prélèvements et de dosages réalisés). Ainsi, il est très probable que la plupart des intoxications liées aux cyanobactéries et aux cyanotoxines ne soient pas connues des CAP.

Les cas d'intoxication présentés dans cette étude concernent majoritairement des activités de baignade et des activités nautiques (ski nautique, aviron, canoë) chez des adultes jeunes et des enfants. Les enfants passent généralement beaucoup de temps dans l'eau, sont plus susceptibles d'avaler d'importantes quantités d'eau en nageant ou en jouant et sont moins à même que les adultes de comprendre le danger lié à la présence de cyanobactéries dans les eaux de baignade.

Concernant le cas d'intoxication associé à l'ingestion de poisson, le patient a présenté des symptômes digestifs (diarrhée, vomissements) quelques heures après la consommation d'un poisson pêché dans un lac où la pêche était interdite en raison de la présence de cyanobactéries. Le poisson avait probablement accumulé des microcystines sans que cela n'ait été cependant formellement démontré.

Bien que la surveillance des eaux de baignade soit réalisée depuis longtemps par les agences régionales de santé (ARS), dans la très grande majorité des cas connus des CAP, les données météorologiques (densité ou biovolume de cyanobactéries, genres impliqués, dosage de cyanotoxines) ne sont pas connues et il est difficile de préciser le niveau d'imputabilité entre les symptômes et l'exposition. Ces données ne sont disponibles que dans 4 dossiers, confirmant la présence de cyanobactéries dans le site de baignade. Par ailleurs, les analyses confirmant la présence de cyanobactéries ont pour la plupart été réalisées après l'exposition et l'apparition de symptômes. Enfin, le délai entre le prélèvement de l'échantillon, la transmission au laboratoire d'analyses et le rendu du résultat peut parfois s'avérer trop long pour permettre au gestionnaire de mettre en place des mesures de gestion adaptées.

### 5.1.2.3 Etudes épidémiologiques et cas rapportés d'intoxications humaines liés aux activités aquatiques récréatives dans le monde

Des cas d'intoxications aiguës après baignade dans des eaux contaminées par les cyanobactéries et cyanotoxines ont été rapportés aux Etats Unis (Carmichael *et al.*, 1985, 2001 ; Carmichael et Boyer, 2016 ; Loftin *et al.*, 2016), au Canada (Dillenberg et Dehnel, 1960), en Argentine (Pizzolon *et al.*, 1999), en Angleterre (Turner *et al.*, 1990 ; Pearson, 1990 ; Codd *et al.*, 1999), aux Pays-Bas (van Hoof, 1994), en Finlande (Rapala *et al.*, 2005) et en Australie (Williamson et Corbett, 1993 ; Pilotto *et al.*, 1997). Concernant les autres activités récréatives, des symptômes ont été décrits après la pratique de ski nautique aux États-Unis (Carmichael *et al.*, 1985), planche à voile au Royaume-Uni (Pearson *et al.*, 1990), jet ski en Argentine (Giannuzzi *et al.*, 2011) et pêche en Australie et aux États-Unis (Soong *et al.*, 1992 ; Weirich et Miller, 2014 ; Trevino-Garrison *et al.*, 2015) (tableau XVII).

El Saadi *et al.* (1995) ont mené une étude épidémiologique cas-témoin rétrospective dans 11 villes bordant la rivière Murray en Australie, sur la période 1991-1992, chez des patients ayant consulté pour des symptômes gastro-intestinaux et dermatologiques suite à des activités récréatives ou à l'utilisation pour usage domestique d'eau non traitée provenant de la rivière et présentant un bloom important d'*Anabaena /Dolichospermum circinalis*.

Les symptômes étaient significativement plus importants chez les sujets ayant consommé l'eau traitée ou utilisé l'eau brute pour le bain ou la vaisselle que chez les témoins, mais aucune différence significative n'a été mise en évidence pour les sujets exposés lors des activités récréatives. Les auteurs reportent cependant la difficulté d'avoir un recensement exhaustif des cas, seulement 50 personnes ayant consulté leur médecin après les activités récréatives.

Deux études épidémiologiques cohorte prospectives concernant l'exposition humaine aux cyanobactéries lors des activités récréatives ont été menées en Australie et en Floride en 1995 (Pilotto *et al.*, 1997, 93 personnes exposées et 43 témoins) et entre 1999 et 2002 (Stewart *et al.*, 2006b, 1333 personnes au total fréquentant 19 sites récréatifs présentant des niveaux de contamination par les cyanobactéries faibles, intermédiaires ou fort). Les personnes, enfants et adultes, ont été questionnées sur la survenue d'éventuels symptômes (diarrhée, vomissement, symptômes grippaux et respiratoires, fièvre, irritations oculaires et cutanées) jusqu'à sept jours après la baignade. Des identifications de cyanobactéries et des analyses de cyanotoxines dans les sites concernés ont complété ces études. Des différences significatives dans l'intensité des symptômes ont été notées sept jours après l'exposition entre la cohorte non exposée (aucun contact avec l'eau), celle exposée moins d'une heure et celle exposée plus d'une heure. L'intensité des symptômes est corrélée avec le nombre de cellules de cyanobactéries par mL et la durée de l'exposition,

mais pas avec la concentration en hépatotoxines, suggérant une voie d'intoxication par contact cutané avec les cyanobactéries (Pilotto *et al.*, 1997). Par ailleurs, la probabilité de développer des symptômes respiratoires est significativement plus élevée pour une surface de cellules de cyanobactéries > 12 mm<sup>2</sup>/mL versus < 2.4 mm<sup>2</sup>/mL (Stewart *et al.*, 2006c).

En 2009, une étude épidémiologique prospective réalisée sur trois lacs au Québec (466 personnes, suivi quotidien pendant deux mois) a permis de confronter les rapports journaliers des participants (journal des symptômes et des contacts avec l'eau) aux densités de cyanobactéries et concentrations en MC (Lévesque *et al.*, 2014). L'étude montre une augmentation significative des symptômes gastro-intestinaux sévères à la suite d'un contact aquatique dans un lac avec des proliférations, y compris dans les cas de contact indirect (embarcations, pédalo). Une relation dose-effet a été mise en évidence entre le dénombrement des cyanobactéries et les symptômes gastro-intestinaux, avec un risque significativement augmenté à partir de 20 000 à 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup>, mais aucune relation statistiquement significative n'a été mise en évidence entre les symptômes et la concentration en MC.

**Tableau XVII : cas rapportés d'intoxications humaines par des cyanotoxines lors d'activités récréatives, classés par ordre chronologique**

Référence	Lieu, année, contexte de la contamination	Nombre de cas et symptômes rapportés	Cyanobactérie(s) et/ou cyanotoxine(s) impliquée(s) ou suspectée(s)
Dillinger et Dehnel, 1960	Canada, 1959 Baignade dans deux lacs présentant un bloom de cyanobactéries	Treize personnes au total, avec douleurs musculaires, maux de tête, fièvre, diarrhée, vomissements (de couleur verte contenant cyanobactéries)	Cellules de <i>Microcystis</i> spp. <i>Dolichospermum circinale</i> dans les selles des malades et sur le littoral. Pathogènes microbiens testés mais non détectés
Pizzolon <i>et al.</i> , 1999	Argentine, 1973-1974 Baignade	Symptômes gastro-intestinaux, dermatoses, otites, conjonctivites	<i>M. aeruginosa</i> , 60 000 colonies/mL
Billings, 1981	USA, Pennsylvanie, 1979 Activités aquatiques	- Entre 20 et 30 enfants (25 % du nombre total exposé) avec symptômes respiratoires, oculaires (conjonctivite) et gastro-intestinaux - 12 enfants et 1 adulte avec maux de tête, nausées, fièvre, vomissement, diarrhée, gorge irritée	Couleur verte de l'eau quelques jours avant l'incident, bloom de <i>Anabaena</i> après l'incident
Carmichael <i>et al.</i> , 1985 ; 1994	Etats-Unis, 4 lacs, 1980-1981, 1985 Baignade et ski nautique	Environ 100 personnes présentant des irritations oculaires et de la gorge, symptômes gastro-intestinaux, et maux de tête	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Anabaena</i> sp., <i>Anabaena flos-aquae</i>
National Rivers Authority, 1990	Angleterre, Japon, Etats Unis, divers cas entre 1985 et 1989 Activités nautiques (planche à voile) et prélèvements d'échantillons d'eau	Rash cutanés (visage et mains)	<i>M. aeruginosa</i> , <i>Microcystis</i> sp., <i>Anabaena</i> , MC
Turner <i>et al.</i> , 1990 ; Pearson, 1990	Angleterre, 1989. Nage et canoë dans une eau présentant une efflorescence de cyanobactéries	Dix soldats présentèrent des vomissements, diarrhée, douleurs abdominales, maux de gorge, cloques aux lèvres, confusion, hallucination. Deux présentèrent une pneumonie sévère (soins intensifs)	<i>Microcystis</i> spp, détection de microcystine-LR dans les échantillons d'eau (autres tests bactériens et viraux négatifs)
Codd <i>et al.</i> , 1991 Lawton et Codd, 1991	Angleterre, plusieurs lacs, 1989. Enfants, âgés de 2 à 3 ans, jouant dans l'eau près d'un bloom	Diarrhée, vomissements, irritations cutanées (mortalité de 20 moutons et 15 chiens avant épisode)	<i>M. aeruginosa</i> , microcystines dosées
Van Hoof, 1994	Pays Bas, 1990 Baignade dans une eau présentant une efflorescence de cyanobactéries	Symptômes gastro-intestinaux	<i>Anabaena flos-aquae</i> ATX-a dosée en HPLC-UV + bioessais souris
Christopher <i>et al.</i> , 1991	Australie, 1990 Baignade et canoë dans une eau présentant une	Deux cas de conjonctivite et un cas d'éruption cutanée et pneumonie	<i>Anabaena circinalis</i>

Référence	Lieu, année, contexte de la contamination	Nombre de cas et symptômes rapportés	Cyanobactérie(s) et/ou cyanotoxine(s) impliquée(s) ou suspectée(s)
	efflorescence de cyanobactéries		
El Saadi, 1995	Australie, 1991-1992 Personnes utilisant de l'eau de rivière non traitée pour usage domestique, comparaison de l'incidence des symptômes par rapport aux personnes utilisant l'eau de pluie	Augmentation de l'incidence des cas de diarrhée, vomissements, irritations cutanées et oculaires, faiblesses musculaires, difficultés respiratoires, et maux de tête	<i>Dolichospermum circinale</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Planktothrix</i> sp.
Williamson et Corbet, 1993	Australie, 1992, baignade	Deux adolescentes sont victimes de gastroentérite et de myalgie	<i>Anabaena</i> spp
Falconer, 1996b	Australie, jet ski, inhalation d'aérosols	Détresse respiratoire sévère	<i>Anabaena circinalis</i> , STX
Pilotto <i>et al.</i> , 1997	Australie, 1995 Baignade et activités aquatiques. Etude épidémiologique (777 exposés, 75 témoins)	Nombreux cas avec irritations des yeux, de la peau et des oreilles, fièvre, ulcères buccaux, diarrhées, vomissements et états grippaux. Corrélation intensité des symptômes/ densité de cyanobactéries. Différence significative entre exposés et non exposés à partir de 7 jours post-exposition à plus de 5000 cell/mL de cyanobactéries pendant plus d'une heure.	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Microcystis</i> sp., <i>Anabaena</i> sp., <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Nodularia spumigena</i> . Hépatotoxine identifiée avec bioessai souris
Codd <i>et al.</i> , 1999	Royaume Uni, 1996 Canoë sur un lac présentant une efflorescence de cyanobactéries. Contact, inhalation et ingestion probable de cyanobactéries	11 militaires ont présenté des rash faciaux, asthme, fièvre, vomissements	Présence de <i>P. agardhii</i> et de MC
Johnston et Jacoby, 2003	USA, 1997, baignade	Rash cutané, symptômes gastro-intestinaux	<i>M. aeruginosa</i> , MC
Stewart <i>et al.</i> , 2006b	Australie et Floride Revue d'études épidémiologiques 1999-2002, baignade et activités aquatiques	Symptômes gastro-intestinaux, respiratoires et cutanés, irritations oculaires. Les individus exposés aux cyanobactéries présentent significativement plus de symptômes que les non exposés	La probabilité de développer des symptômes respiratoires est corrélée à la biomasse de cyanobactéries (genres et espèces non reportés). Dosages de MC, CYN, ATX
Behm, 2003; Weirich et Miller, 2014	Etats Unis Wisconsin, Baignade dans une eau présentant une efflorescence de cyanobactéries	Cinq adolescents ont développé des symptômes gastro-intestinaux 48h après la baignade et un d'entre eux est décédé de défaillance cardiaque	L'analyse de selles et de sang a révélé la présence de cyanobactéries. L'ATX-a a été proposée comme étant la toxine impliquée, malgré le délai entre l'exposition et le décès. Identification de la toxine remise en cause

Référence	Lieu, année, contexte de la contamination	Nombre de cas et symptômes rapportés	Cyanobactérie(s) et/ou cyanotoxine(s) impliquée(s) ou suspectée(s)
Rapala <i>et al.</i> , 2005	Finlande, 3 lacs, 2003 Baignade dans des lacs présentant des blooms de cyanobactéries	Fièvre, irritations, douleurs abdominales et symptômes cutanés pour des enfants de 2 à 10 ans	<i>Dolichospermum lemmermannii</i> , STX 13-270 µg.L <sup>-1</sup> <i>M. aeruginosa</i> , <i>M. flos-aquae</i> . MC faibles concentrations
Giannuzzi <i>et al.</i> , 2011	Argentine, 2007. Jet ski, immersion dans une efflorescence de cyanobactéries pendant plus de 2h	1 personne de 19 ans, symptômes gastro-intestinaux, douleur abdominale et fièvre puis faiblesse musculaire après quelques heures, détresse respiratoire et dommages hépatiques	<i>Microcystis</i> spp Détection de MC dans l'eau (48.6 µg.L <sup>-1</sup> MC-LR)
Lévesque <i>et al.</i> , 2014 ; 2016	Québec, 2009. Suivi quotidien, 2 mois, 466 personnes, activités récréatives (baignades, jet ski, pêche)	Augmentation significative des symptômes gastro-intestinaux sévères (diarrhée, vomissement) et fièvre	Relation dose-effet entre le dénombrement des cyanobactéries et les symptômes (20 000 à 100 000 cellules/mL), pas de relation avec la concentration en MC.
Hilborn <i>et al.</i> , 2014	USA, Ohio, New York, Washington, 2009-2010, activités récréatives.	61 cas dont 2 hospitalisations. Symptômes dermatologiques, gastro-intestinaux, respiratoires, fièvre, céphalées, irritations oculaires	MC, STX, CYN, ATX
Trevino-Garrison <i>et al.</i> , 2015	USA, Kansas, 2011, activités récréatives, contact direct avec cyanobactéries	25 cas dont 7 confirmés et 2 hospitalisations, malaises, maux de tête, symptômes gastro-intestinaux, fièvre, irritation de la gorge et des yeux, rash cutané.	Forte densité de cyanobactéries (dont <i>Microcystis</i> sp) et concentrations en MC entre 110 et 1600 µg.L <sup>-1</sup>
Carmichael et Boyer, 2016	USA, 2010-2015,	11 cas confirmés, rash et irritations cutanées, symptômes gastro-intestinaux, signes respiratoires.	MC
Vidal <i>et al.</i> , 2017	Uruguay, 2015, activités récréatives	Famille avec symptômes gastro-intestinaux modérés, hospitalisation pour enfant de 20 mois avec diarrhée, vomissement, jaunisse, dommages et défaillance hépatiques 5 jours après exposition (transplantation nécessaire après 20 jours).	<i>Microcystis</i> sp., MC détectées dans le foie du patient hospitalisé

Au niveau international, le nombre de report de cas d'intoxications humaines lors de baignades varie par décennie entre 6 et 9 entre 1920 et 2000, et est d'environ 19 entre 2001 et 2010 (Wood, 2016 ; Svirčev *et al.*, 2016) (tableau XVII). Environ les deux tiers des cas rapportés sont survenus en Europe et aux Etats-Unis, et les cyanotoxines les plus souvent associées à ces intoxications sont les MC et les ATX. Seuls les cas rapportés dans la littérature scientifique sont considérés, mais ce report n'a souvent lieu que lorsque l'intoxication est sévère et associée à une identification des cyanobactéries et des cyanotoxines impliquées. Cela engendre une sous-estimation globale du nombre d'intoxications humaines ainsi qu'un biais géographique en raison du manque d'information concernant le risque dans certains pays (par exemple très peu de données disponibles dans les pays du Sud, en particulier en Afrique où il est fréquent de voir des enfants se baigner dans des proliférations de cyanobactéries). Une autre source de sous-estimation provient de la nature non spécifique des symptômes causés par les cyanotoxines.



## 5.2 Effets chroniques sur la santé

Il n'existe pas à ce jour de données suffisantes pour connaître les risques à long terme d'une exposition répétée aux cyanobactéries et aux cyanotoxines, que ce soit par ingestion d'eau de boisson ou lors d'activités récréatives. Les études manquent d'informations quantitatives sur l'exposition ou se trouvent biaisées par des facteurs de confusion. Ainsi, la co-exposition à des cyanotoxines et d'autres facteurs cancérigènes ou d'autres contaminants dans l'eau de boisson induit un biais épidémiologique (Zhou *et al.* 2002).

Des données existent concernant les effets potentiels à long terme (risque chronique ou subchronique) liés à la consommation d'eau de boisson contenant des cyanotoxines. La présence de MC dans l'eau de consommation est susceptible d'induire des cancers hépatiques ; cependant trop peu de données épidémiologiques peuvent confirmer cette hypothèse. Des études épidémiologiques réalisées en Serbie, en Floride et en Chine ont montré respectivement que la consommation d'eau de boisson contaminée par des MC, la qualité des eaux de surface et la présence de cyanobactéries dans des réservoirs d'eau pourraient être des facteurs étiologiques de cancer hépatique (Yu, 1995 ; Fleming *et al.*, 2002 ; Svirčev *et al.*, 2009, 2010). Les études qui ont essayé d'établir une corrélation entre cancer hépatique ou cancer colorectal et consommation d'eau de boisson et/ou d'aliments contaminés par des cyanotoxines dans ces pays se sont heurtées à l'imprécision des données ou au manque d'information (Fleming *et al.*, 2001, 2002 ; Zhou *et al.*, 2002 ; Svirčev *et al.* 2009, 2013).

Cependant, des hypothèses peuvent être avancées si l'on se réfère à des études expérimentales : les effets tumoraux des MC dans des modèles expérimentaux animaux peuvent aider à soutenir les hypothèses émises à partir de données épidémiologiques. L'exposition aux MC, en tant que promoteur tumoral, pourrait notamment agir en synergie avec d'autres facteurs de risque pour augmenter l'incidence de certains cancers (Buratti *et al.*, 2017). Les études sur animaux, ont permis de classer les MC (MC-LR) comme « *cancérogène probable pour l'homme* » (IARC, 2006). Des études épidémiologiques récentes confirment le lien entre exposition aux cyanotoxines et pathologies cancéreuses (Svirčev *et al.*, 2013). En Serbie, les études épidémiologiques sur l'incidence des cancers sont documentées dans des registres régionaux. La survenue de pathologies tumorales à celle d'autres maladies peuvent être comparées, et confronter à la présence de proliférations de cyanobactéries dans les réservoirs locaux utilisés pour l'alimentation en eau potable (Svirčev *et al.*, 2017a). La conclusion d'études récentes propose qu'il existe une relation significative entre les proliférations de cyanobactéries dans les réservoirs d'approvisionnement en eau et l'incidence accrue de cancers hépatiques en Serbie centrale (Svirčev *et al.*, 2013).

Concernant l'exposition ponctuelle à une dose sublétales de cyanotoxines, il n'existe actuellement aucune donnée sur les conséquences pour la santé humaine. Le suivi à long terme des personnes ayant survécu à l'intoxication par dialyse de Caruaru (voir tableau XVIII) permettraient sans doute de fournir des informations sur les effets à long terme d'une exposition aiguë à des doses sublétales de MC, suspectées d'être des promoteurs tumoraux (Carmichael *et al.*, 2001).

Plusieurs études ont montré une corrélation positive entre la présence de cyanobactéries/ cyanotoxines et des effets indésirables sur la santé. Cependant, les analyses épidémiologiques ne suffisent pas à elle seules pour mettre en cause les cyanobactéries toxigènes dans l'apparition de maladies. Néanmoins elles peuvent améliorer la compréhension des dangers et des risques, pour caractériser les conséquences en terme sanitaires. Plusieurs études récentes ont mis en évidence l'implication de cyanotoxines dans des pathologies humaines à long terme, comme un facteur de risque. Une revue récente propose les cas probables d'expositions chroniques humaines à des cyanobactéries, *via* l'EDCH (Kubickova *et al.*, 2019). Nous les reproduisons dans le tableau XVIII.

**Tableau XVIII : cas rapportés d'intoxications chroniques par cyanotoxines dans l'eau de consommation humaine**

Référence	Lieu, période, contexte	Pathologies/biomarqueurs	Cyanobactérie et/ou cyanotoxine impliquée ou suspectée
Zhou <i>et al.</i> , 2002	Zhejiang, Haining, Chine. 1977-1996. MC détectées dans l'eau des rivières et des étangs. Leurs concentrations sont corrélées à l'incidence des cancers	Incidence plus importante de cancers colorectaux chez les personnes qui utilisent l'eau de rivière ou de bassin comme EDCH par rapport aux personnes qui utilisent l'eau de puits souterraine ou l'eau du robinet.	MC
Ming <i>et al.</i> , 2003	Jiangsu, Wuxi, Chine.	Les MCs dans l'eau de boisson sont corrélées à la mortalité par cancer chez les hommes (cancer de l'estomac, mais pas cancer de l'intestin)	MC
Svirčev <i>et al.</i> , 2014	Serbie. 1999-2008. EDCH	Incidence géographique de 13 cancers (cerveau ; bronches et poumons ; cœur, médiastin et plèvre ; ovaire; testicule; reins; estomac; intestin grêle; colorectum; rétropéritoine et péritoine; leucémie; mélanome malin de la peau et cancer primitif du foie) corrélés à des proliférations de cyanobactéries et la présence de cyanotoxines	<i>Microcystis sp.</i> , <i>Aphanizomenon sp.</i> , <i>Anabaena sp.</i> , <i>Planktothrix sp.</i> MC
Svirčev <i>et al.</i> , 2017a	Portugal. 2000-2010. EDCH	Taux sériques d'enzymes hépatiques et incidence de cancers étudiés (foie, côlon et rectum) plus élevés dans des populations exposées à de l'eau potable contaminée par des cyanobactéries	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Aphanizomenon sp.</i> , <i>Oscillatoria sp.</i>

### 5.3 Conclusions sur les intoxications humaines par les cyanotoxines

Svirčev *et al.* (2016) ont étudié 42 publications scientifiques décrivant un lien entre des cyanotoxines et 33 cas d'intoxications humaines (20 chroniques ou aiguës, 15 surincidences de cancer, 1 impact périnatal et 6 épisodes de mortalité) survenus lors d'activités récréatives ou *via* la consommation d'eau de boisson dans 11 pays (majoritairement Chine, puis Australie, Brésil et Serbie) entre 1960 et 2016. Les principaux effets toxiques rapportés sont : symptômes gastro-intestinaux, cutanés et pulmonaires, pertes des fonctions rénales et hépatiques, cancer du foie et mortalité. La voie d'exposition principale rapportée dans ces études est la consommation d'eau de boisson, suivie par les activités récréatives et les dialyses. En France, en 2016, un cas d'intoxication à des cyanotoxines a été imputé à la consommation de poisson pêché dans un lac avec présence de cyanobactéries (CAPTV, 2017). Cependant, la relation de cause à effet n'a pu être démontrée. Les genres de cyanobactéries les plus souvent associés à ces intoxications humaines sont *Microcystis sp.* et *Anabaena sp.* (20 publications) et la cyanotoxine la plus souvent impliquée est la MC (22 publications).

**POINTS À RETENIR**

- Une quarantaine de cas d'intoxications humaines (chroniques et aiguës) attribués aux cyanotoxines ont fait l'objet de publications scientifiques. Ces cas sont survenus lors d'activités récréatives ou *via* la consommation d'eau de boisson dans 11 pays entre 1960 et 2016.
- Il existe une sous-estimation globale du nombre d'intoxications humaines ainsi qu'un biais géographique en raison du manque d'information concernant ce risque dans certains pays.
- D'après les données épidémiologiques, la modalité d'exposition principale de l'Homme est l'eau de boisson, suivie des activités récréatives et ponctuellement des dialyses.
- Les cyanotoxines les plus souvent impliquées sont les microcystines, suivies des anatoxines.
- La présence de cyanotoxines sous forme dissoute dans l'eau de boisson (libérées par lyse des cellules au cours du traitement) se traduit le plus souvent par des épidémies de gastro-entérites, et parfois par des défaillances hépatiques sévères.
- Les intoxications humaines lors des activités récréatives, *via* le contact, l'inhalation ou l'ingestion accidentelle de cyanobactéries et/ou de toxines extracellulaires, se traduisent par des cas groupés de troubles digestifs et/ou d'irritation cutanéomuqueuse et/ou de syndromes neurotoxiques.
- À ce jour, aucune intoxication humaine létale associée aux cyanotoxines n'a été documentée en France. En revanche, des épisodes de mortalités de chiens sont régulièrement attribués à des cyanotoxines depuis 2005.

## 6 Détection et quantification des cyanobactéries

**Préambule :** Ce chapitre traite à la fois des cyanobactéries planctoniques et benthiques. Les cyanobactéries benthiques, ayant rarement fait l'objet de surveillance, il n'existe pas de protocole standardisé relatif à leur prélèvement. Les données concernant ces cyanobactéries sont principalement issues de l'analyse (1) des travaux effectués et des approches mises en place pour la surveillance des rivières de Nouvelle-Zélande (Heath *et al.*, 2010, 2011 ; Wood *et al.*, 2009, 2010) ; (2) des recherches effectuées en France sur le Tarn qui connaît dans sa partie amont depuis le début des années 2000 des proliférations récurrentes de cyanobactéries benthiques (Echenique-Subiabre, 2016, 2018a et b ; Humbert *et al.*, 2016), et (3), des connaissances acquises suite aux épisodes de proliférations observés depuis 2017 sur la Loire et d'autres cours d'eau de France notamment sur le Cher et la Vienne (données non publiées).

### 6.1 Détection des proliférations de cyanobactéries

#### 6.1.1 Observation visuelle directe

L'observation directe d'un hydrosystème est le moyen le plus simple de détecter une prolifération de cyanobactéries. La couleur de l'eau (coloration anormale ou variation de la coloration sur une période courte, de l'ordre de quelques jours) et l'aspect de la surface (accumulation de biomasse sous forme d'amas ou de film en surface) peuvent signaler une prolifération phytoplanctonique, éventuellement due à des cyanobactéries. De la même manière, s'agissant de cyanobactéries benthiques, les modifications de couleur et d'aspect des biofilms sur le fond, l'apparition de biofilms aux extrémités d'hydrophytes<sup>25</sup> ou d'algues filamenteuses portées par le courant ou encore l'accumulation à la surface de biofilms détachés du fond, constituent les principaux critères d'alerte sur la mise en place de proliférations. Une couleur vert-bleu est souvent caractéristique du développement de cyanobactéries. Cependant, certaines cyanobactéries planctoniques peuvent également présenter une coloration rouge, et les cyanobactéries benthiques responsables de proliférations forment souvent des biofilms allant du vert-bleu au bleu-noir voire brun sombre. Dans les plans d'eau profonds, des proliférations planctoniques en profondeur (cas de *Planktothrix rubescens*) peuvent avoir lieu en l'absence de tout changement visible depuis la surface. La modification significative de couleur ne peut apparaître que très tardivement par rapport à la dynamique des proliférations, généralement à l'occasion du brassage de la colonne d'eau à la fin de la période estivale. Enfin, des modifications de l'aspect de l'eau peuvent également être dues à d'autres éléments que des cyanobactéries (pollens, algues filamenteuses, lentilles d'eau).

Des clés de détermination du type de prolifération basées sur des illustrations peuvent être utilisées pour qualifier la prolifération et limiter les erreurs d'appréciation. Un exemple élaboré par le syndicat mixte de gestion des baignades landaises et l'Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture (Irstea, devenu INRAE) est présenté en annexe 5.

Il est à noter que plusieurs projets de sciences citoyennes faisant appel à la participation des populations habitant près des plans d'eau ou utilisant ces plans d'eau pour la surveillance des cyanobactéries sont actuellement en cours aux USA (par exemple le projet Cyanotracker) mais aussi en Afrique (voir le projet WaSaf). Ces projets sont basés sur une observation directe des masses d'eau couplée à l'utilisation d'une application pour smartphone ou sur l'échantillonnage d'eau avec du matériel fourni puis d'une transmission aux scientifiques des informations et des échantillons ainsi récoltés.

---

25 Hydrophytes : plantes aquatiques en partie ou totalement immergées

## 6.1.2 Indicateurs biologiques *in situ*

### 6.1.2.1 Chlorophylle-a

La quantité de chlorophylle-a est corrélée à la biomasse vivante des micro-organismes photosynthétiques (algues et cyanobactéries) et pour cette raison, elle est classiquement utilisée comme estimateur de la biomasse phytoplanctonique. Ainsi, une augmentation brutale des concentrations en chlorophylle-a par litre d'eau brute sur quelques jours pouvant être de l'ordre de 50 % voire plus, peut alerter sur le début d'une prolifération. Comme pour d'autres paramètres, la stratégie d'échantillonnage joue un rôle très important dans l'interprétation des résultats et l'analyse de la situation d'un site. S'agissant des cyanobactéries benthiques, la chlorophylle-a peut être utilisée pour quantifier les variations de biomasse au cours d'une prolifération mais elle n'est généralement pas utilisée comme paramètre pour la détection de prolifération. Il existe trois méthodes normalisées pour le dosage de la chlorophylle-a : une par spectrophotométrie après extraction à l'acétone à 90 % (norme NF T90-117), une par chromatographie liquide haute performance (CLHP – norme T90-116) et une variante de la méthode par spectrophotométrie mais après extraction à l'éthanol à 90 % (norme internationale ISO 10260). Une méthode spectrophotométrique basée sur une extraction avec de l'éthanol à 100 % et assurant un meilleur rendement d'extraction dans des échantillons riches en cyanobactéries a également été récemment publiée dans un ouvrage consacré à ces micro-organismes (Yepremian *et al.*, 2017a). Ces méthodes de référence sont mises en œuvre exclusivement en laboratoire.

Cependant, la norme NF EN 16161 donne les lignes directrices pour l'estimation sur le terrain de la concentration en chlorophylle-a et permet la mesure par spectrophotométrie sur site à condition de disposer d'un appareillage spécifique.

Compte tenu de la sensibilité de ces méthodes (au moins en termes d'évaluation des dynamiques, si ce n'est en termes d'exploitation des concentrations en valeurs absolues), il est possible de les utiliser pour détecter des proliférations phytoplanctoniques et pour suivre la dynamique de la prolifération. Cependant, la chlorophylle-a n'est pas spécifique des cyanobactéries et leur teneur cellulaire moyenne est souvent inférieure à celles des micro-algues. Une diminution de la concentration en chlorophylle-a dans l'eau peut donc dans certains cas, masquer le remplacement d'une communauté micro-algale par une prolifération de cyanobactéries quand cette dernière est de faible intensité. Le phénomène écologique de succession saisonnière de populations au sein de la communauté phytoplanctonique étant fréquent, il convient donc de mettre en œuvre des moyens spécifiques aux cyanobactéries pour compléter l'information fournie par la mesure de la chlorophylle-a.

Le produit de dégradation de la chlorophylle-a est représenté par les phéophytines-a qui sont des molécules inactives. Le rapport entre chlorophylle-a et phéophytine-a, forme dégradée et inactive de la chlorophylle-a, peut donner des indications sur l'état physiologique des algues de l'efflorescence (Lampert, 2001 ; GIP Loire Estuaire, 2005 ; Collos, 2005), ou de la qualité de la conservation de l'échantillon. Ainsi, un taux important de phéophytine-a peut traduire une sénescence des cyanobactéries et donc un relargage potentiel de toxines ou une mauvaise conservation de l'échantillon (photo-oxydation).

### 6.1.2.2 Phycocyanine

En plus de la chlorophylle-a les cyanobactéries possèdent, comme les autres organismes photosynthétiques, des pigments accessoires. Les cyanobactéries possèdent toutes en abondance de la phycocyanine, de l'allophycocyanine et parfois de la phycoérythrine. La phycocyanine est de plus en plus souvent utilisée comme indicateur des variations de la biomasse des cyanobactéries car ce pigment peut être aisément quantifié par spectrophotométrie en laboratoire (Yepremian *et al.*, 2017b). La principale limite à cette utilisation est que la phycocyanine peut aussi être synthétisée par les rhodophytes (algues rouges), les cryptophytes, les glaucophytes et les dinophytes. L'estimation de la quantité de cyanobactéries peut donc être surévaluée en présence d'algues de ces groupes. De plus, chez certaines cyanobactéries, comme *Planktothrix rubescens*, ce pigment accessoire n'est pas dominant mais est associé à la phycoérythrine. Dans ce cas, l'estimation peut également être largement sous-évaluée.

### 6.1.2.3 Utilisation de sondes fluorimétriques

Il existe plusieurs types de sondes fluorimétriques submersibles permettant l'évaluation de la biomasse globale phytoplanctonique pour les unes ou de différents groupes phytoplanctoniques sur la base de la composition pigmentaire des organismes en présence, pour les autres. Ces sondes permettent donc des mesures *in vivo*, en s'affranchissant des extractions de pigments. Elles sont utilisables *in situ* pour une détection précoce de la mise en place de proliférations de cyanobactéries.

On peut distinguer cinq types de sondes sur la base des informations qu'elles permettent d'acquérir :

- Les premières permettent de mesurer la concentration en chlorophylle-a dans l'eau, relative à l'ensemble des organismes phytoplanctoniques. Ainsi, comme les concentrations en chlorophylle-a évaluées après extraction des pigments et dosage en spectrophotométrie ou CLHP, ces sondes permettent de suivre la dynamique de la biomasse de la communauté phytoplanctonique dans son ensemble (Roussille, 2009), mais pas celle des cyanobactéries seules ;
- Les secondes permettent de mesurer à la fois la concentration en chlorophylle-a de l'ensemble de la communauté phytoplanctonique et celle de différents groupes phytoplanctoniques séparément (chlorophycées, diatomées, cyanobactéries, cryptophycées). Ces sondes émettent des rayonnements lumineux à différentes longueurs d'ondes pour exciter spécifiquement les pigments caractéristiques de chaque groupe phytoplanctonique. Les signaux mesurés sont traités par un logiciel qui peut ainsi fournir une estimation de la biomasse de chaque groupe phytoplanctonique, exprimée en  $\mu\text{g.L}^{-1}$  d'équivalent chlorophylle-a. Les avantages (mesures rapides sur le terrain, à différentes profondeurs, répétables et facilement reproductibles), mais aussi les limites (assez lourdes à mettre en œuvre et nécessité de recalibrations régulières) de ces sondes, ont fait l'objet de publications (Catherine *et al.*, 2012 ; Gregor *et al.*, 2004 ; Leboulanger *et al.*, 2002 ; Moisset, 2011 ; Silva *et al.*, 2011) ;
- Les troisièmes ne fournissent que les concentrations en chlorophylle-a totale et celles des cyanobactéries exprimées en équivalent chlorophylle-a. Ces sondes sont basées sur le même principe méthodologique que les précédentes mais avec une excitation des pigments à seulement trois longueurs d'onde permettant d'évaluer la biomasse phytoplanctonique totale et celle des cyanobactéries. Ce type de sonde est actuellement utilisé dans certains sites en complément des dénombrements au microscope (Laplace-Treuture *et al.*, 2017a) ;
- Les quatrièmes ne fournissent que les concentrations en cyanobactéries exprimées  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de phycocyanine et non en équivalent chlorophylle-a comme dans le cas précédent. L'évaluation de ces concentrations repose sur l'excitation de la seule phycocyanine (Brient *et al.*, 2008) et non sur l'ensemble du profil pigmentaire de ces micro-organismes. La mesure de la phycocyanine seule est cependant réductrice car certaines cyanobactéries en produisent peu (*Planktothrix rubescens* par exemple) ;
- Enfin, les cinquièmes ont été conçues pour la détection et le suivi des communautés photosynthétiques benthiques. À notre connaissance un seul modèle de ces sondes a été pour le moment commercialisé. Des travaux récemment publiés (Echenique-Subiabre *et al.*, 2016) ont montré qu'il ne donnait pas en l'état toute satisfaction pour la détection et la quantification de la biomasse de cyanobactéries benthiques. En effet, il tend à sur-estimer la biomasse des diatomées et sous-estimer celle des cyanobactéries en plus de ne pas très bien quantifier les biofilms épais de cyanobactéries (sous-évaluation).

Ces instruments fondés sur la mesure de la fluorescence émise par les différents pigments contenus dans les cellules phytoplanctoniques ont fait l'objet de nombreuses publications (Bertone *et al.*, 2018 ; Seppälä *et al.*, 2007 ; Zamyadi *et al.*, 2016). Elles sont encore en cours de validation pour un usage opérationnel (Tran Khac *et al.*, 2018) et les conditions d'une mise en œuvre fiable doivent encore être mieux définies. Elles sont donc prometteuses et pourraient permettre de faciliter la surveillance des cyanobactéries notamment par le suivi de l'évolution des concentrations au cours du temps et/ou en de nombreux points d'un plan d'eau ou d'une rivière. En effet, à la différence des comptages au microscope, l'estimation de la biomasse et de la distribution des cyanobactéries demande peu de temps (quelques minutes pour un profil vertical). Ceci autorise une fréquence élevée d'analyses si nécessaire ainsi que la multiplication des points de surveillance dans un contexte de distribution verticale et horizontale hétérogène des cyanobactéries planctoniques dans la colonne d'eau, et également dans le fond des cours d'eau pour les cyanobactéries benthiques. La plupart de ces sondes, basées sur des mesures de la composition pigmentaire, peuvent être intégrées, avec des versions dédiées à la mesure en ligne, dans des stations fixes de surveillance en continu adaptées au suivi de la qualité des masses d'eau utilisées pour produire de l'EDCH (Izydorczyk *et al.*, 2009 ; McQuaid *et al.*, 2011 ; Zamyadi *et al.*, 2012). Finalement, il apparaît que si ces sondes sous-estiment souvent la biomasse

des cyanobactéries, en particulier pour un genre colonial comme *Microcystis*, leur utilisation en suivi continu ou rapproché peut en revanche permettre de détecter précocément l'augmentation de la biomasse de ces cyanobactéries.

Concernant les cyanobactéries benthiques, il est plus difficile d'envisager une utilisation en routine de la sonde conçue pour l'évaluation des biomasses. Au mieux, elles peuvent permettre de détecter la présence des cyanobactéries dans les biofilms, ce qui, après une rapide formation peut être effectué visuellement. L'observation visuelle permettra aussi une meilleure évaluation de l'importance du développement à l'échelle d'une station d'un cours d'eau.

### 6.1.3 Détection à distance

Certains satellites d'observation (Sentinel, Landsat) sont équipés de dispositifs d'enregistrement des ondes émises à la surface de la terre et restituent des images dont il est possible d'extraire, avec des processus de traitement adaptés des informations quantitatives sur les formations végétales aériennes ou aquatiques. Les mesures peuvent être basées sur la réponse des pigments contenus dans les cellules du phytoplancton (chlorophylle-a seulement ou signature pigmentaire liée à l'ensemble des pigments contenus dans la biomasse). Des algorithmes spécifiques sont également utilisés pour traiter les mesures de réflectance et estimer les concentrations en chlorophylle-a (Hunter *et al.*, 2017). L'analyse de séries temporelles d'images peut permettre la détection des proliférations en surface des plans d'eau ou rivières. La résolution spatiale des capteurs de nouvelle génération s'est considérablement améliorée (30, 20 voire 10 m) ainsi que la fréquence de passage (5 à 10 jours, voire quotidienne). Avec l'évolution des technologies, les images satellites pourraient donc servir à la quantification précoce et au suivi des proliférations de cyanobactéries comme cela est par exemple déjà réalisé en Chine pour le lac Taihu. En France, pour des plans d'eau de plus petite taille, il faudrait envisager une mutualisation pour l'achat et le traitement d'images satellites qui couvrent plusieurs plans d'eau. Par ailleurs, il faut se rappeler que la qualité des images dépend toujours de la présence ou non, d'un couvert nuageux. C'est pourquoi il est désormais envisagé d'utiliser des capteurs aériens plus petits qui pourraient être utilisés en poste fixe sur des mats en bordure des zones d'intérêt ou couplés avec des drones. Ces systèmes, basés sur des mesures de réflectance, ont pour avantage d'être peu coûteux, plus faciles à déployer et plus souples d'utilisation. Pour l'instant, ces capteurs sont toujours au stade du développement ou de la validation.

### 6.1.4 Indicateurs complémentaires

D'autres indicateurs, indirects, peuvent compléter ceux décrits précédemment mais ils ne peuvent être utilisés seuls car ils ne permettent pas une détection certaine et spécifique des cyanobactéries. La grande majorité des indicateurs complémentaires utilisés pour la détection indirecte implique une mesure dans la colonne d'eau. De ce fait, s'ils sont adaptés aux proliférations de cyanobactéries planctoniques. Il est difficile d'envisager leur utilisation pour des proliférations de cyanobactéries benthiques puisque d'une part, les cyanobactéries benthiques s'installent sur le substrat et non dans la masse d'eau, et d'autre part, elles s'établissent généralement dans les cours d'eau dans des zones peu profondes et présentant un courant significatif. La masse d'eau est alors continuellement renouvelée. Par ailleurs, plus encore que pour les proliférations planctoniques, l'hétérogénéité de la répartition des cyanobactéries benthiques limite l'intérêt de l'utilisation de certains paramètres décrits ci-dessous pour la détection de proliférations.

#### 6.1.4.1 Paramètres physiques

Sont regroupés ici des paramètres physiques qui sont indicateurs de modifications des écosystèmes. Ces modifications peuvent être en relation, entre autres, avec des évolutions de biomasses d'algues et de cyanobactéries planctoniques.

#### 6.1.4.1.1 *Transparence*

Les proliférations algales ou de cyanobactéries planctoniques peuvent limiter la transparence de l'eau, ce qui constitue un signal d'alerte, en particulier sur un site ayant déjà fait l'objet d'une prolifération de cyanobactéries.

La transparence de la colonne d'eau est mesurée à l'aide d'un disque de Secchi divisé en secteurs blancs et noirs que l'on immerge. La transparence est déterminée à partir de la profondeur à laquelle il n'est plus possible de discerner le disque depuis la surface.

On peut parler de variation de la transparence si une différence de 15 à 20 % est observée entre deux mesures réalisées par le même observateur.

Cette méthode, normalisée (NF EN ISO 7027-2), est largement utilisée en limnologie notamment dans les suivis de l'état écologique au titre de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau (DCE, 2000). D'emploi aisé et très économique, cette méthode est adaptée à une surveillance de routine quotidienne. Cependant, dans des eaux présentant des concentrations élevées en matières organiques dissoutes (charges humiques élevées), son utilisation comme signal d'alerte de prolifération peut être inopérante du fait des faibles variations de transparence mesurables.

Cette mesure permet aussi d'évaluer la profondeur de la zone euphotique (zone dans laquelle la photosynthèse est supérieure à la respiration) dans laquelle se développe le phytoplancton en multipliant la valeur mesurée de disparition du disque de Secchi par 2,5. Elle constitue, de ce fait, un bon indicateur de la zone à échantillonner en plan d'eau et doit être réalisée en premier lieu pour aider à définir la stratégie de prélèvement.

#### 6.1.4.1.2 *Turbidité*

La turbidité est basée sur la mesure de la lumière réfléchiée par des particules en suspension dans la colonne d'eau et sa valeur augmente globalement en relation avec le nombre de ces particules. Celles-ci peuvent être minérales ou organiques, et constituées par des micro-organismes, dont le phytoplancton. Ainsi, la turbidité est inversement proportionnelle à la transparence.

La mesure de la turbidité est réalisée à l'aide de turbidimètres selon la norme NF EN ISO 7027-1 et exprimée en NFU (Nephelometric Formazine Unit). Il existe des turbidimètres de terrain, de paillasse ou destinés à la mesure en continu qui nécessitent un entretien et un nettoyage régulier de la cellule de mesure.

En raison de la forte absorption de la lumière par le phytoplancton, le signal obtenu avec ces particules vivantes est plus faible que celui obtenu à densité équivalente avec des particules solides inertes. L'augmentation de la turbidité en présence de cyanobactéries est donc potentiellement sous-estimée. *A contrario*, les phénomènes liés aux variations de l'hydrologie (crue, lessivage des sols, remise en suspension des sédiments) peuvent produire, par des apports importants de particules minérales ou organiques, un signal important de turbidité et une diminution de la transparence, sans aucun lien avec une éventuelle prolifération de cyanobactéries. Cependant, ces phénomènes sont généralement bien identifiés par les gestionnaires, par corrélation avec d'autres paramètres (e.g débit, pluviométrie).

Compte tenu de ces interférences possibles, et en cas de prolifération avérée, cette méthode permet d'aider à l'appréciation de la distribution des cyanobactéries dans la colonne d'eau.

#### 6.1.4.2 Paramètres chimiques

Les paramètres chimiques liés au métabolisme du phytoplancton présentent des variations qui sont observées entre le jour, où la photosynthèse est active, et la nuit, où la respiration est prépondérante. En pratique, la mesure de la situation nocturne peut être réalisée en tout début de matinée, celle de la période photosynthétique étant réalisée entre 12 h et 18 h.

Les variations de ces paramètres sont avant tout indicatrices de la qualité d'eau mais dans certains cas elles peuvent être indicatrices de la présence d'une prolifération, dont les effets dépassent le bruit de fond du



milieu. Elles ne sont pas nécessairement assez sensibles pour identifier le début d'une dynamique de prolifération.

#### 6.1.4.2.1 Oxygène

L'oxygène produit par les organismes photosynthétiques est un bon indicateur de l'activité métabolique et de la quantité de biomasse présente. Il est produit en quantité importante pendant la journée *via* l'activité photosynthétique. Il est ensuite en partie consommé par la respiration des bactéries, des animaux aquatiques et des végétaux eux-mêmes.

La variable mesurée (selon la norme NF EN 25814 par méthode électrochimique à la sonde ou selon la norme NF ISO 17289 par méthode optique à la sonde) est soit la concentration en oxygène, exprimée en mg.L<sup>-1</sup>, soit le taux de saturation en oxygène, exprimé en pourcentage. Ce dernier s'avère le plus pertinent car tenant compte de la température de l'eau, il peut directement, par ses variations, indiquer le niveau de la production phytoplanctonique. En surface, une eau douce en l'absence de fort développement de producteurs primaires (phanérogames, algues) présente un taux de saturation qui tend vers 100 % (équilibre entre l'eau et l'atmosphère). En présence de forte activité photosynthétique (dû au phytoplancton notamment), le taux de saturation en oxygène peut atteindre 200 %, voire plus. Plus la production phytoplanctonique est élevée et plus les oscillations journalières deviennent amples.

Par conséquent, le niveau des taux de saturation en oxygène pendant la journée et l'amplitude des variations circadiennes de ces taux ou des concentrations en oxygène peuvent alerter sur la présence et l'importance d'une prolifération. Toutefois, elle ne renseignera pas sur la nature des organismes phytoplanctoniques responsables qui peuvent être des cyanobactéries mais aussi, des micro-algues, voire des plantes aquatiques.

#### 6.1.4.2.2 pH

Dans les eaux faiblement minéralisées, le pH peut varier d'une à parfois plus de deux unités dans la journée, en relation avec la photosynthèse et la respiration des organismes photosynthétiques.

La valeur informative de la présence d'une prolifération est l'amplitude de sa variation circadienne. Elle dépend de l'activité photosynthétique, du pouvoir tampon de l'eau et de son pH naturel. Une règle simple suggère que les variations sont significatives, dans un milieu peu tamponné, à partir d'un écart de 0,5 unités pH pour des analyses réalisées sur le terrain sur un cycle nyctéméral. Le pH est mesuré selon la norme NF EN ISO 10523.

En pleine journée, sous l'effet de la photosynthèse, le pH augmente (consommation de dioxyde de carbone) et diminue la nuit en l'absence de cette photosynthèse (seule la respiration perdure). L'augmentation du pH le jour est d'autant plus forte que l'activité photosynthétique est importante.

## 6.2 Prélèvement, identification et quantification des cyanobactéries

En plus de l'information sur la présence de cyanobactéries potentiellement toxigènes, la quantification de la biomasse de cyanobactéries peut permettre d'évaluer l'importance de la prolifération et de sa toxicité potentielle (Pitois *et al.*, 2016). Cette étape se situe donc préférentiellement en amont de la recherche éventuelle des toxines. Si la quantification de la biomasse porte sur tout le phytoplancton, elle informe également sur la dynamique de la prolifération des cyanobactéries (minoritaire, dominante). La quantité de biomasse attribuable aux cyanobactéries peut être exprimée par différentes unités selon la méthode retenue (abondance cellulaire, biovolume, biomasse fraîche ou sèche).

Ce chapitre liste les méthodes et pratiques existantes de prélèvement, d'identification et de quantification des cyanobactéries et de leurs proliférations avec leurs avantages et limites. En effet, ces méthodes ne sont pas toutes équivalentes et strictement adaptées aux cyanobactéries et aux contrôles sanitaires. À quelques exceptions près, qui sont signalées dans le texte, les méthodes d'analyse présentées ci-dessous sont pratiquées en laboratoire et font donc suite à des prélèvements de terrain.

## 6.2.1 Objectifs et mise en œuvre des méthodes de prélèvement

### 6.2.1.1 Objectifs et définition des prélèvements

Pour un certain nombre de méthodes d'analyse, des prélèvements d'eau (pour les cyanobactéries planctoniques) ou de biofilms (pour les cyanobactéries benthiques) sont nécessaires afin d'identifier et de quantifier les cyanobactéries et leurs toxines. Lorsque des analyses de cyanobactéries et de toxines sont requises, il est en général réalisé un prélèvement avec deux sous-échantillons, l'un pour les cyanobactéries et l'autre pour les toxines. En effet, les volumes d'eau nécessaires, le type de flaconnage et les modes de conservation sont différents pour ces deux types d'analyses.

Le premier prélèvement est destiné à l'identification des cyanobactéries afin de :

- confirmer la présence des cyanobactéries dans l'échantillon ;
- estimer la proportion relative de cellules qu'elles représentent dans le peuplement phytoplanctonique/benthique ;
- identifier les genres présents ;
- identifier la toxicité potentielle de ces genres pour orienter les analyses de toxines ;
- estimer le nombre d'individus ou de cellules de chaque genre présent par unité de volume d'eau (cyanobactéries planctoniques) ou par unité de biomasse ou de surface de biofilm (cyanobactéries benthiques) ;
- estimer le biovolume ou la biomasse de cyanobactéries (exprimée en matière fraîche ou sèche) correspondant à chaque genre.

Le second prélèvement est destiné à obtenir des informations sur :

- la présence de toxines ;
- le type de toxines présentes ;
- la concentration de ces toxines par unité de volume d'eau (cyanobactéries planctoniques) ou par unité de biomasse (cyanobactéries benthiques).

Le type de résultats attendus conditionne alors la nature et les modalités de prélèvement car tous les moyens de prélèvement ne permettent pas d'obtenir des résultats qualitatifs et quantitatifs.

Il est important de se souvenir que l'interprétation des résultats dépend totalement de la nature de l'échantillon (eau, biomasse), de ses modalités de prélèvement (bouteille fermante ou pompe pour les échantillons d'eau, ramassage au filet, décrochage de biofilms), du choix de la position et de la profondeur de prélèvement (Leitão *et al.*, 2005). Si des résultats de différents sites doivent être comparés, il faudra alors s'assurer de l'homogénéité des modalités de prélèvement mises en œuvre. Ainsi, en fonction des attentes, il convient d'établir avant les prélèvements une stratégie d'échantillonnage qui permette de répondre au mieux aux questions posées.

Compte tenu de leurs stratégies de vie différentes, l'échantillonnage des cyanobactéries planctoniques et benthiques ne peut être effectué de la même façon et sera traité en deux parties distinctes.

### 6.2.1.2 Prélèvement et conservation des cyanobactéries planctoniques

#### 6.2.1.2.1 Modalités du prélèvement

Différents appareils et modes de prélèvement existent. Le choix est alors conditionné par les analyses envisagées sur l'échantillon récolté.

La plupart des instruments de prélèvement présentés dans le Tableau XIX (robinet sur une installation de traitement de l'eau, tube échantillonneur, bouteille de prélèvement, bouteille intégratrice, pompe et flacon de prélèvement) procurent des échantillons d'eau sur lesquels il est possible de réaliser des analyses qualitatives et/ou quantitatives portant sur l'identification, les numérations des micro-organismes et le dosage des toxines intra et extracellulaires.

Le prélèvement au filet à plancton (Tableau XIX) produit un échantillon de biomasse qui peut suffire pour des analyses qualitatives. En effet, cette méthode introduit des erreurs et des biais (refoulement lors de la remontée du filet, colmatage, sélection des genres de grande taille) qui rendent difficile son utilisation pour des évaluations quantitatives. Avec cette méthode de prélèvement, seule la concentration intracellulaire en

toxines peut être déterminée puisque seule la fraction solide, en suspension dans l'eau (contenant la biomasse algale), est prélevée. Un prélèvement d'eau brute en parallèle est indispensable pour déterminer la concentration en toxines extracellulaires. Cette dernière information est importante car, en fonction de l'état physiologique des cellules des populations de cyanobactéries et notamment de la proportion de cellules en phase de senescence, une part plus ou moins importante des toxines, qui sont initialement intracellulaires, peut être libérées dans l'eau.

#### 6.2.1.2.2 *Lieu et profondeur de prélèvement*

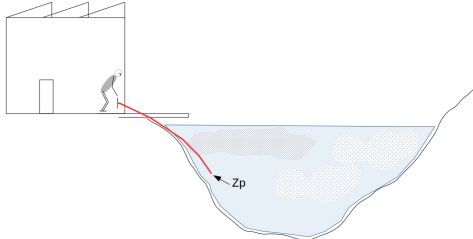
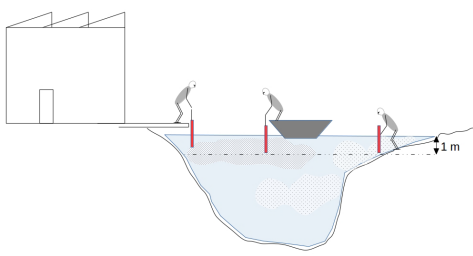
La principale difficulté inhérente à l'échantillonnage des cyanobactéries en milieu naturel est liée à l'hétérogénéité de leur distribution dans l'espace (horizontale et verticale) et dans le temps. Ceci est notamment dû aux migrations verticales circadiennes, au cycle de vie des populations, à la prédation ou aux conditions climatiques. L'orientation et la force des vents peuvent aussi induire des déplacements horizontaux significatifs de biomasses au sein d'un site. Ainsi, avant de procéder à un prélèvement, une reconnaissance visuelle peut être utile pour arrêter le ou les lieu(x) de prélèvement. Des considérations pratiques peuvent parfois contraindre le choix des lieux et des profondeurs de prélèvement en milieu naturel, telles que l'accessibilité des points de prélèvement, la localisation d'une zone de baignade ou la disponibilité du matériel de prélèvement (Tableau XIX).

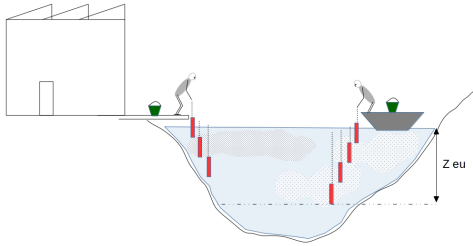
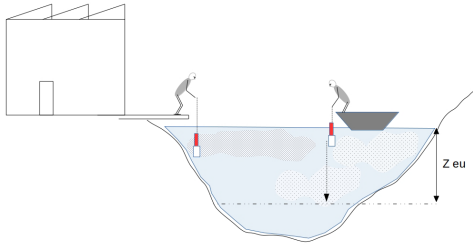
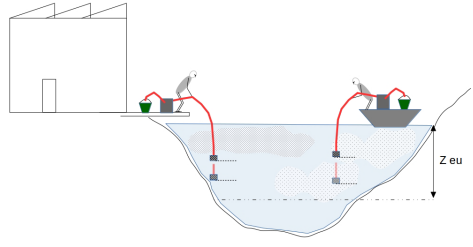
Les lieux et profondeurs d'échantillonnage au sein d'une masse d'eau sont idéalement déterminés en fonction des informations souhaitées : évaluation du danger en un point donné (par exemple au point où la prolifération semble maximale) ou obtention d'une valeur moyenne. Dans le premier cas, le point et la profondeur d'échantillonnage sont choisis pour être les plus représentatifs de la zone d'intérêt. Dans le second cas, plusieurs sous-échantillons répartis sur la zone d'étude sont requis afin d'en obtenir une vision globale. Les usages de l'eau entrent souvent en ligne de compte pour déterminer ces paramètres : baignade à partir de la rive ou baignade en eau libre, activités nautiques sur l'ensemble du plan d'eau, prise d'eau en profondeur pour la production d'EDCH.

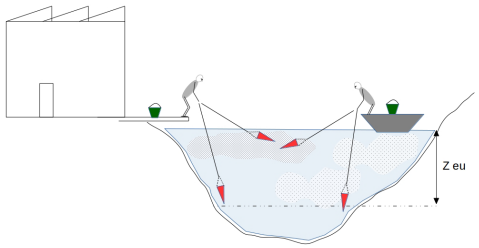
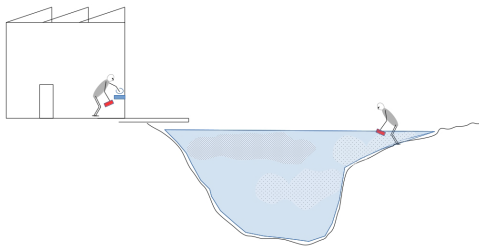
Les prélèvements effectués au robinet d'une usine de potabilisation ou à l'aide de la bouteille de prélèvement sont des échantillons représentatifs de la qualité de l'eau produite ou de l'eau captée à une certaine profondeur. En revanche, les prélèvements réalisés au moyen d'un tube échantillonneur, d'une bouteille intégratrice, d'une pompe péristaltique, voire d'un filet à plancton, peuvent fournir une information agrégée sur une colonne d'eau, par exemple sur la zone euphotique où se développe le phytoplancton (tableau XIX)

Lorsque l'hétérogénéité de la distribution horizontale et/ou verticale des cyanobactéries devient trop évidente, il est indispensable d'établir une stratégie de prélèvement statistiquement représentative pour obtenir une information la plus proche possible de la réalité et du but visé. Ceci nécessite une bonne connaissance du site et un nombre d'échantillons qui devra être pris en compte dans les budgets prévisionnels.

Tableau XIX : modalités et dispositifs de prélèvements dans les différentes masses d'eau douce (d'après Leitão & Couté, 2005)

Outil de prélèvement	Schéma	Couche d'eau prospectée	Capacité de prélèvement	Avantages	Inconvénients	Usages potentiels
Robinet usine		Au niveau $Z_p$ correspondant à la profondeur du captage	1 litre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- facile et rapide</li> <li>- échantillon identique à ce qui rentre dans l'usine</li> <li>- même point d'échantillonnage que pour le contrôle sanitaire.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- une seule profondeur échantillonnée, pas de prélèvement en surface (écume).</li> <li>- insuffisant si distribution verticale hétérogène</li> <li>- non représentatif d'une ressource si issu de mélange de plusieurs ressources</li> <li>- stagnation de l'eau et risque de décantation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>prises d'eau destinées à la consommation humaine (EDCH)</li> <li>(eau brute au captage)</li> </ul>
Tube échantillonneur		$Z = 0 - 1$ m	270 mL à 1 litre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- assez facile si accès au bord ou bateau</li> <li>- bien représentatif du risque baignade</li> <li>- adapté aux zones de baignade inférieures à 2 m ou cours d'eau.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Peu représentatif si zone de baignade supérieure à 2 m de profondeur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ressources EDCH</li> <li>- baignades</li> <li>- suivis écologiques</li> <li>(avec réserves pour ce dernier car peu représentatif)</li> </ul>

Outil de prélèvement	Schéma	Couche d'eau prospectée	Capacité de prélèvement	Avantages	Inconvénients	Usages potentiels
Bouteille de prélèvement		Zone euphotique (entre la surface et $Z_{eu}$ ) et profondeur spécifique	1 litre x nb de mètres de la $Z_{eu}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- bonne représentation de la couche de production algale</li> <li>- matériel robuste</li> <li>- adapté pour les zones de baignade supérieures à 2 m et les ressources EDCH avec différentes profondeurs de prélèvement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- coût de la bouteille élevé</li> <li>- échantillonnage long car transvasements multiples dans un seau.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ressources EDCH</li> <li>- baignades (en zone profondes)</li> <li>- suivis écologiques</li> </ul>
Bouteille intégratrice		Zone euphotique (entre la surface et $Z_{eu}$ ) et profondeur spécifique	3 à 5 litres répartis sur la $Z_{eu}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- facilité et rapidité d'utilisation. Excellente représentation de la couche de production algale, matériel robuste</li> <li>- adapté pour les zones de baignade supérieures à 2 m et les ressources EDCH avec différentes profondeurs de prélèvement</li> </ul>	coût de la bouteille élevé	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ressources EDCH</li> <li>- baignades (en zone profondes)</li> <li>- suivis écologiques</li> </ul>
Pompe (péristaltique ou à turbine)		Zone euphotique (entre la surface et $Z_{eu}$ ) et profondeur spécifique	1 litre x nb de mètres de la $Z_{eu}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- précision de la profondeur d'échantillonnage</li> <li>- accès aux efflorescences en profondeur</li> <li>- adapté pour les zones de baignade supérieures à 2 m et les ressources</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- alimentation électrique nécessaire</li> <li>- entretien important</li> <li>- précautions d'usage (espace mort de tuyau)</li> <li>- durée d'échantillonnage importante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ressources EDCH</li> <li>- baignades (en zone profondes)</li> <li>- suivis écologiques</li> </ul>

Outil de prélèvement	Schéma	Couche d'eau prospectée	Capacité de prélèvement	Avantages	Inconvénients	Usages potentiels
				EDCH avec différentes profondeurs de prélèvement		
Filet à phytoplancton	 <p>Le schéma illustre un filet à phytoplancton déployé dans un plan d'eau. Deux personnes sont positionnées sur une berge, l'une manipulant le filet qui est maintenu ouvert par des poids. Le filet est représenté par une zone hachurée sous la surface de l'eau. Une ligne horizontale indique la profondeur de la zone euphotique, notée <math>Z_{eu}</math>.</p>	Zone euphotique (entre la surface et $Z_{eu}$ )	dizaines à centaines de litres prospectés	bonne représentation qualitative de la zone de production algale	<ul style="list-style-type: none"> <li>- entretien du filet</li> <li>- volume d'eau filtrée inconnu</li> <li>- échantillonnage sélectif (colmatage et refoulement) inadapté pour analyses quantitatives</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ressources EDCH</li> <li>- suivis écologiques</li> <li>- baignades (avec réserves pour tous car non quantitatif)</li> </ul>
Flacon de prélèvement	 <p>Le schéma illustre un flacon de prélèvement utilisé pour échantillonner l'eau. Une personne est sur la berge, et un autre individu est dans l'eau, utilisant un dispositif pour aspirer l'eau dans un flacon. Le schéma montre la surface de l'eau et une zone d'accumulation de matière sous-jacente.</p>	surface ou subsurface	quelques millilitres à 1 litre	adapté pour le prélèvement dans une zone d'accumulation de surface et à un robinet usine	peu représentatif de la colonne d'eau et si baignade étendue	<ul style="list-style-type: none"> <li>- EDCH</li> <li>- baignades (seulement en zone d'accumulation)</li> </ul>

### 6.2.1.2.3 Conservation et transport

Les consignes de conservation et de transport décrites dans la norme XP T90-719 sur l'échantillonnage du phytoplancton en eau intérieure s'appliquent en grande partie aux prélèvements de cyanobactéries aussi bien pour les eaux de baignade que pour les eaux destinées à la consommation humaine.

Ainsi, les prélèvements destinés aux dénombrements de cyanobactéries planctoniques sont collectés dans des flacons propres, en polypropylène ou en verre.

Les prélèvements destinés aux analyses de toxines sont prélevés préférentiellement dans des flacons propres en verre. Car ces derniers, bien que fragiles, sont particulièrement indiqués pour les dosages de toxines qui peuvent s'adsorber sur les matériaux plastiques (Hyenstrand *et al.*, 2001a, b).

Les échantillons sont ensuite transportés selon les normes NF EN ISO 5667-3 (relative à la conservation et manipulation des échantillons d'eau) et XP T90-719. Ils doivent être transportés jusqu'au laboratoire d'analyse à l'obscurité et au froid dans une enceinte réfrigérante à une température de 5 +/- 3°C. La durée maximale de transport doit rester compatible avec le délai maximal d'analyse recommandé (48 h). Seuls les échantillons fixés dès le prélèvement peuvent être analysés au-delà de 24 h après le prélèvement.

Les échantillons non fixés peuvent servir à des analyses portant sur l'identification des cyanobactéries dans les 48 h. Ils sont alors à conserver à une température de 5 +/- 3°C. En revanche, ceux destinés au dénombrement de cyanobactéries (ou à l'estimation de leur représentation dans la communauté phytoplanctonique) doivent impérativement être fixés au lugol (0,5 % vol/vol). L'échantillon doit alors être conservé à l'obscurité jusqu'à l'analyse. Le glutaraldéhyde (tableau XX) doit être utilisé pour une fixation de longue durée (au-delà d'un mois).

L'addition de tout fixateur est à proscrire pour les échantillons destinés à la quantification de toxines. Si ces deux types d'analyses sont souhaités, il est indispensable d'avoir deux échantillons différents.

**Tableau XX : caractéristiques des fixateurs**

Conservateur	Avantages	Inconvénients
Lugol 0,5 % (vol/vol) dans l'échantillon (8 à 10 gouttes pour 100 mL d'échantillon)	Faibles volumes utilisés. Très peu onéreux. Peu toxique. Facilite la sédimentation.	Colore toutes les algues et peut rendre les observations difficiles. Fragilise certaines structures coloniales et agrégats de filaments. Ne permet pas un stockage au-delà d'un mois à température ambiante (voire 6 mois à l'obscurité et à 5 +/- 3°C) Doit être maintenu à l'obscurité.
Glutaraldéhyde 0,5 % (vol/vol) dans l'échantillon	Conservation de longue durée. Très faibles volumes utilisés. Incolore (ne gêne pas l'identification). Bonne conservation des formes et des structures fragiles (flagelles par exemple)	Toxique par inhalation et par contact.

### 6.2.1.3 Prélèvement et conservation des cyanobactéries benthiques

#### 6.2.1.3.1 *Modalités et zones de prélèvement*

Plus encore que pour les cyanobactéries planctoniques, le prélèvement des cyanobactéries benthiques est confronté au problème de l'hétérogénéité de leur répartition dans le milieu (d'un mètre à l'autre, mais parfois d'un bloc, voire d'un galet à l'autre, développement sur des végétaux, accumulation possible des biofilms détachés sur les bords du cours d'eau, etc.). Les points de prélèvement sont là aussi fixés en fonction des informations recherchées. Une stratégie d'échantillonnage claire doit donc être établie en amont des prélèvements.

Le prélèvement s'effectue avec des gants, sur les supports (blocs, galets, végétaux) à l'aide de pinces fines à bout plat, soit directement dans le milieu, soit après avoir sorti le support de l'eau, pour faciliter le travail. Selon les attentes, on pourra choisir de prélever toujours la même surface de biofilms.

#### 6.2.1.3.2 *Conservation et transport*

Pour les échantillons destinés à l'identification et au dénombrement, le lugol (concentration de 0,5 % en volume) est le fixateur habituellement utilisé pour une conservation de courte durée (jusqu'à un mois). Pour une conservation de longue durée, au-delà d'un mois, une fixation au glutaraldéhyde doit être réalisée.

Les échantillons doivent être transportés jusqu'au laboratoire d'analyse à l'obscurité et au froid dans une enceinte réfrigérante à une température de 5 +/-3°C. La durée maximale de transport doit rester compatible avec le délai maximal d'analyse recommandé (48 h). Seuls les échantillons fixés dès le prélèvement peuvent être analysés au-delà de 24 h après le prélèvement.

## 6.2.2 **Identification des cyanobactéries planctoniques et benthiques**

L'observation au microscope optique d'un échantillon d'eau ou de biofilm conduit à l'identification taxonomique des différentes classes de micro-algues présentes ainsi que des cyanobactéries. Un grossissement de 100 x à 1000 x permet de distinguer la plupart des cyanobactéries des micro-algues du phytoplancton et des biofilms benthiques.

Cette détermination taxonomique est réalisée par des phycologues ou des techniciens formés à cette analyse. La détermination au niveau de l'espèce, basée sur des critères morphologiques, reste l'apanage de spécialistes. Ainsi, la formation initiale du personnel chargé de l'identification doit être réalisée par des experts. La détermination au niveau du genre est relativement plus aisée et peut être mise en œuvre en routine après formation. Les approches moléculaires actuellement utilisées en laboratoire de recherche conduisent régulièrement à une remise en cause de la détermination à l'espèce sur des critères morphologiques. Ainsi, ces approches moléculaires ont déjà fortement modifié la taxonomie des cyanobactéries et la modifieront sans doute profondément encore dans les prochaines années.

La détermination du genre est essentielle pour identifier une toxicité potentielle tout en sachant que celle-ci pourra varier de façon très importante en fonction des génotypes et donc des souches en présence.



## 6.2.3 Quantification des proliférations et des cyanobactéries

**Nb : Il est important de noter en préambule que si les quantifications de cyanobactéries planctoniques sont rapportées à des unités de volume d'eau (par exemple individus, cellules, mm<sup>3</sup>, mg, exprimés par litre), les quantifications de cyanobactéries benthiques doivent être rapportées à des unités de surface de biofilm (par cm<sup>2</sup> par exemple) ou de biomasse de biofilm (par mg de matière fraîche ou de matière sèche par exemple).**

### 6.2.3.1 Quantification globale

#### 6.2.3.1.1 *Méthodes basées sur la composition pigmentaire pour le suivi des proliférations planctoniques et benthiques*

Les méthodes décrites précédemment pour la détection des proliférations basées sur l'extraction de la chlorophylle-a, de la phycocyanine ou l'utilisation de sondes fluorimétriques submersibles (hors capteur benthique dans l'état actuel) permettant la mesure des concentrations en pigments sont également adaptées pour une quantification globale de la biomasse dans le cadre du suivi de la dynamique des proliférations de cyanobactéries quand elles ont été préalablement détectées.

Concernant les cyanobactéries benthiques, les concentrations en chlorophylle-a pour la mesure des biomasses sont rapportées à une surface de biofilm échantillonné (par cm<sup>2</sup> par exemple) ou à une biomasse de biofilm (mg de matière sèche ou fraîche par exemple) et elles traduisent dans ce cas une variation de l'épaisseur des biofilms.

#### 6.2.3.1.2 *Estimation de la couverture en cyanobactéries benthiques*

Compte tenu de l'hétérogénéité de la distribution des biofilms à cyanobactéries, il est ressorti des travaux effectués sur le Tarn (Echenique-Subiabre *et al.*, 2016, 2018a et b ; Humbert *et al.*, 2016) et en Nouvelle-Zélande (Heath *et al.*, 2010, 2011 ; Wood *et al.*, 2009), l'intérêt de l'estimation visuelle de la couverture en cyanobactéries benthiques pour suivre l'état et la dynamique des proliférations de ces micro-organismes. En effet, au cours d'une prolifération, les biofilms peuvent croître en épaisseur et/ou augmenter les surfaces colonisées sur le fond des cours d'eau et sur les macrophytes. Il semble vraisemblable que plus cette couverture est importante, plus la probabilité de se trouver en contact avec les biofilms augmente. Ce n'est pas forcément le cas si l'on ne considère que les biomasses, puisque la probabilité de rentrer en contact avec des patches épais présentant donc une importante biomasse de cyanobactéries est assez faible si ces biofilms sont dispersés dans le milieu et ne recouvrent qu'une faible surface du substrat.

En zones de baignade, l'estimation de la couverture par les cyanobactéries peut être complétée par le comptage des biofilms échoués sur les rives après qu'ils se soient décrochés de leur substrat.

### 6.2.3.2 Quantification en microscopie

La quantification au microscope est réalisée sur les échantillons phytoplanctoniques ou benthiques fixés au lugol.

#### 6.2.3.2.1 *Dénombrement des cyanobactéries planctoniques*

Le nombre de cellules, colonies, filaments ou trichomes de chaque genre ou espèce de cyanobactéries est déterminé par différentes méthodes décrites ci-après. Pour les cyanobactéries filamenteuses, le comptage peut se faire en nombre de filaments, et pour les coloniales, en nombre de colonies par millilitre. Les recommandations sanitaires internationales de l'OMS font référence à des concentrations exprimées en nombre de cellules par millilitre. Ces résultats sont facilement convertibles en biovolume à l'aide de biovolumes spécifiques moyens permettant ainsi d'exprimer le résultat en quantité de matière, ce qui est plus informatif qu'un simple dénombrement cellulaire.

L'incertitude de la numération dépend du nombre d'objets comptés (cellules ou colonies). Elle est, pour des spécialistes formés et entraînés, de l'ordre de 20 % pour une centaine d'unités dénombrées et de respectivement 10 % et 5 % pour 400 et 1600 unités dénombrées. Dans une première approximation, l'erreur relative est considérée comme inversement proportionnelle à la racine carrée du nombre d'objets comptés. Il est alors recommandé de compter au moins 400 individus pour obtenir un résultat satisfaisant de l'ensemble de la communauté phytoplanctonique (Laplace-Treytoure *et al.*, 2009). Dans le cas d'un comptage concernant uniquement des cyanobactéries, un dénombrement d'au moins 100 individus (cellules, filaments ou colonies selon les espèces) permet d'obtenir un résultat satisfaisant.

Les protocoles opératoires peuvent varier selon les laboratoires et il existe plusieurs méthodes de dénombrement.

Normalisé depuis 2006 (norme EN NF 15204), le dénombrement par microscopie inversée est la méthode de référence (Laplace-Treytoure *et al.*, 2009 ; Mischke *et al.*, 2008; Mischke *et al.*, 2012 ; Wolfram *et al.*, 2014) pour les comptages d'échantillons de phytoplancton dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE (European Parliament, 2000). Elle s'applique à la communauté phytoplanctonique dans son ensemble et pas seulement aux cyanobactéries. Le comptage par cette technique dite d'Utermöhl (1958) est réalisé avec un microscope inversé et des cuves de sédimentation à fond transparent de volume variable. La sédimentation dure entre une demi-heure et une journée selon le volume sédimenté. Cependant, elle s'avère parfois délicate à appliquer sur des échantillons de cyanobactéries dont certaines, présentant des vésicules gazeuses, sédimentent partiellement dans la cuve malgré l'utilisation du lugol. Une étape intermédiaire de préparation de l'échantillon est alors nécessaire pour réduire la flottabilité. L'échantillon est placé dans une seringue (de 50 à 60 mL) et va subir sous l'effet de coups de piston successifs une augmentation de la pression hydrostatique provoquant l'éclatement de ces vésicules.

Le comptage par microscope droit sur des cellules de numération constitue la deuxième méthode utilisée. Les cellules de numération de type Nageotte (50 µL) ou Neubauer (60 µL) ou encore Sedgewick-Rafter (1mL) sont préférables à celle de Malassez (1 µL) en raison de leur plus grand volume. Cette méthode est rapide car elle ne nécessite pas d'attendre plus d'une demi-heure la sédimentation des cellules et permet de procéder rapidement au dénombrement. Si les effectifs de cyanobactéries sont trop faibles pour une observation directe, on peut procéder à une filtration préalable (sur membrane filtrante de 3 µm de porosité) d'un volume donné de l'échantillon fixé (Brient *et al.*, 2008). Cependant, l'usage de cellules de numération ne permet pas d'observer l'échantillon à des grossissements supérieurs à 400 x ce qui peut nuire à la détermination et la numération de cyanobactéries de petite taille.

Il existe une troisième méthode correspondant à un mélange des deux précédentes. L'échantillon fixé au lugol est dans ce cas préparé par filtration selon la méthode définie pour un microscope droit (Brient *et al.*, 2008) puis remis en suspension dans une cuve de sédimentation avant d'être observé au microscope inversé. Une identification et un comptage des espèces de petite taille sont alors possibles.

D'autres variations de ces méthodes existent (Meriluoto *et al.*, 2017) et s'avèrent globalement comparables. Toutes ces méthodes, considérées comme pouvant être employées en routine, sont cependant chronophages en fonction de la précision requise et du nombre de genre et/ou d'espèces à différencier. Il leur est souvent reproché de ne pas prendre en compte la variabilité de la taille des cellules entre espèces. Pour s'en affranchir, la conversion en biovolume est alors requise.

Le dénombrement permet d'évaluer la part des cyanobactéries dans le peuplement phytoplanctonique, tout en identifiant la présence de genres potentiellement producteurs de cyanotoxines.

Il faut garder à l'esprit que l'utilisation de ces différentes méthodes peut conduire à la production de résultats assez variables et donc peu comparables. Une harmonisation de la méthode employée permettrait donc une plus grande comparabilité des données à l'échelle nationale.

### 6.2.3.2 Dénombrement des cyanobactéries benthiques

Le dénombrement des cyanobactéries au sein d'un biofilm ou d'un mélange de différents biofilms échantillonnés au sein d'une station est rendu complexe par la densité souvent importante de filaments de cyanobactéries que peuvent présenter ces biofilms. Il peut être effectué au microscope optique avec une cellule de numération (Nageotte, Neubauer, Sedgewick-Rafter ou Malassez) après un passage aux ultrasons pour dissocier les filaments. Dans le cas d'échantillons très denses, il peut également être procédé à une dilution à l'issue du passage aux ultrasons.

Il est à noter que ce dénombrement n'est pas indispensable dans le cadre d'une surveillance du développement des cyanobactéries benthiques et qu'une estimation de la couverture en cyanobactéries benthiques peut être suffisante.

### 6.2.3.3 Estimation des biovolumes-biomasses

Afin d'obtenir une estimation de la quantité de matière par genre et non une abondance cellulaire, les abondances obtenues après dénombrement en microscopie peuvent être converties en biovolume qui sont exprimés en  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  (cyanobactérie planctonique) ou en  $\text{mm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$  de biofilm (cyanobactérie benthique). Ainsi pour un échantillon donné, le volume cellulaire associé à chaque espèce/genre est multiplié par son abondance dans l'échantillon. Les biovolumes ainsi obtenus sont assimilés à des biomasses par espèce ou par genre, ce qui permet de mieux estimer les contributions relatives de ces espèces et genres à la biomasse totale.

On procède de la même façon pour les cyanobactéries planctoniques ou benthiques. Pour déterminer le volume cellulaire moyen associé à chaque espèces et genres, la cellule est assimilée à une forme géométrique simple (cylindre, sphère, etc.) (Hillebrand *et al.*, 1999 ; Hutorowicz, 2005 ; Lund *et al.*, 1957 ; Lund *et al.*, 1958 ; Olenina *et al.*, 2006 ; Osmera, 1966 ; Padisak *et al.*, 1999 ; Rott, 1981 ; Vadrucci *et al.*, 2007).

Cette méthode est normalisée au niveau européen (norme NF EN 16695) et est intégrée à des outils de comptage et de calcul informatique (Laplace-Treytore *et al.*, 2017b). Le calcul du biovolume de chaque espèce/genre d'un échantillon exige beaucoup de temps et de précision dans les mesures, et reste plutôt voué au domaine de la recherche. C'est pourquoi certains outils informatiques libres comme Phytobs (Laplace-Treytore *et al.*, 2017b) intègrent un biovolume moyen par espèce/genre pour en faciliter la mise en œuvre.

### 6.2.3.3 Comptage par utilisation de la cytométrie en flux

Ce système est pour le moment réservé aux cyanobactéries planctoniques avec les restrictions indiquées ci-dessous.

#### 6.2.3.3.1 Cytomètre standard

Le cytomètre en flux est un appareil qui permet de compter des cellules individuelles entraînées dans un flux liquide (Dubelaar *et al.*, 2007 ; Marie *et al.*, 2014). Ces cellules traitées par un colorant fluorescent et alignées les unes derrière les autres dans ce flux sont excitées par une source lumineuse, un laser en général. Elles émettent alors des signaux de fluorescence qui sont captés par un détecteur, permettant ainsi l'obtention d'informations sur leur nombre (que l'on peut rapporter à un volume) mais aussi sur certains paramètres physiologiques (contenu en ADN par exemple). Cette technique est déjà couramment utilisée pour le dénombrement des picocyanobactéries en milieu marin (Sosik *et al.*, 2003). Elle est en cours de développement pour l'ensemble des cyanobactéries planctoniques des eaux douces. Son avantage principal réside dans l'obtention, en quelques secondes et avec une très grande précision, d'un dénombrement cellulaire de nano et picoplancton. Cependant, cette technique n'est pas actuellement adaptée aux cyanobactéries de taille plus importante organisées en trichomes, en filaments ou en colonies.

#### 6.2.3.3.2 Cytomètre avec imagerie

Le cytomètre avec imagerie est un cytomètre en flux couplé à un microscope permettant de prendre en photo chacune des particules ou cyanobactéries passant dans le champ de vision (Kachel *et al.*, 2000 ; Sieracki *et al.*, 1998 ; Sosik *et al.*, 2007). Cela permet d'identifier et de compter un certain nombre d'espèces (Campbell *et al.*, 2010) en très peu de temps en comparant les photos et leurs caractéristiques (dimensions, fluorescence) avec une banque d'images de référence. Fonctionnant bien pour les organismes unicellulaires, il rencontre, comme le cytomètre standard, des difficultés avec les organismes coloniaux ou filamenteux qui peuvent obstruer la cellule de comptage. Des préparations des échantillons semblent, dans ce cas, nécessaires mais génèrent souvent des pertes et donc des sous-estimations. Les tailles variables des individus peuvent aussi rendre difficile la mise au point lors de l'acquisition de l'image et complexifier la détermination. Les méthodes restent encore à valider mais pourraient être prometteuses pour la surveillance de cyanobactéries en laboratoire.

Ce type d'appareil est aussi actuellement commercialisé sous la forme de station fixe plus adaptée au suivi de la qualité des eaux en entrée d'usine de traitement des EDCH ou pour des suivis en continu de certains plans d'eau.

#### 6.2.3.4 Biocapteurs génétiques

Les progrès accomplis en biologie moléculaire ont permis le développement de méthodes basées sur des sondes oligonucléotidiques spécifiques d'un genre ou d'un gène et permettant de détecter la cible recherchée au sein d'un mélange de populations. Ces méthodes peuvent être adaptées à des micro-organismes planctoniques ou benthiques. Elles sont en développement et doivent mettre en œuvre des protocoles permettant d'éviter les interférences sur les signaux, comme par exemple, l'auto-fluorescence des cellules ou les effets inhibiteurs des matrices aqueuses. Les mises en œuvre se font :

- par hybridation *in situ* directement dans la cellule bactérienne. La spécificité des sondes permet d'identifier, dans un échantillon naturel ou un tapis bactérien, des cyanobactéries appartenant aux genres visés par les sondes. Cet outil peut donc permettre de détecter la présence de genres potentiellement toxiques dans une efflorescence (Schönhuber *et al.*, 1999) ;
- par amplification par la méthode PCR afin de détecter dans un échantillon d'eau des cellules de genres potentiellement toxiques. En association à l'identification du genre, la présence des gènes responsables de la synthèse des microcystines peut aussi être recherchée et ainsi donner une indication sur le potentiel toxique des cyanobactéries présentes. Des travaux portant sur l'utilisation de méthodes PCR en temps réel ont montré que cette technique permet d'évaluer la proportion de génotypes toxiques au sein de la population de cyanobactéries (Kurmayer *et al.*, 2003 ; Martins *et al.*, 2011 ; Ngwa *et al.*, 2014 ; Vaitomaa *et al.*, 2003) ;
- par l'usage de puces à ADN/ARN. Le greffage sur supports solides d'oligonucléotides spécifiques des principales espèces ou principaux genres de cyanobactéries a permis le développement récent de puces à ADN/ARN qui permettent de détecter les espèces ou genres présents et de procéder à une semi-quantification (Castiglioni *et al.*, 2004). Des développements en cours tentent d'atteindre des résultats quantitatifs, en moins de 3 heures, sur les principaux genres responsables d'efflorescence. Les résultats semblent prometteurs mais ne sont cependant pas encore validés et publiés.

### 6.3 Synthèse des différentes méthodes

Les méthodes de détection et de surveillance des cyanobactéries planctoniques et benthiques sont nombreuses et ne présentent pas toutes les mêmes avantages et inconvénients. De manière synthétique, les caractéristiques de ces différentes méthodes et leur domaine d'application sont résumés dans le Tableau XXI.

Tableau XXI : méthodes de détection et de suivi des proliférations phytoplanctoniques et benthiques, spécificité vis-à-vis des cyanobactéries

(- : inadapté, +/- : partiellement adapté, + : adapté)

	Méthodes normalisées	Types de prolifération concernés	Spécifique aux cyanobactéries	Quantification des cyanobactéries	Avantages	Inconvénients
<b>Observation visuelle</b>	Non	Planctoniques benthiques	Planctoniques, benthiques avec expérience	-  (estimation)		Nécessite de la pratique pour éviter les confusions (par ex : pollen)
<b>Transparence</b>	NF EN ISO 7027-2	Planctoniques	Non	-	Outil complémentaire pour la détection des efflorescences. Possibilité de suivi en continu	
<b>Turbidité</b>	NF EN ISO 7027-1	Planctoniques	Non	-	Outil complémentaire pour la détection des efflorescences. Possibilité de suivi en continu	
<b>Dosage O<sub>2</sub> (variation jour/nuit)</b>	NF EN 25814 NF ISO 17289	Planctoniques	Non	-	Outil complémentaire pour la détection des efflorescences. Possibilité de suivi en continu	
<b>Dosage pH (variation jour/nuit)</b>	NF EN ISO 10523	Planctoniques	Non	-	Outil complémentaire pour la détection des efflorescences. Possibilité de suivi en continu	
<b>Dosage Chl-a (dans l'eau ou dans les biofilms)</b>	NF T90-117 NF EN ISO 10260 NF EN 16161	Planctoniques benthiques	Non	+/-  (si cyanobactéries dominantes)	Outil complémentaire pour la surveillance des planctoniques. Utilisation possible pour les benthiques	
<b>Sonde fluorimétrique Chl-a</b>	Non	Planctoniques	non	+/-  (si cyanobactéries)	Outil adapté pour la surveillance des planctoniques directement sur le terrain.	

	Méthodes normalisées	Types de prolifération concernés	Spécifique aux cyanobactéries	Quantification des cyanobactéries	Avantages	Inconvénients
				dominantes)		
<b>Sonde fluorimétrique spécifique cyanobactérie</b>	Non	Planctoniques Benthiques	Planctoniques et benthiques	+ (cyanobactéries planctoniques)	Outil adapté pour la surveillance des planctoniques directement sur le terrain. Utilisation possible pour les benthiques.	
<b>Téledétection satellitaire ou aéroportée</b>	Non	Planctoniques	Planctoniques	+/-	Outil adapté pour la surveillance des planctoniques.	Outil encore en développement pour les benthiques et pour les petits systèmes aquatiques.  Couverture nuageuse pour la détection satellitaire.
<b>Estimation visuelle du taux de recouvrement des biofilms de cyanobactéries</b>	Non	Benthiques	Benthiques	+/-	Outil adapté à la surveillance des benthiques.  Identification possible par du personnel expérimenté des genres potentiellement toxiques.	Outil non adapté aux planctoniques.
<b>Observation microscopique</b>	EN NF 15204	Planctoniques benthiques	Planctoniques et benthiques	+	Outil adapté à la surveillance des cyanobactéries planctoniques et benthiques.  Identification des genres potentiellement toxiques.	Nécessite une forte compétence taxonomique et mise en œuvre parfois longue.
<b>Cytométrie en flux</b>	Non	Pico planctoniques	Picoplanctoniques	+/-	Outil adapté à la surveillance des picoplanctoniques.	Outil non adapté aux benthiques. Des difficultés pour traiter les organismes planctoniques coloniaux ou

	Méthodes normalisées	Types de prolifération concernés	Spécifique aux cyanobactéries	Quantification des cyanobactéries	Avantages	Inconvénients
						filamenteux.
<b>Cytométrie avec imagerie</b>	Non	Planctoniques	Planctoniques	+/-	Outil en développement pour la surveillance des planctoniques. Identification possible des genres potentiellement toxiques.	Outil non adapté aux benthiques. Des difficultés pour traiter les organismes planctoniques coloniaux ou filamenteux
<b>Biocapteurs ou analyses génétiques</b>	Non	Planctoniques benthiques	Planctoniques et benthiques	+/-	Outil adapté à la surveillance des planctoniques et des benthiques. Identification des genres potentiellement toxiques.	

Ce chapitre illustre bien la diversité des méthodes existantes ou en développement pour la surveillance des proliférations de cyanobactéries, depuis la surveillance visuelle des écosystèmes jusqu'à l'identification et la quantification des cyanobactéries. La diversité de ces méthodes peut conduire à la production de résultats peu comparables en raison des limites que chacune d'elles peut avoir. Une harmonisation de la méthodologie globale employée pour surveiller les cyanobactéries en France permettrait donc une plus grande comparabilité des données à l'échelle nationale.

Par ailleurs, il convient de retenir un certain nombre de points importants pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. La grande variabilité temporelle et spatiale dans la dynamique et la distribution des efflorescences de cyanobactéries nécessite que les stratégies de suivi et techniques de prélèvement soient déterminées avec rigueur tant pour les cyanobactéries benthiques que planctoniques. Ces stratégies seront différentes pour ces deux types de cyanobactéries. Quel que soit le type de cyanobactéries, la stratégie d'échantillonnage est une étape cruciale qui nécessite d'être bien réfléchie avant d'entreprendre toute surveillance. Cette stratégie devra forcément reposer sur la collecte d'échantillons en plusieurs points qui peuvent être ensuite regroupés (échantillon moyen) pour limiter le nombre d'analyses et qui, sur les zones de baignade, peuvent aussi être associés à un prélèvement dans les accumulations de surface le cas échéant afin de disposer d'une estimation de l'exposition maximale. Les méthodes non spécifiques et indirectes, décrites dans ce chapitre, peuvent être des indicateurs utilisables pour le dépistage et pour l'aide à la surveillance des proliférations de cyanobactéries, notamment sur des sites bien connus, mais ne sont en aucun cas utilisables seules.

Pour les cyanobactéries planctoniques, les méthodes de quantification globale utilisant la composition pigmentaire (chlorophylle-a ou pigments accessoires) peuvent servir comme premier niveau de surveillance et d'alerte du fait de leur facilité de mise en œuvre et de leur rapidité (sondes fluorimétriques). En l'état des connaissances et des développements actuels, seule l'observation microscopique, supportée par une méthode (et une seule) de comptage normalisée, réalisée par un personnel formé, permet l'identification et la numération des cyanobactéries planctoniques en routine. Ces identifications et numérations doivent être réalisées au niveau du genre pour s'affranchir des fortes évolutions taxonomiques et être rapidement réalisées en routine tout en permettant l'obtention de résultats comparables. Il est aussi important que les résultats soient exprimés en biovolume (ou biomasse) aussi bien pour les cyanobactéries benthiques que pour les cyanobactéries planctoniques afin de tenir compte des variations des tailles de cellules. Pour cela l'utilisation d'un biovolume standard pour chaque genre est tout à fait envisageable.

Les méthodologies classiquement adoptées pour la surveillance des cyanobactéries planctoniques ne sont pas adaptées à la surveillance des cyanobactéries benthiques. Ainsi, l'évaluation des concentrations en chlorophylle-a ou la réalisation de dénombrements cellulaires dans la masse d'eau, utilisées pour détecter et quantifier des proliférations planctoniques, ne peuvent naturellement pas être utilisées sur des espèces benthiques dans le cas des cyanobactéries benthiques. En conséquence, tout arbre décisionnel proposé pour la surveillance des proliférations de cyanobactéries planctoniques ne pourrait être étendu à celle des cyanobactéries benthiques. Dans leur cas, une estimation visuelle du développement des biofilms semble constituer la meilleure stratégie. Ceci implique néanmoins une formation des personnels en charge de la surveillance à la reconnaissance des biofilms à cyanobactéries sur le terrain. Une observation au microscope sur les prélèvements effectués peut ensuite permettre de confirmer la présence de genres potentiellement toxiques.

Enfin, quelles que soient les cyanobactéries, les connaissances accumulées sur plusieurs années de surveillance pour un plan d'eau ou une rivière permettent de mieux connaître les périodes et les sites à risques et donc d'anticiper les proliférations, ce qui montre la nécessité d'assurer une continuité dans le temps de ces suivis.



**POINTS À RETENIR**

- La grande variabilité temporelle et spatiale des efflorescences de cyanobactéries nécessite que les stratégies et techniques de prélèvement soient déterminées avec rigueur pour que les résultats soient interprétables.
- Les stratégies de développement différentes des cyanobactéries planctoniques et benthiques impliquent la mise en place de protocoles spécifiques à ces deux catégories.
- Seule la mise en œuvre d'une méthode appropriée de prélèvement et de dénombrement limitera les biais dans l'obtention des résultats.
- En routine, seule l'observation microscopique, supportée par des méthodes de comptage normalisées et réalisée par un personnel formé permet l'identification et la numération des genres/espèces de cyanobactéries (quand celle-ci est requise).
- Les indicateurs non spécifiques et indirects des proliférations de cyanobactéries sont utilisables pour la détection précoce de ces proliférations puis pour leur suivi mais ils ne sont pas utilisables seuls.
- Les suivis de cyanobactéries réalisés sur plusieurs années permettent de mieux connaître les sites et les périodes à risques pour les écosystèmes faisant l'objet d'une surveillance et ainsi de mieux anticiper le développement des proliférations de cyanobactéries.

## 7 Recherche du potentiel toxique par des approches de biologie moléculaire

Outre les méthodes visant à la recherche, l'identification et la quantification des cyanotoxines elles-mêmes, il existe des méthodes basées sur la recherche des gènes impliqués dans la synthèse de ces cyanotoxines. Ces méthodes permettent de caractériser le potentiel de production des toxines dans des prélèvements d'eau, à partir de la détection des gènes codant pour les enzymes de synthèse de ces cyanotoxines. Cependant, la détection de ces gènes de synthèse n'implique pas systématiquement une production des cyanotoxines associées.

La majorité des toxines produites par les cyanobactéries est synthétisée par des voies de synthèse enzymatiques complexes et spécifiques. Les gènes impliqués dans ces synthèses sont regroupés en clusters qui présentent des signatures particulières. Pour un genre potentiellement toxique donné, la variabilité génétique des souches implique que ces gènes peuvent être présents ou non. En l'absence de ces gènes, la production de toxines ne peut avoir lieu, alors que la présence de ces gènes peut mener à la production de ces toxines à des niveaux d'expression variables. La recherche de ces gènes présente donc un intérêt pour évaluer le potentiel toxique des cyanobactéries dans un milieu. La présence de ces gènes peut être recherchée dans les extraits du matériel génétique (l'acide désoxyribonucléique ou ADN) des organismes présents, selon des approches de biologie moléculaire semi-quantitatives ou quantitatives qui reposent sur l'amplification de séquences spécifiques (Humbert *et al.*, 2010 ; Kurmayer *et al.*, 2017).

Des kits de détection basés sur des techniques de biologie moléculaire sont déjà commercialisés, cependant leur utilisation reste pour l'instant restreinte à des travaux de recherche.

### Principe de la détection :

Cette approche repose sur la détection dans un échantillon d'eau de la présence d'ADN correspondant aux gènes codant spécifiquement pour les enzymes responsables de la synthèse de cyanotoxines. Ces analyses se déroulent selon les étapes suivantes : 1/ extraction de l'ADN des échantillons ; 2/ amplification des fragments codant à l'aide de couples d'amorces oligo-nucléotidiques spécifiques des gènes ciblés par des techniques dites de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ; 3/ détection quantitative (pour la PCR en temps réel) ou semi-quantitative (pour la PCR classique des fragments amplifiés) ; et 4/ analyse des résultats par rapport au signal lié à l'amplification de gènes de référence. Ces étapes nécessitent un bon niveau d'expertise en technique de biologie moléculaire.

### Avantages de ces approches :

- Sensibilité de la méthode.
- Utilisation en amont de la détection des cyanotoxines ou des tests de toxicité.

### Limites actuelles de ces approches :

- Les réponses obtenues ne permettent pas d'évaluer les concentrations en toxines.
- Aucune méthode standard ne permet de garantir l'extraction totale des ADN génomiques de l'ensemble des cyanobactéries présentes dans un échantillon naturel.
- Il n'existe pas de protocole standardisé pour encadrer leur utilisation.
- L'amplification de gènes codant pour la production de cyanotoxines repose sur l'hypothèse que ces séquences soient conservées, et donc communes, chez l'ensemble des cyanobactéries. Cependant, l'universalité de la spécificité et de l'efficacité des amorces nucléotidiques n'a pas encore été démontrée sur un panel exhaustif de cyanobactéries productrices de cyanotoxines.
- Les brins d'ADN qui portent l'information génétique liée à la production des cyanotoxines sont susceptibles de persister dans l'environnement au-delà de la mort des organismes producteurs, donnant alors lieu à l'observation d'un signal fantôme, correspondant à une fausse réponse positive.

**POINTS À RETENIR**

Les techniques de biologie moléculaire utilisées pour la détection des gènes de synthèse des cyanotoxines dans l'environnement sont prometteuses. Cependant, compte tenu de leurs limites actuelles, elles ne peuvent constituer pour l'instant qu'un système d'alerte, et la présence de cyanotoxines devra être vérifiée et quantifiée par d'autres méthodes.

À ce jour, il n'existe aucun protocole normalisé, ni aucune valeur guide pour intégrer l'utilisation de ces méthodes dans le cadre de suivi réglementaire ou d'évaluation des risques.

## 8 Détection et quantification des cyanotoxines

Il existe une gamme étendue de méthodes (physico-chimique, biologique ou biochimique) utilisées en laboratoire, en routine et/ou en recherche, pour détecter, identifier et quantifier les cyanotoxines dans l'eau (avec ou sans cyanobactéries), dans des organismes aquatiques (e.g. poissons) ou non aquatiques (e.g. chiens, oiseaux) ainsi que dans d'autres types de matrices (e.g. aliments). Seuls l'eau et les organismes aquatiques font l'objet de ce rapport. L'analyse de cyanotoxines, illustrée de manière schématique en figure 15, comprend deux étapes principales : i) une étape de préparation des échantillons et ii) une étape de détection et de quantification des cyanotoxines. L'étape de préparation des échantillons peut comprendre plusieurs parties : l'extraction, la purification et éventuellement la dérivation chimique.

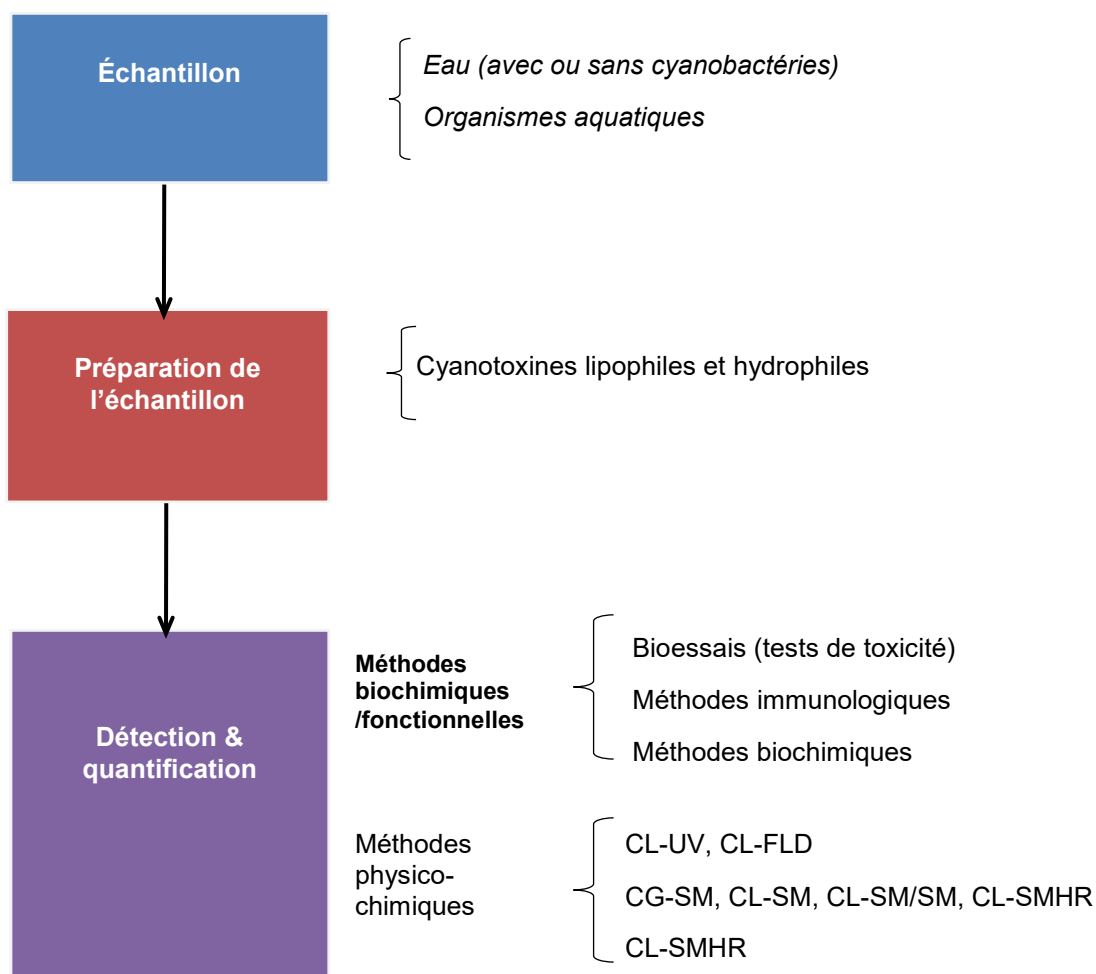


Figure 15 : stratégie pour l'analyse des cyanotoxines lipophiles et hydrophiles dans l'eau et les organismes aquatiques<sup>26</sup>

Les protocoles d'extraction des cyanotoxines varient en fonction de la famille de cyanotoxines cible et des matrices considérées. Une étape de purification peut également être préconisée afin d'éliminer une partie des substances pouvant interférer lors de l'analyse des cyanotoxines, et pouvant conduire à des résultats faux positifs ou faux négatifs. Cette purification sur une cartouche de concentration permet d'abaisser les limites de détection et de quantification, tout en améliorant les performances de la méthode.

<sup>26</sup> CL : chromatographie en phase liquide ; CG : chromatographie en phase gazeuse ; UV : ultraviolet ; FLD : fluorescence ; SM : spectrométrie de masse ; SM/SM : spectrométrie de masse en tandem ; SMHR : spectrométrie de masse haute résolution

## 8.1 Méthodes normalisées

### 8.1.1 Méthode normalisée sur matrice eau

La norme internationale ISO 20179/2005 (2005) décrit la procédure analytique de dosage des MC dans les eaux douces brutes (fraction de MC intracellulaire dans la biomasse de cyanobactéries, ou fraction de MC dissoute dans l'eau) et dans les EDCH. Cette méthode, utilisée dans le cadre du contrôle sanitaire, est validée pour trois variants de microcystines (MC-RR, MC-YR et MC-LR).

Les échantillons d'eau brute font l'objet dans un premier temps d'une filtration sur un filtre en fibre de verre. La biomasse de cyanobactéries est extraite avec un mélange méthanol/eau. L'extrait obtenu et le filtrat font l'objet d'une étape de purification sur cartouche dite « SPE » (extraction en phase solide) avec une élution des MC dans un mélange de solvant méthanol/eau contenant une faible quantité d'acide trifluoroacétique (TFA). La quantification des MC est réalisée par une analyse physico-chimique en CL-UV en utilisant une gamme d'étalonnage externe d'un mélange d'étalons des trois MC (-RR, -YR, -LR). Les résultats peuvent être exprimés en additionnant les deux types de résultats obtenus sur les deux parties (extrait de la biomasse et filtrat d'eau).

Des travaux normatifs internationaux ont également été initiés pour proposer une méthode d'analyse par CL SM/SM pour les microcystines (ISO/CD 22104).

**Pour les autres cyanotoxines, il n'existe pas à ce jour de méthodes normalisées.**

### 8.1.2 Autres méthodes standardisées internationales

D'autres méthodes standardisées existent au niveau international. À titre d'exemple, on peut citer les deux méthodes de l'United States Environmental Protection Agency (US-EPA) pour déterminer la concentration de cyanotoxines dans l'eau potable : i) la méthode EPA 544 pour les MC (MC-LA, -LF, -LR, -LY, -RR, -YR) (US EPA, 2015b) ; ii) la méthode EPA 545 pour la CYN et l'ATX (US EPA, 2015c). La méthode EPA 544 comprend les étapes de purification et de quantification par CL-SM/SM. Pour la CYN et l'ATX, la méthode permet une quantification directe par CL-SM/SM (sans étape de concentration sur cartouche SPE).

Dans certains pays (Australie, Nouvelle-Zélande), il existe des lignes directrices faisant état de méthodes (de référence ou alternatives) recommandées pour l'analyse des cyanotoxines dans l'eau (Tableau XXII, Anonymous 2017).

**Tableau XXII : méthodes de référence et alternatives définies dans les lignes directrices du Drinking-Water Quality Management de Nouvelle-Zélande**

Cyanotoxines	Méthodes de référence	Méthodes alternatives
MC	CL-UV/PDA* (Lawton <i>et al.</i> 1994 ; Meriluoto 1997)	CL-SM/SM (Zweigenbaum <i>et al.</i> , 2000 ; Barco <i>et al.</i> , 2002 ; Spoof <i>et al.</i> , 2003 ; EPA Méthode 544)  ADDA-ELISA (Fisher <i>et al.</i> , 2001).  PP2A (An et Carmichael 1994 ; Meriluoto, 1997 ; Ward <i>et al.</i> , 1997)
ATX et homo-ATX	CL-SM/SM (Quilliam <i>et al.</i> , 2001, Rao et Powell, 2003 ; Namikoshi <i>et al.</i> , 2003 ; Dell'Aversano <i>et al.</i> , 2004);	LC-FLD (James <i>et al.</i> , 1998)  LC-UV (Wong et Hindin, 1982)
CYN	CL-SM/SM (Eaglesham <i>et al.</i> , 1999 ; Dell'Aversano <i>et al.</i> , 2004)	CL-SM/SM (EPA Méthode 545)  CL-PDA (Törökne <i>et al.</i> , 2004)
STX	CL-FLD (Lawrence et Niedzwiadek, 2001 ; Oshima <i>et al.</i> , 1989 ; Oshima 1995a, 1995b )	CL-SM/SM (Quilliam <i>et al.</i> , 2001; Dell'Aversano <i>et al.</i> , 2004).  Bioassai sur souris : (Falconer, 1993).  Receptor Binding Assay (Powell et Doucette, 1999) ; Doucette <i>et al.</i> , 1997; Ruberu <i>et al.</i> , 2003)

\*PDA : photo diode array

Source : Anonymous, 2017

En France, à ce jour neuf laboratoires sont agréés pour l'analyse des cyanotoxines dans le cadre du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de loisirs pour au moins une cyanotoxine. Les cyanotoxines les plus fréquemment ciblées sont les microcystines LR, YR et RR.

Les limites de quantification (LQ) médianes sont de 0,1 à 0,2 µg.L<sup>-1</sup> (Anses, 2019). L'arrêté du 11 janvier 2019<sup>27</sup> impose une limite de quantification maximale de 0,5 µg.L<sup>-1</sup> et une incertitude maximale de 50 %.

## 8.2 Méthodes non normalisées

D'autres protocoles d'essais issus de la norme ISO 20179 (2005), validés en interne et parfois accrédités COFRAC (ISO 17025) sont utilisés pour la quantification des MC par CL-UV, CL-SM/SM ou encore par méthode immunochimique.

<sup>27</sup> Arrêté du 11 janvier 2019 (modifiant l'arrêté du 5 juillet 2016 relatif aux conditions d'agrément des laboratoires pour la réalisation des prélèvements et des analyses du contrôle sanitaire des eaux et de l'arrêté du 19 octobre 2017 relatif aux méthodes d'analyse utilisées dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux.

## 8.2.1 Préparation de l'échantillon

### 8.2.1.1 Matrice eau brute

Actuellement, pour réaliser le dosage des cyanotoxines dans l'eau lors d'une efflorescence de cyanobactéries, il est nécessaire de préparer l'échantillon d'eau brute. Il faut en particulier séparer les fractions solides (cyanobactéries) et liquides (eau). Cette séparation est indispensable pour distinguer les toxines intracellulaires et les toxines extracellulaires. La concentration totale en toxines par unité de volume peut être obtenue par la somme de ces deux fractions.

Pour libérer les toxines intracellulaires, les cellules de cyanobactéries sont lysées. En raison de la difficulté à lyser les parois des cyanobactéries, différentes étapes peuvent être réalisées telles la congélation/décongélation, suivie d'une ou plusieurs étapes de sonication (Rivetti *et al.*, 2015 ; Rubio *et al.*, 2014 ; Yen *et al.*, 2011 ; Oehrle *et al.*, 2010 ; Rapala *et al.*, 2002). Le broyage mécanique à l'aide de billes de verre s'avère également particulièrement efficace pour l'extraction des cyanotoxines à partir de cyanobactéries (Devlin *et al.*, 2013) et présente de nombreux avantages sur la sonication notamment le traitement d'une vingtaine d'échantillons simultanément (Serive *et al.*, 2012). Pestana *et al.* (2014) ont comparé trois méthodes d'extraction - congélation/décongélation, lyophilisation, extraction directe au méthanol - avec différents prétraitements (homogénéisation, sonication et combinaison des deux). Les auteurs concluent que la sonication avec une sonde ou un bain à ultrasons suivie d'une lyophilisation était la meilleure combinaison pour l'extraction des microcystines.

#### 8.2.1.1.1 *Microcystines*

Les échantillons de cyanobactéries doivent être préparés de façon à optimiser l'extraction des microcystines tout en limitant l'extraction concomitante de matières organiques susceptibles d'interférer avec les toxines cibles. Après la lyse des cellules, l'extraction des MC, sous la forme libre, est majoritairement réalisée avec du méthanol (dos Anjos *et al.*, 2006) ou avec un mélange méthanol/eau à différents pourcentages de méthanol (Aguete *et al.*, 2003 ; Lawrence et Menard, 2001).

D'autres méthodes de traitement d'échantillon ont été testées, telle que l'extraction au point trouble (en anglais *Cloud Point Extraction* ou CPE), procédé d'extraction liquide-liquide qui représente une bonne alternative aux techniques classiques d'extraction, car cette méthode simple, efficace, et peu coûteuse, est considérée comme « verte » puisqu'aucun solvant organique toxique n'est utilisé. Cette technique a été appliquée sur des échantillons d'eau de surface dopés avec des MC (Man *et al.*, 2002). L'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique est une méthode qui n'utilise pas de solvant organique et qui présente l'avantage de limiter la dénaturation des composés extraits (Pyo et Lim, 2006 ; Pyo *et al.*, 1999 a et b ; Pyo et Shin, 1999).

Les procédures de concentration/purification des extraits obtenus s'appuient couramment sur l'utilisation d'une phase solide (SPE) permettant de concentrer les molécules d'intérêt afin de les rendre plus détectables, tout en permettant de « purifier » également les matrices. En effet, lors de la détection des cyanotoxines par spectrométrie de masse, les phénomènes de suppression ou d'augmentation de signal liés à des composés de la matrice, qui sont co-extraits avec les cyanotoxines et qui interfèrent avec leur analyse sont fréquents (Lajeunesse *et al.*, 2012 ; Matuszewski *et al.*, 2003).

La silice greffée n-octadécyle (phase inverse C<sub>18</sub>) est l'adsorbant le plus utilisé pour la purification des MC (Harada *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2012 ; Fayad *et al.*, 2015). La purification des MC a également pu être menée sur de la silice greffée CN (AccuBond cyano), en phase normale (Pyo et Shin, 2002) et sur SPE-immunoaffinité (Aguete *et al.*, 2003 ; Lawrence et Menard, 2001).

Le dosage des MC sous leurs formes libres peut largement sous-estimer la concentration totale de ces toxines présentes dans un échantillon (d'eau, de cyanobactéries ou de matrice animale). La quantification indirecte des MC liées, à des protéines par exemple, peut être réalisée soit par une réaction d'oxydation, selon la technique de Lemieux (Robinson *et al.*, 1991b ; Sano *et al.*, 1992), soit par ozonolyse (Harada *et al.*, 1996), qui se traduit par la libération d'un fragment de l'acide aminé ADDA, commun aux microcystines et nodularines : l'acide 2-méthyl-3-méthoxy-4-phénylbutyrique (acide carboxylique MMPB). Le dosage de ce marqueur unique permet de déterminer la quantité totale de MC<sup>28</sup>, quels que soient les variants et la forme en présence (libre et liée, la forme liée est déduite par différence de la quantité totale après oxydation et de

---

<sup>28</sup> Ce marqueur est également spécifique de la nodularine

la forme libre déterminée sans oxydation) (Lance *et al.*, 2010 ; Neffling *et al.*, 2010). En revanche, cette méthode ne reste que trop peu utilisée, sans doute à cause de son relativement faible rendement (environ 30 %). De plus, elle ne permet pas d'identifier les variants de MC présents. Cependant, Roy-Lachapelle *et al.* (2014) décrivent avoir optimisé l'étape d'oxydation en la couplant à une étape d'extraction liquide-liquide avec de l'acétate d'éthyle permettant d'obtenir des rendements d'oxydation de 100 % pour l'analyse des MCs totales dans des échantillons environnementaux (eaux de lac).

L'étape d'oxydation permettant l'analyse des MC totales *via* le fragment MMPB n'est pas encore réalisée en routine dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux en France.

#### 8.2.1.1.2 Cyanotoxines hydrophiles

L'extraction des cyanotoxines hydrophiles (ATX, CYN, STX) à partir des échantillons de cyanobactéries est réalisée à l'aide de solutions acides (ex : acide acétique ou acide chlorhydrique) (dos Anjos *et al.* 2006 ; Araoz *et al.*, 2005 ; Lawton *et al.*, 1994). Il a aussi été montré que l'extraction à partir d'un lyophilisat nécessite la présence d'eau dans le solvant d'extraction (Fastner *et al.*, 1999 ; Osswald *et al.*, 2009). Cette étape d'extraction n'est cependant pas nécessaire dans le cas de l'analyse directe de l'échantillon d'eau brute contenant les cyanobactéries, si ce dernier a subi au préalable une étape de congélation/décongélation puis filtration sur fibre de verre 0,7 µm suivie de l'analyse du filtrat (Rubio *et al.*, 2014).

Concernant le choix des supports de purification, si les supports de type C<sub>18</sub> ont tout d'abord été préconisés pour purifier l'ATX et l'homo-anatoxine (hATX) (Araoz *et al.*, 2005), des cartouches polymériques mixtes, présentant un spectre d'extraction beaucoup plus large, semblent mieux adaptées à l'extraction des toxines hydrophiles (ATX, CYN, STX) (Dimitrakopoulos *et al.*, 2010). L'ATX a également pu être purifiée sur cartouche SPE-échangeuse de cations (Osswald *et al.*, 2009).

#### 8.2.1.2 Matrice poisson

L'extraction des cyanotoxines présentes dans les poissons varie selon la nature des toxines recherchées, leur polarité et le tissu étudié. L'efficacité de l'extraction est également dépendante de la technique analytique choisie pour la détection-quantification. D'une manière générale, l'étape d'extraction requiert l'utilisation de solvant organique et une action mécanique pour broyer les tissus, voire même, selon certains protocoles, une étape de chauffage.

**À ce jour, il n'existe pas de méthode normalisée pour ce type de matrice.**

##### 8.2.1.2.1 Microcystines

Différents solvants ou mélanges de solvants ont été testés pour l'extraction des MC à partir de différentes matrices de poissons. C'est le cas du méthanol dilué à 75 % dans de l'eau, utilisé avec ou sans ajout de 0,05 % d'acide acétique sur des tissus de saumons, de truites arc-en-ciel, de brochets (Lawrence et Menard, 2001), de capucettes et de carpes (Berry *et al.*, 2011 ; 2012). Preece *et al.* (2015) ont testé et comparé quatre protocoles d'extraction utilisant différents mélanges de solvants : 75 % d'acétonitrile (ACN) ; 75 %, 90 % ou 100 % de méthanol (MeOH), sur des tissus de muscles dorsaux de truite arc-en-ciel dopés avec un mélange de MC. Les meilleurs rendements de récupération ont été obtenus avec 75 % de MeOH.

L'utilisation d'autres solvants a également été rapportée, c'est le cas d'un mélange eau/MeOH/butanol (BuOH) (75/20/5 ; vol/vol/vol) utilisé pour l'extraction des MC à partir de différents tissus de truites juvéniles (branchies, foie, intestin, muscles) (Cadel-Six *et al.*, 2014) ou encore d'une solution à 0,01 M de sel de disodium de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA-Na<sub>2</sub>) – 5 % acide acétique, utilisée pour l'extraction de la MC-LR et ses conjugués glutathion (MC-LR-GSH) à partir de foies et reins de poissons (Dai *et al.*, 2008). L'utilisation de solvants organiques n'est pas nécessaire puisque Bogianni *et al.* (2005) ont extrait les MC de filets de truites, mulets, perches et poissons rouges en utilisant une colonne en acier inoxydable comme cellule d'extraction. Les tissus de poisson mélangés avec du sable ont été introduits dans la cellule d'extraction et les toxines ont été extraites avec de l'eau acidifiée avec de l'acide chlorhydrique (HCl) à pH 2 et chauffée à 80°C, avant de passer à travers la cellule d'extraction à un débit constant.



Pour l'extraction des MC totales à partir de différentes matrices, une procédure spécifique a été décrite ; il s'agit de l'oxydation de Lemieux, évoquée précédemment, qui permet la libération d'une partie de la fraction ADDA, le groupement MMPB. Cette procédure a déjà été utilisée sur des juvéniles de truites (Cadel-Six *et al.*, 2014), ainsi que pour d'autres poissons (Suchy et Berry, 2012).

#### 8.2.1.2.2 Cyanotoxines hydrophiles

L'ATX-a a été extraite de différents poissons (truites, mullets, perches, poissons rouges) en utilisant une colonne en acier inoxydable comme cellule d'extraction (Bogialli *et al.*, 2006). Les tissus de poissons mélangés avec du sable sont introduits dans la cellule d'extraction et la toxine est extraite avec de l'eau acidifiée avec HCl à pH 2 qui passe à travers la cellule à un débit constant.

Guzman-Guillen *et al.* (2015) ont optimisé et développé une méthode pour l'analyse de la CYN dans différents tissus de poissons : le muscle et le foie de Tilapia. La CYN est extraite avec un mélange d'eau et d'ACN (30/70 ; vol/vol), contenant 0,5 % de TFA.

La CYN peut également être extraite de filets de poissons (truites, poissons-chats, saumons, ombles) en utilisant la méthode AOAC 2005.06 (Lawrence *et al.*, 2005), initialement développée pour l'analyse des toxines du groupe des saxitoxines (STX). La CYN est extraite de la matrice avec une solution d'acide acétique à 1 %. La purification des extraits de poissons contaminés en CYN peut être réalisée par passage sur deux cartouches consécutives de type SPE, d'abord une C<sub>18</sub>, l'éluat est ensuite passé sur cartouche en carbone graphite poreux avant d'être analysé (Guzman-Guillen *et al.*, 2015).

Il existe différents protocoles dans la littérature pour l'extraction de la STX et de ses variants à partir de matrices de type mollusques et crustacés. En revanche, les informations concernant l'extraction des STX à partir de matrices de type poissons d'eau douce sont rares et concernent l'analyse ELISA (Hardy *et al.*, 2015).

### 8.2.2 Identification et quantification des cyanotoxines

La quantification des cyanotoxines comprend une étape de séparation par CL (plus rarement par CG) puis de détection par UV, FLD, SM ou SM/SM. Ces techniques nécessitent l'accès à un équipement plus ou moins onéreux et la présence d'un personnel spécialisé. Les méthodes telles que les tests immunologiques de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) sont également opérationnelles, surtout pour le traitement de nombreux échantillons, car elles sont relativement simples à réaliser et moins coûteuses.

#### 8.2.2.1 Méthodes physico-chimiques

Le Tableau XXIII regroupe les principales méthodes physico-chimiques communément utilisées pour la quantification des cyanotoxines. Comme pour toute molécule chimique, il faut souligner que les méthodes physico-chimiques nécessitent de disposer d'étalons des différents groupes de cyanotoxines pour confirmer à la fois leur identité (analyse qualitative) et leur concentration (analyse quantitative). Or, très peu d'étalons sont disponibles dans le commerce, en particulier les étalons correspondant aux différents variants d'un groupe de cyanotoxines donné. Les principales solutions standards actuellement disponibles sur le marché et utilisées par les laboratoires sont présentées dans le rapport de Coudert *et al.* (2014).

##### 8.2.2.1.1 Microcystines

L'analyse des MC se fait par CL sur des colonnes en phase inverse de type C<sub>18</sub>. À l'aide d'étalons des toxines ciblées, la détection peut être réalisée par spectrophotométrie UV et les toxines sont identifiées selon le temps de rétention et le spectre UV qui leur est caractéristique (Lawrence *et al.*, 2001 ; Man *et al.*, 2002 ; Van Apeldoorn *et al.*, 2007). Ces toxines ont différents chromophores qui absorbent entre 220 et 240 nm pour les MC. Ainsi, Lawrence et Menard (2001) ont analysé par CL-UV des échantillons de poissons purifiés par immuno-affinité ; la longueur d'onde pour la détection utilisée était de 238 nm.

La CL couplée à la spectrométrie de masse a également été utilisée pour l'identification et la quantification des MC dans différentes matrices (ex : cyanobactéries, organismes aquatiques) (Bogialli *et al.*, 2005 ; Cadel-Six *et al.*, 2014 ; Dai *et al.*, 2008 ; Geis-Asteggiane *et al.*, 2011a ; Harada *et al.*, 2004 ; Hiller *et al.*, 2007 ; Karlsson *et al.*, 2005 ; Kohoutek *et al.*, 2010 ; Mekebrei *et al.*, 2009 ; Neffling *et al.*, 2009 ; Ott et

Carmichael, 2006 ; Pyo et Yoo, 2007 ; Wu *et al.*, 2010). En effet, la CL-SM/SM permet de confirmer l'identification basée sur quatre critères : le temps de rétention, la masse des ions, celles des ions fragments spécifiques (suite à la fragmentation des molécules en mode SM/SM) et les ratios d'ions (Metcalf et Codd, 2012 ; Lajeunesse *et al.*, 2012 ; Chen *et al.*, 2012 ; Li *et al.*, 2014 d ; Yen *et al.*, 2011 ; Fayad *et al.*, 2015 ; Greer *et al.*, 2016).

Les MC sont généralement analysées en mode d'ionisation positive et peuvent être détectées sous la forme d'un précurseur mono chargé  $[M+H]^+$  (Cadel-Six *et al.*, 2014) ou doublement chargé  $[M+2H]^{2+}$  (Boglialli *et al.*, 2005).

Afin de quantifier les MC totales, le MMPB libéré après l'oxydation de Lemieux (décrite plus haut), peut être détecté par CL-SM/SM sous la forme de l'ion précurseur  $[MMPB+H]^+$  et de fragments caractéristiques (Cadel-Six *et al.*, 2014). Dans le cas de l'analyse des MC totales dans l'eau brute, la matrice issue de cyanobactéries peut être analysée après oxydation de Lemieux sans séparation chromatographique préalable, en la chauffant avec un rayon infra-rouge directement dans l'analyseur LDTD-APCI (Laser Diode Thermal Desorption- Atmospheric Pressure Chemical Ionisation) (Roy-Lachapelle *et al.*, 2014). La limite de quantification rapportée est de  $0,9 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour l'ion précurseur  $[MMPB-H]^-$  et ses deux fragments suivis.

La CG-SM a également été rapportée pour l'analyse des MC totales. Ainsi Suchy et Berry (2012) ont analysé des extraits de poissons obtenus par micro-extraction en phase solide couplée à la CG-SM après oxydation de Lemieux et estérification méthylique. La fragmentation de l'ester méthylique du MMPB en impact électronique (EI)-SM ne présente pas de pic correspondant à l'ion moléculaire  $M^+$ , mais des ions issus de la fragmentation du MMPB. Les résultats CG-SM correspondant aux MC totales étaient plus élevés que ceux obtenus par ELISA correspondant à la forme libre des toxines. Williams *et al.* (1997) ont également analysé des extraits de moules par CG-SM après oxydation de Lemieux et ont suivi deux ions fragments détectés en EI.

#### 8.2.2.1.2 Cyanotoxines hydrophiles

Les composés hydrophiles peuvent être séparés par chromatographie de partage à polarité de phase inversée avec une détection UV. Le spectre d'absorption est maximum à 262 nm pour la CYN et 227 nm pour l'ATX (Welker *et al.*, 2002a ; Metcalf *et al.*, 2001). Pour les cyanotoxines ne possédant pas de chromophore (groupement d'atomes comportant une ou plusieurs double(s) liaison(s) permettant leur détection en UV), elles peuvent être détectées avec un détecteur de fluorescence (FLD) après une réaction de dérivation ayant pour finalité de rendre les toxines fluorescentes. C'est le cas par exemple du groupe STX pour lequel deux méthodes sont utilisées, avec une dérivation pré- ou post-colonne chromatographique (Oshima *et al.*, 1995 ; Lawrence *et al.*, 2005 ; Van De Riet *et al.*, 2009 ; DeGrasse *et al.*, 2011). La détection par FLD après dérivation peut aussi être employée pour les toxines dont la détection UV est possible comme l'ATX-a et ses variants, car elle permet d'augmenter la sensibilité (Van Apeldoorn *et al.*, 2007 ; Osswald *et al.*, 2009). De la même manière, pour l'ATX-a, Furey *et al.* (2005) ont comparé deux approches : i) une dérivation avec le NBD-F (fluoro-nitro-benzoxadiazole) suivie d'une détection par CL-FLD ; ii) une méthylation au diazométhane suivie d'une détection par CL-SM (SM simple quadripole) pour éviter l'interférence avec la phénylalanine. La CG a également été employée par exemple pour l'ATX-a après dérivation pour rendre la molécule volatile (Bumke-Vogt *et al.*, 1999 ; Araoz *et al.*, 2005).

Aujourd'hui la CL couplée à la spectrométrie de masse (SM simple ou SM/SM en tandem) est la technique la plus fréquemment utilisée pour l'identification et la quantification des cyanotoxines hydrophiles (Furey *et al.*, 2003 ; Dell'Aversano *et al.*, 2005 ; Dimitrakopoulos *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2013). Récemment, Roy-Lachapelle *et al.* (2015) ont développé une méthode de détection de l'ATX en utilisant la CL-SMHR. Cette dernière est plus spécifique puisqu'elle permet d'éviter les faux positifs dus à la présence dans la matrice de substances ayant la même masse moléculaire que la toxine ciblée (composés isobares). À titre d'exemple, la phénylalanine est un acide aminé qui peut interférer dans l'analyse de l'ATX-a par SM basse résolution, en particulier en absence d'une bonne séparation chromatographique (Araoz *et al.*, 2008 ; Roy-Lachapelle *et al.*, 2015).

Poyer et ses collaborateurs (2015) ont développé une méthode CL-SM/SM basée sur les principes de chromatographie liquide d'interaction hydrophile (HILIC) et la mobilité ionique (MI) pour séparer et analyser les STX. Toutes les toxines sont analysées en mode d'ionisation positive mais les gonyautoxines (GTX) peuvent également être analysées en mode négatif pour une meilleure sensibilité. Le couplage complémentaire HILIC-MI-SM permet la différenciation de tous les variants étudiés ; la séparation des isomères des GTX est réalisée dans la dimension HILIC tandis que les variants non sulfatés sont séparés en MI-SM.

### 8.2.2.1.3 Analyse multi-cyanotoxines (microcystines & cyanotoxines hydrophiles) par CL-SM/SM

L'analyse multi-cyanotoxines de différentes polarités doit passer par une étape de préparation des échantillons permettant d'extraire la quasi-totalité des cyanotoxines présentes dans la matrice. Aussi, leur extraction simultanée avec un mélange de solvant organique (ex. méthanol) et d'eau (Dahlmann *et al.*, 2003 ; Greer *et al.*, 2016) ou de solvant organique et d'acides (Dell'Aversano *et al.*, 2004 ; Hiller *et al.*, 2007 ; Lajeunesse *et al.*, 2012) constitue un compromis acceptable. L'amélioration des méthodes d'analyse multi-cyanotoxines a permis la mise en place de méthodes intégrant l'étape d'extraction en phase solide en ligne lors de l'analyse CL-SM/SM, et donc une quantification directe en temps réel de plusieurs familles de cyanotoxines de différentes polarités (MC, CYN, ATX) (Fayard *et al.*, 2015). Néanmoins, l'application de l'analyse multi-cyanotoxines dans des échantillons biologiques complexes peut poser des problèmes d'effets matrices (Lajeunesse *et al.*, 2012). Cette approche semblerait plutôt appropriée au traitement des échantillons moins complexes (tels les eaux brutes contenant des cyanobactéries), même si certains auteurs l'ont utilisée pour l'analyse de matrices biologiques (chairs de poissons ou de mollusques) (Al-Sammak *et al.*, 2014 ; Berry et Lind, 2010 ; Bogianni *et al.*, 2005). Afin de réduire les effets matrices, des étalons internes peuvent être utilisés pour obtenir une quantification plus juste tenant compte à la fois des rendements d'extraction et des effets matrices. Un étalon interne peut, lorsqu'il est disponible, correspondre à un isotope stable de la molécule cible. À titre d'exemple, les étalons internes U-[<sup>15</sup>N<sub>5</sub>]-CYN et <sup>15</sup>N-MCs permettent de corriger à la fois les effets matrices sur l'analyse mais également les pertes liées à la préparation des échantillons (Van De Steene *et al.*, 2006 ; Sano *et al.*, 2011 ; Kittler *et al.*, 2014). À défaut d'étalon interne, la purification par SPE est une bonne alternative permettant de réduire les effets matrices pour un résultat plus juste (Chambers *et al.*, 2007).

## 8.2.2.2 Méthodes biochimiques ou fonctionnelles

Ces méthodes sont basées sur le mécanisme d'action, soit quand une cible cellulaire a été identifiée soit quand un processus cellulaire particulier est altéré. Ces méthodes permettent la quantification d'une activité biologique, en comparaison de la réponse avec la toxine étalon considérée. Les résultats quantitatifs sont donc exprimés en équivalents de la toxine étalon. Il est à noter que ces approches ne permettent pas d'identifier les variants des toxines présentes.

### 8.2.2.2.1 Microcystines et inhibition des protéines phosphatases

Les microcystines inhibent les protéines phosphatases de sérine/thréonine principalement de type 1 et 2A (PP1 et PP2A) *in vitro* et *in vivo* (Jing et Sun, 2015). Cette propriété a été mise à profit pour développer des tests enzymatiques dans lesquels la transformation d'un substrat par la protéine phosphatase est inhibée par la présence de ces toxines et une limite de détection de l'ordre de 0,1 µg MC-LR.L<sup>-1</sup> est rapportée pour cette méthode (Coudert *et al.*, 2014). L'inhibition des PP est un test de détection sensible et rapide. Le résultat est exprimé en équivalent de la toxine étalon, souvent la MC-LR.

Une autre version de ce test est basée sur le dosage du <sup>32</sup>P libéré par un substrat radioactif suite à l'action enzymatique de la phosphatase (PP1 et PP2A) (Ortea *et al.*, 2004 ; Robillot et Hennion, 2004). La sensibilité est alors excellente puisque la détection de quelques centaines de picogrammes est assurée. De plus, ce test est rapide (de l'ordre de quelques heures) et ainsi utilisable sur de grandes séries d'échantillons. La méthode a été utilisée pour doser des MC dans l'environnement marin, dans des extraits de foie de saumon (Andersen *et al.*, 1993), dans des extraits de cyanobactéries d'eau douce (Craig *et al.*, 1993) ou encore dans de l'eau de boisson (Lambert *et al.*, 1994). Bien que cette méthode ait été largement utilisée en recherche, son application en routine a été freinée en raison de l'utilisation de la radioactivité, l'agrément du laboratoire (matériels et organisation des locaux spécifiques) et la formation du personnel. C'est pourquoi des variantes de ce test évitant l'utilisation de matériels radioactifs ont également été développées. L'inhibition de la phosphatase peut ainsi être mesurée par colorimétrie (An et Carmichael, 1994 ; Sassolas *et al.*, 2012), par fluorescence (Fontal *et al.*, 1999) ou par bioluminescence (Isobe *et al.*, 1995). Une technique électrochimique a également été proposée en couplant la PP1 à des billes magnétiques (Reverté *et al.*, 2013).

Récemment, des équivalences d'inhibition ont été déterminées à partir de données d'inhibition des PP1 et 2A pour différents variants de MC (Garibo *et al.*, 2014). Ces auteurs rapportent des limites de détection (LD) de 3,1 µg.L<sup>-1</sup> pour la PP2A, 0,6 µg.L<sup>-1</sup> pour PP1 (enzymes recombinantes) et de 0,5 µg.L<sup>-1</sup> pour PP2A (enzyme sauvage). Le potentiel d'inhibition du plus faible au plus élevé permet de classer les variants de MC : MC-LR > MC-RR > MC-YR > MC-LY > MC-LW > MC-LF. Des PP1 et PP2A de différentes origines

(homme, bovin, lapin) peuvent être utilisées et la réponse vis-à-vis de nombreux variants de MC a été testée (Ufelman *et al.*, 2012).

Un test utilisant une enzyme PP2A commerciale a été utilisé sur des échantillons de cultures de cyanobactéries et des prélèvements environnementaux (Robillot et Hennion, 2001). Sur les eaux de surface, des effets de matrice entraînent quelques faux positifs pour de très faibles concentrations en toxines. Pour les matrices cellulaires, l'extraction au méthanol permet d'éviter la co-extraction d'une activité phosphatase endogène qui tend à sous-estimer le contenu en MC (Codd *et al.*, 2001). La limite de détection de ce test est de 0,1 µg équivalent MC-LR.L<sup>-1</sup>, lorsque ce variant est utilisé pour l'étalonnage du test. Cette méthode a été utilisée pour déterminer et classer les produits formés après désinfection qui conservaient ou non une capacité d'inhibition de la PP1 (Rodriguez *et al.*, 2008 ; Zong *et al.*, 2013). Elle a servi également pour évaluer le contenu en MC d'échantillons naturels (Wood *et al.*, 2008).

Les formes conjuguées au glutathion (GSH) des MC-LR et -RR montrent des inhibitions bien moins fortes vis-à-vis de la PP1 expliquant la diminution de toxicité : MC-LR-GSH, et MC-RR-GSH IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice médiane) de 86,6 ± 1,2 µmol.L<sup>-1</sup> et 98,7 ± 1,0 µmol.L<sup>-1</sup>, comparées respectivement à 2,5 ± 0,2 µmol.L<sup>-1</sup> et 24,4 ± 0,5 µmol.L<sup>-1</sup> pour les composés parents non-conjugués (Zong *et al.*, 2017).

Ce test est un bon candidat pour la surveillance avec des possibilités d'analyses à haut débit mais il ne sera pas possible de distinguer les variants de MC présents dans une efflorescence. Ce type de test biochimique aurait sa place dans le cadre d'un dispositif de surveillance intégrant une première phase de criblage biochimique suivie d'une seconde phase de confirmation utilisant une approche plus spécifique et ciblée (eg. CL-SM/SM). Plusieurs publications comparent les réponses obtenues par analyse chromatographique, par ELISA et par inhibition des PP et soulèvent parfois des différences entre méthodes (Gaget *et al.*, 2017 ; Moore *et al.*, 2016 ; Rios *et al.*, 2014). Il semble que, même si les résultats d'inhibition de PP et d'ELISA sont bien corrélés, les estimations de concentrations obtenues avec l'ELISA sont plus élevées qu'avec l'inhibition de PP1 (Gaget *et al.*, 2017 ; Hawkins *et al.*, 2005). Par contre, Rios *et al.* (2014) rapportent des différences entre les résultats d'ELISA et de CL-SM/SM alors qu'une bonne corrélation est obtenue entre le test d'inhibition de PP2A et la CL-SM/SM.

#### 8.2.2.2.2 *Anatoxine-a et interaction avec le récepteur nicotinique de l'acétylcholine*

Des essais de compétition de la liaison au récepteur nicotinique de l'acétylcholine ont été développés pour la détection de l'ATX-a et de ses variants en utilisant des récepteurs isolés d'organes électriques de torpilles du genre *Torpedo* et, comme molécule compétitrice, l'alpha bungarotoxine radiomarquée (Araoz *et al.*, 2011) ou biotinylée (Araoz *et al.*, 2008). Un autre système utilisant des récepteurs couplés à un dérivé de la fluorescéine permet de détecter un changement de polarisation et a été comparé à une détection par CL-SM/SM (Sanchez *et al.*, 2014).

#### 8.2.2.2.3 *Anatoxine-a(s) et inhibition de l'acétylcholine-estérase*

L'anatoxine-a(s) est un inhibiteur irréversible de l'acétylcholine-estérase (AChE) (Hyde et Carmichael, 1991) ce qui a permis le développement d'un test enzymatique qualitatif et quantitatif (Mahmood et Carmichael, 1986). Cependant, cet essai n'est pas spécifique à l'anatoxine-a(s) puisqu'il est susceptible de détecter toute activité anticholinestérasique, notamment celle des pesticides organophosphorés et des carbamates. Les résultats quantitatifs sont exprimés en équivalents de la toxine étalon. Basé sur cette propriété, un système biocapteur (permettant de traduire le signal biologique d'inhibition de l'enzyme en signal électrique) a été développé à partir d'enzyme isolée de l'anguille électrique *Electrophorus electricus* disponible commercialement (limite de détection = 1 µg.L<sup>-1</sup> anatoxin-a(s)) (Villatte *et al.*, 2002). Afin d'améliorer la spécificité, un autre biocapteur a été construit avec des mutants d'AChE de drosophile afin de séparer des réponses potentiellement dues aux insecticides de celles plus spécifiques de l'anatoxine-a(s) (limite de détection = 0,5 nmol.L<sup>-1</sup>) (Devic *et al.*, 2002). Peu de publications dans la littérature rendent compte de l'application de ce type d'essai avec des extraits de cyanobactéries (Molica *et al.*, 2005 ; Zelik *et al.*, 2009).

#### 8.2.2.2.4 *Cylindrospermopsine et inhibition de la synthèse protéique*

Un test d'inhibition de la synthèse protéique a été mis au point à l'aide d'un test utilisant un lysat commercial de réticulocytes de lapin. Cette technique permet de visualiser l'incorporation de la leucine tritiée lors de la synthèse des protéines. Les premiers résultats ont montré une bonne corrélation avec les quantifications par

CLSM/SM (Froschio *et al.*, 2001). Cependant, très peu de publications se sont référées à ce test pour la détection de la CYN (Gaget *et al.*, 2017).

#### 8.2.2.2.5 Saxitoxine et interaction avec le canal sodium

Les tests fonctionnels développés pour la détection de la STX sont basés sur l'interaction entre la toxine et l'une de ses cibles pharmacologiques, le site 1 du canal sodium. Un test de compétition de la liaison au récepteur a été développé (Doucette *et al.*, 1997 ; Llewellyn et Doyle, 2001). Cependant, ce test nécessite l'utilisation de la STX tritiée comme substrat de compétition ce qui limite son utilisation en raison de sa radioactivité. Ce type de test a été largement évalué et comparé avec le bioessai sur souris et avec l'analyse chimique en CL/FLD pour la détection des phycotoxines de type saxitoxine dans les coquillages (Ruberu *et al.*, 2003 ; Costa *et al.*, 2009 ; Van Dolah *et al.*, 2009 et 2012 ; Ruberu *et al.*, 2018 ; Turner *et al.*, 2018). Une limite de détection autour de 5 ng eq. STX.mL<sup>-1</sup> est rapportée (Cusick et Saylor, 2013). Ce test a été validé à l'aide d'études intra- et inter-laboratoires et constitue une méthode officielle de l'AOAC pour la détection de ces toxines dans les coquillages (OMA 2011.27). Des systèmes biocapteurs basés sur l'interaction avec le récepteur du canal sodium ont été proposés pour la détection des toxines du groupe de la STX (Campbell *et al.*, 2011).

#### 8.2.2.3 Méthodes immunologiques ou immunoessais

Ces méthodes sont basées sur le principe de la reconnaissance de motifs structuraux spécifiques (épitopes) de certaines toxines ou familles de toxines par des anticorps. Elles sont en général développées sous la forme d'essai ELISA utilisant des anticorps poly- ou monoclonaux dirigés contre une toxine ou un fragment spécifique. De nombreux kits sont commercialisés pour la détection de classes de toxines ou d'une toxine en particulier (MC, ATX, CYN et STX) (Weller, 2013 ; Coudert *et al.*, 2014).

Les kits ELISA sont destinés, en particulier, à la détection de toxines dissoutes dans l'eau et des précautions doivent être prises en cas d'utilisation sur des extraits de cyanobactéries et des matrices complexes pour éviter les faux négatifs et faux positifs, dus notamment à la présence de molécules pigmentées susceptibles d'interférer avec la détection colorimétrique du signal immunologique. Il est également recommandé de confirmer les résultats et d'identifier les toxines par CL-UV, CL-PDA ou CL-SM/SM lors de résultats positifs ; certains laboratoires confirment également un certain pourcentage (5 – 10 %) de résultats négatifs. La concentration en toxines étant déterminée par la mesure de la coloration que prend la solution qui est inversement proportionnelle à la concentration en toxines dans l'échantillon, des dilutions de l'échantillon sont aussi parfois nécessaires pour les kits dont les domaines de linéarité sont peu étendus.

Toutefois, les tests ELISA sont simples, suffisamment sensibles et rapides à mettre en œuvre pour permettre une analyse de façon qualitative ou quantitative, et des dosages globaux de l'ensemble des variants de MC potentiellement présents dans une efflorescence, lorsqu'on utilise notamment un anticorps reconnaissant le groupement ADDA, présentant une large réactivité croisée avec l'ensemble des variants de MC qui ont pu être testés.

##### 8.2.2.3.1 Microcystines

Pour le dosage des MC dans l'eau (brute, traitée), les kits ELISA commercialisés ont leur domaine de linéarité compris entre 0,05 et 5 µg équivalents MC-LR.L<sup>-1</sup> selon les kits (à défaut d'étalons de l'ensemble des variants, les résultats sont exprimés en équivalent MC-LR utilisé pour l'étalonnage du test).

La réactivité croisée avec d'autres MC varie selon l'anticorps primaire utilisé dans le kit.

Une procédure ELISA standardisée a également été publiée par l'US-EPA pour la détermination des MC intra et extracellulaires (dissoutes) dans l'EDCH et les eaux de loisirs. Elle est basée sur la détection du groupement ADDA, et sa limite de détection est de 0,26 µg MC-LR.L<sup>-1</sup> (US-EPA, 2015c).

##### 8.2.2.3.2 Cyanotoxines hydrophiles

Des anticorps poly- et monoclonaux anti-STX ont été développés et des kits ELISA ont été commercialisés avec une limite de détection se situant entre 0,001 et 0,03 µg STX.L<sup>-1</sup>, selon le kit (Weller, 2013). Pour l'ATX, un seul kit est commercialisé avec un domaine de linéarité compris entre 10 et 500 µg.L<sup>-1</sup> de toxine et un seuil de détection estimé à 10 µg.L<sup>-1</sup> (Coudert *et al.*, 2014). Deux kits sont disponibles pour la CYN avec des

domaines de linéarité compris entre 0,1 et 2 µg.L<sup>-1</sup>. Néanmoins, même avec les kits les plus récents, des faux-positifs restent possibles (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2015).

#### 8.2.2.4 Bioessais: *in vivo* & *in vitro*

##### 8.2.2.4.1 *Bioessais in vivo*

Pour la détection des toxines, les bioessais sur mammifères sont généralement réalisés par injection intrapéritonéale afin de limiter la quantité de toxine ou d'extrait nécessaire et d'augmenter la sensibilité. Certains symptômes observés chez les animaux ainsi que le temps de survie et les observations macroscopique et microscopique à l'autopsie peuvent orienter sur le type de toxine en présence, telles que les neurotoxines (signes neurologiques, mortalité rapide) ou les hépatotoxines (atteinte du foie, mortalité plus lente). Cependant, les effets des toxines au mode d'action rapide, comme les neurotoxines, peuvent masquer la présence concomitante de toxines au mode d'action plus lent, comme les hépatotoxines.

Des protocoles de détection peuvent également utiliser d'autres organismes, en particulier des invertébrés. En fonction de l'organisme utilisé, plusieurs voies d'exposition peuvent être investiguées comme l'injection intrapéritonéale, le gavage ou le contact direct par balnéation.

Les bioessais sur animaux, non spécifiques d'un type de toxine, sont utilisés pour objectiver la toxicité globale et peuvent être réalisés à partir d'un extrait obtenu à partir de cyanobactéries, d'un échantillon d'eau concentré ou d'une matrice complexe.

Il ne faut pas oublier que l'extraction conditionne le spectre de toxines qui pourra être détecté. Sans connaissance préalable, un minimum de deux séries de tests, associé à une extraction des hépatotoxines d'une part et des neurotoxines d'autre part, est recommandé.

#### **Bioessai sur souris**

C'est l'essai qui a été le plus couramment utilisé dans les publications pour déterminer la toxicité d'échantillons (extrait de culture ou d'une matrice comme le foie ou le muscle par exemple, lysat de cellules, solution de lyophilisat filtrée). Dans tous ces cas, d'autres composés cellulaires, toxiques ou non, peuvent interférer dans l'expression de la toxicité. Ce bioessai peut être utilisé en tant que méthode qualitative (présence/absence) ou semi-quantitative par référence à une cyanotoxine pure considérée comme représentative d'une famille de cyanotoxines.

Le bioessai sur souris consiste en une injection intrapéritonéale à un minimum de trois souris pour au moins deux dilutions de l'extrait à tester. Les souris restent en observation jusqu'à 24 h puis sont sacrifiées (Falconer, 1993). En plus du temps de latence pour la mort des souris, les symptômes observés et les résultats de l'examen post-mortem permettent de diagnostiquer la famille de cyanotoxine (hépatotoxine, neurotoxine) impliquée. Les résultats sont exprimés en dose létale minimale (DLM) par mg de poids sec de cellule de cyanobactéries ou de matrice et par kg de poids corporel.

Les échantillons supposés contenir de la saxitoxine peuvent se référer aux données disponibles concernant le bioessai sur souris utilisé comme méthode de référence pour la détection de cette famille de toxines dans les coquillages, puisque cette toxine est également connue pour être produite par des micro-algues marines et à l'origine de l'intoxication paralysante par les coquillages (Ben-Gigirey *et al.*, 2012). À la différence des hépatotoxines, les atteintes sont observées rapidement (quelques minutes après injection).

Le bioessai sur souris est une approche globale permettant à la fois d'estimer la toxicité et d'orienter vers le type de toxine(s) présente(s) dans un échantillon. Néanmoins, il présente les inconvénients suivants : manque de spécificité, interférences avec d'autres substances présentes dans les échantillons (Schantz *et al.*, 1958 ; Aune *et al.*, 1998 ; Turner *et al.*, 2012) et problèmes d'éthique face à l'utilisation d'animaux pour les tests de laboratoire. Pour ces raisons, les bioessais sur souris sont peu utilisés pour la détection de l'anatoxine-a, des microcystines et de la cylindrospermopsine. Cependant, la méthode alternative de détection des saxitoxines dans les coquillages (méthode AOAC 959.08) selon le règlement (UE) 2017/1980 de la Commission du 31 octobre 2017 modifiant l'annexe III du règlement (CE) n° 2074/2005 en ce qui concerne la méthode de détection des toxines paralysantes, se base sur ces bioessais et est utilisée par certains laboratoires (EURLMB 2010), notamment en France, en Australie et en Nouvelle-Zélande (Coudert *et al.*, 2014).

## Bioessais sur invertébrés

À ce jour, les bioessais sur invertébrés ne sont ni validés, ni intercalibrés pour la recherche et la quantification d'une ou plusieurs cyanotoxines. Parmi les bioessais sur invertébrés permettant de mettre en évidence une toxicité globale, le bioessai sur *Artemia salina* est le plus utilisé à ce jour car il ne nécessite pas de haute technicité, ni humaine ni matérielle. Des kits commerciaux standardisés sont aujourd'hui disponibles. Toutefois, la détection de faibles concentrations de cyanotoxines nécessite la purification préalable de l'échantillon.

La comparaison des résultats obtenus pour la microcystine avec ces kits, le bioessai sur souris et l'analyse chimique en CL-UV, a pu s'avérer satisfaisante (Lawton *et al.*, 1994 ; Törökné *et al.*, 2004).

Le bioessai sur daphnie permet également de mettre en évidence la toxicité des microcystines (Baird *et al.*, 1989). À titre expérimental, divers bioessais ont également été publiés, utilisant des moustiques adultes ou leurs larves (Turell et Middlebrook, 1988 ; Kiviranta *et al.* 1993), des mouches (*Drosophila melanogaster*) (Ross *et al.*, 1985 ; Swoboda *et al.*, 1994), des orthoptères (criquet, sauterelle) pour la détection des saxitoxines (McElhiney *et al.*, 1998), ces organismes n'étant pas sensibles à la MC-LR ou à l'anatoxine-a.

En conclusion, les bioessais sur invertébrés ne permettent pas d'identifier la nature de l'effet toxique. De plus la spécificité de la réponse face à d'autres contaminants potentiels pouvant se retrouver dans les eaux en particulier n'est pas garantie. Enfin pour certains, la lourdeur des manipulations ou du maintien des populations mais aussi leurs coûts élevés et les problèmes liés aux solvants utilisés lors des essais limitent leur emploi.

### 8.2.2.4.2 *In vitro*, sur cultures cellulaires

Ces essais présentent les avantages de pouvoir être miniaturisés et de ne pas nécessiter l'utilisation d'animaux. Ils mesurent essentiellement la viabilité ou le fitness des cellules<sup>29</sup> (potentiel mitochondrial, activité des lysosomes principalement). Pour estimer la viabilité, le test au bleu Trypan qui s'incorpore dans les cellules mortes dont la membrane est altérée, ou le test de la LDH (Lactate Déshydrogénase), enzyme intracellulaire libérée dans le milieu de culture suite à l'altération des membranes, sont les plus utilisés. Pour déterminer l'activité des mitochondries, on utilise des colorants qui se transforment au niveau de ces organites formant alors un précipité coloré (tests MTT, XTT, MTS<sup>30</sup>). Quant à l'activité lysosomale, le test le plus utilisé est celui qui repose sur l'incorporation d'un colorant vital, le rouge neutre, qui s'incorpore dans les lysosomes dont le contenu est à pH acide (activité normale). D'autres effets (apoptose, stress oxydant, altération de l'actine) pourraient également être mesurés pour détecter certaines cyanotoxines (O'Neill *et al.*, 2017).

À partir d'une batterie de tests cellulaires, il devrait être possible de cerner la famille de toxine présente même si la (les) toxine(s) à l'origine de l'effet observé ne sera(ont) pas identifiée(s) formellement comme cela a été décrit pour certaines phycotoxines (Sérandour *et al.*, 2012). Les résultats sont exprimés en équivalent de la toxine ayant servi à la calibration du test (e.g. équivalent MC-LR pour l'ensemble des MC).

Pour la détection des MC en utilisant des tests cellulaires, tous les types cellulaires ne sont pas recommandés. En effet, pour pouvoir générer un effet sur les protéines phosphatases à sérine/thréonine intracellulaires, il faut que ces molécules puissent pénétrer à l'intérieur des cellules en traversant la bicouche lipidique de la membrane plasmique. Or, il a été montré, au moins pour les variants les plus hydrophiles, que la pénétration de ces toxines à l'intérieur des cellules dépend de la présence de certains transporteurs membranaires de type OATP (Organic Anion Transporter Protein) (Monks *et al.*, 2007 ; Niedermeyer *et al.*, 2014 ; Steiner *et al.*, 2016). Plusieurs types cellulaires (entérocytes, hépatocytes, cellules rénales) expriment ces transporteurs mais d'autres cellules semblent en être dépourvues ou ne pas exprimer les isoformes spécifiques pour le passage de ces toxines, ce qui les rend moins sensibles, sauf pour des temps d'exposition prolongés (au-delà de 24 h) (Kozdeba *et al.*, 2014 ; Valerio *et al.*, 2016). La plupart des essais cellulaires rapportés avec les MC utilisent soit des hépatocytes primaires de diverses origines (rat, souris, homme) soit des lignées cellulaires hépatocytaires. Un essai mesurant la consommation d'O<sub>2</sub> de cellules Jurkat a été développé et testé pour évaluer la toxicité d'échantillons d'eau (Jasionek *et al.*, 2010). Pour les cellules insensibles à la MC-LR seule en raison de l'absence d'OATP, la toxicité est générée en incubant avec un composé, l'Endo Poter qui facilite la pénétration des MC dans les cellules.

<sup>29</sup> Voir glossaire

<sup>30</sup> Ces 3 tests mesurent l'activité mitochondriale mais ils n'utilisent pas la même substance. La couleur du composé formé et les étapes pour la révélation sont différentes.

Pour les saxitoxines, des essais ont été développés fin des années 80, début des années 90, en particulier pour la surveillance des coquillages destinés à la consommation avant d'être repris pour la détection dans des cyanobactéries (Ledreux *et al.*, 2010). Deux systèmes de détection sont proposés (Cusick et Sayler, 2013). Le premier repose sur l'utilisation de cellules neuronales ou de neuroblastomes pour détecter les substances modulant l'activité des canaux sodium dépendant du potentiel de membrane, en mesurant le fitness des cellules (souvent par la mesure de l'activité mitochondriale). Initialement proposé par Kogure *et al.* (1988), il a été développé plus largement par d'autres auteurs avec parfois des adaptations (Jellet *et al.*, 1992 ; Gallacher et Birkbeck, 1992 ; Manger *et al.*, 1993 ; Okumura *et al.*, 2005). Le second utilise également cette propriété d'agir sur le potentiel de membrane mais il mesure une dépolarisation à l'aide de composés fluorescents sensibles au voltage comme la rhodamine 6G (Louzao *et al.*, 2003 ; Manger *et al.*, 2007 ; Vale *et al.*, 2008). Récemment, toujours sur le même principe, l'utilisation de l'impédance a été proposée pour éviter les étapes de détection par coloration ou fluorescence (Zou *et al.*, 2015). Plusieurs publications rapportent la comparaison de ces essais à d'autres méthodes de détection, en particulier le bioessai sur souris et l'analyse chimique dans des coquillages (Jellet *et al.*, 1992 ; Hayashi *et al.*, 2006), ou dans l'eau (Humpage *et al.*, 2010). Des effets matrices à partir des échantillons de coquillages ont été rapportés en fonction du protocole d'extraction utilisé (Aballay-Gonzalez *et al.*, 2016). Récemment, un essai mesurant les changements de potentiels membranaires sur cellules Neuro2A en utilisant du bisoxonol a été développé pour distinguer plusieurs toxines dont la STX (Nicolas *et al.*, 2015).

### 8.3 Synthèse

Plusieurs méthodes physico-chimiques sont disponibles pour détecter les cyanotoxines. La séparation se fait principalement en chromatographie en phase liquide (CL). La chromatographie en phase gazeuse (CG) est plus rarement employée en raison du caractère peu volatil des cyanotoxines ; la CG nécessite donc une étape préalable de dérivation afin de rendre les toxines volatiles. Si les détecteurs UV et FLD ont initialement été très utilisés, la spectrométrie de masse tend à les supplanter car elle est plus sensible et plus spécifique, notamment lorsqu'il s'agit de SM/SM. Cependant, la technique CL-SM/SM, qui nécessite du matériel coûteux et du personnel qualifié, est sensible aux effets matrices. Plus globalement, les méthodes physico-chimiques nécessitent l'utilisation d'étalons analytiques pour l'identification et/ou la quantification des toxines ciblées, sachant que ces étalons ne sont pas disponibles pour l'ensemble des variants des cyanotoxines. Des méthodes immunologiques sont disponibles commercialement pour l'analyse de toutes les familles de cyanotoxines d'eau douce. Ces kits ELISA ont été développés pour l'analyse des cyanotoxines dans l'eau et présentent l'avantage d'être relativement simples d'utilisation, rapides et sensibles. Ils permettent de détecter un assez large spectre de variants de MC, STX, CYL et ATX, notamment ceux présentant la plus grande toxicité et occurrence en eau douce, mais ils ne permettent pas d'identifier les variants présents. Cependant, ces méthodes étant principalement destinées à l'analyse des eaux, certaines précautions doivent être prises lors de l'analyse de matrices plus complexes telles que les chairs de poissons, en raison de potentiels effets matrices inhérents à ce type d'analyses.

Si les méthodes physico-chimiques et immunologiques sont couramment utilisées, il existe d'autres alternatives. Ainsi, plusieurs méthodes biochimiques ou fonctionnelles, basées sur le mécanisme d'action des différentes cyanotoxines, ont été développées et certaines sont disponibles commercialement. C'est le cas du test d'inhibition des protéines phosphatases de sérine/thréonine de type 1 et 2A, utilisé pour l'analyse des MC.

Des tests de compétition de la liaison au récepteur nicotinique de l'acétylcholine ont été développés pour la détection de l'ATX-a et de ses variants. De même, le potentiel d'inhibition de l'AChE par l'ATX-a(S) est exploité dans le cadre d'un test enzymatique. En revanche, ce dernier manque de spécificité car il détecte tout type d'activité anticholinestérasique, y compris celle potentiellement induite par des pesticides organophosphorés ou des carbamates par exemple.

Un test d'inhibition de la synthèse protéique a également été mis au point pour l'analyse des CYN et permet de visualiser l'incorporation de la leucine tritiée lors de la synthèse protéique.

Un test ligand-récepteur basé sur l'aptitude des STX à se fixer sur le site 1 du canal sodium a été standardisé par l'AOAC (OMA 2011.27), il est notamment adapté à l'analyse de la chair des coquillages.

En plus de ces tests fonctionnels, certains tests *in vitro* et *in vivo* sont disponibles. Ils sont généralement basés sur l'évaluation d'un effet toxique global. Plusieurs tests *in vitro* ont été développés pour plusieurs types cellulaires, et différentes méthodes de détection de la toxicité. S'ils ont l'avantage de pouvoir être miniaturisés, en revanche ils ne permettent pas d'identifier les variants présents. Or la détection de



l'ensemble du panel de cyanotoxines nécessite la mise en œuvre de différents tests. Des bioessais sur invertébrés (crustacés, mouches, moustiques, orthoptères) ont aussi été développés pour la détection d'autres familles de toxines. Parmi ces tests, le bioessai sur souris n'est pas toujours spécifique, et pose des limitations réglementaires et éthiques.

L'ensemble de ces méthodes (physico-chimiques, biologiques, biochimiques) ont des niveaux de sensibilité variables qui sont fonction des toxines considérées et des matrices analysées. En effet, les limites de quantification (LQ) sont généralement plus basses dans des matrices simples (e.g. eau) comparativement à des matrices plus complexes (e.g. organismes aquatiques de type poisson). Parmi les méthodes physico-chimiques, la CL-SM/SM offre un bon niveau de sensibilité, comparable à celui de l'ELISA, méthode biologique fréquemment utilisée pour l'analyse des cyanotoxines. Les niveaux de sensibilité de ces méthodes sont en adéquation avec les exigences de l'arrêté du 11 janvier 2019.

Tableau XXIII : comparaison des différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines

Méthodes d'analyse	Avantages	Inconvénients	Remarques	Ordre de grandeur des LQ
<b>Bioessais : ces essais ne permettent pas une identification des cyanotoxines recherchées mais permettent d'apprécier le risque sanitaire</b>				
Bioessais sur animaux	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prise en compte de la réponse toxique globale</li> <li>- Méthode peu coûteuse</li> <li>- Information sur le type de toxine impliquée grâce aux symptômes observés (ex. symptômes de type neurologique dû à l'effet de la saxitoxine ou autre molécule neurotoxique ayant le même mécanisme d'action)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peu spécifique</li> <li>- Pas de méthode validée sauf pour la saxitoxine, validation AOAC</li> <li>- Effets matrices pouvant conduire à un résultat faux positif (ex : métaux type zinc dans le cas du bioessai utilisé pour la saxitoxine)</li> <li>- Considérations éthiques</li> </ul>		100-400 ppb
Tests cellulaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prise en compte de la réponse toxique</li> <li>- Méthode peu coûteuse</li> <li>- Plusieurs toxines peuvent être détectées simultanément</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peu spécifique</li> <li>- Peu de méthodes validées</li> <li>- Effets matrices</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Possibilité d'avoir des éléments permettant de suspecter la présence de certains types de toxines en fonction des marqueurs de toxicité ou des cellules utilisées</li> </ul>	0,01 -10 ppb
<b>Méthodes immunologiques</b>				
Immunoessais	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensibilité</li> <li>- Reconnaissance structurale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Niveau variable des réactions croisées vis-à-vis des différents</li> </ul>		0,1- 50 ppb

Méthodes d'analyse	Avantages	Inconvénients	Remarques	Ordre de grandeur des LQ
	des différents variants -Méthode peu couteuse	variants - Variants impliqués dans la réponse - Effets matrices		
Receptor binding assays (test ligand-récepteur)	- Prise en compte de la réponse toxique - Méthode peu coûteuse - Possibilité de développement de biosenseurs	- Utilisation de toxines marquées pour certaines méthodes - Peu de méthodes validées		0,1 – 10 ppb
<b>Méthodes physico-chimiques</b> : Les méthodes physico-chimiques donnent une teneur en cyanotoxines recherchées, mais pas une estimation de la toxicité de l'échantillon qui peut être obtenue en utilisant un test biologique, sauf si des facteurs d'équivalence toxique (TEF) sont disponibles.				
CL-UV	- Identification et quantification des différents variants pour lesquels un étalon de référence existe dans le commerce	- Adaptée seulement pour les composés possédant un chromophore (groupement d'atomes comportant une alternance de doubles et de simples liaisons) - Effets matrice - Spécificités médiocre par rapport à la CL-SM/SM	- Si la méthode utilisée n'a pas été validée sur la matrice correspondant à l'échantillon analysé, il existe un risque d'interférence avec une autre substance présente naturellement dans la matrice et qui a le même comportement physico-chimique et les mêmes critères de détection que la cyanotoxine recherchée	50 – 200 ppb
CL-FLD	- Identification et	- Adaptée seulement aux	- Si la méthode utilisée n'a pas été	5 – 100 ppb

Méthodes d'analyse	Avantages	Inconvénients	Remarques	Ordre de grandeur des LQ
	quantification des différents variants pour lesquelles un étalon de référence existe dans le commerce	composés fluorescents - Si les cyanotoxines recherchées ne peuvent être détectées directement par fluorescence, une réaction supplémentaire de dérivation est nécessaire afin de les rendre fluorescentes  - Effets matrice	validée sur la matrice correspondant à l'échantillon analysé, il existe un risque d'interférence avec une autre substance présente naturellement dans la matrice, fluorescente avec ou sans dérivation et qui a le même comportement physico-chimique et qui répond aux mêmes critères de détection que la(es) cyanotoxine(s) recherchée(s).	
CL-SM simple quadripôle	- Identification et quantification des différents variants pour lesquels un étalon existe	- Équipement coûteux  - Besoin de personnel qualifié  - Effets matrice pouvant induire la suppression ou l'augmentation du signal (réponse du détecteur)	- Risque d'interférence avec une autre substance présente naturellement dans la matrice et qui a le même comportement physico-chimique et a la même masse moléculaire de la cyanotoxine recherchée. En cas de doute une analyse de confirmation par CL-SM/SM est nécessaire (méthode ci-après)  Recours à des étalons internes si disponibles	1-50 ppb
CL-SM/SM triple quadripôle	- Spécificité  - Sensibilité  - Confirmation de l'identification et la	- Équipement très coûteux  - Besoin de personnel très qualifié  - Mêmes effets matrice que la CL-SM	- Méthode basée sur la fragmentation de la cyanotoxine recherchée (molécule mère) donnant des ions fragments (ion fils) caractéristiques de la molécule, et donc confirmation de	0,1 – 50 ppb

Méthodes d'analyse	Avantages	Inconvénients	Remarques	Ordre de grandeur des LQ
	quantification des différents variants pour lesquels un étalon existe		son identification	
CL-SMHR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Spécificité</li> <li>- Sensibilité</li> <li>- Identification des différents variants pour lesquels un étalon existe</li> <li>- Distinction des composés isobares</li> <li>- Identification formelle des composés</li> <li>- Constitution d'une banque de données et d'une bibliothèque de spectres de masse des étalons de cyanotoxines, pour le criblage ciblé de nombreux composés simultanément dans les échantillons à analyser</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Équipement coûteux</li> <li>- Besoin de personnel hautement qualifié</li> <li>- Mêmes effets matrice que la CL-SM</li> <li>- Moins sensible que la CL-SM/SM</li> </ul>	- En plus de l'analyse ciblée, la CL-SMHR peut être utilisée pour l'analyse non ciblée, en vue de détecter d'éventuels nouveaux variants du composé recherché <i>via</i> les données des spectres de masse haute résolution	0,1 – 50 ppb
CG-SM	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensibilité</li> <li>- Identification des différents variants pour lesquels les étalons existent</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adaptée pour les composés volatils</li> <li>- Nécessite un procédé de dérivation pour rendre les cyanotoxines volatiles</li> </ul>		20 – 70 ppb

Méthodes d'analyse	Avantages	Inconvénients	Remarques	Ordre de grandeur des LQ
		- Équipement coûteux - Besoin de personnel hautement qualifié		

\* Les valeurs de LQ sont données à titre indicatif et il ne s'agit que d'ordres de grandeur car elles dépendent des toxines ainsi que des matrices considérées (eau, poisson). Les résultats sont exprimés en ppb ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$  ou  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ).

## 9 Moyens de maîtrise des dangers

### 9.1 Prévention et maîtrise de la croissance des cyanobactéries dans les milieux aquatiques

Les facteurs et les processus favorisant la mise en place des proliférations de cyanobactéries planctoniques et benthiques sont différents. En effet, les cyanobactéries planctoniques apparaissent majoritairement dans des eaux stagnantes (écosystèmes lenticques) caractérisées par des concentrations en éléments nutritifs élevées, notamment en phosphore (P) et en azote (N). Les cyanobactéries benthiques sont quant à elles observées, le plus souvent dans des eaux courantes (écosystèmes lotiques) dont les niveaux trophiques sont variables, allant de l'oligotrophie à l'eutrophie. Les moyens envisagés jusqu'à présent pour contrôler les proliférations de cyanobactéries visent principalement les cyanobactéries planctoniques.

Quatre types de méthodologies peuvent être mises en évidence (tableau XXIV) :

- la réduction des apports en éléments nutritifs (N et P) en provenance du bassin versant ;
- les traitements chimiques appliqués sur les masses d'eau ;
- les traitements physiques appliqués sur les masses d'eau ;
- les procédés impliquant la biomanipulation des communautés vivantes dans la masse d'eau.

La maîtrise des flux de nutriments arrivant du bassin versant, en particulier du phosphore (revue dans Schindler *et al.*, 2016), est le seul moyen durable pour contrôler l'eutrophisation et les risques de proliférations de cyanobactéries. L'utilisation d'approches complémentaires fondées sur l'usage de traitements chimiques ou physiques pour lutter contre ces proliférations est néanmoins de plus en plus répandue, mais elle fait l'objet de nombreux débats. En effet, il s'agit de solutions à court terme dont l'efficacité, lorsqu'elle est avérée, est de courte durée, ce qui nécessite de les répéter régulièrement. D'autre part, ces traitements sont susceptibles d'avoir des répercussions sur d'autres compartiments biologiques que celui des cyanobactéries, et il est par conséquent difficile d'estimer leurs conséquences à moyen et long terme sur le fonctionnement du système (Humbert et Quiblier, 2019).

En ce qui concerne les techniques de biomanipulation pouvant consister en des interventions sur la communauté piscicole ou encore en l'utilisation de macrophytes comme concurrent des cyanobactéries vis-à-vis des nutriments, les débats au sein de la communauté scientifique sont plus apaisés que ceux suscités par l'utilisation des méthodes physiques et chimiques. Cependant, certaines de ces approches posent des questions qui sont finalement assez proches de celles évoquées précédemment en ce qui concerne leurs conséquences à moyen terme sur le fonctionnement des écosystèmes. Par exemple, si les manipulations sur les communautés piscicoles peuvent parfois permettre de réduire les proliférations de cyanobactéries, elles peuvent également profondément modifier la structure des réseaux trophiques. Les conséquences sont alors très difficiles à prévoir en termes de fonctionnement global des systèmes en raison de l'extrême complexité de ces réseaux. Par ailleurs, il a été montré que ces solutions de biomanipulation ne sont véritablement efficaces que si elles sont couplées avec des mesures de réduction des apports en nutriments.

**Après ce préambule mettant en garde sur la validité et les limites associées aux différentes méthodes qui sont utilisées actuellement pour tenter de maîtriser les proliférations de cyanobactéries planctoniques, nous présentons rapidement dans les paragraphes suivants l'essentiel de ces méthodes.**

#### 9.1.1 Réduction des apports en éléments nutritifs par le bassin versant

Le problème des cyanobactéries planctoniques est directement lié à l'eutrophisation des écosystèmes aquatiques. La restauration des plans d'eau et la limitation des proliférations de cyanobactéries passent donc par la réduction des apports en éléments nutritifs (Jeppesen *et al.*, 2005a ; Hendriks et Langeveld, 2017). Ces apports externes peuvent avoir deux origines distinctes dans les plans d'eau et les cours d'eau : une origine diffuse agricole ou urbaine, par les eaux de ruissellement, le lessivage des sols et les dépôts

aériens, ou une origine ponctuelle venant par exemple des rejets de station d'épuration urbaine ou industrielle (Causse *et al.*, 2015). Selon que les apports sont diffus ou ponctuels, les approches à mettre en place en vue d'une restauration ne sont évidemment pas les mêmes. Le phosphore est souvent considéré comme principal responsable de l'eutrophisation car il est le principal facteur limitant en eau douce mais certains écosystèmes peuvent présenter des limitations en azote ou des co-limitations en azote et en phosphore (Lindim *et al.*, 2015 ; Quiblier *et al.*, 2008). Les valeurs seuil des concentrations en azote et en phosphore à atteindre dans les eaux pour éviter les phénomènes de prolifération de cyanobactéries peuvent varier selon le type de plans d'eau et en particulier selon les caractéristiques géologiques de leur localisation. Dans une étude basée sur des mesures effectuées sur plus de 800 lacs en Europe, Carvalho *et al.* (2013) montrent que les cyanobactéries présentent une réponse non linéaire au phosphore, la plus forte augmentation de l'abondance de cyanobactéries se produisant dans la gamme de concentration en phosphore total comprise entre 20 et 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Selon Jeppesen *et al.*, (2017), les seuils de concentrations en éléments nutritifs pourraient être encore diminués dans le contexte du changement climatique en raison principalement des événements climatiques extrêmes qui peuvent y être associés telle que la succession de pluies diluviennes et de périodes de canicules et de sécheresse. Ceci impliquerait la nécessité de réduire encore plus les apports externes.

Si l'eutrophisation des plans d'eau est un processus naturel associé à leur vieillissement à l'échelle géologique, elle a été très fortement accélérée au cours des dernières décennies en lien avec l'urbanisation des bassins versants et la très forte augmentation des apports en éléments nutritifs liée aux activités anthropiques. Un certain nombre d'articles scientifiques publiés au cours des 20 dernières années a montré l'efficacité des actions menées sur les bassins versants pour limiter les apports en éléments nutritifs dans les milieux aquatiques (Jeppesen *et al.*, 2005a ; Jeppesen, 2007 ; Jacquet *et al.*, 2014 ; ESCo, 2017). Ces articles soulignent aussi que le temps nécessaire pour atteindre des réponses satisfaisantes est souvent long (plusieurs années voire plusieurs dizaines d'années selon les temps de résidence des milieux considérés et les stocks internes en éléments nutritifs). Les milieux peuvent passer par une étape transitoire insatisfaisante. Ainsi, une diminution importante des apports de N et P dans des lacs de Norvège a induit une période de transition de dix ans pendant laquelle les concentrations en nutriments et les développements de chlorophycées ont fortement chuté alors qu'en parallèle un genre de cyanobactérie a trouvé des conditions favorables à son développement (Solheim, 2002). Un phénomène équivalent a été observé dans le lac du Bourget (Savoie) et dans d'autres grands lacs alpins. Dans le cas du lac du Bourget, une cyanobactérie toxique, *Planktothrix rubescens*, a trouvé des conditions de croissance favorable pendant une quinzaine d'années jusqu'à ce que le seuil de 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de phosphore total soit atteint alors qu'il était de l'ordre de 120  $\mu\text{g.L}^{-1}$  dans les années 1980 quand les travaux de restauration ont débuté (Jacquet *et al.*, 2005 et 2014).

#### 9.1.1.1 Contrôle des apports ponctuels

Le phosphore d'origine ponctuelle (au sens spatial, c'est-à-dire arrivant en un ou plusieurs points bien identifiables dans la masse d'eau) est majoritairement issu des eaux résiduelles urbaines. Les effluents de STEU ont des concentrations comprises entre 1 mg P.L<sup>-1</sup> (traitement tertiaire) et 20 mg P.L<sup>-1</sup> (Withers et Jarvie, 2008) et contiennent majoritairement du phosphore dissous (80 à 90 % du phosphore total (Houhou *et al.*, 2009 ; Neal *et al.*, 2008). Ces sources ont généralement des concentrations plus importantes que les sources diffuses et peuvent avoir un impact local important sur les concentrations dans les milieux récepteurs (Edwards et Withers, 2008).

Selon les habitudes alimentaires et l'utilisation de produits ménagers, l'apport journalier en phosphore par personne se situait en 2010 en France dans une fourchette de 1,2 à 2,1 g.j<sup>-1</sup> de P, dont 1 g au moins est en relation avec le métabolisme humain et donc incompressible (Stricker et Héduit, 2010). La part de phosphore maîtrisable à la source est représentée principalement par les polyphosphates des détergents ménagers pour les usages domestiques. La réglementation sur les phosphates dans les lessives pour linge (en 2007 en France) et dans les lessives pour lave-vaisselle (en 2017 en France) et l'évolution du marché ont permis de diminuer de manière sensible l'apport journalier individuel. En France, en l'absence de réglementation contraignante avant 2007, la part des lessives dans les apports ménagers de phosphore avait déjà chuté de 30 % entre 1990 et 1996, portant son pourcentage de contribution à 27 % de la charge urbaine totale (Lavoux et Rechatin, 1998).

Les sources ponctuelles d'azote sont quant à elle principalement, mais pas exclusivement liées au métabolisme humain et donc non maîtrisables directement. Elles sont de l'ordre de 10 g.j<sup>-1</sup>.personne<sup>-1</sup> (Van Drecht *et al.*, 2009). Elles sont sujettes à de faibles variations dans le temps. C'est le cas de l'aquaculture (Amirkolaie, 2011 ; Phan *et al.*, 2009 ; Sindilariu *et al.*, 2009) et des stations de traitement des eaux usées (STEU) dans des conditions "normales" (temps sec, population constante), dont les rejets sont relativement



constants en débit et en concentration d'azote total (Carey et Migliaccio, 2009 ; Graham *et al.*, 2010 ; Igbinosa et Okoh, 2009). Au contraire, certaines sources peuvent être très variables dans le temps comme par exemple celles liées à la miction et la défécation des animaux lors de la traversée de rivières ou sur les bords de plans d'eau (Collins *et al.*, 2007; Daviescolley *et al.*, 2004). En zone urbaine, les débordements des réseaux unitaires (eaux pluviales et eaux usées combinées) émettent des eaux usées diluées directement dans la rivière lorsque le débit excède la capacité du système (événements pluvieux) (Bernhardt *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2007). Les connections illicites (notamment dans les pays en voie de développement), peuvent également court-circuiter les bénéfiques d'un système séparatif et créer des conditions de débordement similaires aux réseaux unitaires par temps de pluie (Li *et al.*, 2013).

Outre la limitation des sources d'éléments nutritifs, le contrôle des apports dans les milieux passe par une amélioration des réseaux d'assainissement (augmentation des taux de raccordement, mise en place de réseaux séparatifs) et par une amélioration des traitements tertiaires dans les stations d'épuration des eaux usées (dénitrification et déphosphatation chimique ou biologique) assurant de meilleurs taux d'abattement de l'azote et du phosphore avant le déversement des eaux traitées dans les milieux récepteurs.

Néanmoins, malgré la diminution évidente des quantités d'azote et de phosphore rejetées en France dans les milieux récepteurs issues des industries et des stations d'épuration (-30 % pour les deux éléments entre 2008 et 2013 en France), on estimait en 2013 à 40000 et 3000 tonnes.an<sup>-1</sup> les quantités respectives d'azote total et de phosphore total encore rejetées (Commissariat Général Au Développement Durable, 2016).

Le développement de techniques d'assainissement décentralisées permet par ailleurs de limiter les rejets d'urines et matières fécales dans le réseau des eaux usées, tout en écartant tout danger sanitaire (Larsen *et al.*, 1998 ; Larsen *et al.*, 2013 ; OMS, 2012). Ce développement implique en particulier la séparation à la source de l'urine : celle-ci contient en effet 90 % de l'azote, et 60 % du phosphore excrété, pour seulement 1 % du volume des eaux usées domestiques. Elle représente une ressource intéressante comme engrais agricole, *via* des filières de collecte, traitement et valorisation déjà implantées dans différents pays d'Europe (Tilley *et al.*, 2014) et à l'étude en France (Esculier, 2019). La poursuite du développement de la phyto-épuration des eaux grises représente une voie d'amélioration complémentaire.

### 9.1.1.2 Contrôle des apports diffus

Le contrôle des apports diffus est le plus complexe à mettre en œuvre. Parmi les sources diffuses, sont retrouvés les rejets issus des systèmes d'assainissement non collectif (ANC) et les systèmes d'évacuation d'eaux usées défectueux, pour lesquels les concentrations en nutriments ne sont pas ou peu traitées (Reay, 2004).

Cependant, concernant l'azote, les apports sont principalement liés à l'agriculture (épandage fertilisants minéraux et organiques et de boues de STEU, excréments d'animaux). De nombreuses approches sont développées dans ce domaine en vue d'une diminution des apports (Scavia *et al.*, 2017). Les épandages agricoles et les effluents rejetés par les animaux sur les prairies pâturées et dans la nature sont plus complexes à évaluer. Les fertilisants minéraux, animaux, et provenant d'effluents urbains (boues de STEU) sont épandus sur les parcelles agricoles à des périodes spécifiques de l'année. En fonction du système agricole, des rotations de cultures, des pratiques de fertilisation ou de contraintes réglementaires, les quantités sont différentes (Sheriff, 2005 ; Thompson *et al.*, 2007 ; Wei *et al.*, 2009). Par ailleurs, des oxydes d'azote et de l'ammoniac peuvent également être émis dans l'air par les écosystèmes naturels et les activités humaines (transport, agriculture, industrie et effluents) et l'azote être ensuite transféré aux sols et aux rivières par dépôt atmosphérique (temps sec ou temps de pluie) (Asman *et al.*, 1998 ; Carrillo, 2002; Paerl *et al.*, 2002).

Pour le phosphore, dans les bassins versants agricoles, les apports diffus se font majoritairement pendant les crues (environ 90 %) dont environ 70 % à la fin de l'hiver et au débit du printemps (Withers et Jarvie, 2008). Une autre source importante de phosphore vient de l'export par ruissellement sur les surfaces imperméables : dépôt atmosphérique, décomposition des débris végétaux, rejets industriels, activités résidentielles (lavage de voiture, fertilisation de jardins, *etc.*), déjections animales, ou particules issues des rejets automobiles (Dunk *et al.*, 2008 ; Withers et Jarvie, 2008). Les concentrations dans le ruissellement urbain sont comprises entre 0,2 et 0,4 mgP.L<sup>-1</sup> dont environ 50 % sous forme dissoute (Withers et Jarvie, 2008).

En France, les programmes d'action initiés en lien avec la « Directive Nitrates » (91/676/CCE) depuis 1991 et le code de bonnes pratiques agricoles mis en place en 1993 apportent certaines protections vis-à-vis des fuites d'azote et de phosphore (limitation des épandages de déjections animales, couverture hivernale des sols, bandes enherbées).

Des techniques de piégeage des éléments nutritifs par des pré-retenues en amont des plans d'eau peuvent dans certains cas être utilisées pour protéger le plan d'eau final. C'est le cas par exemple du lac Kis Balaton en Hongrie (Chorus et Bartram, 1999 ; Horvath *et al.*, 2013), localisé à une dizaine de kilomètres au Sud-Ouest du lac Balaton. Il constitue un réservoir d'une surface d'environ 60 km<sup>2</sup> mis en place en 1985 pour retenir les apports en éléments nutritifs, principalement le phosphore dans ce cas, et protéger le lac Balaton dix fois plus grand. Il subit néanmoins lui-même des proliférations de cyanobactéries fixatrices d'azote qui limitent son efficacité en termes de diminution des apports en azote dans le lac Balaton (Horvath *et al.*, 2013).

Pour conclure sur ces apports ponctuels et diffus de nutriments, si l'on se réfère à l'évolution des concentrations moyennes annuelles en azote total et en phosphore total dans les cours d'eau français, on peut faire un bilan très contrasté de l'impact actuel des mesures mises en place visant à la diminution des apports *via* le bassin versant. Ainsi, grâce en particulier aux travaux effectués sur les réseaux d'assainissement et les stations d'épuration, les concentrations en phosphore ont diminué de 60 % entre 1998 et 2013. Dans le même temps, les concentrations en azote n'ont pas diminué, même si des progrès sont constatés dans certaines régions françaises (Commissariat Général Au Développement Durable, 2016). Le même constat est également dressé dans tout l'Union européenne (bilan de 2010 de l'European Environment Agency).

### 9.1.2 Traitements chimiques dans le milieu aquatique

On peut distinguer deux types de traitements chimiques selon les cibles visées :

- Certains traitements visent à diminuer le stock de phosphore interne en le rendant non biodisponible aux organismes phytoplanctoniques, cyanobactéries incluses. En effet, si la diminution des apports externes en éléments nutritifs est la seule solution qui soit efficace sur le long terme pour restaurer l'état trophique des milieux aquatiques et limiter les risques de proliférations de cyanobactéries, son effet peut être en partie limité dans les premiers temps de la restauration par le stock en éléments nutritifs encore contenu dans le milieu (Burger *et al.*, 2008 ; Lindim *et al.*, 2015). En particulier, les sédiments peuvent renfermer une grande quantité de phosphore qui peut être partiellement remis à disposition des organismes photosynthétiques comme les cyanobactéries, à l'occasion d'épisodes d'anoxie des fonds. Différentes méthodes basées sur l'utilisation de composés chimiques sont parfois utilisées pour limiter ces apports internes en phosphore (revue dans Jancula et Marsalek, 2011).
- D'autres traitements permettent, soit par leur capacité à flocculer le phytoplancton, soit par leurs propriétés algicides ou bactéricides, de s'attaquer directement aux cyanobactéries. L'usage de ces traitements n'est envisageable que s'ils sont autorisés conformément au règlement (UE) n° 528/2012 du 22/05/12 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

Les principaux traitements évoqués dans la littérature scientifique seront présentés ici de manière non exhaustive. Nous verrons que certains d'entre eux peuvent répondre à ces deux objectifs.

Les possibles dangers associés à ces traitements et qui suscitent le débat au sein de la communauté scientifique, sont liés à la persistance des composés utilisés dans les écosystèmes traités et/ou à leur impact directs ou indirects sur les organismes non cibles vivant dans ces écosystèmes.

#### 9.1.2.1 Utilisation de sels et polymères d'aluminium ou de fer

Ces composés peuvent être utilisés soit pour flocculer les cyanobactéries et ainsi provoquer leur sédimentation et limiter leur prolifération, soit pour précipiter le phosphore dissous sous forme de molécules insolubles et donc non biodisponibles (Jancula et Marsalek, 2011). Sur les fonds, en périodes d'anoxie, ils peuvent ainsi limiter la remise en suspension du phosphore issu du sédiment.

Les limites à l'utilisation de ces composés consistent d'abord en leur non spécificité en tant que flocculant de la biomasse phytoplanctonique. Leur niveau d'efficacité vis-à-vis de la biomasse ou du phosphore est conditionné par différents facteurs tels que l'alcalinité, le pH, le mélange de la colonne d'eau, la taille des cellules phytoplanctoniques. En particulier, les sels de fer étant plus sensibles aux modifications du potentiel d'oxydo-réduction, que les sels d'aluminium, leur utilisation serait susceptible de conduire à un relargage plus important du phosphore, des sédiments vers la colonne d'eau (Hupfer et Lewandowski, 2008). Par

ailleurs, quelques travaux relatent un impact négatif vis-à-vis d'organismes non cibles (zooplancton, poissons, crustacés) lié à une acidification du plan d'eau induite par l'utilisation de sels d'aluminium dans un milieu à faible pouvoir tampon (Jancula et Marsalek, 2011).

La bibliographie n'évoque pas de libération immédiate des toxines, consécutive à l'utilisation de composés à base de fer ou d'aluminium. Néanmoins, si la méthode implique la coagulation des cellules et leur sédimentation conduisant à la mort cellulaire, on ne peut écarter un phénomène de lyse des cellules et un relargage potentiel des toxines dans le milieu.

### 9.1.2.2 Utilisation de chaux ou de carbonate de calcium

Le calcium sous forme de chaux ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) ou de carbonate de calcium ou calcite ( $\text{CaCO}_3$ ) a été régulièrement appliqué entre la fin des années 1990 et le début des années 2000 pour précipiter la biomasse phytoplanctonique ou le phosphore (Prepas *et al.*, 2001 ; Zhang *et al.*, 2001). Ces mêmes auteurs soulignent que si l'effet attendu peut être observé en quelques jours, les applications doivent être répétées au moins tous les ans si l'on veut un effet durable.

Il semble que l'usage de tels procédés soit maintenant très limité en raison de leur faible efficacité sur le moyen et long terme et la nécessité de répéter les épandages.

### 9.1.2.3 Épandage d'argile ou d'argile modifié

L'utilisation d'argiles (silicates d'aluminium) et de composés à base d'argile modifié dans lesquelles les ions sodium et calcium peuvent être remplacés par du lanthane, est de plus en plus souvent envisagée dans des milieux de relativement faibles volumes pour flocculer le phosphore et prévenir les proliférations de cyanobactéries (Copetti *et al.*, 2016). Le Phoslock® en particulier (argile modifiée) mis au point en Australie au début des années 2000 a vu son usage s'étendre à tous les continents. Selon Copetti *et al.*, en 2016, 200 sites au moins étaient concernés par l'usage d'argile modifié, dont environ 50 % en Europe, 30 % en Australie et Nouvelle-Zélande, 13 % en Amérique du Nord, 2 % en Asie et 1 % en Afrique et Amérique du Sud.

Les travaux menés sur l'usage d'argile et d'argile modifié montrent généralement une bonne efficacité de piégeage du phosphore interne hormis dans des sites riches en matières humiques ou comportant d'autres oxyanions que les phosphates qui peuvent alors entrer en concurrence dans les processus de piégeage. Cette efficacité, maximale pour des pH de l'ordre de 5 à 7, semble néanmoins diminuer pour des pH plus élevés. Pour cette raison, il n'est pas conseillé d'utiliser ces composés en période de prolifération, quand le pH, en raison de l'activité photosynthétique, peut avoisiner 9 voire plus et alors que le phosphore est principalement incorporé dans la biomasse. À ce jour, les informations sanitaires disponibles ne vont pas à l'encontre de l'utilisation d'argile ou d'argile modifiée dans les eaux de baignade ou les eaux destinées à la consommation humaine. Néanmoins, les argiles modifiées contiennent du lanthane qui, au-delà d'un seuil de concentration, peut être toxique pour les organismes.

Si ces seuils ne sont normalement pas dépassés dans le cadre d'une application classique, lors d'applications répétées, la question de l'accumulation de cet élément dans le système et des risques de toxicité à long terme reste en suspens, en particulier pour les organismes du sédiment (Copetti *et al.*, 2016).

### 9.1.2.4 Traitement au sulfate de cuivre

Le sulfate de cuivre est l'un des algicides les plus connus. Il a été fréquemment utilisé pour lutter contre les proliférations de cyanobactéries, en particulier au cours des années 90 et 2000 (Chorus et Bartram, 1999 ; Merel *et al.*, 2013), et l'est encore ponctuellement par certains gestionnaires de plans d'eau en France.

Le cuivre remplace le magnésium dans les molécules de chlorophylle, rendant ainsi la chlorophylle inactive dans la photosynthèse (Jancula et Marsalek, 2011). Il est généralement utilisé à de faibles concentrations (de la dizaine à la centaine de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), mais les applications doivent être répétées annuellement voire plusieurs fois par an. Il est préconisé de l'appliquer lorsque les densités de cyanobactéries sont encore faibles, en prévision d'une éventuelle prolifération.

S'il est compréhensible que les gestionnaires soient tentés par l'application du sulfate de cuivre dans les plans d'eau pour limiter les proliférations de cyanobactéries, différents problèmes et questionnements ont conduit progressivement à l'abandon de cette méthode de traitement :

- **Problèmes de santé publique** liés au relargage des toxines dans le milieu suite à la lyse des cellules de cyanobactéries provoquée par le traitement. L'OMS, dès la fin des années 90, mettait en garde sur l'utilisation de cet algicide (Chorus et Bartram, 1999) ;
- **Impacts sur la qualité globale des plans d'eau** en raison de l'action possible ou prouvée du sulfate de cuivre sur des organismes non-cibles (autres organismes phytoplanctoniques voire macrophytes, zooplancton, poissons) et du risque d'accumulation du cuivre dans les réseaux trophiques et dans les sédiments, alors qu'il s'agit d'un métal toxique au-delà d'un seuil de concentration variable selon les organismes considérés ;
- **Problèmes associés au développement de souches de cyanobactéries résistantes** au cuivre comme cela a été suggéré par Izaguirre (1992) chez une espèce de *Phormidium* issue d'un lac californien ayant subi des traitements répétés ou par García-Villada *et al.* (2004) lors d'expérimentations menées sur *Microcystis aeruginosa*.

#### 9.1.2.5 Traitement au peroxyde d'hydrogène

L'utilisation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), un puissant agent oxydant, a été envisagée dès la fin des années 1980 pour lutter à la fois contre les proliférations de cyanobactéries et contre les cyanotoxines (Jancula et Marsalek, 2011), et de plus en plus souvent depuis la fin des années 2000 en remplacement du sulfate de cuivre délaissé pour les raisons citées au paragraphe précédent. Le peroxyde d'hydrogène est connu pour ses propriétés biocides, en particulier ses propriétés bactéricides. En particulier, comme synthétisé par Weenink *et al.* (2015), les cyanobactéries présenteraient une sensibilité importante au peroxyde d'hydrogène en raison d'une activité enzymatique anti-ROS (Reactiv Oxygen Species ou dérivés réactifs de l'oxygène) faible par comparaison à celle présentée par les micro-algues eucaryotes.

Selon Matthijs *et al.* (2012), des doses de 2 mg.L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> appliquées dans les milieux aquatiques permettraient de réduire significativement les proliférations pendant plusieurs semaines. Elles ne seraient au contraire pas suffisantes selon Lurling *et al.* (2014a) et Kansole et Lin (2017). Ces auteurs préconisent chacun des doses très différentes allant de 4 à 8 mg.L<sup>-1</sup> pour les premiers, à plus de 20 mg.L<sup>-1</sup> pour les seconds. Selon Drábková *et al.*, (2007), le fait que l'efficacité du peroxyde d'hydrogène varie considérablement avec l'intensité lumineuse (plus efficace pour des intensités plus élevées) pourrait, au moins en partie, expliquer ces différences concernant les doses efficaces. Les travaux de Liu *et al.* (2017) révèlent que, dans le cas de proliférations à cyanobactéries coloniales, les doses efficaces varient également considérablement selon la taille des colonies.

Des conséquences négatives possibles des traitements au peroxyde d'hydrogène ont également été discutées dans la bibliographie. Différents auteurs (Zhou *et al.*, 2013 ; Lurling *et al.*, 2014a) ont mis en évidence le relargage de toxines dans le milieu à la suite des traitements pouvant donc conduire à l'augmentation des concentrations en toxines dissoutes dans l'eau au moment des traitements.

Par ailleurs, si d'après Matthijs *et al.*, (2012), les autres organismes phytoplanctoniques et la communauté zooplanctonique seraient peu affectés par le traitement, les travaux de Reichwaldt *et al.* (2012), menés sur deux espèces de cladocères, suggèrent au contraire des impacts négatifs sur la survie de ces organismes zooplanctoniques. Un impact sur différentes espèces de poissons a également été observé (revue dans Jancula et Marsalek, 2011).

**Les résultats de ces différents travaux témoignent des risques à utiliser les traitements au peroxyde d'hydrogène en l'absence d'une meilleure connaissance des conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. En particulier, à ce jour, l'impact sur les communautés bactériennes (autres que les cyanobactéries) dans les écosystèmes aquatiques n'a, à notre connaissance, pas été étudié alors que l'activité bactéricide du peroxyde d'oxygène est bien connue et que le bon fonctionnement des communautés bactériennes dans les milieux est essentiel dans les processus de décomposition de la matière organique entre autres issue de ces proliférations. Enfin, alors que les traitements avancés d'oxydation sont aujourd'hui interdits en France pour la production d'EDCH, il semble difficile de conseiller leur utilisation dans les ressources en eau.**

#### 9.1.2.6 Traitement par des molécules induisant une photocatalyse

Des travaux récents ont évoqué la possibilité de l'utilisation, pour traiter les proliférations de cyanobactéries, de molécules induisant une photocatalyse des cellules. Différents procédés ont été suggérés tels que

l'utilisation de nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) (Pinho *et al.*, 2015) ou celle de granulés de perlite (roche siliceuse d'origine volcanique) expansée imprégnés de nitrure de carbone graphitique (g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) couplé ou non à du TiO<sub>2</sub> (Song *et al.*, 2008b). Ces procédés permettraient, outre la photolyse des cellules, celles des toxines (tests sur microcystine-LR et cylindrospermopsine) libérées dans l'eau après la lyse cellulaire.

À notre connaissance, ces solutions envisagées par des chimistes, n'ont à ce jour été testées qu'en laboratoire sur les cyanobactéries. Les effets éventuels en milieu naturel sur d'autres organismes aquatiques n'ont pas été envisagés et encore moins évalués. Pourtant la littérature récente qui évoque l'utilisation possible de nanoparticules d'argent et TiO<sub>2</sub> pour le traitement du "biofouling" par des micro-algues (test sur des chlophyées, Natarajan *et al.*, 2017) ou celle de g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub> pour le traitement d'eaux contaminées par des bactéries de type *Escherichia coli* (Li *et al.*, 2015) laissent supposer que ces traitements pourraient avoir des impacts non seulement sur les cyanobactéries mais également sur les autres micro-organismes aquatiques.

### 9.1.3 Traitements physiques dans le milieu aquatique

#### 9.1.3.1 Déstratification / mélange artificiel

Les cyanobactéries planctoniques prolifèrent généralement dans des milieux et au cours de périodes montrant une bonne stabilité de la colonne d'eau. Pour cette raison, des procédés de déstratification et agitation de la colonne d'eau par aération diffuse ou par des méthodes mécaniques ont très tôt été envisagés afin de limiter leur développement (van der Veer *et al.*, 1995 ; Visser *et al.*, 1996 ; Webb *et al.*, 1997 ; Salmi *et al.*, 2014). Le mélange artificiel, en assurant une diminution de la stabilité de la colonne d'eau, modifie les rapports de compétition entre les organismes phytoplanctoniques et peut permettre de basculer d'une communauté phytoplanctonique dominée par les cyanobactéries à une communauté composée principalement de chlorophytes et de diatomées (Visser *et al.*, 2016). Les méthodes d'aération diffuse ne doivent pas être confondues avec les méthodes d'oxygénation et aération en profondeur qui visent à limiter le relargage de phosphore dans la colonne d'eau.

Le mélange artificiel de la colonne d'eau ne montre généralement une bonne efficacité que sur des lacs profonds présentant une stratification bien marquée et cette efficacité reste limitée, i) dans le cas de lacs peu profonds où la stratification est moins marquée, ii) si le mélange vertical de la colonne d'eau n'est pas suffisant, iii) si le système de mélange ne permet pas de couvrir la totalité de la masse d'eau, dans sa dimension horizontale (Visser *et al.*, 2016) ou encore iv) comme le suggère les travaux de Jöhnk *et al.* (2008) dans le cas d'épisodes de canicules. Finalement sur le long terme, ce procédé, compte tenu de son coût et de la lourdeur de l'entretien du matériel, ne peut être envisagé que comme une méthode complémentaire à la réduction des teneurs en nutriments.

#### 9.1.3.2 Oxygénation/aération en profondeur

L'aération ou l'oxygénation en profondeur (dans l'hypolimnion) a été envisagée dès les années 1970 pour limiter le relargage du phosphore par les sédiments en période d'anoxie des fonds tout en maintenant la stratification thermique (Bormans *et al.*, 2016). L'aération peut être obtenue par des compresseurs placés au fond des plans d'eau à traiter qui permettent l'envoi d'air à partir de tubes perforés. Compte tenu du coût élevé de la mise en place de ces appareils qui doivent, pour être efficaces, rester actifs pendant toute la période de végétation (printemps, été), leur usage n'est généralement envisagé que sur de petits plans d'eau. Par ailleurs, les réglages sont délicats pour s'assurer de ne pas aboutir à une déstratification des systèmes traités et à des mélanges induisant une dispersion de la biomasse phytoplanctonique sur l'ensemble de la colonne d'eau.

#### 9.1.3.3 Dragage des sédiments

Le dragage des sédiments, initialement utilisé pour éliminer les sédiments de surface riches en polluants variés (métaux traces, polluants organiques), a plus récemment été envisagé pour réduire les quantités de nutriments stockés et les *inoculums* de cyanobactéries (Bormans *et al.*, 2016). On peut retrouver dans la bibliographie des exemples d'expériences réussies (Bjork *et al.*, 2010) mais également de nombreux exemples d'expériences infructueuses (Pokorny *et al.*, 2002), n'ayant abouti à aucune amélioration ou n'ayant permis qu'une amélioration de courte durée. L'utilisation de cette méthodologie est confrontée à

différents problèmes liés entre autres à la difficulté à recycler les sédiments extraits et au risque de perturbation du milieu et de remise en suspension de contaminants, y compris de phosphore, lors du travail d'extraction des sédiments (Hickey et Gibbs, 2009). Pour limiter les difficultés liées au relargage possible de phosphore au moment de l'extraction des sédiments, Lurling et Faassen (2012) ont suggéré de coupler le dragage des sédiments avec l'utilisation d'argile modifié.

Finalement, compte tenu de la lourdeur de sa mise en place, le dragage des sédiments ne peut être envisagé que sur des plans d'eau de petites tailles. Son efficacité ne peut survenir que s'il est utilisé en complément de travaux, sur le bassin versant, de limitation des apports externes en nutriments (Hickey et Gibbs 2009; Jing *et al.*, 2015). Ainsi, il peut dans un certain nombre de situations permettre une restauration plus rapide des systèmes concernés.

#### 9.1.3.4 Soutirage hypolimnique

Le soutirage hypolimnique consiste à retirer une partie des eaux du fond d'un plan d'eau plutôt que de le laisser se vider depuis la surface, par son exutoire. Il est appliqué aux milieux présentant une profondeur suffisante pour qu'une stratification thermique estivale puisse s'établir. Il a été envisagé dès les années 70 et régulièrement employé depuis dans les milieux eutrophisés (Barroin, 1999 ; Nürnberg 2007 ; Tandyrak *et al.*, 2016) pour diminuer les risques d'anoxie des fonds ou pour retirer les eaux de l'hypolimnion désoxygénées et riches en phosphore. Son utilisation a également été envisagée plus spécifiquement pour réduire les proliférations de cyanobactéries (Lehman *et al.*, 2009).

La réalisation pratique du soutirage nécessite la mise en place d'une canalisation posée sur le fond et d'un système de barrage empêchant l'écoulement naturel par l'exutoire. L'eau ainsi canalisée est rejetée dans l'exutoire et c'est là une des limites essentielles reprochée à ce système. En effet, si des expériences concluantes ont été observées en termes de réduction de l'eutrophisation et de réduction des proliférations de cyanobactéries sur un certain nombre de plans d'eau partout dans le monde, l'une des critiques majeures de ce procédé tient à l'impact négatif qu'il peut avoir sur le milieu récepteur en aval, incluant leur eutrophisation, la modification de la température de l'eau, la diminution des concentrations en oxygène, ou encore l'émanation d'odeurs (Barroin, 1999 ; Nürnberg, 2007). Pour limiter ces effets, un traitement des eaux rejetées peut être envisagé et en premier lieu une réoxygénation, mais cela augmente encore le coût d'un système déjà onéreux pour sa mise en place et sa maintenance.

Finalement, la décision de l'utilisation d'un soutirage hypolimnique devra être un compromis entre les avantages attendus par rapport au milieu concerné et aux usages qui en sont faits et les conséquences possibles sur le milieu récepteur sachant que l'opération, si elle est mise en place, devra être renouvelée pour être efficace sur la durée.

#### 9.1.3.5 Utilisation d'ultrasons

Un nombre considérable d'articles fait référence, depuis le début des années 2000, à la possibilité d'utiliser les ultrasons pour contrôler les proliférations de cyanobactéries (revue dans Rajasekhar *et al.*, 2012b ; Dehghani 2016 ; Lurling *et al.*, 2016). Initialement, la proposition d'utilisation des ultrasons dans le milieu naturel s'est basée sur différents travaux expérimentaux menés en laboratoire et montrant leur effet sur la croissance des cyanobactéries, la réduction des vésicules gazeuses dans les cellules, l'altération des parois cellulaires qui pourrait conduire à la libération des cyanotoxines et la perturbation de l'activité photosynthétique (Ahn *et al.*, 2003 ; Hao *et al.*, 2004 ; Wu *et al.*, 2011 ; Rajasekhar *et al.*, 2012a). Suite à des applications sur sites, de nombreuses observations telles que des effets sur la croissance d'organismes non ciblés, remettent en cause, comme souligné par Lüring *et al.* (2016), le fait que les ultrasons pourraient être considérés comme une « solution verte » pour le traitement des proliférations de cyanobactéries. Par ailleurs, l'efficacité même des ultrasons contre les cyanobactéries dans les milieux naturels semble très limitée comme montré dans le même travail (Lüring *et al.*, 2016).

### 9.1.4 Biomanipulation

La biomanipulation consiste en une intervention sur les communautés vivantes de l'écosystème. Elle a très tôt été envisagée pour limiter le développement des communautés phytoplanctoniques dans les milieux eutrophisés (Triest *et al.*, 2016 ; Jeppesen *et al.*, 2012).

Trois types d'intervention ont été décrits :

- sur la structure de la communauté piscicole ;
- sur la communauté des mollusques ;
- sur la communauté végétale.

Dans tous les cas, le recours aux procédés de biomanipulation doit faire l'objet d'une évaluation des risques liés à l'introduction d'espèces non indigènes sur l'équilibre écologique des écosystèmes et la santé animale. Par ailleurs, là encore, la bibliographie relève que l'efficacité sur le long terme ne peut être assurée que si cette biomanipulation est couplée à un travail sur le bassin versant visant en la réduction des apports externes de nutriments.

#### 9.1.4.1 Biomanipulation de la communauté piscicole

La biomanipulation de la communauté piscicole peut consister à :

- prélever dans le milieu des poissons benthivores ou zooplanctivores. Il est alors attendu que le retrait de ces poissons de la masse d'eau conduise à un accroissement de la biomasse des invertébrés benthiques et zooplanctoniques et à une diminution de la biomasse phytoplanctonique, cyanobactéries incluses, consommée par ces invertébrés ;
- ajouter des poissons planctivores ou des poissons piscivores. L'introduction des premiers, peut assurer directement une réduction de la biomasse des cyanobactéries. Celle des seconds peut avoir un effet indirect, en cascade.

La revue de Triest *et al.* (2016) témoigne du nombre important des expériences de biomanipulation qui ont été effectuées partout dans le monde depuis les années 1980. Certaines de ces expériences posent de nombreuses questions tant sur un plan éthique que sur le plan du fonctionnement sur le moyen et long terme de ces écosystèmes, en particulier lorsque, comme signalé dans certains écosystèmes, une pêche de tous les poissons a été effectuée. Selon Jeppesen *et al.* (2012), les conclusions que l'on peut tirer des expériences de biomanipulation sont assez contrastées. D'une part, car il existe peu de travaux pour lesquels des suivis à long terme ont été effectués, et d'autre part car, si la biomasse des cyanobactéries baisse significativement à court terme, elle augmente progressivement à nouveau après 5 à 10 ans si la biomanipulation n'est pas renouvelée ou couplée à une diminution des apports externes en nutriments.

#### 9.1.4.2 Introduction de bivalves filtreurs

Les effets de l'introduction de bivalves filtreurs, pour diminuer la biomasse des cyanobactéries, s'additionnent à ceux des organismes zooplanctoniques autochtones planctivores. La moule zébrée, *Dreissena polymorpha*, a été le mollusque le plus testé, parfois de manière concluante (Gulati *et al.*, 2008). Néanmoins, Triest *et al.* (2016) regrettent que le statut invasif de cette espèce en Europe n'ait pas été suffisamment pris en compte dans la bibliographie. Selon ces auteurs, ce caractère invasif rend impossible la recommandation de cette pratique. Quant à l'introduction de moules natives des milieux traités ou d'autres mollusques filtreurs pour réduire les proliférations de cyanobactéries, elle est insuffisamment documentée et nécessite des travaux supplémentaires pour que l'on puisse juger de son efficacité.

#### 9.1.4.3 Introduction de macrophytes

L'introduction de macrophytes a pour objectif de diminuer les concentrations en éléments nutritifs dans les milieux aquatiques et/ou d'induire une compétition avec les cyanobactéries vis-à-vis de ces mêmes éléments, afin de réduire leur biomasse. L'introduction peut se faire à partir de jeunes pousses, de thalles, de propagules ou de sédiments riches en propagules (revue dans Triest *et al.*, 2016). Seuls quelques travaux de lutte contre les proliférations de cyanobactéries en mésocosmes ou en milieu naturel ont été publiés à ce jour (Jiang *et al.*, 2015 ; Zeng *et al.*, 2017). Dans certains cas, cette technique est couplée au retrait de poissons herbivores (Chen *et al.*, 2009b ; Ye *et al.*, 2011). L'introduction de macrophytes peut s'avérer efficace pour des eaux peu profondes permettant leur installation quand la concentration en phosphore n'est pas trop élevée et surtout quand les apports ne sont pas récurrents. Le développement des macrophytes peut assurer la diminution de la turbidité de l'eau et des biomasses de cyanobactéries au

voisinage de la zone de développement dans un premier temps et plus largement dans le milieu les années suivantes, suite à l'expansion des végétaux (Triest *et al.*, 2016). Par ailleurs, certains travaux ont étudié la possibilité que des substances allélopathiques produites par les macrophytes puissent limiter le développement des cyanobactéries (Wu *et al.*, 2009 ; Zuo *et al.*, 2015).

Néanmoins, et en particulier pour des petits plans d'eau, l'invasion progressive de la masse d'eau par les macrophytes, si aucun contrôle de leur développement n'est assuré, peut se révéler aussi néfaste pour les usages que la prolifération de cyanobactéries elle-même.

### 9.1.5 Conclusion

Pour conclure cette partie concernant les approches mises en œuvre pour réduire les proliférations de cyanobactéries, la diversité des méthodes qui se sont succédées au cours des 30 dernières années témoigne à la fois d'une forte demande pour des méthodes rapides de la part des gestionnaires de plans d'eau et du peu d'efficacité des méthodes proposées. La liste des méthodes présentée ci-dessus n'est par ailleurs pas exhaustive. Différents procédés sont régulièrement proposés sur le marché dont l'efficacité est rarement validée scientifiquement. On peut citer par exemple l'utilisation de paille d'orge, celle de bactéries associées à des supports calcaires ou argileux injectées dans les sédiments (bioadditifs) pour favoriser la reminéralisation de la matière organique et secondairement réduire la désoxygénation des eaux du fond et le relargage de phosphore, ou encore l'utilisation de substances vendues comme agissant selon des principes allélopathiques. Ces procédés tentent de répondre à une demande pressante des gestionnaires de plans d'eau concernant le contrôle à court terme des proliférations de cyanobactéries mais les connaissances limitées sur leur mode d'actions et sur leurs conséquences sur l'environnement devraient inciter ces gestionnaires à la plus grande prudence dans leur utilisation.

Dans tous les cas, les revues bibliographiques récentes soulignent que la seule méthode durable de contrôle des proliférations de cyanobactéries repose sur la réduction des apports en éléments nutritifs à l'échelle du bassin versant. Si certaines méthodologies de plus court terme peuvent être envisagées exceptionnellement, leur emploi ne devrait être que transitoire et en complément de la lutte contre l'eutrophisation (Lürling *et al.*, 2016). Cette mise en œuvre devrait donc reposer au préalable sur une étude définissant avec précision les conditions d'utilisation de la méthode, ses conséquences éventuelles sur l'environnement et la surveillance qui sera mise en œuvre pour évaluer ces éventuelles conséquences à différents termes. Cette évaluation au cas par cas n'est généralement pas réalisée en raison de l'urgence générée par les situations de crise en cas de prolifération mais aussi par la lourdeur des études à mettre en œuvre pour procéder à une telle évaluation. C'est pourquoi, au nom d'un principe qui est proche du principe de précaution utilisé en santé humaine, de nombreux scientifiques s'opposent à l'usage de traitements curatifs des proliférations de cyanobactéries de quelque nature qu'ils soient, sur des systèmes considérés comme étant des écosystèmes naturels (même s'ils ont été fabriqués par l'homme à l'exemple des retenues de barrage ou de nombreux étangs).

Enfin, on retiendra qu'à ce jour, aucune étude n'a été publiée concernant les procédés de maîtrise du développement massif de biofilms à cyanobactéries dans les cours d'eau. Comme spécifié dans ce document (paragraphe 3.2 - Les proliférations de cyanobactéries), les connaissances relatives à l'écologie et aux facteurs de contrôle des proliférations de cyanobactéries benthiques sont assez récentes et encore insuffisantes pour envisager la proposition de méthodes de restauration des milieux concernés.



Tableau XXIV : moyens de lutte contre les proliférations de cyanobactéries planctoniques

Principe d'action	Avantages	Inconvénients	Statut réglementaire	Principales références
<b>Réduction des apports en éléments nutritifs via le bassin versant</b>				
Actions à l'échelle du bassin versant	Effets durables Seule approche compatible avec la directive cadre sur l'eau	Délais avant obtention des effets souhaités très variables selon temps de résidence et stocks internes  Possibilité de situation transitoirement aggravée  Coût élevé		Carvalho <i>et al.</i> , 2013 ; Jeppesen <i>et al.</i> , 2017 ; Jeppesen <i>et al.</i> , 2005a ; Smith <i>et al.</i> , 2016
<b>Traitements chimiques dans le milieu aquatique</b>				
Sels de fer	Précipitation du phosphore  Effet algicide par floculation du phytoplancton	Risque de relargage de PO <sub>4</sub> à partir des sédiments si conditions anoxiques. Précipitation non durable.  Apport de micro-nutriments aux cyanobactéries  Traitements à renouveler  Coût élevé	Le sulfate de fer en tant que substance active a été approuvé et figure à l'annexe I du règlement biocide.	Boers <i>et al.</i> , 1992 ; Immers <i>et al.</i> , 2013 ; Waajen <i>et al.</i> , 2016
Sels d'aluminium	Précipitation de phosphore  Effet algicide par floculation du phytoplancton	Pollution des sédiments par l'aluminium  Augmentation de la concentration en aluminium dans les eaux douces destinées à la consommation humaine et dans ce cas, traitement EDCH à adapter  Traitements à renouveler  Coût élevé		Nogaro <i>et al.</i> , 2013, 2016 ; Rydin, 2014 ; Smith <i>et al.</i> , 2016 ; Brattebo <i>et al.</i> , 2017
Chaux/Calcite	Précipitation du phosphore  Floculation du phytoplancton	Traitements à renouveler	Substance active approuvée en TP2 le 01 mai 2018 selon le règlement européen sur les biocides	Prepas <i>et al.</i> , 2001 ; Zhang <i>et al.</i> , 2001

Principe d'action	Avantages	Inconvénients	Statut réglementaire	Principales références
Argile ou argile modifié	Précipitation de phosphore	Risque d'accumulation de lanthane Perte d'efficacité dans les milieux riches en substances humiques ou quand pH élevé Coût élevé		Revue dans Copetti <i>et al.</i> , 2016 ; Lurling, van Oosterhout, 2013 ; Noyma <i>et al.</i> , 2016 ; Nurnberg, 2017
Sulfate de cuivre	Effet algicide - Maîtrise des proliférations émergentes	Surveillance importante des ressources nécessaire pour déterminer le moment d'intervention Libération importante de toxines si utilisation pendant des proliférations Risque de sélection d'espèces résistantes au cuivre Pollution des sédiments par du cuivre Restrictions d'usages Traitements à renouveler Coût élevé	Substance active approuvée en TP2 le 01 juillet 2015 selon le règlement européen sur les biocides	Revue dans Chorus et Bartram, 1999 ; Brient <i>et al.</i> , 2001 ; Kansole, Lin, 2017
Peroxyde d'oxygène	Effet algicide Cyanobactéries semblant plus sensibles que les micro-algues	Efficacité variable selon intensité lumineuse et taille des colonies Possible relargage des toxines Impact négatif sur organismes zooplanctoniques et poissons Nécessité de travaux sur les impacts sur les communautés de bactéries et micro-algues Traitements à renouveler Coût élevé	Substance active approuvée le 01 février 2017 en TP2 selon le règlement européen sur les biocides	Matthijs <i>et al.</i> , 2012; Reichwaldt <i>et al.</i> , 2012; Kansole, Lin, 2017
Molécules induisant une photocatalyse	Effet algicide Possibilité de dégradation complémentaire des toxines	Tests en laboratoires uniquement Nécessité de travaux sur les impacts sur les communautés de bactéries et micro-algues		Pinho <i>et al.</i> , 2015 ; Song <i>et al.</i> , 2018 a et b

Principe d'action	Avantages	Inconvénients	Statut réglementaire	Principales références
<b>Traitements physiques dans le milieu aquatique</b>				
Déstratification Agitation par aération diffuse	Perturbation de la stratification thermique Oxygénation et déstabilisation de la colonne d'eau	Difficultés de mise en œuvre et d'entretien Possibilité d'effets opposés Coût et complexité de mise en oeuvre élevés		Revue dans Visser <i>et al.</i> , 2016
Oxygénation/aération en profondeur	Limite le relargage du phosphore par les sédiments	Risque de déstratification et de dispersion des algues sur toute la colonne d'eau Sélection d'autres genres Coût et complexité de mise en oeuvre élevés		Bormans <i>et al.</i> , 2016
Dragage des sédiments	Exportation de la charge interne en phosphore	Perturbation ponctuelle de l'écosystème Coût et complexité de mise en oeuvre élevés		Hickey et Gibbs 2009 ; Lurling et Faassen, 2012 ; Jing <i>et al.</i> , 2015 ; Bormans <i>et al.</i> , 2016
Soutirage hypolimnique	Réduction des concentrations en phosphore Amélioration de l'oxygénation	Perturbation de l'écosystème aquatique en aval Coût et complexité de mise en oeuvre élevés		Barroin, 1999 ; Lehman <i>et al.</i> , 2009 ; Nürnberg, 2007
Ultrasons	Diminution de la croissance des cyanobactéries, réduction des vésicules gazeuses, altération des parois cellulaires, perturbation de l'activité photosynthétique	Impact sur les autres organismes phytoplanctoniques et sur les organismes zooplanctoniques Traitements à répéter Coût et complexité de mise en oeuvre élevés		Revue dans Rajasekhar <i>et al.</i> 2012b ; Dehghani 2016 ; Lurling <i>et al.</i> , 2016 et Park <i>et al.</i> , 2017
<b>Biomanipulation</b>				
Biomanipulation des communautés piscicoles	Régulation des populations de phytoplancton par effet de cascade trophique	Risques de perturbation des équilibres écologique Evaluation des effets écologiques et sanitaires nécessaire Complexité de mise en oeuvre élevée		Revue dans Jeppesen <i>et al.</i> , 2012 ; Triest <i>et al.</i> , 2016

Principe d'action	Avantages	Inconvénients	Statut réglementaire	Principales références
Introduction de mollusques filtreurs	Régulation des populations de phytoplancton par broutage	Risques de perturbation des équilibres écologique Evaluation des effets écologiques et sanitaires nécessaire Complexité de mise en oeuvre élevée		Revue dans Gulati <i>et al.</i> , 2008 ; Triest <i>et al.</i> , 2016
Introduction de macrophytes	Régulation des populations de phytoplancton par compétition écologique	Manque d'expertise Difficultés liées au contrôle de développement des macrophytes en lien avec les usages des masses d'eau Complexité de mise en oeuvre élevée		Revue dans Jeppesen <i>et al.</i> , 2012 ; Triest <i>et al.</i> , 2016 ; Zeng <i>et al.</i> , 2017

## 9.2 Eau destinée à la consommation humaine

Le code de la santé publique fixe à  $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  la limite de qualité pour le total des microcystines (MC) détectées et quantifiées dans l'EDCH.

Les traitements mis en œuvre dans les filières de traitement des EDCH sont fondés sur deux principes : des traitements de rétention ou des traitements de transformation. Les traitements de rétention sont à privilégier dans un premier temps car ils permettent de piéger les cellules de cyanobactéries sans libération de toxines. Néanmoins, lors d'une prolifération de cyanobactéries, il peut y avoir coexistence de cellules vivantes et de toxines dissoutes. La combinaison de différentes étapes de traitement peut conduire à une augmentation de la concentration en toxines à certaines étapes de la chaîne de traitement (Zamyadi *et al.*, 2013a ; Westrick *et al.*, 2010).

Aujourd'hui, le concept de traitement multi-barrières est adopté par les traiteurs d'eau afin entre autres de faire face au type de contamination de la ressource. Ce concept utilise une succession d'étapes basées sur des principes différents (rétention ou transformation) et permet notamment l'élimination des micro-organismes pathogènes garantissant ainsi l'absence de risque à court terme associé à la consommation de l'eau produite. De plus, la mise en place sur les filières de traitement de démarches qualité et de plans de gestion de la sécurité sanitaire permet d'optimiser les traitements en cas de prolifération de cyanobactéries dans les ressources.

Ce chapitre décrit chaque étape d'une filière classique de production d'EDCH et traite de l'effet de cette étape de traitement sur les cellules de cyanobactéries et/ou sur les toxines intracellulaires ainsi que son effet sur l'élimination des toxines extracellulaires dissoutes dans l'eau.

La figure 16 schématise les filières possibles de traitement d'eau de surface.

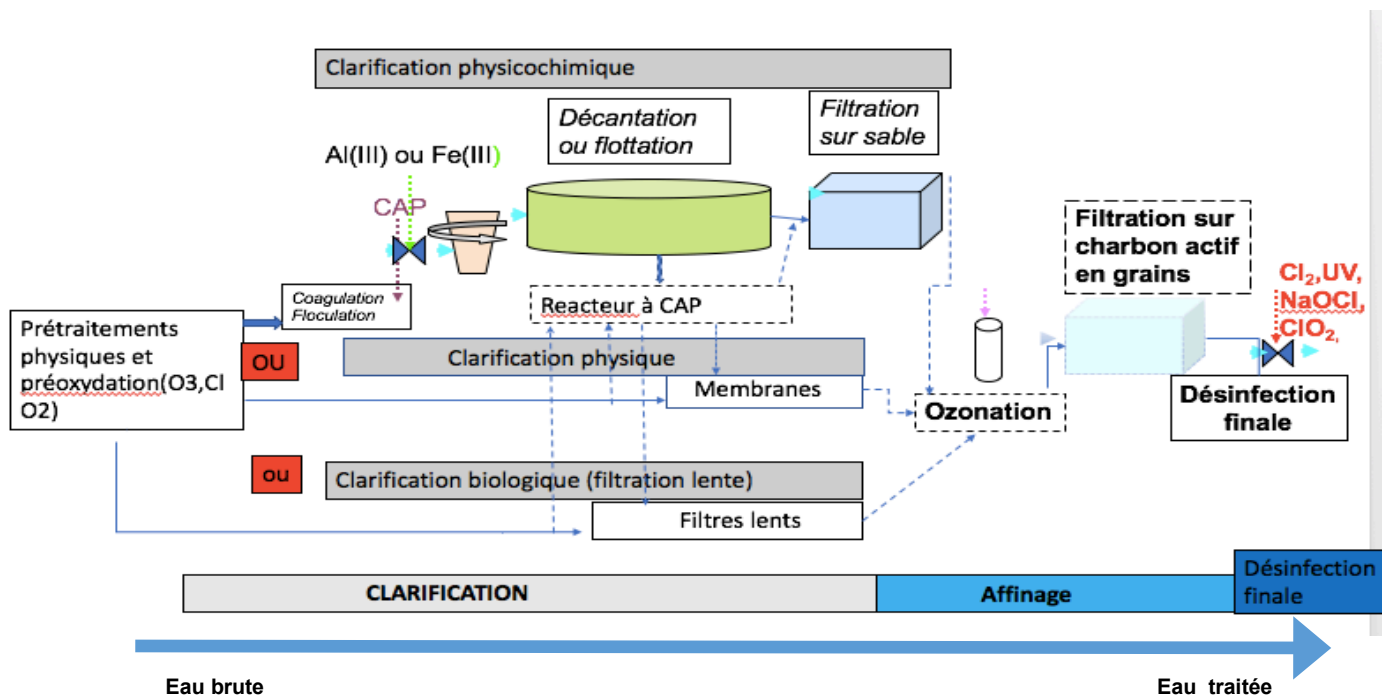


Figure 16 : principes de traitement d'une eau de surface (en pointillés étapes optionnelles)

### 9.2.1 Prétraitements

#### 9.2.1.1 Prétraitements physiques (dégrillage, débouage, dessablage, micro tamisage)

Ces traitements n'ont pas d'effet sur l'élimination des cellules de cyanobactéries ni sur celle des toxines extracellulaires (Afssa-Afssset, 2006 ; Merel, 2013).

### 9.2.1.2 Traitements de préoxydation

Ils sont généralement utilisés en traitement d'EDCH pour l'élimination du fer et du manganèse et pour faciliter la coagulation. Les oxydants classiquement utilisés sont le chlore, le dioxyde de chlore<sup>31</sup>, l'ozone et le permanganate de potassium.

#### 9.2.1.2.1 Le chlore et le dioxyde de chlore

En France, le chlore n'est plus utilisé en traitement de préoxydation car il n'est plus autorisé. En effet, il participe à la formation de sous-produits de chloration, dangereux pour la santé humaine. Le chlore n'est plus utilisé aujourd'hui car il provoque la lyse des cellules de cyanobactéries, libérant ainsi une grande partie des toxines. Newcombe *et al.* (2015) ont montré qu'à dose faible, l'intégrité des cellules de cyanobactéries n'est pas affectée et qu'il n'y a donc pas d'impact sur le traitement de coagulation. Par contre, à dose plus élevée, la pré-chloration a un effet très bénéfique sur la coagulation mais il y a alors un relargage de nombreux métabolites et sous-produits de désinfection (geosmine, 2 méthyl isobornéol), et les cyanotoxines dissoutes ne sont pas totalement oxydées (MC- LR, RR, CYN).

Pour le bioxyde de chlore, peu d'études concernent l'impact du dioxyde de chlore sur les cellules de cyanobactéries. Wert *et al.* (2013) ont montré qu'à des taux de traitement de 2 mg.L<sup>-1</sup>, les cellules étaient peu touchées par cet oxydant.

##### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

Newcombe *et al.* (2015) ont montré qu'à taux de traitement en chlore faible (0,25 à 2 mg.L<sup>-1</sup>) l'intégrité des cellules de cyanobactéries n'était pas affectée et qu'il n'y avait donc pas d'impact sur le traitement de coagulation. En revanche, à taux de traitement plus élevé (5 à 10 mg.L<sup>-1</sup>), la pré-chloration avait un effet très bénéfique sur la coagulation avec, toutefois, un relargage de métabolites et sous-produits de désinfection, une solubilisation de composés donnant un mauvais goût à l'eau (geosmine, 2-méthyl-isoborneol) et une oxydation incomplète des toxines intra et extracellulaires (MC-LR, MC-LA, cylindrospermopsine).

S'agissant du dioxyde de chlore, peu de publications étudient l'impact de cet oxydant sur les cellules. Wert *et al.* (2014) ont montré qu'à des taux de traitement de 2 mg.L<sup>-1</sup>, les cellules étaient peu affectées par le bioxyde de chlore ;

##### ■ Toxines extracellulaires

Bogialli *et al.* (2013) ont constaté une efficacité importante du dioxyde de chlore à des doses allant jusqu'à 2 mg.L<sup>-1</sup>. Les doses testées ont permis d'abattre 30 à 98 % des MC présentes dans l'eau brute d'un bassin italien sujet à des efflorescences de *Planktothrix rubescens*.

#### 9.2.1.2.2 L'ozone

##### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

Les doses utilisées classiquement en pré-ozonation sont de 0,2 à 0,25 mg O<sub>3</sub> par mg de carbone organique total (COT). L'ozone est utilisé en pré-ozonation pour l'oxydation du fer et du manganèse et a une action de « déstabilisation » des colloïdes présents dans l'eau.

##### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

La pré-ozonation est réputée améliorer l'élimination des cellules de cyanobactéries car elle provoque un changement de la structure externe de celles-ci (Merel *et al.*, 2013).

Huang *et al.* (2008b) ont montré un relargage de MC et une apparition de goût et d'odeur quand l'ozone était appliqué sur de l'eau contenant les genres de cyanobactéries *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria*.

Dans une étude portant sur une usine de traitement, Hoeger *et al.* (2005) ont observé que la pré-ozonation

---

<sup>31</sup> Le dioxyde de chlore est communément appelé bioxyde de chlore dans le domaine du traitement des eaux.

appliquée avec une dose de 1 mg.L<sup>-1</sup> d'ozone endommageait les cellules et entraînait la libération de MC intracellulaires.

Coral *et al.* (2013) ont effectué des études en laboratoire avec des suspensions de *Microcystis aeruginosa* et *Anabaena flos-aquae* (*Dolichospermum*) à des dénombrements de 2,5x10<sup>5</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> et de 1,5x10<sup>6</sup> cellules.mL<sup>-1</sup>. Les doses d'ozone étaient de 0,5, 2,0 et 4,0 mg.L<sup>-1</sup> à des pH de 6 et 8. Une perte rapide et complète de la viabilité des cellules a été observée pour les deux espèces après une exposition à l'ozone à un temps de contact (CT) inférieur à 0,2 mg.min.L<sup>-1</sup>. Bien que l'on n'ait observé aucune lyse des cellules pour l'espèce *M. aeruginosa* après un temps de contact de 10 minutes et une concentration d'ozone de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> à pH 5, une modification visible de la morphologie de la paroi de la cellule a été constatée. Les cellules de l'espèce *Anabaena flos-aquae* ont été affectées par l'ozone après un temps de contact de seulement 30 secondes avec une dose de 2 mg.L<sup>-1</sup> d'ozone. Cependant les auteurs signalent également une augmentation de la formation de trihalométhanes (THM) et d'acides haloacétiques sur la filière de traitement qui utilisait du chlore en désinfection finale.

#### ■ *Toxines extracellulaires*

Hoeger *et al.* (2005) ont observé sur une usine de production d'EDCH que la pré-ozonation à une concentration de 1 mg.L<sup>-1</sup> d'ozone permettait de réduire la concentration en MC extracellulaires totales de 7,05 µg.L<sup>-1</sup> à 0,19 µg.L<sup>-1</sup> dans l'eau traitée. **En pré-oxydation, la concentration d'ozone n'est pas suffisante pour éliminer les toxines intra et extracellulaires. L'ozone est ajouté pour « déstabiliser » les colloïdes, les oxydes de fer et de manganèse.**

#### 9.2.1.2.3 *Le permanganate de potassium*

Ho *et al.* (2009) ont montré que l'utilisation de permanganate de potassium (KMnO<sub>4</sub>) ne provoquait pas d'altération des cellules d'*Anabaena circinalis* (*Dilochospermum*) et donc pas de libération de saxitoxine. Cheng *et al.* (2009) ont montré également qu'il y avait une inactivation de *Cylindrospermopsis* par KMnO<sub>4</sub> sans libération de toxines. Le dioxyde de manganèse formé lors de l'oxydation du manganèse par l'ozone pourrait participer à l'adsorption des toxines éventuellement libérées. Ding *et al.* (2010) ont observé l'inactivation de cellules de *Microcystis aeruginosa* et ont trouvé un temps de demi-vie de 35 minutes avec un taux de traitement de 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. La lyse des cellules a conduit à la libération de microcystine LR qui a été rapidement oxydée par le permanganate.

**En conclusion, en cas d'efflorescence de cyanobactéries les traitements de pré-oxydation doivent être effectués avec une grande maîtrise en fonction des autres éléments présents dans l'eau brute. Ils peuvent en effet conduire à la libération de cyanotoxines et à la formation de sous-produits de désinfection dangereux pour la santé humaine, et à une détérioration des qualités organoleptiques de l'eau. Il est recommandé de les arrêter notamment quand l'oxydant utilisé est l'ozone. Le permanganate de potassium permet d'inactiver les cellules de *Microcystis aeruginosa* et d'oxyder les microcystines libérées.**

## 9.2.2 Traitements de clarification

La clarification de l'eau vise à éliminer la turbidité de l'eau constituée de colloïdes chargés négativement. De nombreux micro-organismes et polluants sont liés aux colloïdes présents dans l'eau et une bonne élimination de ces colloïdes permet également une bonne élimination de micro-organismes et micropolluants présents dans les eaux.

### 9.2.2.1 Clarification physico-chimique

Ce sont les traitements de coagulation, floculation suivis d'une séparation des particules floculées par décantation ou flottation. Ces étapes sont toujours suivies d'une filtration sur sable permettant de retenir les particules n'ayant pas décanté ou flotté.

### 9.2.2.1.1 Coagulation/floculation/décantation ou flottation

#### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

Les traitements de coagulation/floculation/décantation ou flottation sont très efficaces pour éliminer les cellules de cyanobactéries (Teixeira et Rosa, 2006a ; Merel *et al.*, 2013 ; Santé Canada, 2016 ; Westrick *et al.*, 2010). En effet, les cyanobactéries sont chargées négativement et se comportent comme les particules colloïdales présentes dans les eaux brutes (Bernhardt et Clasen, 1991) lors de la mise en oeuvre d'un processus de clarification physico-chimique (neutralisation de charges avec le coagulant ajouté). Ceci est particulièrement vrai pour les cellules sphériques alors que les cellules en bâtonnets sont plutôt éliminées par un processus de coprécipitation, nécessitant souvent une augmentation de la dose de coagulant par rapport à la dose théorique qui permet d'atteindre le potentiel zeta.

#### Coagulation

L'efficacité de la coagulation dépend cependant (Zamyadi *et al.*, 2013a) :

- du type de coagulant ;
- de la dose de coagulant ;
- de l'espèce de cyanobactéries ;
- des caractéristiques des cellules.

##### ○ Type de coagulant

Pietsch *et al.* (2002) considèrent que le sulfate d'alumine est plus efficace que les sels de fer pour l'élimination des cellules de cyanobactéries.

Henderson *et al.* (2008) mettent en évidence que le polychlorure d'aluminium est plus efficace pour éliminer *Anabaena flos-aquae* (*Dolichospermum*) et *Microcystis aeruginosa* que le sulfate d'alumine et les sels de fer.

Sun *et al.* (2012, 2013) montrent que la coagulation par des sels d'aluminium ne provoque pas la lyse des cyanobactéries pendant la coagulation avec le polychlorure d'aluminium mais Takaara *et al.* (2010) considèrent que la coagulation mettant en oeuvre ce même coagulant est inhibée par la matière organique de surface des cellules et par les protéines.

Newcombe *et al.* (2015) décrivent une élimination de 90 à 95 % des cellules algales et assurent, quant à eux, que les sels d'aluminium à pH 6,3 sont les coagulants les plus efficaces.

##### ○ Dose de coagulant

L'optimisation de la dose de coagulant est particulièrement importante (Santé Canada, 2016 ; Newcombe *et al.*, 2015 ; Afssa – Afsset, 2006). Très souvent, l'optimisation de la dose, qui correspond à l'élimination optimale du COT et de l'absorption UV, est un bon indicateur pour évaluer la dose optimale pour l'élimination des cellules d'algues et de cyanobactéries. En période d'efflorescence, il est souvent observé une forte augmentation du taux de traitement en coagulant classiquement utilisé due aux charges négatives des cellules, aux polysaccharides et autres substances relarguées.

La mesure du potentiel zêta (charge induite par les particules colloïdales) est particulièrement importante pour optimiser la dose et les systèmes d'optimisation de la dose de coagulant qui vérifient en continu le potentiel zêta des colloïdes sont toujours recommandés (Afssa-Afsset, 2006). Drikas *et al.* (2001) ont évalué la demande en coagulant et ont estimé que la demande en aluminium était de 0,0103 ng par cellule de *Microcystis aeruginosa*.

Les floccs de cyanobactéries étant très légers, il est recommandé d'utiliser systématiquement un floculant en plus du coagulant (Bernhardt et Clasen, 1991 ; Zamyadi *et al.*, 2013 a et b).



- Effets du genre de cyanobactéries

L'effet du traitement de coagulation/floculation sur les cellules de cyanobactéries dépend du genre de cyanobactéries présent.

Par exemple, les cellules d'*Aphanizomenon* sont mal coagulées et donc non piégées dans les boues (élimination de 54 à 75 %) ni retenues par les filtres. En revanche, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena* et *Pseudanabaena* sont bien éliminées par clarification physico-chimique (jusqu'à 99,9 %) (Zamyadi *et al.*, 2013c).

Qian *et al.* (2014) ont montré que la coagulation à pH 5 entraînait la lyse des espèces *A. circinalis* et *Cylindrospermopsis* tandis que l'intégrité des cellules de *M. aeruginosa* n'était pas touchée. Ainsi, à pH 4, une bonne partie de la cylindrospermopsine intracellulaire ( $10,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) était libérée en 30 minutes. Dans le cas de l'espèce *M. aeruginosa*, jusqu'à 6 % de la MC-LR (équivalente à  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  de la MC-LR intracellulaire initiale) ont été libérés à un pH de 4 au bout de 30 minutes.

- Caractéristiques morphologiques des cyanobactéries

L'efficacité de l'élimination dépend de l'âge des cellules : la charge négative de la membrane augmente avec la production de polysaccharides pendant la croissance des cellules de cyanobactéries (Merel *et al.*, 2013).

Chow *et al.* (1999) et Drikas *et al.* (2001) ont montré que les cellules de cultures de *M. aeruginosa* ajoutées à l'eau naturelle restaient intactes en cas d'élimination par une clarification classique (coagulation/floculation/décantation ou flottation) sans entraîner d'augmentation de la quantité de MC-LR dans l'eau traitée. En revanche, d'autres études ont révélé qu'une lyse des cellules de cyanobactéries était possible en fonction de la phase de croissance des cellules de cyanobactéries ou des conditions de coagulation (Pietsch *et al.*, 2002 ; Qian *et al.*, 2014).

- **Toxines extracellulaires**

Cette étape de traitement n'a aucun effet sur l'élimination des toxines extracellulaires.

### **Décantation/flottation**

La plupart des usines de traitement des eaux de surface sont équipées de décanteurs dans lesquels les particules coagulées et floculées décantent sous forme de boues. Ces boues s'accumulent dans les ouvrages et il est nécessaire de les extraire régulièrement afin d'assurer un bon fonctionnement de l'ouvrage.

Un autre système de séparation des particules floculées et de l'eau est la flottation à air dissous où de l'eau sous pression est injectée au fond du flottateur faisant remonter les particules en surface. Un système d'écumage de surface permet d'éliminer régulièrement les boues. Au regard de la masse des cellules de cyanobactéries et de la présence de vésicules gazeuses chez certaines espèces, la flottation s'avère être un procédé plus efficace que la décantation pour l'élimination des cellules de cyanobactéries (Afssa-Afsset, 2006, Merel *et al.*, 2013 ; Santé Canada, 2016, Mouchet *et al.*, 2008 ; Teixeira et Rosa *et al.*, 2006a).

Teixeira et Rosa (2006a) ont montré qu'il était possible d'éliminer de 92 % à 98 % des cellules de *M. aeruginosa* et des filaments de *Planktothrix rubescens*, ainsi que des microcystines intracellulaires, par technique de flottation à l'air dissous.

De plus, dans la technologie de flottation à air dissous, il n'y a pas d'accumulation de boues dans l'ouvrage et donc pas de risque de relargage ultérieur de toxines dans l'eau traitée (voir paragraphe sur les problèmes liés à la clarification physico-chimique).

**Pour les retenues sujettes régulièrement à des efflorescences de cyanobactéries, la flottation est à recommander sur les filières de traitement.**

### **Filtration**

C'est l'étape qui permet de retenir les particules qui n'ont pas été éliminées par décantation/flottation. Pendant les proliférations de cyanobactéries, il est souvent constaté des colmatages importants des filtres et une augmentation très rapide de la perte de charge, nécessitant des lavages réguliers des filtres (Mouchet

*et al.*, 1998). Les cellules de cyanobactéries peuvent s'accumuler dans les filtres et parfois traverser cette barrière. Almuhtaram *et al.* (2018) ont montré que les concentrations en cyanobactéries dans l'eau filtrée peuvent être supérieures à celles dénombrées dans l'eau brute si les filtres sont mal lavés. La lyse des cellules peut avoir lieu sur/dans les filtres et la gestion de cette étape est primordiale (Afssa-Afsset, 2006).

Les lavages des filtres s'effectuent à contre-courant, parfois avec des eaux chlorées, et ils peuvent donc contribuer à la lyse de certaines cellules. Les pertes d'eau seront alors importantes et une bonne gestion des eaux de lavage est impérative afin d'éviter une augmentation de la concentration en toxines dans la filière de traitement (voir paragraphe suivant).

## Problèmes posés lors du traitement de clarification physico-chimique

### ■ Décanteurs/flottateurs

Plusieurs auteurs (Zamyadi *et al.*, 2012 ; Drikas *et al.*, 2001) ont décrit la lyse de certaines cellules de cyanobactéries et un relargage de toxines dissoutes dans les eaux traitées en lien avec le temps de séjour des boues dans les ouvrages de traitement, le traitement de ces boues et le recyclage des eaux de lavage et des surnageants du traitement des boues.

La formation de mousse à la surface des décanteurs et des filtres par lyse des cellules a été décrite par Zamyadi *et al.* (2013a). Celle-ci dépend du type de cellules présentes dans l'eau brute : il est donc essentiel de les caractériser afin d'optimiser le traitement.

Une accumulation de cellules de cyanobactéries dans le lit de boue et à la surface des décanteurs a été observée dans deux usines de production d'EDCH (Zamyadi *et al.*, 2013b). Ces usines mettaient en oeuvre un traitement de clarification physico-chimique classique. Un risque faible était attendu en raison des faibles abondances cellulaires des cyanobactéries ( $< 400$  cellules. mL<sup>-1</sup>) dans l'eau brute. Néanmoins, il a été constaté la formation d'une écume très importante au-dessus des décanteurs dû à l'accumulation de cyanobactérie dans le décanteur. Les dénombrements de cellules de cyanobactéries (*Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Pseudanabaena* et *Gloeotrichia*) dans l'écume atteignaient  $1,5 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>. La concentration correspondante de MC totales était de  $9,3 \mu\text{g MC-LR}_{\text{équiv.}}\text{L}^{-1}$  ( $0,9 \mu\text{g.L}^{-1}$  de MC dissoutes). Des dénombrements élevés de cellules ( $> 10^5$  cellules. mL<sup>-1</sup>) ainsi que des concentrations de MC ( $5,5 \mu\text{g MC-LR}_{\text{équiv.}}\text{L}^{-1}$ ) ont également été constatés dans l'eau au-dessus des filtres. Ces informations ont été confirmées récemment par Almuhtaram *et al.* (2018) qui ont observé des dénombrements cellulaires allant jusqu'à  $1.1 \times 10^6$  cellules/mL.

Drikas *et al.* (2001) ont montré que les boues recueillies pendant un essai de floculation contenaient jusqu'à  $8.10^6$  cellules. mL<sup>-1</sup> de *M. aeruginosa*. La lyse des cellules s'est produite en deux jours et a libéré la MC-LR à des concentrations allant jusqu'à  $2\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Après un temps de séjour de cinq jours dans la boue, la concentration en MC dissoutes a commencé à diminuer. Les auteurs attribuent cette diminution à la biodégradation. Sun *et al.* (2012, 2013) ont également observé la lyse des cellules et la libération de la MC-LR sur un floc âgé de six jours, contenant l'espèce *M. aeruginosa*.

Sun *et al.* (2012, 2013) ont montré que la lyse des cellules de *M. aeruginosa* n'intervenait pas pendant la coagulation avec des sels d'aluminium mais lors du stockage des boues. Alors que cette lyse dans les boues intervient au bout de deux jours lorsque le coagulant appliqué est du polychlorure d'aluminium, elle est de six jours avec du chlorure d'aluminium. En effet, le polychlorure d'aluminium est plus efficace en tant que coagulant mais les boues formées avec ce coagulant sont moins stables. Les résultats de la littérature sont parfois contradictoires mais l'étude récente de Xu *et al.* (2016) explique les contradictions par une approche entre la viabilité et l'intégrité des cellules. Le coagulant utilisé joue un rôle important sur la viabilité et l'intégrité des cellules de *M. aeruginosa* dans les boues. Cette étude montre que le chlorure ferrique semble être le meilleur coagulant pour l'élimination des cellules et la perte de viabilité de *Microcystis aeruginosa* dans les boues sans provoquer de relargage de toxines.

**Le temps de séjour des boues dans les décanteurs est donc un paramètre très important à optimiser lors des efflorescences algales afin d'éviter le relargage de toxines extracellulaires dans les ouvrages de décantation. De plus, lors du traitement des boues, le recyclage des surnageants des épaisseurs doit être obligatoirement arrêté en cas d'efflorescences de cyanobactéries dans l'eau brute afin d'éviter une augmentation de la concentration en toxines dissoutes dans l'eau à traiter.**

## ■ Filtration

Aujourd'hui, les rendements des usines de traitement sont de plus en plus optimisés et le recyclage des eaux de lavage des filtres est souvent effectué afin d'améliorer les performances hydrauliques des filières de traitement (Anses, 2017). Or, ces eaux de lavage (notamment celles issues des filtres placés en aval de la décantation ou de la flottation) peuvent contenir une concentration importante de toxines dissoutes provenant soit de la lyse des cellules stockées dans le filtre, lyse provoquée par le lavage à contre-courant des filtres soit des mousses qui ont pu se former à la surface du filtre (Zamyadi *et al.*, 2013b). Almuhtaram *et al.* (2018) ont montré dans leur étude portant sur plusieurs usines de traitement que plus de 70 % des eaux de lavage des filtres contenaient une abondance cellulaire plus élevée que celle de l'eau brute.

Le recyclage de ces eaux en tête de filière ou en amont de la clarification physico-chimique peut conduire à une forte augmentation de la concentration en toxines, ce qui justifie l'interruption du recyclage lors d'une efflorescence algale sur la ressource. En cas de mise en place d'un traitement spécifique des eaux de lavage, les exploitants doivent s'assurer que ce traitement est capable d'éliminer l'apport de cellules et de toxines extracellulaires présentes dans les eaux de lavage (Anses, 2017).

**Les traitements de clarification physico-chimique ont une bonne efficacité pour l'élimination des cellules de cyanobactéries (99 à 99,5 % d'abattement des cellules). Néanmoins, l'efficacité dépend du type de coagulant, de la dose utilisée, du temps de séjour des boues dans les ouvrages de traitement et des cycles de filtration. Pour certaines espèces de cyanobactéries, la flottation permet une meilleure rétention des cellules que la décantation. La flottation est donc recommandée dans les filières traitant des eaux sujettes régulièrement à des efflorescences de cyanobactéries.**

**D'importantes précautions doivent être mises en œuvre pour avoir une efficacité maximale du traitement de clarification physico-chimique :**

- **Optimiser les doses de coagulant et de flocculant ;**
- **Privilégier la flottation plutôt que la décantation ;**
- **Limiter autant que possible le temps de séjour des boues dans les décanteurs ;**
- **Optimiser le lavage des filtres (réglage des cycles de filtration) ;**
- **Arrêter le recyclage des eaux de lavage des filtres et/ou optimiser le traitement des eaux de lavage si un tel traitement existe.**

### 9.2.2.2 Clarification biologique - filtration lente

La filtration lente est un procédé consistant à faire passer l'eau sur des filtres remplis de sable à une vitesse de filtration très faible (3 à 8 m.j<sup>-1</sup> contre 5 à 7 m.h<sup>-1</sup> pour une filtration dite « rapide » qui suit une étape de coagulation/floculation/décantation ou flottation). Il se forme à la surface du sable une couche composée de micro-organismes appelée « membrane biologique ». Ce procédé peut être mis en œuvre sur des eaux moyennement turbides mais n'est pas adapté lors de variations brutales de qualité d'eau.

Ce procédé n'est plus beaucoup utilisé en traitement de clarification dans les pays développés car il implique une emprise au sol très importante.

#### ■ *Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires*

Grützmacher *et al.* (2002) ont décrit une élimination de 85 % à 99 % des MC intra et extracellulaires d'une eau contenant des cellules de *Planktothrix agardhii*. Les phénomènes décrits sont d'abord une adsorption des cellules sur la membrane biologique puis la biodégradation des toxines extracellulaires. Néanmoins, un colmatage rapide des filtres survient dû à l'accumulation des cellules de cyanobactéries. De plus, de nombreux autres micro-organismes sont présents en quantité plus importante que les cyanobactéries dans la membrane biologique. Il existe de fait une concurrence entre les différents micro-organismes vis-à-vis des nutriments disponibles qui peut conduire à la mort des cellules avec le relargage des toxines intracellulaires. La biodégradation de toxines a uniquement été démontrée pour la MC-LR. De plus, ce traitement n'est efficace qu'à des températures nettement supérieures à 8°C et ne doit constituer qu'une étape au sein d'une

filière de traitement multibarrière (Merel *et al.*, 2013).

#### ■ *Toxines extracellulaires*

La filtration lente est un traitement qui permet la biodégradation des toxines. C'est ainsi que Grützmacher *et al.* (2002) ont ajouté 11,8 µg MC- LR<sub>équiv.</sub>.L<sup>-1</sup> (dissoute) à de l'eau devant être traitée par filtration lente à une vitesse de filtration de 0,8 m.j<sup>-1</sup>. Un taux d'élimination des MC dissoutes supérieur à 95 % a été observé sur une période de filtration de 30 heures. La concentration maximale retrouvée dans l'eau traitée était de 0,42 µg MC-LR<sub>équiv.</sub>.L<sup>-1</sup>.

Ho *et al.* (2012) ont mis en évidence, dans une étude sur un lac australien sujet à des efflorescences de cyanobactéries, que l'efficacité de la biodégradation des toxines était la suivante : MC-LR > CYN > STX. L'influence de la température est très importante et la saxitoxine a été considérée comme non biodégradable.

### 9.2.2.3 Clarification physique

La clarification physique correspond à la mise en œuvre de traitements membranaires de microfiltration (0,075 à 3,0 µm) et d'ultrafiltration (0,1 à 0,001 µm) couramment utilisés aujourd'hui en traitement d'EDCH pour éliminer la turbidité et certains micropolluants en dehors de la problématique des cyanobactéries. Les traitements de nanofiltration et d'osmose inverse sont utilisés plus particulièrement pour l'affinage. Un paragraphe leur sera consacré dans cette partie pour l'élimination des toxines dissoutes.

#### ■ *Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaire*

Chow *et al.* (1997) et Gijsbertsen-Abrahamse *et al.* (2006) ont montré que ces traitements permettaient d'éliminer les cellules sans les lyser lorsque les conditions de pression n'étaient pas trop élevées. Un pourcentage d'élimination de 98 % est souvent obtenu (Sorlini *et al.*, 2013 ; Chow *et al.*, 1997 ; Gijsbertsen-Abrahamse *et al.*, 2006 ; Westrick *et al.*, 2010). Néanmoins, ces auteurs mettent en avant un cisaillement possible des cellules (lyse) avec une libération potentielle de MC dissoutes dans l'eau filtrée notamment lorsque le colmatage des membranes intervient et que la pression transmembranaire est élevée.

Le colmatage rapide des membranes nécessitant des lavages fréquents, ce traitement n'est pas recommandé pour l'élimination des cellules de cyanobactérie lors d'une prolifération.

Gijsbertsen-Abrahamse *et al.* (2006) ont étudié en laboratoire l'élimination des MC intracellulaires, provenant de cultures de *P. agardhii* et de souches de *P. rubescens*, par des membranes d'ultrafiltration en PES/PVDF de seuil de coupure de 100 kDa. Ils font état d'une efficacité d'élimination de 98 % sur des cultures représentant un biovolume de 180 mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>.

Campinas et Rosa (2010) ont observé l'élimination complète des *M. aeruginosa* issues de cultures en laboratoire (concentration en chlorophylle-a de 20 µg. L<sup>-1</sup>) à l'aide d'une membrane en acétate de cellulose de seuil de coupure 100 kDa. Les auteurs ont observé une lyse des cellules pendant l'ultrafiltration, en particulier pour les cultures de cellules plus vieilles.

Une diminution du flux (Campinas et Rosa, 2010) et une augmentation de la pression transmembranaire (Gijsbertsen-Abrahamse *et al.*, 2006) attribuées au colmatage des membranes d'ultrafiltration avec de la matière organique algale ont été observées. Gijsbertsen-Abrahamse *et al.* (2006) ont noté que le colmatage était réversible et pouvait être éliminé grâce à un lavage à contre-courant. En revanche, Qu *et al.* (2012) ont montré un colmatage irréversible de membranes d'ultrafiltration : la présence de 4x10<sup>6</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> de *M. aeruginosa* ayant entraîné un colmatage irréversible de la membrane allant jusqu'à 30 %. Ce colmatage était dû aux protéines et polysaccharides qui se déposaient sur la membrane. Dixon *et al.* (2011), ont observé une élimination totale d'une culture de laboratoire de *Anabaena circinalis* (10<sup>5</sup> cellules. mL<sup>-1</sup>) ajoutée à l'eau d'un réservoir par une membrane d'ultrafiltration à fibres creuses.

#### ■ *Toxines extracellulaires*

L'élimination des substances dissoutes par filtration membranaire repose sur différents principes : l'exclusion de taille, les interactions par liaisons hydrogène et interactions électrostatiques (Westrick *et al.*, 2010). La microfiltration ne permet pas d'éliminer les toxines dissoutes car la taille des pores est trop élevée (Merel *et al.*, 2010 ; Santé Canada, 2016 ; Westrick *et al.*, 2010).

- Ultrafiltration

Lee *et al.* (2008) ont étudié en laboratoire l'impact des caractéristiques et des conditions d'exploitation de sept membranes d'UF (seuil de coupure de 1000 à 30000 Da) sur l'élimination de MC-LR. Ils ont montré que dans les premières phases de filtration, la MC-LR est éliminée par un mécanisme d'adsorption (notamment pour les membranes hydrophobes telles que le polysulfone (91 % d'élimination) et le polyethersulfone (67 % d'élimination) puis ensuite par des mécanismes d'exclusion de taille. L'élimination par exclusion, dans cette étude, augmente de 34 % à 69,5 % quand la taille des molécules diminue de 4000 à 1000 Da. En outre, l'hydrophobicité, l'épaisseur, la porosité de la membrane et la concentration entrante en MC-LR sont des facteurs déterminants dans l'efficacité d'élimination des MC-LR par UF. Un flux élevé du perméat permet également d'obtenir un taux d'élimination plus important des microcystines par adsorption et un taux d'élimination plus faible d'exclusion.

Westrick *et al.* (2010) confirment que l'ultrafiltration n'est pas un traitement permettant une élimination complète des toxines algales et des cyanobactéries.

- Nanofiltration et osmose inverse

La nanofiltration et l'osmose inverse permettent théoriquement une élimination de plus de 90 % des toxines dissoutes (Santé Canada, 2016). L'efficacité dépend des types de toxines dissoutes, notamment de leur taille car le mécanisme est essentiellement un mécanisme d'exclusion.

Gijsbertsen-Abrahamse *et al.* (2006) ont mis en évidence un pourcentage d'élimination des MC-RR, -LR, -YR et -LA dans de l'eau du robinet supérieur à 99 % pour des concentrations initiales variant de 1,3 à 9,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Ils considèrent donc que l'élimination des toxines dissoutes est de 90 % par nanofiltration en usine de traitement EDCH même à des concentrations initiales élevées pouvant aller jusqu'à 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Ils ont également montré que l'anatoxine-a à une concentration voisine de 4,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$  était moins bien éliminée par nanofiltration (96 %) que la MC-RR qui est éliminée à 99 %. Cela s'explique par une masse moléculaire plus faible de l'anatoxine-a comparée à celle de la microcystine-RR.

Dixon *et al.* (2011) ont effectué des expériences en laboratoire afin de déterminer la capacité d'élimination des MC (MC-RR, MC-LR, MC-YR et MC-LA) dans deux échantillons d'eau traitée par quatre membranes de nanofiltration spiralées. Les membranes avaient des seuils de coupure allant de 100 à 800 Da. Les eaux ont été dopées en MC à des concentrations de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC. Les trois membranes de nanofiltration avec des seuils de coupure plus faibles (100–300 Da) ont permis d'obtenir des efficacités d'élimination semblables pour les quatre MC (> 90 %) dans les deux échantillons. La membrane hydrophobe (polyéther sulfone) avec un seuil de coupure plus élevé (600–800 Da) élimine moins bien les MC-RR, -LR et -YR avec des efficacités plus faibles dans les deux échantillons d'eau (40–90 %). La matière organique présente dans les échantillons a eu un effet négligeable sur l'élimination des MC.

Teixeira et Rosa (2006b) ont montré une efficacité des membranes de NF supérieure à 95 % d'élimination des anatoxines-a et des MC, celle-ci se produisant *via* deux mécanismes d'action principaux : l'interaction électrostatique et le rejet physique dû à l'encombrement stérique pour les anatoxines et le seul rejet physique dû à l'encombrement stérique pour les microcystines.

Peu de données existent pour la saxitoxine et la cylindrospermopsine. Toutefois, Westrick *et al.* (2010) avancent qu'au regard de la taille de ces toxines, leur élimination serait possible par nanofiltration et osmose inverse.

Le problème majeur lié aux traitements membranaires est l'élimination des concentrats de membranes. Couto *et al.* (2015) ont décrit un traitement efficace des concentrats par électrodialyse qui permettrait d'éliminer complètement les MC.

**En conclusion, les traitements membranaires d'ultrafiltration permettent une bonne élimination des cellules de cyanobactéries. Néanmoins, un colmatage rapide des membranes peut être observé. Ce dernier peut conduire à la lyse de certaines cellules. Si le colmatage est fréquent, il est nécessaire de renforcer les rétrolavages. Les traitements membranaires d'ultrafiltration ne sont donc pas adaptés au traitement direct d'eaux contenant un grand nombre de cellules de cyanobactéries.**

**Seuls les traitements membranaires par nanofiltration et osmose inverse permettent une bonne élimination des toxines dissoutes avec une élimination d'autant plus importante que le pouvoir de coupure de la membrane est faible (< 300 Da).**

### 9.2.3 Traitement à la chaux

Hrudey *et al.* (1999) ont montré que ce traitement permettrait l'élimination des cellules sans dommage sur celles-ci. Toutefois, peu de données existent dans la littérature.

### 9.2.4 Traitements d'adsorption

Les traitements d'adsorption ne concernent que l'élimination des toxines extracellulaires.

Le charbon actif est un matériau utilisé très souvent en traitement d'EDCH pour éliminer les micropolluants organiques présents dans l'eau : matière organique d'origine naturelle, produits phytosanitaires, hydrocarbures, solvants, *etc.* Le charbon peut avoir plusieurs origines de matière première : bois, noix de coco, ou houille. Les procédés d'activation peuvent être chimiques (dans ce cas, le charbon n'est pas régénérable) ou thermique.

#### ■ Adsorption sur charbon actif en grains

Ce procédé consiste à filtrer l'eau sur un lit constitué de charbon actif en grains de taille variant de 0,25 à 3 mm (Degrémont). Le temps de contact est en général de 10 à 12 min pour avoir une bonne efficacité d'adsorption mais les vitesses de filtration ne doivent pas dépasser  $6 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ . Ce lit filtrant est régulièrement lavé afin d'éviter les passages préférentiels, et le charbon est renouvelé tous les deux à trois ans en fonction de la qualité de l'eau à traiter et surtout de la charge en micropolluants organiques à éliminer.

Newcombe (2002) et Wang *et al.* (2007) ont mis en évidence des phénomènes de compétition entre les toxines extracellulaires et la matière organique naturelle présentes dans l'eau entraînant la nécessité d'une régénération plus fréquente du charbon. Newcombe (2002) cite également un processus de biodégradation, confirmé par Wang *et al.* (2007) qui ont observé un taux d'abattement de 70 % de MC-LR et 40 % de MC-LA sur du charbon actif stérilisé, et de 90 % de MC-LR et 70 % de MC-LA sur du charbon actif non stérilisé, où l'activité biologique est très importante.

Le temps de contact est particulièrement important pour garantir une bonne élimination. Un temps de contact de 10 min permet d'abattre au moins 80 % de MC-LR même si la concentration en matière organique dans l'eau à traiter est élevée (jusqu'à  $5,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  COT) (Alvarez *et al.*, 2010).

Le type de charbon actif en grains, notamment la taille des pores, a un impact sur leur performance à éliminer la MC. Pendleton *et al.* (2001) ont étudié en laboratoire l'efficacité des charbons actifs produits à partir de bois et de noix de coco pour l'élimination de la MC-LR. Les charbons à base de noix de coco, considérés comme de très bons adsorbants des micropolluants, ont un indice d'iode élevé. Leur nombre de micropores ( $\leq 1,6 \text{ nm}$ ) est également plus élevé que les charbons à base de bois ce qui favorise l'adsorption des petites molécules. Pendleton *et al.* (2001) ont montré que les charbons dérivés du bois plus riches en mésopores (2 à 50 nm) adsorbaient plus de MC que les charbons à base de noix de coco, résultat confirmé par Huang *et al.* (2007), Newcombe (2002) et Sorlini *et al.* (2013).

Donati *et al.* (1994) ont également montré que les charbons contenant un nombre élevé de micropores (houille, noix de coco) étaient plus efficaces pour l'élimination des saxitoxines (concentration 3 à  $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), toxines de masse molaire plus petite que les MC, mais avec une efficacité moindre pour les toxines C1 et C2 par rapport aux autres variants de STX.

#### ■ Adsorption sur charbon actif en poudre

L'ajout de charbon actif en poudre (CAP) a été beaucoup utilisé lors d'efflorescences algales dans les ouvrages de décantation/flottation (Afssa-Afsset, 2006). Aujourd'hui, cette technique est plus utilisée que celle de la filtration sur charbon actif en grains. Elle est mise en œuvre dans des réacteurs spécifiques souvent après le décanteur ou flottateur dans lesquels le charbon actif neuf est injecté en continu. Une grosse masse de charbon est présente offrant une capacité d'adsorption très importante des micropolluants organiques en général et également des MC.

Cette technologie est très efficace pour la rétention des toxines :

- Mouchet et Bonnelye (1998) ont mis en évidence une efficacité de 90 % d'abattement d'anatoxine—a

- et de MC-LR avec 11 mg.L<sup>-1</sup> de charbon actif en poudre ;
- Newcombe (2002) recommande d'appliquer, pour un temps de contact de 60 min et une concentration en MCs dans l'eau à traiter comprise entre 3 et 4 µg.L<sup>-1</sup>, une dose de charbon actif de 20 mg.L<sup>-1</sup> pour la MC-LR, 12 mg.L<sup>-1</sup> pour la MC-YR et 10 mg.L<sup>-1</sup> pour la MC-RR ;
  - En 2010, Alvarez *et al.* (2010) ont conclu qu'une dose de charbon actif de 10 mg.L<sup>-1</sup> et un temps de contact allant de 30 à 120 minutes étaient suffisants pour réduire la concentration de MC-LR de 2-3 µg.L<sup>-1</sup> à moins de 1 µg.L<sup>-1</sup>.

Des études ont également été menées sur l'efficacité du charbon actif en poudre sur différents variants de MC. Newcombe (2002) a étudié en laboratoire l'élimination de 10 µg.L<sup>-1</sup> de MC-LR, -LA, -RR et -YR ajoutés à une eau de surface de concentration en COT de 10 mg.L<sup>-1</sup> avec 2 mg.L<sup>-1</sup> de charbon actif en poudre. Les taux d'élimination de la MC-RR, de la MC-YR, de la MC-LR et de la MC-LA étaient respectivement de 68, 38, 15 et 2 %.

Plus récemment, Ho *et al.* (2011) ont étudié en laboratoire l'adsorption de MC-RR, -YR, -LR et -LA (10 µg.L<sup>-1</sup> MC-LR, 4 µg.L<sup>-1</sup> MC-RR, YR et LA) dans trois eaux de surface avec deux types de charbon actif en poudre à base de bois et activés thermiquement (taille effective et surface spécifique différentes). Une dose de 100 mg.L<sup>-1</sup> et un temps de contact de 30 min permettaient une réduction de 95 % des quatre variants de MC précités pour les deux charbons. Un temps de contact supérieur à 30 min n'avait pas d'influence sur l'adsorption de ces quatre variants, quel que soit le charbon actif utilisé. Pour des doses de charbon identiques, les pourcentages d'abattement des MC étaient les suivants : MC-RR > MC-YR > MC-LR > MC-LA. Par ailleurs, cette étude mettait en évidence un abattement de 20 µg.L<sup>-1</sup> de cylindrospermopsine équivalent à celui de la MC-RR.

#### **L'adsorption sur charbon actif permet un bon abattement de la plupart des toxines.**

**La filtration sur charbon actif en grains couplée à la biodégradation permet un abattement de plus de 80 % de la MC-LR. Le type de charbon actif utilisé est important, les charbons à base de bois adsorbent bien les MC alors que les charbons à base de houille adsorbent mieux les saxitoxines. À noter que ces charbons doivent être régénérés régulièrement.**

**L'adsorption sur charbon actif en poudre est efficace sur l'ensemble des toxines mais l'efficacité dépend de la dose de charbon utilisée (par exemple minimum 70 % d'abattement avec un taux de traitement en charbon de 2 mg.L<sup>-1</sup> et jusqu'à 95 % d'abattement avec des doses plus élevées pour la MC-LR). Les nouvelles technologies mettant en œuvre des réacteurs à charbon actif en poudre sont particulièrement efficaces pour éliminer les toxines extracellulaires et sont à recommander sur les filières ayant à traiter des eaux sujettes régulièrement à des efflorescences de cyanobactéries. Le taux de traitement en charbon actif en poudre devra donc être adapté en fonction du type de toxine et de la concentration initiale.**

## **9.2.5 Traitements d'oxydation**

### **9.2.5.1 Oxydation chimique**

Ces traitements ont été peu étudiés pour les cellules car en général, ils sont appliqués après les traitements de clarification au cours desquels les cellules de cyanobactéries ont été éliminées. En revanche, ces traitements ont été davantage étudiés pour éliminer les toxines dissoutes. Sharma *et al.* (2012) ont montré que l'efficacité globale des oxydants était la suivante : ozone > permanganate de potassium > chlore >>> oxydants à base de chlore.

#### **9.2.5.1.1 Chlore**

Le chlore est souvent utilisé en désinfection finale dans les installations de production d'EDCH car il a un bon pouvoir rémanent. Il est utilisé pour éviter la dégradation de la qualité microbiologique de l'eau mise en distribution.

### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

La concentration initiale en cellules de cyanobactéries est un facteur déterminant pour l'efficacité de l'oxydation au chlore. En effet, pendant l'oxydation au chlore de  $5 \times 10^4$  cellules.mL<sup>-1</sup> de *Microcystis aeruginosa* à des taux de traitement variant de 0,63 à 5 mg.L<sup>-1</sup>, aucune augmentation nette de la concentration en MC-LR n'a été détectée. Toutefois, en présence de concentrations plus élevées de cellules ( $2.10^5$  cellules. mL<sup>-1</sup>) et de l'application de chlore de 0,63 mg.L<sup>-1</sup> (concentration en chlore résiduel x temps de contact avec le chlore (CT) = 40 mg min.L<sup>-1</sup>), une concentration de 2,02 µg MC-LR.L<sup>-1</sup> a été détectée (Wert et Rosario-Ortiz, 2013 ; Zamyadi *et al.*, 2013c).

À des CT plus élevés (> 413 mg min.L<sup>-1</sup>), toute la MC libérée était oxydée par le chlore. Zamyadi *et al.* (2013c) ont établi que des CT compris entre 100 et 296 mg min.L<sup>-1</sup> étaient nécessaires pour lyser 76 % des cellules de *M. aeruginosa* présentes et oxyder les MC-LR libérées lors de la lyse des cellules jusqu'à atteindre une concentration inférieure à 1 µg.L<sup>-1</sup>. Wert et Rosario-Ortiz (2013) ont également étudié la formation de nombreux sous-produits de désinfection à partir d'extraits de cellules de cyanobactéries (*Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria* et *Lyngbya*) selon des méthodes normalisées. Les concentrations mesurées en acides haloacétiques (100 à 120 µg/mg C) étaient plus élevées que celles en trihalométhanes (38 à 64 µg /mgC).

### ■ Toxines extracellulaires

Merel *et al.* (2010) ont montré que les microcystines, nodularines, cylindrospermopsines et saxitoxines étaient très rapidement transformées par chloration mais que l'anatoxine était peu dégradée.

Le pH joue un rôle essentiel et l'effet du chlore est important quand celui-ci se trouve sous forme HOCl c'est-à-dire à des pH inférieurs à 7,5. La demande en chlore de la matière organique peut être élevée, ce qui peut diminuer l'action du chlore sur les toxines (Acero *et al.*, 2005 ; Merel *et al.*, 2010). Néanmoins, Merel *et al.* (2010) considèrent que les concentrations en chlore utilisées généralement pour la désinfection de l'eau sont en large excès pour éliminer les MC aux concentrations généralement retrouvées (20 µg.L<sup>-1</sup>).

Acero *et al.* (2005) ont déterminé que la vitesse de réaction du chlore avec les MC-LR, -RR, et -YR était la même et concluent que le mécanisme d'action est une hydroxylation du groupement ADDA. Au contraire, Ho *et al.* (2006) ont reporté une cinétique différente suivant les variants avec l'ordre suivant : YR > RR > LR > LA suggérant que les différents acides aminés jouaient un rôle dans la dégradation des MC. Acero *et al.* (2005) ont montré que la constante de réaction de pseudo 1<sup>er</sup> ordre augmentait avec le ratio molaire chlore/toxine. Les cinétiques d'action suivent une réaction du 2<sup>nd</sup> ordre mais elles sont du 1<sup>er</sup> ordre par rapport à la concentration en chlore et en MC (Sharma *et al.*, 2012). Les constantes apparentes dépendent du pH (4,75 10<sup>2</sup> M<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> à pH 4,8 et 9,8 M<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> à pH 8) pour la MC-LR. Les temps de demi-vie varient de quelques minutes à pH 6 à quelques heures à pH 8 pour des concentrations en chlore de 0,5 à 1 mg.L<sup>-1</sup> (Sharma *et al.*, 2012). Le chlore produit néanmoins des sous-produits par hydroxylation ou substitution du chlore notamment sur la structure ADDA.

Plusieurs études (Merel *et al.*, 2010 ; Rodriguez *et al.*, 2007) montrent une diminution de la toxicité des solutions après chloration notamment pour les microcystines, nodularines et la cylindrospermopsine. Le premier sous-produit identifié suite à la chloration de la MC-LR a été la dihydroxy-microcystine (Tsuji *et al.*, 1997).

Senogles *et al.* (2000) ont montré que la cylindrospermopsine pouvait aussi être dégradée par le chlore à des pH compris entre 6 et 9. Elle est éliminée à 98 % si la concentration en chlore est dix fois supérieure à celle de la cylindrospermopsine. Deux sous-produits ont été identifiés : le chlorouracile, le 5-chloro-cylindrospermopsine, et un acide carboxylique. Les études de bioessais sur souris n'ont montré aucune toxicité. Senogles *et al.* (2000) ont reporté une dégradation possible à des pH allant jusqu'à 9 quand l'amine de l'uracile n'était pas protonée mais Rodriguez *et al.* (2007) ont reporté plus récemment une dégradation maximum à pH 7 avec une constante apparente de 2<sup>nd</sup> ordre de 1,265 M<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>.

La saxitoxine a été moins étudiée. L'efficacité du chlore augmente fortement avec le pH (passage de 20 % d'élimination à pH=4 à 98 % à pH=9) (Nicholson *et al.*, 2003). La réactivité du chlore dépend beaucoup du variant. Westrick *et al.* (2010) ont établi la réactivité du chlore sur les différents variants selon l'ordre suivant : STX5 = dcSTX > STX > GTX3 = C2 > GTX2. Dans cette étude, la toxicité des sous-produits (non identifiés), évaluée par des bioessais sur souris, a été éliminée suite au traitement de chloration. Les sous-produits formés n'ont jusqu'ici pas été identifiés et leur toxicité éventuelle reste à étudier.

La dégradation de l'anatoxine-a est très lente (Hrudey *et al.*, 1999 ; Rodriguez *et al.*, 2007). La constante apparente déterminée par Rodriguez *et al.* (2007) à pH 7 est de 0,71 M<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>. Merel *et al.* (2010) ont considéré que l'action du chlore sur cette toxine était trop faible et les sous-produits éventuels n'ont jamais



été étudiés.

#### 9.2.5.1.2 Dioxyde de chlore

##### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

Les résultats présentés dans la littérature sont contradictoires.

À des CT compris entre 11 et 347 mg.min.L<sup>-1</sup> couramment utilisés à des fins de désinfection de l'EDCH, le dioxyde de chlore n'est pas efficace car il entraîne la lyse des cellules ainsi que la libération et l'accumulation de la MC-LR (Ding *et al.*, 2010).

Wert *et al.* (2014) ont étudié l'action de différentes concentrations de ClO<sub>2</sub> (0,63 à 5 mg.L<sup>-1</sup>) sur des cellules de *Microcystis aeruginosa* ajoutées à une eau naturelle (COD = 2,65 mg.L<sup>-1</sup>) et ont montré que pour des CT de l'ordre de 560 mg.min.L<sup>-1</sup> appliqués à un dénombrement de 5.10<sup>4</sup> cellules.mL<sup>-1</sup>, aucune augmentation de la concentration en MC-LR n'était détectée. En revanche, pour des dénombrements plus élevés, de la MC-LR était libérée mais rapidement oxydée dès que le CT dépassait 690 mg.min.L<sup>-1</sup>.

Zhou *et al.* (2014) ont montré que l'oxydation d'une suspension de cellules de cyanobactéries contenant 10<sup>5</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> de *M. aeruginosa* avec une dose de ClO<sub>2</sub> de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> pendant 10 minutes (CT de 10 mg.min.L<sup>-1</sup>) entraînait la quasi-absence de cellules intègres. Ils concluent à une libération de 10 µg.L<sup>-1</sup> de MC-LR. D'après ces auteurs, la microcystine libérée est oxydée à 100n% par le ClO<sub>2</sub>.

La dégradation des cellules se traduit par une augmentation de la matière organique. Cette matière organique peut être précurseur de sous-produits de désinfection dangereux pour la santé humaine. Zhou *et al.* (2014) dans leur expérimentation ont observé le relargage de 1,25 mg.L<sup>-1</sup> de COT et ont constaté la formation de 20 µg.L<sup>-1</sup> de THM et de 60 µg.L<sup>-1</sup> d'acides haloacétiques totaux.

##### ■ Toxines extracellulaires

L'oxydation de la MC-LR avec du ClO<sub>2</sub> est très lente (Kull *et al.* 2004). Le pH joue également un rôle mais moins important que le chlore (constantes de vitesse passant de 1,2 M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> à 0,8 M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> pour une augmentation du pH de 5,65 à 10). Il est reporté un abattement d'environ 20 % (Sorlini *et al.*, 2011). Ji *et al.* (2008) ont rapporté une efficacité meilleure du dioxyde de chlore sur la MC-RR mais les taux de traitement dépassaient nettement ceux classiquement utilisés pour la désinfection d'EDCH.

#### 9.2.5.1.3 Ozone

L'ozone est utilisé classiquement pour la désinfection des EDCH notamment pour ses propriétés bactéricides et virucides.

##### ■ Cellules de cyanobactéries / toxines intracellulaires

Les résultats de la littérature relative à l'action de l'ozone sur les cyanobactéries sont variables et parfois contradictoires. Cela tient probablement au fait que les études sont réalisées soit en laboratoire soit sur des eaux de surface lors d'épisodes d'efflorescences algales : les cellules issues d'efflorescences sont moins réactives que les cellules de laboratoire (Zamyadi *et al.*, 2015).

Coral *et al.* (2013) ont observé une grande résistance des cultures d'*Anabaena flos-aquae* et de *Microcystis aeruginosa* exposées à des CT de 22 et 7 mg.min.L<sup>-1</sup> (47 % de lyse pour *Anabaena* et 52 % pour *Microcystis*). Il n'a pas été observé, à proprement parler, de lyse des cellules mais une modification de la paroi des cellules ainsi qu'une perte de la viabilité des cellules. Une forte augmentation de la concentration en carbone organique dissous a été observée, qui peut conduire à la formation de sous-produits chlorés si une chloration est effectuée ensuite sur la filière de traitement.

Wert et Rosario-Ortiz (2013) ont observé que les constantes de vitesses d'ozonation pour les cyanobactéries filamenteuses (*Oscillatoria* et *Lyngbya*) étaient deux fois plus faibles que pour les cyanobactéries unicellulaires.

Ainsi, les mêmes auteurs ont également constaté que parmi les deux genres suivants *Microcystis* et *Oscillatoria*, *Microcystis aeruginosa* était la plus riche en matière organique dissoute et que la matière organique extraite d'*Oscillatoria* est de fait plus biodégradable que celle issue de *Microcystis aeruginosa*. Une concentration de 1,2 µg.L<sup>-1</sup> de MC-LR a été détectée après ozonation de 2x10<sup>5</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> avec une dose d'ozone de 0,63 mg.L<sup>-1</sup> et un temps de contact de quelques secondes. Néanmoins, avec une

augmentation de la dose ( $1,25 \text{ mg.L}^{-1}$ ) et un CT de  $0,22 \text{ mg.min}^{-1}.\text{L}^{-1}$ , la concentration en MC-LR était inférieure à  $0,5 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ . L'ozonation de suspensions de ces cellules a conduit à la formation d'aldéhydes (acétaldéhyde, formaldéhyde et glyoxal) dont les concentrations augmentent avec le rapport  $\text{O}_3/\text{Carbone organique dissous}$  (COD).

#### ■ *Toxines extracellulaires*

Les conditions de désinfection classiquement utilisées en traitement d'EDCH permettant d'obtenir un résiduel de  $0,4 \text{ mg.L}^{-1}$  au bout d'un temps de contact de quatre minutes conduisent à la dégradation des MC.

Le traitement d'ozonation est efficace à dose élevée d'ozone quand l'ozone est sous forme moléculaire (à pH acide ou en présence de pièges à radicaux) pour éliminer l'anatoxine-a et la cylindrospermopsine (Al Momani *et al.*, 2010). L'effet du pH est beaucoup moins marqué pour les MC. Les MC sont mieux dégradées à pH 8 quand l'ozone agit sous forme radicalaire, les radicaux hydroxyles générés ayant une action oxydante plus importante. L'ozone oxyde les doubles liaisons des groupes ADDA et MDHA des microcystines. Les constantes apparentes d'action de l'ozone sur les toxines sont dans l'ordre suivant :  $\text{MC} > \text{CYN} > \text{ATX-a}$  (Onstadt *et al.*, 2007).

La matière organique interfère beaucoup sur l'efficacité de l'ozone car elle induit une demande en ozone très élevée (Onstadt *et al.*, 2007). Néanmoins, Alvarez *et al.* (2010) considèrent que les doses d'ozone classiquement utilisées en traitement d'EDCH sont suffisantes pour abattre 97 % de la MC-LR. Les sous-produits formés lors de l'ozonation de la MC-LR évalués par des bioessais sur souris ont une toxicité moindre (Miao *et al.*, 2010). Il n'y a pas de données sur les sous-produits formés par ozonation de la cylindrospermopsine et de l'anatoxine-a.

#### 9.2.5.1.4 *Permanganate de potassium*

Peu de données existent sur l'action du permanganate sur les toxines.

Le permanganate de potassium est actif sur les MC et sa réactivité ne dépend pas du pH. Les constantes apparentes pour les MC-LR, -RR, et -YR varient de 350 à  $420 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ . Le permanganate de potassium est très peu réactif sur la cylindrospermopsine (Rodriguez *et al.*, 2007).

La constante de réaction du permanganate de potassium sur l'anatoxine-a est de  $2,1 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$  à pH compris entre 6 et 8 et double quand le pH varie de 8 à 10. Ho *et al.* (2009) ont montré que la saxitoxine n'était pas dégradée par le permanganate de potassium.

**En conclusion, les traitements d'oxydation chimique provoquent souvent la lyse des cellules induisant alors la libération de toxines dans le milieu ou une altération des cellules conduisant à une perte de leur viabilité.**

**Néanmoins, ces traitements sont efficaces pour éliminer les toxines dissoutes. Le chlore et l'ozone sont très efficaces sur la plupart des toxines aux doses classiquement utilisées pour la désinfection de l'EDCH mais leur action conduit à la formation de sous-produits de désinfection pouvant être dangereux pour la santé humaine. Le permanganate de potassium a une action de lyse sur les cellules et a un effet oxydant sur les microcystines et l'anatoxine-a.**

**Les sous-produits d'oxydation des toxines ont été peu identifiés et les études mettent en général en évidence une toxicité faible (évaluée par des tests globaux).**

#### 9.2.5.2 Oxydation physique

Cette partie concerne uniquement les toxines extracellulaires car ces traitements sont appliqués en fin de filière de traitement sur des eaux claires sans aucune turbidité (limite de qualité de la turbidité au point de mise en distribution : 1 NFU).

### 9.2.5.2.1 Traitement par rayonnements UV

Il faut rappeler que l'utilisation des rayonnements ultra-violetés lors de l'étape de désinfection finale ne peut être mise en oeuvre que si la turbidité de l'eau est inférieure à 0,5 NFU<sup>32</sup>. On considère également que les cellules de cyanobactéries ont été éliminées préalablement dans la filière de traitement.

En traitement d'EDCH, les doses pour assurer la désinfection sont de 40 mJ.cm<sup>-2</sup> avec des lampes moyenne ou basse pression (Anses, 2010).

La MC-LR a deux maxima d'adsorption dans l'UV à 238 et 210 nm dus aux doubles liaisons de l'acide aminé ADDA et de la liaison insaturée de l'acide aminé Mdha. Les MC absorbent les rayons UV à 254 nm et sont bien détruites par irradiation à cette longueur d'onde (Merel *et al.*, 2013).

Senogles *et al.* (2000), Chorus et Bartram (1999), Afzal *et al.* (2010) ont montré que les MC, l'anatoxine-a et la cylindrospermopsine pouvaient être éliminées avec des doses de 1530 à 20000 mJ.cm<sup>-2</sup>, ce qui est très supérieur à ce qu'on utilise pour la désinfection des EDCH.

Sharma *et al.* (2012) ont mis en évidence que le temps de demi-vie de la MC-LR sous irradiation UV à 254 nm à une dose de 88 mJ.cm<sup>-2</sup> était de 10 min et que la toxine était complètement décomposée en 10 min avec une dose de 1530 mJ.cm<sup>-2</sup>. Ces doses sont très nettement supérieures à ce qui est classiquement utilisé pour la désinfection des EDCH.

L'efficacité de ces traitements dépend du type de lampe (UV moyenne ou basse pression), de l'intensité d'irradiation, de la qualité de l'eau (turbidité notamment).

### 9.2.5.2.2 Oxydation avancée/photocatalyse

Ces traitements ne sont pas autorisés aujourd'hui pour le traitement des EDCH en France. Néanmoins, la littérature montre des applications intéressantes. De nombreux auteurs ont montré une amélioration de l'oxydation des toxines par oxydation avancée/photocatalyse (Afzal *et al.*, 2010 ; Qiao *et al.*, 2005 ; Alvarez *et al.*, 2010).

#### ■ UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Il s'agit des traitements mettant en œuvre un couplage des rayonnements UV avec du peroxyde d'hydrogène générant des radicaux hydroxyles (OH<sup>\*</sup>) qui permettent l'oxydation des toxines.

L'efficacité des rayonnements UV est limitée comme mentionné dans le paragraphe précédent, des doses UV très importantes étant nécessaires pour l'abattement des toxines. L'utilisation de peroxyde d'hydrogène couplé avec les UV permet la génération de radicaux nettement plus oxydants. L'efficacité augmente alors, en particulier pour l'élimination des MC, pour lesquelles l'oxydation est beaucoup plus rapide que pour les autres toxines, notamment la CYN (He *et al.*, 2015, Alvarez *et al.*, 2012).

L'efficacité des traitements d'oxydation avancée est également conditionnée par le pH. Les MC par exemple sont beaucoup mieux dégradées à des pH acides (Qiao *et al.*, 2005 ; Sharma *et al.*, 2012). La qualité de l'eau joue également un rôle. Certains sels minéraux (carbonates principalement) et la matière organique peuvent jouer le rôle de pièges à radicaux.

#### ■ Ozone /H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Comme pour le traitement utilisant les UV couplés au peroxyde d'hydrogène, celui-ci permet la génération de radicaux hydroxyles qui oxydent les toxines. Plusieurs auteurs ont montré une efficacité importante sur l'abattement des MC (Rositano et Nicholson, 1998 ; Al Momani *et al.*, 2010). L'oxydation est plus rapide pour les MC que pour la CYN et l'ANA-a (Onstadt *et al.*, 2007).

#### ■ Réactif de Fenton

Ce réactif (Fe/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) permet une oxydation rapide des matières organiques réfractaires. Chen *et al.* (2017) ont montré que la vitamine C à une concentration faible de 0,6 mM favorisait la réaction de Fenton et produisait des radicaux hydroxyles permettant une lyse des cellules de *Microcystis aeruginosa* et une

<sup>32</sup> Arrêté du 9 octobre 2012 relatif aux conditions de mise sur le marché et d'emploi des réacteurs équipés de lampes à rayonnement ultravioletés utilisés pour le traitement d'eau destinée à la consommation humaine pris en application de l'article R-1321-50 (I et II) du code de la santé publique.

dégradation très rapide de la MC.

La concentration en fer, la concentration initiale en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le pH jouent un grand rôle. Sharma *et al.* (2012) ont montré qu'une concentration en fer de 0,1 à 0,2 mmol.L<sup>-1</sup> était efficace pour la dégradation de MC-RR avec un ratio molaire H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe compris entre 7,5 et 15. L'efficacité augmente avec la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puis diminue dès que la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est supérieure à 1,5 mmol.L<sup>-1</sup>. Des concentrations élevées en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont un effet piège à radicaux. Un pH de 3 à 4 est optimal d'après ces auteurs. Ils ont montré que la dégradation de MC-LR était faible (20 %) si la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> était faible (0,25-0,5 mmol.L<sup>-1</sup>). Des concentrations en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 2,5 à 5 mmol.L<sup>-1</sup> permettent une élimination de 61 % de MC-LR au bout d'un temps de 180 min.

Le procédé photo Fenton basé sur une irradiation UV complémentaire au réactif de Fenton a une efficacité supérieure au procédé Fenton utilisé sans couplage. Une élimination de 84 % de MC-LR a été observée en 25 min et de 100 % en 35 min d'irradiation alors que la dégradation n'était que de 20 % au bout de 600 min avec le procédé Fenton classique (Bandala *et al.*, 2004).

#### ■ Oxydation catalytique

L'addition d'un catalyseur (TiO<sub>2</sub>) et l'augmentation du pH améliorent notablement l'élimination des toxines. Ce procédé est fondé sur la génération d'espèces oxygénées très réactives par la photoexcitation du catalyseur. Les mécanismes incriminés sont une attaque des radicaux OH sur les doubles liaisons de l'acide aminé ADDA produisant des produits dihydroxylés, qui après oxydation sont transformés en acides carboxyliques. En solution alcaline, toutes les MC testées (MC-LR, MC-LW, MC-LF), à l'exception de la MC-RR, ont des faibles capacités d'adsorption sur TiO<sub>2</sub> car elles sont chargées négativement (Sharma *et al.*, 2012). Les conditions acides sont les plus favorables pour l'adsorption et la dégradation des toxines si bien que ce procédé n'est pas applicable en traitement d'EDCH.

Senogles *et al.* (2000) ont montré que le temps de demi-vie de la cylindrospermopsine passait de 14 min lors d'irradiation UV à 2 min lorsque TiO<sub>2</sub> est utilisé comme catalyseur.

Lors de ce traitement, de nombreux sous-produits sont formés et ont été identifiés, mais beaucoup d'auteurs décrivent une cassure de l'acide aminé ADDA et en déduisent une toxicité moins grande (Liu *et al.*, 2005).

## 9.2.6 Conclusion

Maîtriser le risque lié à la présence de cyanobactéries et cyanotoxines au niveau des filières de traitement des EDCH est possible mais uniquement en mettant en oeuvre une filière de traitement « multi-barrières » basée sur des étapes de rétention des cellules et d'élimination des toxines (tableau XXV). Les cyanobactéries et donc les cyanotoxines intracellulaires peuvent être éliminées par une étape classique de clarification physico-chimique et de filtration sur sable permettant d'éliminer les cellules en conservant leur intégrité puis par des étapes d'adsorption et d'oxydation afin d'éliminer les toxines dissoutes présentes déjà dans l'eau brute ou ayant pu être relarguées par les précédentes étapes. La flottation à air dissous est plus efficace que la décantation pour la rétention des cellules et elle génère moins de contraintes d'exploitation.

Les traitements membranaires d'ultrafiltration permettent une bonne élimination des cellules mais avec un risque fort de colmatage des membranes. Ce traitement n'est pas recommandé pour l'élimination directe des cellules de cyanobactéries.

Pour éliminer les cyanotoxines extracellulaires, l'ozone aux doses utilisées en EDCH est le traitement le plus efficace, tant pour les microcystines, que pour l'anatoxine-a et la cylindrospermopsine. Le chlore est efficace sur les microcystines et la cylindrospermopsine, mais pas sur l'anatoxine-a.

Outre les traitements d'oxydation, les traitements d'adsorption sur charbon actif ont une efficacité reconnue pour l'élimination des cyanotoxines dissoutes. Pour l'adsorption sur charbon actif en grains, la qualité de l'eau et notamment la quantité de matières organiques joue un rôle très important car la durée d'action de rétention des charbons sera diminuée si la charge organique de l'eau est trop forte et la régénération du charbon devra être plus fréquente. Le charbon actif en poudre est particulièrement efficace car de fortes doses de traitement peuvent être appliquées et adaptées en fonction de la concentration en toxines extracellulaires.

La filtration membranaire peut permettre d'éliminer les cyanotoxines extracellulaires à condition que soit choisie une membrane à haute pression (nanofiltration ou osmose inverse) avec un seuil de coupure inférieur à la masse molaire des cyanotoxines.

**POINTS À RETENIR**

En fonction de la qualité de l'eau brute, les filières de traitement devront être conçues pour faire face aux proliférations de cyanobactéries. La qualité de l'eau brute devra être suivie en continu et des possibilités de prise d'eau à hauteur variable dans la ressource devront être envisagées afin de pouvoir alimenter la filière de traitement avec une eau la moins riche en cellules de cyanobactéries.

Le point clé est l'optimisation des traitements mis en œuvre lors des proliférations :

- certaines étapes de traitement (prétraitement d'oxydation, recyclage d'eaux de lavage notamment) devront être arrêtées en cas de développement algal sur la ressource ;
- les paramètres d'exploitation devront être adaptés afin de garantir en permanence une qualité d'eau respectant les limites de qualité de l'eau destinée à la consommation humaine : dose de coagulant, temps de séjour dans les ouvrages, fréquence d'extraction des boues dans les décanteurs, cycles de filtration, fréquences de rétro-lavages notamment, devront être adaptés.

Dans tous les cas, une attention particulière devra être portée au traitement des effluents (boues de décanteurs/flottateurs, recyclage des eaux de lavage des filtres et concentrats des traitements membranaires).

**Tableau XXV : efficacité des différentes étapes de traitement des eaux sur les cyanobactéries et leurs toxines**

Étapes de traitement	Principaux procédés	Efficacité sur l'élimination des cyanobactéries	Efficacité sur l'élimination des cyanotoxines	Traitement autorisé pour l'EDCH (o/n)	Précautions/mise en garde	Références
Prétraitements physiques	Dégrillage, débouillage, dessablage, microtamisage	Aucun effet	Aucun effet	o		Afssa-Afsset (2006)
Traitements de préoxydation	Chlore	À 1 mg.L <sup>-1</sup> : intégrité des cellules non affectées À 2 mg.L <sup>-1</sup> : effet positif sur la coagulation mais relargage métabolites, sous-produits de chloration	Oxydation incomplète	n	Attention au relargage des toxines intracellulaires et à la formation de sous-produits de désinfection	Newcombe <i>et al.</i> (2015)
	Dioxyde de chlore	Peu étudié Dose = 2 mg.L <sup>-1</sup> : cellules peu altérées	Efficacité importante à des doses allant jusqu'à 2 mg.L <sup>-1</sup>	o		Wert et Rosario-Ortiz (2013) ; Bogialli <i>et al.</i> (2013)
	Permanganate de potassium	Inactivation des cellules		o		Ho <i>et al.</i> (2009) ; Cheng <i>et al.</i> (2009)
	Ozone	À 1 mg.L <sup>-1</sup> Endommagement des cellules et entraîne la libération de toxines	Abattement de 97,3 % en MC	o	À arrêter en cas de blooms de cyanobactéries car libération de toxines extracellulaires	Hoeger <i>et al.</i> (2005), Cheng (2009), Ho (2009)

Étapes de traitement	Principaux procédés	Efficacité sur l'élimination des cyanobactéries	Efficacité sur l'élimination des cyanotoxines	Traitement autorisé pour l'EDCH (o/n)	Précautions/mise en garde	Références
Traitements de clarification	Clarification physico-chimique	Efficace Choix du coagulant dépend de l'espèce de cyanobactéries	Aucun effet	o	Attention au taux de traitement en coagulant et au temps de stockage des boues dans les ouvrages	Teixeira et Rosa (2006a), Merel <i>et al.</i> (2013), Santé Canada (2016), Westrick <i>et al.</i> (2010), Drikas <i>et al.</i> (2001), Sun <i>et al.</i> (2012,2013), Zamyadi <i>et al.</i> (2012,2013 a et b), Hrudehy <i>et al.</i> (1999), Xu <i>et al.</i> (2016), Takaara <i>et al.</i> (2010), Qian <i>et al.</i> (2014), Bernhardt <i>et al.</i> (1991)
	Filtration	Efficace après clarification physico-chimique	Lyse possible des cellules lors des lavages à contre-courant	o	Attention au colmatage des filtres. Cycles de filtration à optimiser. Attention au recyclage des eaux de lavage	Zamyadi <i>et al.</i> (2012,2013), Almuhtaram <i>et al.</i> (2018)
	Filtration lente	Bonne élimination 89 à 99 % MC	> 95 % en MC	o	Traitement peu efficace si température de l'eau inférieure à 8°C	Merel <i>et al.</i> (2013), Grützmaier <i>et al.</i> (2002)
	Microfiltration	Bonne élimination (> 98 %) sans lyse des cellules	Peu efficace	o		Sorlini <i>et al.</i> (2013), Chow <i>et al.</i> (1997), Gijsberten-Abrahamse <i>et al.</i> (2006), Westrick <i>et al.</i> (2010)
	Ultrafiltration	Efficace (98% élimination)	Efficace sur MC-LR	o	Attention au colmatage important des membranes Nettoyage des membranes important Problème du devenir des eaux de rétro-lavage	Westrick <i>et al.</i> (2010), Lee et Walker (2006) Sorlini <i>et al.</i> (2013), Chow <i>et al.</i> , 1997, Gijsberten-Abrahamse <i>et al.</i> (2006), Westrick <i>et al.</i> (2010) Ho <i>et al.</i> (2011) Dixon <i>et al.</i> (2011) Lee <i>et al.</i> (2008)
	Nanofiltration	Sans objet (traitement utilisé en affinage plus qu'en clarification directe)	Abattement important > 90 % pour les MC-LR, -RR, -YR et -LA  Efficace pour		o	Problème du traitement des

Étapes de traitement	Principaux procédés	Efficacité sur l'élimination des cyanobactéries	Efficacité sur l'élimination des cyanotoxines	Traitement autorisé pour l'EDCH (o/n)	Précautions/mise en garde	Références
			l'élimination des anatoxines-a  Elimination possible des saxitoxines et cylindrospermopsines		concentrats	Westrick <i>et al.</i> (2010)
Traitement à la chaux		Élimination sans lyse des cellules		o		Hrudey <i>et al.</i> (1999)
Traitements d'adsorption	Sur charbon actif en grains	Non concerné car en fin de filière de traitement après étapes d'élimination des cellules	Meilleure élimination des toxines de faible masse molaire comme les saxitoxines	o		Donati <i>et al.</i> (1994) Newcombe <i>et al.</i> (2015)  Wang <i>et al.</i> (2007), Sorlini <i>et al.</i> (2013)
	Sur charbon actif en poudre	Peu de données sur les cellules car réactif utilisé pour éliminer les micropolluants dissous	Elimination de 95 % des MC avec une dose de CAP de 100 mg.L <sup>-1</sup> et un temps de contact de 30 min	o		Ho <i>et al.</i> (2011) Acero <i>et al.</i> (2005)
			Abattement équivalent à celui des MC pour la cylindrospermopsine			Ho <i>et al.</i> (2011)
Traitement d'oxydation chimique	Chlore	Effet dépend de la concentration en chlore et du temps de contact	Dégradation rapide des MC, NOD, CYN, et SAX  Pas d'effet sur l'anatoxine-a	o	Formation de sous produits	Wert et Rosario-Ortiz (2013), Zamyadi <i>et al.</i> (2013c), Acero <i>et al.</i> (2005)  Merel <i>et al.</i> (2010), Santé Canada (2016)  Carrière <i>et al.</i> (2010), Westrick <i>et al.</i> (2010) Sharma <i>et al.</i> (2012)
	Dioxyde de chlore	Peu efficace, lyse de cellules et libération des toxines	Peu efficace	o		Ding <i>et al.</i> (2010), Wert et Rosario-Ortiz (2013), Biogalli <i>et al.</i> (2013), Westrick <i>et al.</i> (2010), Sharma <i>et al.</i> (2012)  Kull <i>et al.</i> (2004)
	Ozone		Non efficace, lyse des cellules, libération de matière organique, formation de sous-produits		o	Formation de sous produits
			Efficace pour l'élimination des MC, de la CYN et ANA-a  Efficacité moindre pour			Miao <i>et al.</i> (2010), Westrick <i>et al.</i> (2010), Al Momani <i>et al.</i>

Étapes de traitement	Principaux procédés	Efficacité sur l'élimination des cyanobactéries	Efficacité sur l'élimination des cyanotoxines	Traitement autorisé pour l'EDCH (o/n)	Précautions/mise en garde	Références
			les saxitoxines			(2010), Merel <i>et al.</i> (2010), Alvarez <i>et al.</i> (2010), Zamyadi <i>et al.</i> (2015)
	Permanganate de potassium	Non concerné car utilisé dans les filières après étapes d'élimination des cellules	Efficace sur microcystines Inefficace sur les saxitoxines et la cylindrospermopsine	o		Ho <i>et al.</i> (2009), Rodriguez (2007) Carrière <i>et al.</i> (2010), Westrick <i>et al.</i> (2010)
Traitements d'oxydation physique	UV	Non concerné	Efficacité moyenne aux doses utilisées en traitement d'EDCH	o	Dose de traitement autorisée 400 J.m <sup>-2</sup>	Westrick <i>et al.</i> (2010)
	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Non concerné	Élimination de 95 % des MC-LR (dose UV de 990 J.m <sup>-2</sup> et 2 mg.L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Attention aux doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et aux SP	n		Alvarez <i>et al.</i> (2010)
	Ozone/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Non concerné	Efficacité importante sur l'élimination des MC Élimination plus rapide des MC que de la CYN et des ATX-a	n		Al Momani <i>et al.</i> (2010) Onstadt <i>et al.</i> (2007)
	Réactif de Fenton	Non concerné	Efficacité dépendante de la concentration en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	n		Sharma <i>et al.</i> (2012)
	Oxydation catalytique		Efficacité importante	n		Sharma <i>et al.</i> (2012)



## 10 Recommandations et réglementations françaises et internationales

Il est à noter que tous les noms des seuils, les valeurs et les unités présentés dans les tableaux XXVI à XXXI ci-après sont des retranscriptions sans modification ni interprétation des réglementations et lignes directrices existantes au 31 décembre 2018.

### 10.1 Eaux destinées à la consommation humaine

Afin d'assurer la sécurité sanitaire des populations lors des proliférations de cyanobactéries, plusieurs agences sanitaires internationales ont publié des recommandations relatives à la gestion des risques liés à ces efflorescences. Cependant, aucune valeur de référence n'est fixée pour les cyanobactéries et au regard de la faible disponibilité des données toxicologiques, très peu de valeurs guides sanitaires existent pour leurs toxines.

En 1998, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) est le premier organisme à avoir proposé une valeur guide (VG) provisoire pour les MC-LR totales<sup>33</sup> (« *forme libre et liée dans les cellules* ») dans les eaux traitées. Celle-ci était dérivée à partir d'une DSENO de 40 µg.kg p.c.<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pour une pathologie hépatique (Fawell *et al.*, 1994). Cette VG provisoire, fixée à 1 µg.L<sup>-1</sup>, a été confirmée en 2003 et 2017 (OMS, 2003a et 2017).

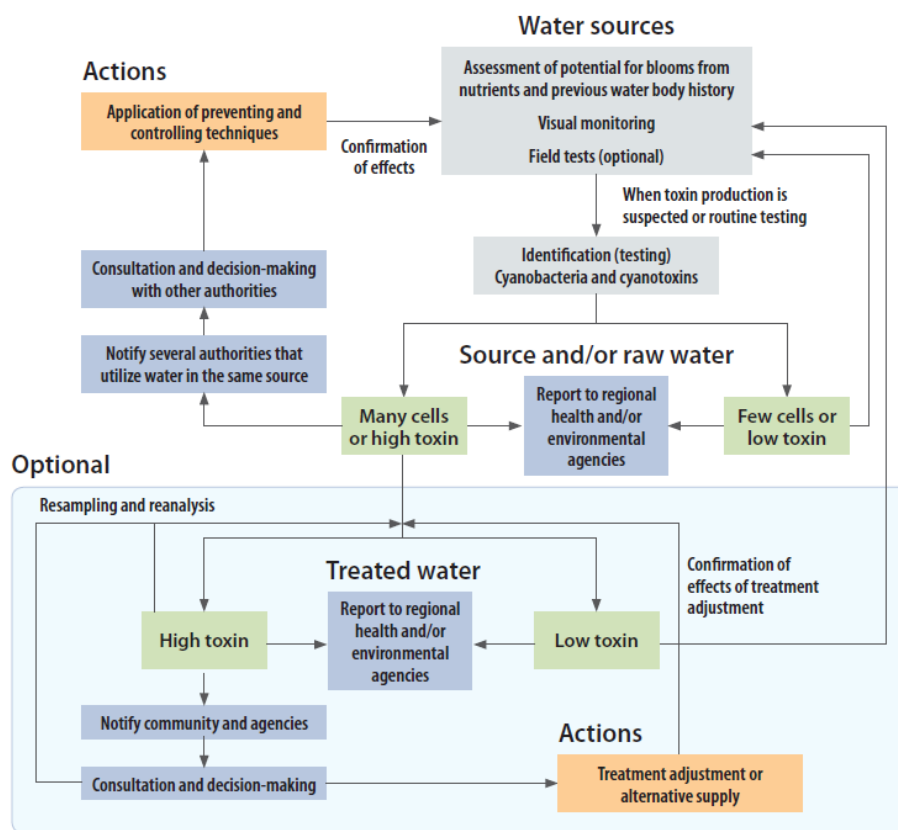
En plus de cette VG provisoire, l'OMS propose en 2011, dans son résumé technique sur la gestion des risques liés à la présence de cyanobactéries dans l'EDCH à destination des réglementeurs et des traiteurs d'eau, des mesures destinées à prévenir la formation d'efflorescences de cyanobactéries et des actions à mettre en place en cas de proliférations. L'OMS ajoute que le risque lié aux cyanobactéries doit être évalué au même titre que les autres dangers microbiologiques, chimiques, physiques et radiologiques potentiellement présents dans les eaux lors de l'élaboration des plans de gestion de sécurité sanitaire des eaux<sup>34</sup>.

La figure 17 est un exemple de modèle de gestion des risques liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau.

---

<sup>33</sup> équivalent MC-LR

<sup>34</sup> water safety plan en anglais.



Source: Adapted from Health Canada (2002).

Figure 17 : exemple de modèle de gestion des risques des cyanobactéries dans l'eau

Source : OMS, 2011

Les résultats de l'étude de Fawell *et al.* (1994) ont été pris en compte par l'agence de sécurité sanitaire australienne lors de l'élaboration de leurs lignes directrices pour l'EDCH en 2011 pour le calcul de leur VG en équivalent MC-LR (NHRMC<sup>35</sup> et NRMCC<sup>36</sup>, 2017). Une VG de 1,3 µg.L<sup>-1</sup> a été fixée en tenant compte de la masse corporelle et de la part attribuable à l'eau ingérée, différentes de celles préconisées par l'OMS car plus représentatives de la situation australienne. Une VG de 1,3 µg.L<sup>-1</sup> a donc été fixée.

Par ailleurs, même si l'Agence de sécurité sanitaire australienne a jugé les données toxicologiques insuffisantes pour fixer des VG pour d'autres cyanotoxines, cette dernière a toutefois fixé des niveaux d'alerte sanitaire initiaux pour les cylindrospermopsines, les nodularines et les saxitoxines dont l'atteinte enclenche une procédure de notification aux autorités sanitaires.

Aux États-Unis, il n'existe pas de réglementation fédérale relative aux cyanobactéries ou à leurs cyanotoxines dans les EDCH.

Néanmoins depuis 1998, dix cyanotoxines sont inscrites sur la liste des contaminants candidats non réglementés mais connus pour être potentiellement présents dans les EDCH et avoir des effets sur la santé après une exposition de courte durée. C'est dans ce cadre que, en 2015, des valeurs sanitaires de référence sur dix jours<sup>37</sup> ont été produites pour les microcystines (US EPA, 2015a) et la cylindrospermopsine (US EPA, 2015d). Il faut noter que l'US EPA a retenu une étude source différente de celle de l'OMS (Heinze, 1999) dans le choix de sa dose critique ce qui explique les écarts de valeurs pour les MC (Tableau XXVI).

En 2002, Santé Canada a également repris l'étude toxicologique source retenue par l'OMS, mais a appliqué une consommation d'eau journalière de 1,5 L.j<sup>-1</sup> (vs 2 L.j<sup>-1</sup> pour l'OMS) et une masse corporelle moyenne

<sup>35</sup> National health and medical research council.

<sup>36</sup> National resource management ministerial council.

<sup>37</sup> Concentration dans l'EDCH pour laquelle aucun effet sanitaire néfaste ne survient pendant 10 jours.

supérieure à celle retenue par l'OMS (70 kg vs 60 kg), l'agence de sécurité sanitaire canadienne a obtenu une concentration maximale tolérable de 1,5 µg.L<sup>-1</sup> (Santé Canada, 2002). Cette valeur est en cours de révision et se fonde sur la même étude source que celle retenue par l'US EPA dans l'élaboration de ses valeurs sanitaires de référence. Elle devrait désormais être fixée à 2 µg MC-LR équivalent.L<sup>-1</sup> (Santé Canada, 2016).

Le tableau XXVI reprend l'ensemble des valeurs sanitaires retenues par différentes agences ainsi que leur dénomination.

**Tableau XXVI : valeurs sanitaires de référence disponibles au niveau international pour l'EDCH**

		OMS	US EPA		Australie NHRMC	Santé Canada
<b>MC-LR équivalent</b>	Valeurs (µg.L <sup>-1</sup> )	1	< 6 ans	0,3	1,3	1,5
			> 6 ans	1,6		(valeur révisée : 2)
	Types de valeur	<i>Valeur guide provisoire</i>	<i>Valeur de référence sanitaire pour 10 jours</i>		<i>Valeur guide</i>	<i>Concentration maximale tolérable</i>
<b>Cylindrospermopsine</b>	Valeurs (µg.L <sup>-1</sup> )	/	< 6 ans	0,7	1	/
			> 6 ans	3		
	Types de valeur		<i>Valeur de référence sanitaire pour 10 jours</i>		<i>Niveau d'alerte initial</i>	
<b>Nodularine<sup>38</sup></b>	Valeurs (µg.L <sup>-1</sup> )	/	/		1,3	/
	Types de valeur				<i>Niveau d'alerte initial</i>	
<b>Saxitoxines</b>	Valeurs (µg.L <sup>-1</sup> )	/	/		3	/
	Types de valeur				<i>Niveau d'alerte initial</i>	

Sur le fondement des recommandations de l'OMS, 18 pays, dont la France<sup>39</sup>, ont adopté la valeur pour les MC exprimé en MC-LR équivalent de 1 µg.L<sup>-1</sup> comme seuil réglementaire dans les eaux traitées. Quelques pays, dont le Brésil, la France et la République Tchèque, déterminent également la densité cellulaire en cyanobactéries dans les eaux brutes utilisées pour la production d'EDCH. Ainsi, en France, le suivi des microcystines dans les eaux traitées n'est mis en œuvre qu'en cas de mise en évidence visuelle ou analytique d'une prolifération de cyanobactéries.

L'Australie, le Brésil et le Canada proposent le suivi d'autres cyanotoxines que les MC-LR totales dans leurs eaux traitées.

Les tableaux XXVII et XXVIII présentent les lignes directrices et réglementations étrangères. Ils ont été réalisés suite à une revue de la littérature couplée à une enquête réalisée par voie électronique auprès des membres du réseau Endware<sup>40</sup> au printemps 2017, groupe informel de réglementeurs pour les EDCH de pays membres de l'Union européenne.

<sup>38</sup> Il est à noter qu'au regard des similitudes entre les toxicités de la nodularine et des MC, l'Agence australienne a adopté la valeur guide de la MC comme valeur guide pour la nodularine.

<sup>39</sup> Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

<sup>40</sup> European network of drinking water regulator.

**Tableau XXVII : gestion des risques liés aux cyanobactéries : lignes directrices et réglementations étrangères pour l'eau destinée à la consommation humaine**

Sources : Chorus, 2012, enquête auprès des membres de l'Endware et Istisan, 2013

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
Allemagne	/	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VG	Eaux traitées	Uniquement en cas de prolifération
		Cylindrospermopsine	0,1 µg.L <sup>-141</sup>	VG		
Brésil	portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011 dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade	Chlorophylle-a		/	Eaux brutes	Si la concentration double en l'espace de deux semaines consécutives, recherche des cyanobactéries dans les eaux brutes.
		Cyanobactéries	10 000 cellules.mL <sup>-1</sup>	/	Eaux brutes Si < 10 000 cellules.mL <sup>-1</sup> , fréquence mensuelle Si > 10 000 cellules.mL <sup>-1</sup> , fréquence hebdomadaire	/
		MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VG	Eaux brutes	/
		Saxitoxines (STX)	3 µg equivalent STX.L <sup>-1</sup>	/	Eaux traitées si la concentration dans les eaux brutes est supérieure à la valeur maximale tolérable)  Recherche hebdomadaire des toxines si la densité cellulaire est supérieure à 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup>	/
		Cylindrospermopsine	1 µg.L <sup>-1</sup>	/	/	Si détection du genre de cyanobactéries produisant cette toxine.
		Anatoxine-a(S)	Pas de valeur dans la réglementation	/	/	
Chine	Drinking water	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	/	Eaux traitées	/

<sup>41</sup> Valeur par défaut : Les lignes directrices allemandes relatives aux substances pour lesquelles les données toxicologiques ne sont pas suffisantes pour exclure leur potentiel cancérigène proposent de retenir comme valeur guide < 0,1 µg.L<sup>-1</sup> (jusqu'à ce que les données nécessaires soient produites pour permettre leur évaluation).

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions	
	standard GB 5749-2006 <sup>42</sup>						
	Environmental quality standard for surface water GB 3838-2002 <sup>43</sup>	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>		Eaux brutes	Autres paramètres contrôlés : phosphore total (0,05 mg.L <sup>-1</sup> pour les lacs et barrages, 0,2 mg.L <sup>-1</sup> pour les eaux de source), azote total (1 mg.L <sup>-1</sup> )	
Cuba	Cadre non réglementaire	Phytoplancton	< 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup>	/	/	/	
		Cyanobactérie	< 1 500 cellules.mL <sup>-1</sup>	/	/	/	
		Phytoplancton et proportion de cyanobactéries	20 000 – 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> > 50 % de cyanobactéries	/	/	Niveau d'alerte Augmentation du nombre d'analyses (hebdomadaire) et du nombre de sites. Information des autorités sanitaires locales et gestionnaires. Information du public	
		En cas de : - détection de cyanobactéries connues pour être potentiellement toxiques (n'importe quelle espèce) ; - cas humains ou animaux rapportés					Niveau d'action Mêmes actions que celles prévues au niveau d'alerte
		Écume constamment présente confirme la persistance des blooms					Restriction d'usages de l'eau
Danemark	/	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>		Eaux traitées	Uniquement en cas d'approvisionnement en eau superficielle	
Espagne	Royal Decree 140/2003 of 7 february by which health criteria for the quality of water intended for	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	Valeur de référence (VR)	/	À analyser en cas d'eutrophisation dans les eaux brutes	

<sup>42</sup> Drinking water standard. GB 5749-2006, Beijing : China Standard Publications, 2007.

<sup>43</sup> Environmental quality standard for surface water. GB 3838-2002, Beijing: China environmental science publications, 2003.

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
	human consumption are established					
Finlande	/	Cyanobactéries	> 500 cellules.mL <sup>-1</sup> ou biomasse <sup>44</sup> > 0,1 mg.L <sup>-1</sup>	/	Eaux brutes	Augmenter la surveillance dans les eaux brutes
			> 5 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou biomasse > 1 mg.L <sup>-1</sup>			Identifier le genre de cyanobactéries et analyser sa concentration dans les eaux brutes Rechercher les MC en cas de détection de cyanobactéries productrices de toxines Évaluer les risques sanitaires
			> 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou biomasse > 20 mg.L <sup>-1</sup>			Rechercher les cyanobactéries et toxines dans les eaux traitées Évaluer les risques sanitaires Vérifier l'efficacité des traitements Changer de prise d'eau potable
		MC-LR équivalent	< 1,0 µg.L <sup>-1</sup>	Valeur indicatrices(VI)	Eaux traitées	Rechercher les cyanobactéries et toxines dans les eaux brutes et traitées Évaluer les risques Changer de prise d'eau pour la production d'EDCH Renforcer le traitement
			>1 µg.L <sup>-1</sup>			Rechercher les cyanobactéries et toxines dans les eaux brutes et traitées

<sup>44</sup> Estimé à partir de la mesure du biovolume.

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
			>10 µg.L <sup>-1</sup>			Restrictions d'usages à évaluer au cas par cas si dépassement ponctuel Si dépassement sur longue période, interdiction d'utiliser l'eau pour la boisson et la cuisine Changer de prise d'eau potable Renforcer le traitement Rechercher les cyanobactéries et toxines dans les eaux brutes et traitées Interdiction d'usage sauf pour la chasse d'eau des toilettes
France	Arrêtés du 11 janvier 2007	Total MC (Somme de toutes les MC détectées et quantifiées)	1 µg.L <sup>-1</sup>			Seulement nécessaire lorsque les observations visuelles et/ou analytiques mettent en évidence un risque de prolifération de cyanobactéries
Hollande	Pas de réglementation spécifique relative aux cyanotoxines dans l'EDCH. En cas d'apparitions d'efflorescences, les valeurs appliquées seraient celles proposées dans les lignes directrices de l'OMS : - Cyanobactéries < 4700 cellules.mL <sup>-1</sup> - MC-LR totale < 1 µg.L <sup>-1</sup>					
Hongrie	Governmental Decree No.201 of 2001 (X.25) on the monitoring and quality requirements of drinking water	Cyanobactéries et algues	5 000 cellules.L <sup>-1</sup>	/	Eaux brutes Analyse au moins une fois par an, à adapter selon la capacité de production de l'usine	/
		Pas de valeur proposée pour les MC				

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
<b>Italie</b>	Decreto legislativo n°31 del 2 febbraio 2001	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VI	Eaux traitées	Cette recherche n'est pas réalisée en routine ou selon une fréquence préétablie. Elle fait suite aux résultats d'une évaluation des risques réalisée selon des critères définis dans le rapport Istisan de 2013.  En cas de proliférations, les cylindrospermopsines et anatoxines doivent également être recherchées.
<b>Pologne</b>	En 2007, la recherche des MC a été exclue de la réglementation polonaise relative à l'EDCH. Toutefois, les usines de production d'EDCH prélevant de l'eau de surface ont choisi de surveiller les MC et ont alors retenu la VG de l'OMS (1 µg.L <sup>-1</sup> ).					
<b>Portugal</b>	/	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	/	Eaux traitées  Recherche en cas de suspicion de prolifération de cyanobactéries dans la ressource  Augmentation de la fréquence si le nombre de cyanobactéries est supérieur à 2000 cellules.mL <sup>-1</sup>	/
<b>République Tchèque</b>	Decree of the Ministry of Health No 252/2004 Col on hygienic requirements on drinking water and hot water and on scope and frequency of water monitoring	Cyanobactéries	≥ 1 colonie.mL <sup>-1</sup> ou ≥ 5 filaments.mL <sup>-1</sup>	/	Eaux brutes  Analyses une fois par semaine	Niveau de vigilance  Quantification cyanobactéries dans les eaux brutes
			≥ 2 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou ≥ 0,2 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> ou ≥ 1 µg.L <sup>-1</sup> chlorophylle-a			Niveau d'alerte 1  Modification de la profondeur de la prise d'eau  En cas d'impossibilité, s'assurer que le traitement est suffisant pour l'élimination des cyanobactéries et toxines
			≥ 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou ≥ 10 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> ou ≥			Niveau d'alerte 2



Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
			10 µg.L <sup>-1</sup> chlorophylle-a			Mêmes actions que pour le niveau d'alerte 1 avec un renforcement sur le traitement et la surveillance des MC.
		MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VR	Eaux traitées Analyse une fois par semaine	/
<b>Singapour</b>	Environmental public health regulations (2008)	MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VR	Eaux distribuées	Chaque distributeur d'EDCH doit préparer et mettre en place un plan de gestion pour la sécurité de l'EDCH afin de s'assurer que l'eau distribuée est conforme aux références
<b>Turquie</b>	National Decree 79/869/AB et 75/440/AB	Cyanobactéries ou chlorophylle-a	< 5 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou ≥ 1 µg.L <sup>-1</sup>	VR	Eaux brutes 1 fois par mois	En cas de dépassement du seuil, analyses mensuelles  Les échantillons doivent être réalisés dans la colonne d'eau et non uniquement en surface
		MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VR	Eaux brutes et eaux traitées si dépassement de la VG dans les eaux brutes	L'analyse des toxines est déclenchée en cas du dépassement du seuil de cyanobactéries
<b>Uruguay</b>	Decret 375/11	Cyanobactéries ou biovolume	2 000 cellules.mL <sup>-1</sup> 0,2 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup>	/	Eaux traitées	La recherche des toxines est réalisée en cas de dépassement des seuils en cyanobactéries ou de biovolume, ou en cas d'apparition d'efflorescences dans les eaux brutes
		MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>	VR	Eaux traitées	/
<b>Nouvelle Zélande</b>	Drinking water standard for New Zealand 2005 (revised 2008)	Anatoxine-a	6 µg.L <sup>-1</sup>	VMA	/	/
		Anatoxine-a (s)	1 µg.L <sup>-1</sup>		/	/
		Cylindrospermopsine	1 µg.L <sup>-1</sup>		/	/
		Homoanatoxine-a	2 µg.L <sup>-1</sup>		/	/

Pays	Types d'encadrement	Paramètres recherchés	Seuils	Types de valeurs	Point de Prélèvement / Fréquence	Autres / Précisions
		MC-LR équivalent	1 µg.L <sup>-1</sup>		/	/
		Nodularine	1 µg.L <sup>-1</sup>		/	/
		Saxitoxines (STX eq)	3 µg.L <sup>-1</sup>		/	/

VG : valeur guide, VI : valeur indicative, VMA : valeur maximale acceptable, VR : valeur de référence

**Tableau XXVIII : exemples de valeurs guides proposées dans des États des États-Unis d'Amérique pour l'eau destinée à la consommation humaine**

États	Types d'encadrement	Populations exposées	Paramètres recherchés	Valeurs (µg.L <sup>-1</sup> )	Recommandations
Minnesota	VI	/	MC-LR	0,1	/
			Anatoxine-a	0,1	/
Ohio	VI	Enfants de moins de 6 ans et populations sensibles (femmes enceintes, allaitant leurs enfants, personnes sous dialyse, personnes âgées et individus immunodéprimés)	MC	0,3	Ne pas consommer en cas de dépassement des seuils
			Anatoxine-a	20	
			Saxitoxine	0,2	
			Cylindrospermopsine	0,7	
		Enfants de plus de 6 ans et adultes	MC	1,6	Ne pas consommer en cas de dépassement de ces seuils
			Anatoxine-a	20	
			Saxitoxine	0,2	
			Cylindrospermopsine	3	
		Toute population	MC	20	Ne pas utiliser
			Anatoxine-a	300	
Saxitoxine	3				

États	Types d'encadrement	Populations exposées	Paramètres recherchés	Valeurs ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Recommandations
			Cylindrospermopsine	20	
Oregon	VI	Enfants de moins de 5 ans	MC	0,3	/
			Anatoxine-a	0,7	
			Saxitoxine	0,3	
			Cylindrospermopsine	0,7	
		Adultes	MC	1,6	
			Anatoxine-a	3	
			Saxitoxine	1,6	
			Cylindrospermopsine	3	
Vermont	VI	/	MC-LR	0,16	/
			Anatoxine-a	0,5	/
			Cylindrospermopsine	0,5	/

VI : valeur indicative

Source : <https://www.epa.gov/nutrient-policy-data/guidelines-and-recommendations> consulté le 18 décembre 2017

## 10.2 Eaux récréatives

Les experts définissent les « eaux récréatives » comme les eaux de baignade et les eaux dans lesquelles sont pratiquées des activités nautiques et/ou de pêche.

En 2003, l'OMS (OMS, 2003b) a proposé des seuils permettant de protéger les baigneurs des effets irritants des cyanobactéries (tableau XXIX). Ces seuils sont dérivés des études toxicologiques disponibles à cette période ainsi que des résultats d'une étude épidémiologique menée par Pilotto *et al.* (1997) qui met en évidence des dermatites chez les baigneurs lorsque les comptages cellulaires donnent des résultats compris entre 5 000 et 20 000 cellules de cyanobactéries.mL<sup>-1</sup>.

**Tableau XXIX : seuils d'effets sur la santé proposés par l'Organisation mondiale de la santé pour les eaux récréatives**

Probabilité d'effets sur la santé	Cyanobactéries (cellules.mL <sup>-1</sup> )	Chlorophylle-a (µg.L <sup>-1</sup> )	Microcystines (µg.L <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>
<b>Bas</b>	< 20 000	< 10	<10
<b>Modéré</b>	20 000 à 100 000	10 à 50	10 à 20
<b>Élevé</b>	Présence d'écume		

<sup>a</sup>l'OMS a estimé la concentration en microcystines à partir du niveau de densité des cellules de cyanobactéries

Source : OMS, 2003b

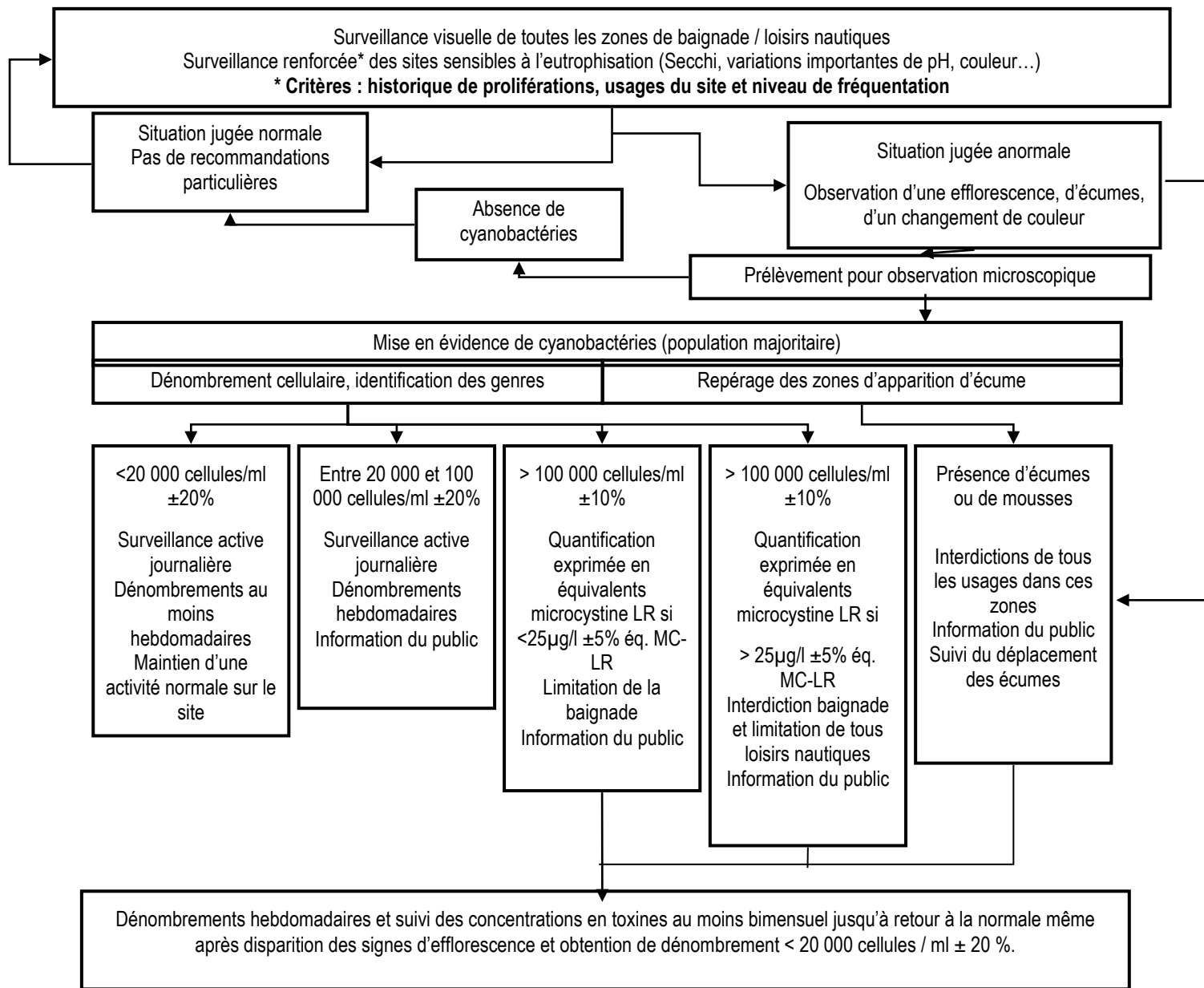
Ces seuils de gestion ont depuis été repris par plusieurs pays (Cuba, Turquie) (tableau XXX) ou états américains (Connecticut, Indiana, Kentucky, Oklahoma, Utah, Wisconsin) (EPA, 2016). À ce jour, près de 30 états américains ont élaboré des lignes directrices relatives à la surveillance des cyanobactéries dans les eaux récréatives (tableau XXXI). Les paramètres suivis, les seuils de gestion proposés varient d'un état à l'autre, tout comme les méthodes qui ont servi à l'élaboration de ces valeurs. Une tendance générale relative à l'encadrement des cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux récréatives semble difficile à dégager. Cependant plusieurs pays ou États américains ont introduit le suivi de la chlorophylle-a et/ou du biovolume comme paramètres de surveillance des eaux récréatives. Par ailleurs, la majorité des pays a fixé des valeurs seuils pour la microcystine. Seuls certains états américains proposent des valeurs sanitaires pour les autres toxines (cylindrospermopsine, anatoxine, saxitoxine).

À l'échelle de l'Union européenne (UE), les modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade relèvent de la Directive 2006/7/CE du Parlement européen et du Conseil du 15 février 2006 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE. Cette directive, transposée en droit français par le Code de la santé publique (livre III, article L1332-1 à L1332-9), ne comporte pas de cadre réglementaire pour la surveillance sanitaire des cyanobactéries ou des cyanotoxines. Cependant, la directive prévoit l'établissement de profils pour chaque zone de baignade destinés à évaluer leur vulnérabilité et les risques de pollutions potentielles. Le risque sanitaire lié aux cyanobactéries doit être pris en compte dans l'élaboration de ces profils. La directive indique qu'une surveillance appropriée doit être mise en place en cas de risque de prolifération de cyanobactéries ainsi que des mesures de gestion adaptées afin de prévenir l'exposition des baigneurs.

En l'absence de recommandation communautaire spécifique à la gestion du risque lié à la prolifération de cyanobactéries dans les eaux de baignade, certains États membres de l'UE ont adopté les recommandations de l'OMS (tableau XXX) (Hongrie, Écosse) et d'autres ont élaboré leurs propres recommandations, comme la France.

En France, depuis 2003 des recommandations de surveillance et gestion des proliférations de cyanobactéries dans des eaux de baignade ont été publiées par la DGS (circulaire DGS/SD7A 2003/270, 2004/364, 2005/304) sur la base de l'avis du 6 mai 2003 du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF). Cet avis recommandait une gestion fondée sur des observations microscopiques, des dénombrements cellulaires de cyanobactéries et des recherches de microcystines-LR au-delà d'un certain seuil en cyanobactéries. Des mesures de gestion spécifiques ont été proposées en fonction des niveaux de

comptages cellulaires recommandés par l'OMS, des résultats d'analyses de toxines ou en cas d'apparition d'écume ou de mousse (figure 18). Depuis 2007, la totalité des microcystines est prise en compte (Cirulaire NDGS/SD7A n° 2007-39 du 23 janvier 2007).



\*Surveillance renforcée : observation visuelle et mesure de la turbidité ou observation au disque de Secchi ou mesure du pH. Suivi éventuel de la chlorophylle-a (entre 10 et 50 µg.L<sup>-1</sup> : niveau d'alerte, > 50 µg.L<sup>-1</sup> : niveau préoccupant si la dominance des cyanobactéries est établie). La chlorophylle a ne doit pas être considérée comme un indicateur spécifique des cyanobactéries.

**Figure 18 : gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries dans les eaux de baignade en France**

Source : avis du CSHPF du 6 mai 2003

La DGS, dans son instruction N° DGS/EA4/2012/196 du 9 mai 2012 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour la saison balnéaire de l'année 2012, recommande aux ARS de s'appuyer sur les recommandations diffusées par les circulaires antérieures. La procédure de gestion propose deux seuils d'alerte en fonction des résultats du

dénombrement cellulaire : un seuil de vigilance lorsque la densité cellulaire de cyanobactérie est inférieure à 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup>, et un seuil d'interdiction de la baignade et de la consommation de poisson lorsque la densité est supérieure à 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Les seuils d'alerte de 13 µg.L<sup>-1</sup> en équivalent microcystines-LR (somme des différents variants de microcystines dosés) et de 40 µg.L<sup>-1</sup> en anatoxine-a déclenchent l'interdiction des activités de baignades et nautiques. La présence d'écume conduit à l'interdiction de tous les usages de baignades ou loisirs nautiques.

L'instruction DGS/EA4 n° 2013-247 du 18 juin 2013 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour la saison balnéaire de l'année 2013 modifie les préconisations formulées depuis 2010. Elle demande aux ARS d'établir des mesures de gestion des risques sanitaires, en concertation avec les collectivités gestionnaires, en tenant compte des éléments d'évaluation des risques établis dans le profil de baignade (configuration des sites, vulnérabilité, usages, etc.) et sur la base d'un seuil de numération cellulaire fixé à 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et de deux valeurs sanitaires de référence pour la somme des microcystines (13 µg.L<sup>-1</sup> et 80 µg.L<sup>-1</sup>).

En 2014, de nouvelles instructions ont été formulées par la DGS dans sa note d'information n° DGS/EA4/2014/166 du 23 mai 2014 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour chaque saison balnéaire à compter de l'année 2014. La note introduit pour la première fois le principe de gestion sanitaire en fonction des espèces toxigènes identifiées. Trois seuils de gestion sont ainsi définis pour organiser, à la fois les modalités de surveillance (fréquence des prélèvements, recherche des microcystines) et la gestion des usages : 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup> (flore toxigène), 50 000 cellules.mL<sup>-1</sup> (flore toxigène) et 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> (flore totale).

S'agissant des valeurs sanitaires de référence établies pour les microcystines, seul le seuil de 13 µg.L<sup>-1</sup> pour la somme des microcystines (microcystines LR, RR et YR) est conservé. La baignade ainsi que les activités nautiques sont interdites si ce seuil est dépassé et/ou la présence d'écume est observée.

Par ailleurs, pour la première fois également, la DGS demande aux ARS de prévoir des mesures de gestion adaptées dans le cas de proliférations de cyanobactéries benthiques, en fonction des résultats du suivi environnemental et des éventuels signaux sanitaires rapportés (biofilm important, galets noirs, flocs d'algues, décès de chiens).

La note d'information n°DGS/EA4/2015/181 du 2 juin 2015 relative aux échéances de la saison balnéaire 2015, aux modalités de prévention et de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries ou d'amibes, à l'information du public à proximité des sites de baignades et à la mise à disposition du manuel pour l'utilisation de l'application SISE-Eaux de baignade - annule l'instruction de 2014. Cette instruction, encore en vigueur à ce jour, propose de nouvelles recommandations de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries.

Pour les sites de baignade dont le profil a mis en évidence un risque de prolifération de cyanobactéries, la DGS demande aux ARS de graduer les mesures de gestion de la baignade et des activités nautiques sur la base d'un seuil de numération cellulaire fixé à 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et de deux valeurs sanitaires de référence pour les cyanotoxines : 13 µg.L<sup>-1</sup> pour les microcystines en équivalent microcystine-LR et 40 µg.L<sup>-1</sup> pour l'anatoxine-a (valeur fixée provisoirement).

Par ailleurs, cette note rappelle aux ARS la consigne d'interdire également la consommation des produits de la pêche (poissons) en situation de prolifération de cyanobactérie ayant conduit à interdire la baignade.

Tableau XXX : guides et réglementations internationales de gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries dans les eaux récréatives

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
OMS	Cellule ou chlorophylle-a avec une dominance de cyanobactéries	20 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou 10 µg.L <sup>-1</sup> Chl-a	Information des usagers et des autorités compétentes
		100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou 50 µg.L <sup>-1</sup> Chl.-a	Information des usagers et des autorités compétentes. Observations de la présence d'écume. Restriction de la baignade
	Écume	Observation de la zone de baignade	Action pour limiter le contact avec l'écume Interdiction de la baignade et des autres activités aquatiques Investigations à mener Information des autorités compétentes
Allemagne	Transparence et Indicateur de présence potentielle ou de présence cyanotoxine : <ul style="list-style-type: none"> <li>Chlorophylle-a avec prédominance de cyanobactérie</li> <li>Ou biovolume (BV)</li> <li>Ou microcystines (MC)</li> </ul>	Disque de Secchi >1 m et < 40 µg.L <sup>-1</sup> Chl-a Ou < 1 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> BV Ou < 10 µg.L <sup>-1</sup> MC	Surveillance du développement des cyanobactéries
		Disque de Secchi < 1m et > 40 µg.L-1 Chl-a Ou > 1 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> BV Ou > 10 µg.L <sup>-1</sup> MC	Information du public Restriction de la baignade Fermeture temporaire du site peut être envisagée
	Écume et/ou microcystine	Observation de la présence d'écume et/ou >100 µg.L <sup>-1</sup> MC	Information du public Restriction de la baignade Fermeture temporaire de la baignade recommandée
Australie	Cellules ou biovolume	≥ 500 à < 5 000 cellules.mL <sup>-1</sup> <i>M. aeruginosa</i> Ou biovolume > 0,04 à < 0,4 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> en cyanobactéries totales	Niveau de surveillance vert : suivi régulier
		≥ 5 000 et < 50 000 cellules.mL <sup>-1</sup> <i>M.</i>	Niveau de surveillance orange :

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
		<p><i>aeruginosa</i></p> <p>Ou biovolume <math>\geq 0,04</math> et <math>&lt; 4 \text{ mm}^3.\text{L}^{-1}</math> en cyanobactéries totales avec recherche de cyanobactéries toxigènes</p> <p>Ou <math>\geq 0,04</math> à <math>&lt; 10 \text{ mm}^3.\text{L}^{-1}</math> en cyanobactéries totales avec absence de cyanobactéries toxigènes</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avertir les autorités compétentes</li> <li>• Augmenter la fréquence de la surveillance</li> <li>• Surveillance visuelle de l'apparition d'écume</li> <li>• Décision de suivi des toxines</li> </ul>
		<p><u>Niveau 1 :</u></p> <p><math>\geq 10 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}</math> en microcystines totales</p> <p>Ou <math>\geq 50\,000 \text{ cellules}.\text{mL}^{-1}</math> <i>M. aeruginosa</i></p> <p>Ou biovolume <math>\geq 4 \text{ mm}^3.\text{L}^{-1}</math> en cyanobactéries totales avec recherche de cyanobactéries toxigènes</p> <p><u>Niveau 2 :</u></p> <p>Ou <math>\geq 10 \text{ mm}^3.\text{L}^{-1}</math> en cyanobactéries totales avec absence de cyanobactéries toxigènes</p> <p>Ou présence d'écume</p>	<p>Niveau de surveillance rouge :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Surveillance identique au seuil orange</li> <li>• Information des autorités compétentes</li> <li>• Évaluation de la toxicité et recherche des toxines</li> <li>• Évaluation des risques pour la santé publique</li> </ul>
Canada	Microcystine-LR ou comptage des cellules	<p><math>\leq 20 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}</math></p> <p><math>\leq 100\,000 \text{ cellules}.\text{mL}^{-1}</math></p>	Si l'une des valeurs guides est dépassée, la baignade est restreinte jusqu'au retour des valeurs seuils
Cuba	Phytoplancton	$< 1\,500 \text{ cellules}.\text{mL}^{-1}$	Surveillance visuelle mensuelle et échantillonnage au moins 4 mois par an
	Cyanobactéries	<p><math>&lt; 500 \text{ cellules}.\text{mL}^{-1}</math> (ou légèrement au-dessus)</p> <p>ou biomasse <math>&lt; 1 \text{ mg}.\text{L}^{-1}</math></p>	
	Cellules de phytoplancton; Quantité de cyanobactéries	20 000 à 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> avec au moins 50% de cyanobactéries	<p>Niveau d'alerte :</p> <p>Augmenter la fréquence de la surveillance (hebdomadaire et plusieurs</p>



Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
	Cyanobactéries toxigènes	Au moins une des espèces	sites) Inspection quotidienne Information aux autorités compétentes Information du public
	Cas d'intoxication chez l'Homme ou les animaux		Niveau rouge : même mesure de gestion que pour le niveau « alerte » et augmentation de la communication au public
	Écume régulièrement présente, bloom persistant		
	Présence de biofilms de cyanobactéries benthiques		Trois niveaux d'alerte définis en fonction de la surface recouverte <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; 40 % de présence de cyanobactéries</li> <li>• &gt; 20 % de cyanobactéries toxigènes</li> <li>• &gt; 50 % en cyanobactéries potentiellement toxigènes, en particulier si les cyanobactéries se détachent ou s'il y a accumulation d'écumes</li> </ul> Mesures de gestion identiques à celles proposées pour les cyanobactéries planctoniques
<b>Danemark</b>	Inspection visuelle	Écume dans la zone de baignade	Information des autorités compétentes qui décident quand et comment informer le public
	Chlorophylle- a (Microscopie).	Chlorophylle-a > 50 µg.L <sup>-1</sup> et dominance des cyanobactéries	
	Présence de toxines		Plusieurs régions analysent les toxines et les incluent dans leur évaluation du risque
<b>Écosse</b>	Cellules ou chlorophylle-a	< 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 10 µg.L <sup>-1</sup> chlorophylle-a	Affichage d'information sur les risques au niveau des zones de baignade et information des autorités compétentes
		< 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 50 µg.L <sup>-1</sup> chlorophylle-a	Suivi des écumes Décourager la baignade
		Formation d'écumes dans les zones de baignade	Action pour limiter tout contact avec l'écume : interdiction de la baignade et des autres activités entraînant le contact avec l'eau Les autorités compétentes poursuivent les investigations.

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
Espagne	Probabilité de prolifération des cyanobactéries	Faible probabilité	Les critères d'évaluation des risques pour la santé et les réponses sont donnés localement. Certaines autorités compétentes locales suivent les lignes directrices de l'OMS, d'autres ajoutent certains paramètres comme la fréquentation ou le type d'usage.  Les activités aquatiques peuvent être temporairement interdites en fonction de la concentration en cyanobactéries.
		Probabilité moyenne	
		Forte probabilité	
Finlande	Inspection visuelle par des volontaires	Absence d'algue à la surface de l'eau ou sur les rives (le terme algue inclut les cyanobactéries).  La transparence de l'eau n'est pas affectée par les algues (mesure au disque de Secchi).	Absence de cyanobactérie
		Flocs verdâtres détectés dans l'eau ou dans un flacon transparent ou présence de filaments sur les rives.  La mesure de la transparence de l'eau au disque de Secchi est réduite.	Niveau 1 : cyanobactérie détectée  Recherche de cyanobactérie au microscope et analyse de toxines si le site est très fréquenté ou si des cas d'intoxications chez l'Homme ou de morts chez l'animal ont déjà été rapportés.
		L'eau est colorée par la présence d'algues, présence de petite surface d'écume ou de biomasse de cyanobactéries détectée sur la plage.	Niveau 2 : concentration de cyanobactérie élevée  Recherche des cyanobactéries au microscope. Analyse des toxines. Information obligatoire du public.
		Des flocs d'écume ou des amas de cyanobactéries sont détectés sur les rives.	Niveau 3 : très grande concentration de cyanobactérie  Même procédure de gestion que le niveau précédent
Hongrie	Chlorophylle-a avec prédominance de cyanobactéries ou comptage cellulaire  ou équivalent de microcystine -LR	< 10 µg.L <sup>-1</sup> ou < 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 4 µg.L <sup>-1</sup>	Excellent
		< 25 µg.L <sup>-1</sup> ou < 50 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 10 µg.L <sup>-1</sup>	Bon
		< 50 µg.L <sup>-1</sup> ou < 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 20 µg.L <sup>-1</sup>	Acceptable

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
		> 50 µg.L <sup>-1</sup> ou >100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou > 20 µg.L <sup>-1</sup>	Inacceptable
Italie	Transparence Phosphore total Densité de cyanobactéries	<b>Surveillance (risque négligeable)</b> 1 -Transparence ≥ 1m Phosphore total < 20 µg.L <sup>-1</sup>  2- Transparence ≥ 1m Phosphore total > 20 µg.L <sup>-1</sup>  Densité de cyanobactéries ≤ 2 000 cellules.mL <sup>-1</sup>  3- Transparence ≤1m Phosphore total > 20 µg.L <sup>-1</sup> Densité de cyanobactéries < 20 000 (± 20%) cellules.mL <sup>-1</sup>	1-Prélèvement mensuel  2-Prélèvement mensuel, Inspection visuelle hebdomadaire  3-Prélèvement bimensuel Inspection visuelle hebdomadaire
		<b>Niveau d'alerte (possible effets cutanés, intestinaux et respiratoires)</b>  Densité totale en cyanobactéries ≥20 000 (±20%) cellules.mL <sup>-1</sup> MC-LR <sub>eq</sub> < 20 µg.L <sup>-1</sup>	Prélèvement hebdomadaire Inspection visuelle quotidienne Identification des espèces de <i>Microcystis</i> et quantification Identification des cyanotoxines Évaluation de l'étendue de l'efflorescence
		<b>Niveau d'urgence (possible effets cutanés, intestinaux et respiratoires)</b>  1-L'écume contient des cyanobactéries toxigènes 2- MC-LR <sub>eq</sub> > 20 µg.L <sup>-1</sup>  3- Densité de cyanobactéries produisant d'autres toxines > 100 000 (±20%) cellule.mL <sup>-1</sup> ou anatoxine-a ou	Mesures de gestion identiques à celle du seuil d'action Surveillance sanitaire Quantification des autres cyanotoxines L'écume doit être retirée si possible

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
		cylindrospermopsine > 20 µg.L <sup>-1</sup>	
<b>Nouvelle Zélande</b>	Dénombrement cellulaire de cyanobactéries	< 500 cellules.mL <sup>-1</sup>	Surveillance : quand le site est connu pour les proliférations de cyanobactéries, inspection visuelle hebdomadaire ou bimensuelle et échantillonnage entre le printemps et l'automne.
	Biovolume	0,5 à 1,8 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> de cyanobactéries potentiellement toxigènes ou 0,5 à 10 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> du biovolume total en cyanobactéries	Alerte : augmentation des inspections et échantillonnage hebdomadaire en plusieurs points. Informez les autorités compétentes
	Microcystine ou biovolume Ou écume	≥ 12 µg.L <sup>-1</sup> microcystines totales ou biovolume ≥ 1,8 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> de cyanobactéries potentiellement toxigènes ou ≥ 10 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> biovolume total de cyanobactéries ou présence d'écume	Action : Continuer la surveillance comme pour le niveau « alerte », envisager de rechercher les cyanotoxines Informez le public
	Biofilm benthique	Trois niveaux d'alerte pour la présence de cyanobactérie benthique en fonction de la surface couverte (<20 %, 20-50 % et >50 %) et en fonction du débit de la rivière (et si les cyanobactéries benthiques peuvent se détacher) Les mesures de gestion sont identiques à celles proposées pour les cyanobactéries planctoniques.	
<b>Pays-Bas</b>	Étendue de l'écume et/ou biovolume ou chlorophylle-a attribuable aux cyanobactéries	Catégorie d'écume 1 Ou Cyano-chl-a < 12,5 µg.L <sup>-1</sup> ou cyano-biovolume < 2,5 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup>	Niveau de surveillance : suivi bimensuel
		ou catégorie d'écume 2 ou Cyano-chl-a 12,5 à 75 µg.L <sup>-1</sup> ou cyano-biovolume 2,5 - 15 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup>	Niveau d'alerte 1 : suivi hebdomadaire et information de la présence d'algue bleue toxique et des possibles conséquences (irritation de la peau, troubles intestinaux) pendant une semaine. Dans le cas d'un site où l'inspection est journalière, l'information du public pourra être modifiée quotidiennement.

Pays	Paramètres recherchés	Seuils	Actions prises
		Catégorie d'écume 3 ou cyano-chl-a > 75 µg.L <sup>-1</sup> ou cyano-biovolume > 15 mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup>  Si les cyanobactéries productrices de microcystines sont présentes à 80 % et que microcystines < 20 µg.L <sup>-1</sup> , revenir au seuil d'alerte 1	Niveau d'alerte 2 : suivi hebdomadaire  Il est conseillé de limiter la baignade.  La baignade peut être interdite.
<b>Pologne</b>	Analyse des sites de baignade au moins 4 fois par saison. L'intervalle entre deux prélèvements doit être inférieur à 1 mois. La concentration en cyanobactérie doit être incluse si des blooms sont observés.		
<b>République Tchèque</b>	Cellules et/ou chlorophylle-a	> 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup> 10 µg.L <sup>-1</sup>	Niveau 1 d'alerte
	Cellules Chlorophylle-a	> 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> 50 µg.L <sup>-1</sup>	Fermeture du site pour la baignade et autre activités récréatives
<b>Singapour</b>	Chlorophylle-a	≤ 50 µg.L <sup>-1</sup> pour 95% des échantillons sur une période de 3 ans	Le classement de sites est réalisé chaque année. Si l'évaluation conclut à un mauvais classement, le public est informé de l'interdiction de baignade et des autres activités aquatiques.
<b>Turquie</b>	Cellules ou équivalent de microcystine-LR ou Chlorophylle-a (si les cyanobactéries sont dominantes)	< 20 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou < 10 µg.L <sup>-1</sup> équivalent en microcystine LR ou < 10 µg.L <sup>-1</sup> chlorophylle-a	Niveau 1 : les activités récréatives sont maintenues et le public est informé par affichage.  Le suivi doit être réalisé tous les quinze jours.
	Cellules ou équivalent de microcystine-LR	20 000 à 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> ou > 25 µg.L <sup>-1</sup> en équivalent microcystine-LR	Niveau 2 : quand > 20000 cellules.mL <sup>-1</sup> , les microcystines sont analysées. Si l'équivalent en MC-LR > 25µg.L <sup>-1</sup> . Le public et les autorités compétentes sont informés. La nage et les autres activités récréatives sont découragées.
	Écumes dans la zone de baignade	Inspection visuelle	Niveau 3 : toutes les activités récréatives doivent être interrompues.

Source : Ibelings, 2015 ; Funari, 2017

**Tableau XXXI : lignes directrices et réglementations encadrant les mesures de gestion des risques liés aux proliférations de cyanobactéries et des toxines associées dans les eaux récréatives aux États-Unis**

Sources : Chorus, 2012 ; Farrer, 2015 ; EPA, 2016 et site internet de l'US EPA consulté le 21 décembre 2017

États	Paramètres recherchés	Seuils enclanchant des mesures de gestion
Californie	Microcystines (LA, LR, RR, YR) et dénombrements cellulaires	<u>Suivi</u> <0,8 µg.L <sup>-1</sup> MC <u>Niveau d'action 1</u> 40 000 à 10 000 cell.mL <sup>-1</sup> Microcystines ≥ 6µg.L <sup>-1</sup> Présence d'écume associée avec des espèces toxigènes <u>Niveau d'action 2</u> : > 20 µg.L <sup>-1</sup> MC
	Cylindrospermopsine	<u>Suivi</u> : 1 µg.L <sup>-1</sup> <u>Niveau d'action 1</u> : 4 µg.L <sup>-1</sup> <u>Niveau d'action 2</u> : 17µg.L <sup>-1</sup>
	Anatoxine-a	<u>Suivi</u> : anatoxine détectée <u>Niveau d'action 1</u> : 20 µg.L <sup>-1</sup> <u>Niveau d'action 2</u> : 90 µg.L <sup>-1</sup>
Connecticut	Dénombrement cellulaire de cyanobactérie	Niveau d'alerte si ≥ 20 000 cell.mL <sup>-1</sup> Interdiction de la baignade si ≥ 100 000 cell.mL <sup>-1</sup>
Dakota du nord	Microcystine-LR	Interdiction de la baignade si présence de bloom et microcystine-LR ≥ 10 µg.L <sup>-1</sup>
Floride	Présence de bloom	Action à adapter en fonction de l'évènement (FDOH common sense approach) Pas d'activités récréatives pendant le bloom. Communiqué de presse peut être envisagé
Idaho	<i>Microcystis</i> ou <i>Planktotrix</i>	Action lorsque > 40 000 cell.mL <sup>-1</sup>
Illinois	Microcystine-LR	Information au gestionnaire de la baignade si > 10 µg.L <sup>-1</sup>
Indiana	Microcystine-LR	Risque faible /absence de risque < 4 µg.L <sup>-1</sup> Risque faible à modéré 4 - 20 µg.L <sup>-1</sup> Interdiction de tout contact avec l'eau > 20 µg.L <sup>-1</sup>
	Cylindrospermopsine	Interdiction de la baignade : ≥ 5 µg.L <sup>-1</sup>
	Anatoxine-a	Interdiction de la baignade : ≥ 80 µg.L <sup>-1</sup>
Iowa	Microcystine	Avertissement / fermeture ≥ 20 µg.L <sup>-1</sup>
Kansas	Dénombrement cellulaire des cyanobactéries	Niveau d'alerte > 20 000 et < 100 000 cell.mL <sup>-1</sup> Interdiction de la baignade > 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup>
	Microcystine	Niveau d'alerte ≥ 4 µg.L <sup>-1</sup> Interdiction de la baignade ≥ 20 µg.L <sup>-1</sup>
Kentucky	Dénombrement cellulaire de	> 100 000 cell.mL <sup>-1</sup>

États	Paramètres recherchés	Seuils enclanchant des mesures de gestion
	cyanobactéries	
	Microcystines (somme de tous les variants)	> 20 µg.L <sup>-1</sup>
Maryland	<i>Microcystis aeruginosa</i> ou autre cyanobactérie toxigène	Suivi Comptage cellulaire ≥ 40 000 cellules.mL <sup>-1</sup>
	Microcystines	≥14 µg.L <sup>-1</sup>
Massachussets	Dénombrement cellulaire de cyanobactéries et recherche de microcystines	<u>Surveillance</u> Comptage cellulaire ≥70 000 cell.mL <sup>-1</sup> ; Microcystines : ≥ 8 µg.L <sup>-1</sup> <u>Interdiction de tout contact avec l'eau si :</u> Comptage cellulaire ≥ 70 000 cell.mL <sup>-1</sup> Microcystines 14 µg.L <sup>-1</sup>
Nebraska	Microcystine	Avertissement/ fermeture du site lorsque concentration ≥ 20 µg.L <sup>-1</sup>
Ohio	Microcystine-LR	Pas d'avertissement ≤ 6 µg.L <sup>-1</sup> Avertissement > 6 µg.L <sup>-1</sup> Aucun contact avec l'eau > 20 µg.L <sup>-1</sup>
	Anatoxine-a	Pas d'avertissement ≤ 80 µg.L <sup>-1</sup> Alerte > 80 µg.L <sup>-1</sup> Alerte élevée > 300 µg.L <sup>-1</sup>
	Cylindrospermopsine	Pas d'avertissement < 5 µg.L <sup>-1</sup> Alerte > 5 µg.L <sup>-1</sup> Alerte élevée > 20 µg.L <sup>-1</sup>
	Saxitoxine	Pas d'avertissement < 0,8 µg.L <sup>-1</sup> Alerte > 0,8 µg.L <sup>-1</sup> Alerte élevée > 3 µg.L <sup>-1</sup>
Oklahoma	Dénombrement cellulaire des cyanobactéries	Niveau d'action 100 000 cell.mL <sup>-1</sup>
	Microcystine	Niveau d'action 20 µg.L <sup>-1</sup>
Oregon	Dénombrement cellulaire des cyanobactéries	Niveau d'action ≥ 100 000 cell.mL <sup>-1</sup> Présence d'écume associée à des espèces toxigènes
	<i>Microcystis</i> ou <i>Planktothrix</i>	Niveau d'action ≥ 40 000 cell.mL <sup>-1</sup>
	Anatoxine-a	Niveau d'alerte > 20 µg.L <sup>-1</sup>
	Cylindrospermopsine	Niveau d'alerte > 6 µg.L <sup>-1</sup>
	Microcystine	Niveau d'alerte > 10 µg.L <sup>-1</sup>
	Saxitoxine	Niveau d'alerte > 100 µg.L <sup>-1</sup>

États	Paramètres recherchés	Seuils enclanchant des mesures de gestion
Rhode island	Dénombrement cellulaire des cyanobactéries	Niveau d'alerte : présence d'écume ou de floccs Comptage cellulaire $\geq 70\ 000$ cellules.mL <sup>-1</sup>
	Microcystine-LR	Niveau d'alerte $\geq 14$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
Texas	Cyanobactéries	Niveau d'alerte : comptage cellulaire $\geq 20\ 000$ cell.mL <sup>-1</sup> et/ou identification visuelle
	Microcystines totales	Niveau d'alerte : $> 6$ $\mu\text{g.L}^{-1}$ Interdiction baignade $> 20$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Anatoxine-a	Niveau d'alerte : $80$ $\mu\text{g.L}^{-1}$ Interdiction baignade $300$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Cylindrospermopsine	Niveau d'alerte : $5$ $\mu\text{g.L}^{-1}$ Interdiction baignade $20$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Saxitoxine totale	Niveau d'alerte : $0,8$ $\mu\text{g.L}^{-1}$ Interdiction baignade $3$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
Vermont	Microcystine-LR	Fermeture de la plage si $\geq 6$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Anatoxines-a	Fermeture de la plage si $\geq 10$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Cylindrospermopsine	Fermeture de la plage si $\geq 10$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
Virginie	<i>Microcystis</i>	Vigilance : $5\ 000$ à $20\ 000$ cellules.mL <sup>-1</sup> Alerte $20\ 000$ à $100\ 000$ cellules.mL <sup>-1</sup> Interdiction de la baignade $> 100\ 000$ cellules.mL <sup>-1</sup> ou présence d'écume ou de floccs
	Microcystines	Interdiction de la baignade si MC $> 6$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
Washington	Microcystines	Interdiction de la baignade $> 6$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Anatoxine-a	Interdiction de la baignade $> 1$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Cylindrospermopsine	Interdiction de la baignade $> 4,5$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
	Saxitoxine	Interdiction de la baignade $> 75$ $\mu\text{g.L}^{-1}$
Wisconsin	Dénombrement cellulaire des cyanobactéries	Fermeture des plages si comptage cellulaire $\geq 100\ 000$ cellules.mL <sup>-1</sup> ou présence d'écume

## 10.3 Recommandations et réglementations françaises et à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons

### 10.3.1 Recommandations et réglementations françaises relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons

En France, les instructions sanitaires relatives à la consommation de produits de la pêche - en particulier les poissons - sont fixées à la fois par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de l'alimentation (DGAL). Les consignes de la DGS reposent sur l'avis de l'Afssa du 5 juin 2008. Annoncées



initialement en 2008 aux services déconcentrés (DDASS/DRASS), puis confortées en 2009, elles sont également reprises dans la note d'information du 2 juin 2015<sup>45</sup>. Ainsi, sur les zones de baignade faisant l'objet d'une surveillance sanitaire par les agences régionales de santé (ARS), la DGS recommande l'interdiction de la consommation de poissons de pêche lorsque les efflorescences de cyanobactéries ont occasionné une interdiction de baignade (dénombrements cellulaires > 100 000 cellules. mL<sup>-1</sup>). Cette interdiction préventive se base sur le risque de contamination de la chair des poissons par les cyanotoxines et les incertitudes liées aux cinétiques de contamination et dépuración des poissons.

Les consignes de la DGAL sont établies par la récente instruction technique du 21 août 2018 et se fondent, pour partie, sur le rapport d'appui scientifique et technique de l'Anses de juillet 2016. Cette instruction, à destination des autorités compétentes en matière de sécurité sanitaire des aliments (DDPP/DRAF), fixe des lignes directrices pour la gestion des épisodes de développement massif de cyanobactéries dans un contexte d'élevage (pisciculture) et de pêche professionnelle des poissons. Sur le plan sanitaire, elle porte des messages qui se distinguent des consignes de la DGS :

- la préconisation d'interdiction de pêche en vue de la consommation selon le résultat des mesures de toxines dans l'eau (MC > 13 µg.L<sup>-1</sup> ou présence d'anatoxines ou présence de saxitoxines ou présence de cylindrospermopsine à un niveau supérieur au bruit de fond habituel dans l'eau) ;
- en dehors des situations précitées, des mesures générales de prévention des risques basées sur 3 recommandations sanitaires :
  - o l'éviscération et l'étêtage des poissons ;
  - o la non consommation des petits poissons (type friture) ;
  - o la limitation de la consommation de poissons en provenance de milieux régulièrement concernés par des proliférations de cyanobactéries ;
- des règles de levée des mesures d'interdiction de pêche et consommation des poissons.

Ainsi que cela a pu s'organiser dans les départements ayant eu à traiter des épisodes de mortalités animales (Lozère, Loire, Tarn, etc.), l'instruction de la DGAL conseille également, de façon générale, la mise en place d'instance locale de coordination rassemblant l'ensemble des acteurs décisionnaires.

**Tableau XXXII : recommandations et réglementations françaises relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons**

Cyanotoxines	Descriptions	Valeurs	Types	Références
MC	Basée sur la DJT de l'OMS de 0,04 µg/kg pc/j, un poids corporel par défaut de 60 kg et une consommation journalière de 86 g et une consommation d'eau de 2L à 1 µg.L <sup>-1</sup> , une concentration maximale a été calculée pour les adultes. Pour les enfants, la masse corporelle par défaut est de 10 kg et la consommation journalière de 57 g.	5,6 µg MC/kg de poisson (pour les adultes)  1,4 µg MC/kg de poisson (pour les enfants)	Recommandation	Afssa (2008b)
STX	Non consommation de poisson en cas de prolifération de cyanobactéries productrices de STX.		Recommandation	Afssa (2009a)
Ensemble des cyanotoxines	Les instructions successives de la DGS préconisent l'interdiction générale de la consommation de produits de la pêche (coquillages, crustacés, poissons) en situation de proliférations de cyanobactéries occasionnant des interdictions de baignade. Les instructions ne se basent pas sur des valeurs sanitaires de référence dans les denrées alimentaires concernées.		Préconisation	Instructions DGS, Message circulaire (2008, 2009), Note d'information (2015)

<sup>45</sup> Note d'information n° DGS/EA4/2015/181 du 2 juin 2015 relative aux échéances de la saison balnéaire 2015, aux modalités de prévention et de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries ou d'amibes, à l'information du public à proximité des sites de baignades et à la mise à disposition du manuel pour l'utilisation de l'application SISE-Eaux de baignade.

Cyanotoxines	Descriptions	Valeurs	Types	Références
MC – STX – ATX - CYN	L'instruction de la DGAL préconise l'interdiction générale de pêche et de consommation des poissons pour les situations où la présence de toxines est identifiée dans l'eau (MC > 13 µg.L <sup>-1</sup> ou présence de STX ou présence d'ATX ou présence de CYN supérieure au bruit de fond inhabituel). L'instruction propose également l'interdiction préventive de ces usages en situation d'efflorescence massive caractérisée par la formation d'écumes ou un dénombrement élevé de cyanobactéries (> 100 000 cellules.mL <sup>-1</sup> dans l'eau).		Préconisation	Instruction technique DGAL (2018)

### 10.3.2 Recommandations et réglementations à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons

Une revue des informations disponibles en matière de recommandations et réglementations relatives aux cyanotoxines dans les poissons a été réalisée par la Direction de l'Évaluation des Risques de l'Anses en 2016 dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'EFSA (Testai *et al.* 2016b).

Ce travail a été mis à jour afin d'identifier d'éventuelles nouvelles informations publiées depuis 2016. Pour cela, deux axes ont été investigués, d'une part les publications scientifiques issues de journaux référencés et d'autre part les données issues de la littérature grise. Les informations présentées ne prétendent toutefois pas être exhaustives.

Les pays ayant mis en place des seuils sanitaires et/ou des recommandations en cas d'efflorescence de cyanobactéries et/ou de présence de cyanotoxines sont l'Australie avec l'État de Victoria, le Canada avec l'État de l'Alberta et les États-Unis avec les États de la Californie, Washington, l'Oregon, l'Ohio, l'Illinois et le Nébraska.

En Alberta (Canada), des recommandations ont été émises afin de limiter le risque d'intoxication suite à la consommation de poissons potentiellement contaminés par des cyanotoxines. Ainsi, il est recommandé de consommer les filets et de limiter la consommation de poissons entiers ou de morceaux.

Dans l'État de Victoria (Australie), des valeurs guides ont été établies pour les MC et la nodularine (24 µg/kg de poisson), pour la CYN et la déoxyCYN (18 µg/kg) et pour les STX (800 µg/kg).

Aux États-Unis, il n'y a pas d'harmonisation en termes de recommandations sanitaires. En effet, l'Oregon a émis des recommandations en matière de préparation et de fréquence de consommation de poissons, sans y associer de valeur seuil en cyanotoxines. Les États du Nebraska et de Washington donnent également des recommandations sanitaires, associées à des concentrations en toxines dans l'eau (en MC pour le Nébraska et en MC, ATX-a, CYN et STX pour l'État de Washington, état dans lequel 3 niveaux d'action ont été définis : prudence, alerte et danger). Enfin, les États de la Californie, de l'Ohio et de l'Illinois ont des valeurs seuils qui toutefois ne sont pas identiques (28 µg MC-LR/kg pour l'Ohio et l'Illinois et 10 µg MC/kg pour la Californie). Contrairement aux deux autres États, la Californie propose en plus une valeur seuil pour la CYN (70 µg/kg) et l'ATX-a (5 000 µg/kg).

**Tableau XXXIII : recommandations et réglementations à l'international relatives à la présence de cyanotoxines dans les poissons**

Pays	Description	Valeur	Type	Référence
Victoria (Australie)	MC et nodularine (somme en équivalent MC-LR)	24 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson	Valeur guide (Health guideline value)	Mulvenna <i>et al.</i> (2012), Victorian Department of Health
	CYN et déoxyCYN	18 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson		
	STX	800 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson		
Alberta (Canada)	Limiter la consommation de poissons entiers et de parties autres que le muscle (tête, os, intestins, peau) de poissons provenant d'un plan d'eau en cas d'efflorescence de cyanobactéries, sachant que les poissons peuvent stocker des toxines dans leur foie. (Les filets de poisson peuvent être consommés en toute sécurité).		Conseil de santé (Health advisory)	Alberta health services (information en ligne, consultée en août 2019)
Californie (USA)	MC	10 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson	Proposition de seuil d'action (Suggested action level)	Butler <i>et al.</i> (2012), EPA OEHHA
	CYN	70 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson		
	Anatoxine-a	5 000 µg.kg <sup>-1</sup> de poisson		
Washington (USA)	Niveau 1 : détection de l'efflorescence  Ou si les résultats de toxines sont inférieurs au niveau 2	PRUDENCE, bien nettoyer le poisson et enlever les viscères	Recommandation	Trainer and Hardy 2015, Washington State Department of Health
	Niveau 2 : concentration en toxines : MC ≥ 6 µg.L <sup>-1</sup> Anatoxine-a ≥ 1 µg.L <sup>-1</sup> CYN ≥ 4,5 µg.L <sup>-1</sup> STX ≥ 75 µg.L <sup>-1</sup>	ALERTE, bien nettoyer le poisson et enlever les viscères		
	Niveau 3 : cas d'intoxication, mort d'animaux	DANGER, lac fermé		
Oregon (USA)	Le risque pour la santé de consommer du poisson pêché dans les eaux touchées par une prolifération de cyanobactéries n'est pas connu. On sait que certaines toxines d'algues s'accumulent dans les tissus des poissons, en particulier dans les organes internes tels que le foie et les reins. Les études d'accumulation de toxines suggèrent que le muscle (filet) est moins affecté.  Si vous décidez de manger du poisson pêché dans des eaux touchées par une prolifération de cyanobactéries, retirez le gras, la peau et les organes avant de les faire cuire. Veillez à ne pas couper dans les organes. Avant de cuire ou de congeler le poisson, rincez les filets à l'eau claire pour éliminer tout contaminant du processus de nettoyage.  Il est conseillé de faire preuve de modération lorsque vous mangez du poisson provenant de ces eaux. Un ou deux repas de poisson par semaine est la limite habituelle recommandée. Consommer plus d'un ou deux repas de poisson contaminé par des toxines d'algues par semaine pendant une période prolongée pourrait causer des lésions hépatiques ou neurologiques, mais cela est peu probable compte tenu de la faible quantité de toxines dans les filets et de la fréquence à laquelle les gens mangent du poisson.			Oregon Health Authority (information en ligne, consultée en août 2019)
Ohio (USA)	MC-LR	28 µg.kg <sup>-1</sup> de filet de poissons  Ou MC dans l'eau > 20 µg.L <sup>-1</sup>	Recommandation de ne pas consommer si la concentration est supérieure à la valeur guide	Ohio Fish Consumption Advisory Chemicals: (ODH 10/25/99)
	Efflorescence de	Si vous décidez de	Recommandation	Ohio Department of

Pays	Description	Valeur	Type	Référence
	cyanobactéries	manger du poisson ce serait à votre propre risque, retirez les intestins, le gras, la peau, consommez uniquement le filet		Natural Resources (information en ligne, consultée en août 2019)
Illinois (USA)	MC	28 µg.kg <sup>-1</sup> de filet de poissons  Ou MC dans l'eau > 20 µg.L <sup>-1</sup>	Recommandation de ne pas consommer si la concentration est supérieure à la valeur guide	Illinois EPA 2012
	Présence d'écume	Ne pas pêcher	Recommandation	Illinois Department of Public Health (information en ligne, consultée en août 2019)
Nebraska	MC	MC dans l'eau > 20 µg.L <sup>-1</sup>	Recommandation de ne pas consommer de poissons entiers	Walker et al., 2008 Nebraska Department of Environmental Quality (site consulté en 2016 mais non fonctionnel en 2019)
			Lac placé en alerte sanitaire. La pêche est autorisée	Article de presse du 3 août 2019 <sup>46</sup>

<sup>46</sup> <https://www.1011now.com/content/news/-State-officials-declare-health-alerts-for-2-Nebraska-lakes-516065101.html>

## 11 État des pratiques en France

Afin d'avoir un état des pratiques en France en matière de suivi sanitaire (contrôle sanitaire et surveillance par l'exploitant) et de gestion des efflorescences de cyanobactéries, le GT a élaboré un questionnaire à destination des agences régionales de santé (ARS). Ce questionnaire est composé d'une partie dédiée aux EDCH et une autre dédiée aux eaux récréatives. Pour chaque thématique, des questions relatives à la stratégie générale du suivi mise en place par l'ARS, aux méthodes de prélèvements, à la bancarisation des données, à la gestion des résultats et aux mesures sanitaires mises en place ont été posées. Ce questionnaire a été transmis aux ARS *via* le réseau d'échanges en santé environnement (RESE) du Ministère en charge de la santé le 24 mai 2017, avec une échéance de réponse fixée au 20 juillet 2017.

À l'issue de la phase de consultation des ARS, 68 questionnaires ont été reçus : 67 de la métropole et 1 d'un territoire ultramarin (figure 19).

L'intégralité du questionnaire est disponible en annexe 6.

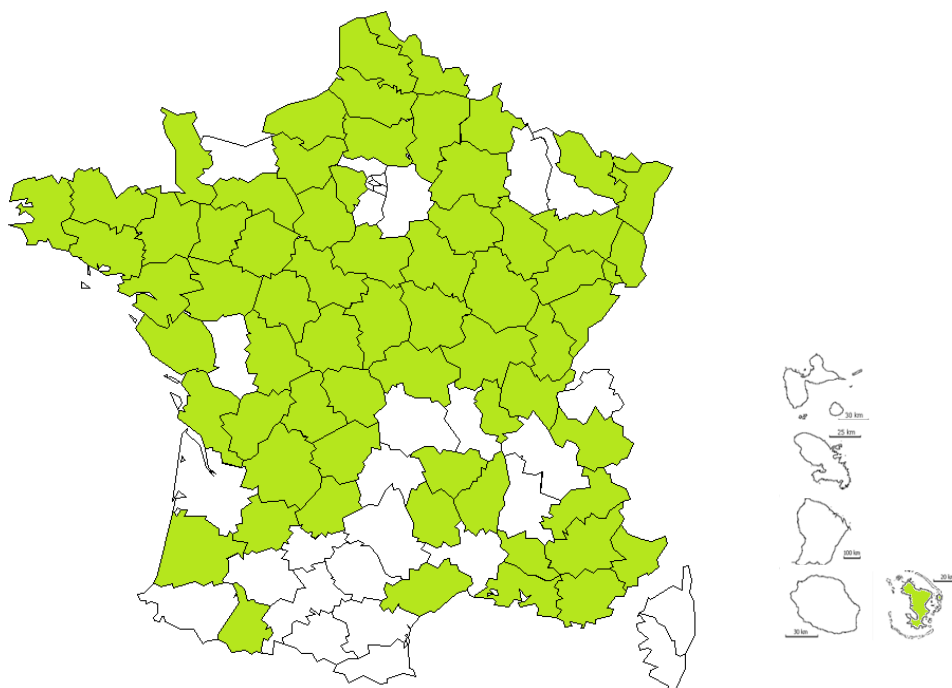


Figure 19 : départements ayant répondu au questionnaire (en vert)

Le Tableau XXXIV indique les taux de réponse par région.

**Tableau XXXIV : taux de réponse aux questionnaires**

Régions	Taux de réponse EDCH et eaux récréatives
Bretagne	100 % (4/4)
Centre-Val de Loire	100 % (6/6)
Hauts-de-France	100 % (5/5)
Bourgogne Franche Comté	100 % (8/8)
Pays de la Loire	100 % (5/5)
Provence-Alpes-Côte d'Azur	100 % (6/6)
Normandie	80 % (4/5)
Grand Est	80 % (8/10)
Nouvelle-Aquitaine	75 % (9/12)
Auvergne-Rhône-Alpes	58 % (7/12)
Occitanie	31 % (4/13)
Outre-Mer	20 % (1/5)
Ile-de-France	13 % (1/8)
Corse	0 % (0/2)

Lors de l'exploitation des questionnaires, des imprécisions et/ou problèmes de cohérence ont parfois été relevés pour certaines questions. Toutefois, les données recueillies se sont avérées suffisantes pour dégager les principales tendances qui sont décrites ci-après.

## 11.1 Eaux destinées à la consommation humaine

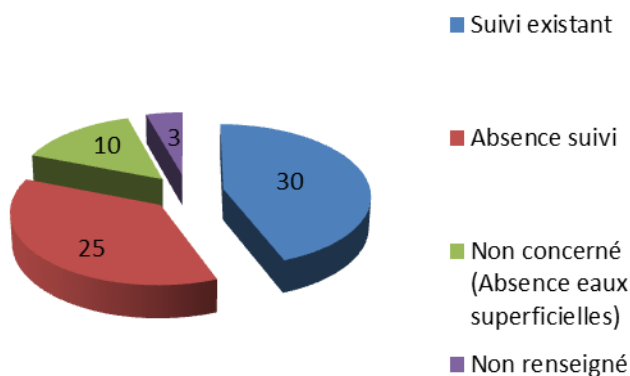
Sur les 68 questionnaires reçus, trois questionnaires étaient inexploitable.

### 11.1.1 Mise en œuvre du suivi des EDCH

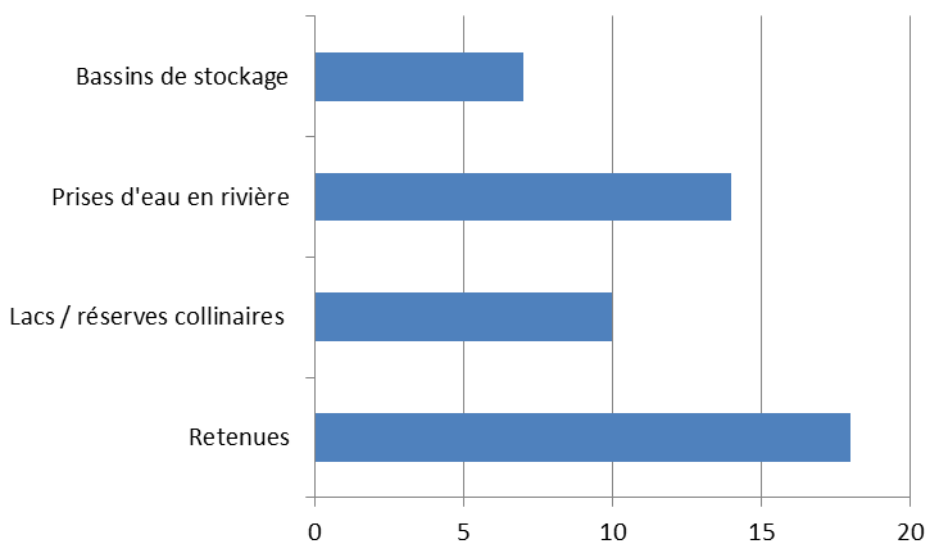
*Pour cette partie, 65 questionnaires ont été par conséquent exploités.*

#### 11.1.1.1 Suivi des eaux brutes

Les recherches de cyanobactéries et/ou de leurs toxines sont réalisées régulièrement dans les eaux brutes dans 27 départements, trois départements signalent la réalisation de suivis ponctuels (figure 20). Au total, 189 sites (retenues, prises d'eau en rivières, lacs/réserves collinaires et bassins de stockage) sont concernés par ces suivis (figure 21). La problématique des cyanobactéries n'existe pas dans 10 départements ayant répondu au questionnaire, en raison de la non utilisation d'eaux superficielles pour la production d'EDCH.



**Figure 20 : mise en œuvre d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux brutes par les Agences régionales de santé (en nombre de départements)**



**Figure 21: typologie des sites d'eau utilisée pour la production d'eaux destinées à la consommation humaine faisant l'objet d'un suivi de la part des Agences régionales de santé (valeur exprimée en proportion de départements mettant en œuvre un suivi)**

La mise en œuvre des suivis a principalement commencé après la parution du rapport de l'Agence de 2006, puis elle s'est renforcée consécutivement à la création des ARS (12 départements ayant mis en place un suivi postérieurement à 2010) sans tendance géographique évidente (figure 22).

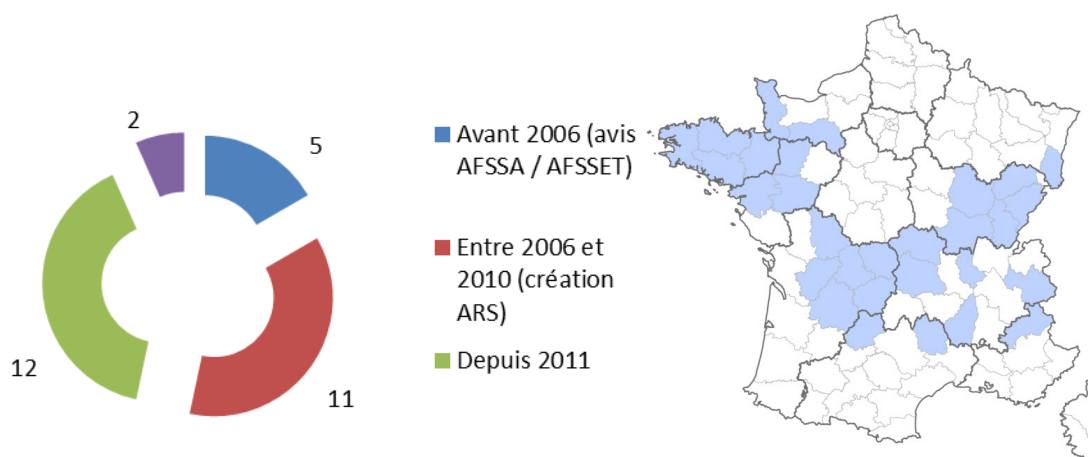


Figure 22 : répartition des départements en fonction de l'année de mise en œuvre du suivi et représentation géographique des départements métropolitains concernés (en bleu)

### 11.1.1.2 Suivi des eaux traitées

Les recherches de cyanobactéries et/ou de leurs toxines sont réalisées ou ont été réalisées dans les eaux traitées dans 28 départements (figure 23). Comme pour le suivi des eaux brutes, la mise en œuvre des suivis a principalement commencé postérieurement à 2006 et s'est renforcé consécutivement à la création des ARS (14 départements ayant mis en place un suivi postérieurement à 2010) ; avant 2006 le suivi des eaux traitées était assuré dans un seul département (figure 24).

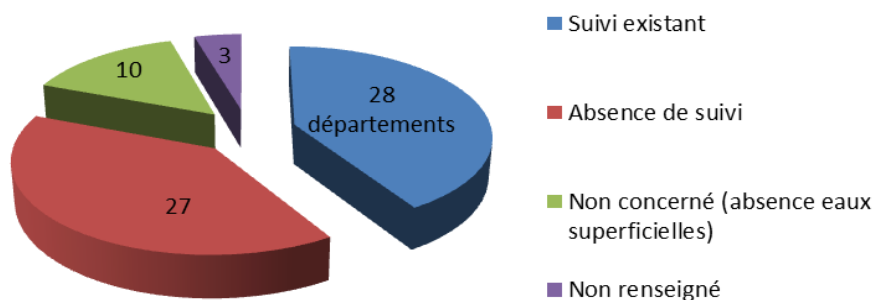


Figure 23 : mise en œuvre d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux traitées (en nombre de départements)

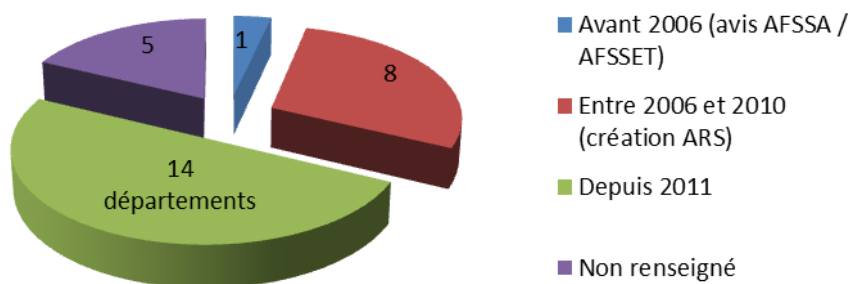


Figure 24 : répartition des départements en fonction de l'année de mise en œuvre du suivi



### 11.1.1.3 Suivi des eaux distribuées

Le suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans les eaux distribuées est réalisée dans deux départements, pour un total de sept points de surveillance.

### 11.1.1.4 Autres suivis

Dans trois départements, une surveillance spécifique est mise en œuvre par l'exploitant en plus du contrôle sanitaire. Des surveillances réalisées par les exploitants sans contrôle sanitaire associé, dont l'un est imposé dans l'arrêté préfectoral d'autorisation de mise à disposition de l'EDCH, sont rapportés et concernent deux départements.

## 11.1.2 Organisation du contrôle sanitaire

*Pour cette partie, 30 questionnaires ont été exploités.*

Un suivi des cyanobactéries et/ou cyanotoxines a été ou est réalisé dans 30 départements :

- les cyanobactéries et les cyanotoxines sont recherchées dans 19 départements ;
- les cyanotoxines ne sont pas recherchées dans quatre départements ;
- les cyanobactéries ne sont pas recherchées dans sept départements mais les toxines y sont analysées.

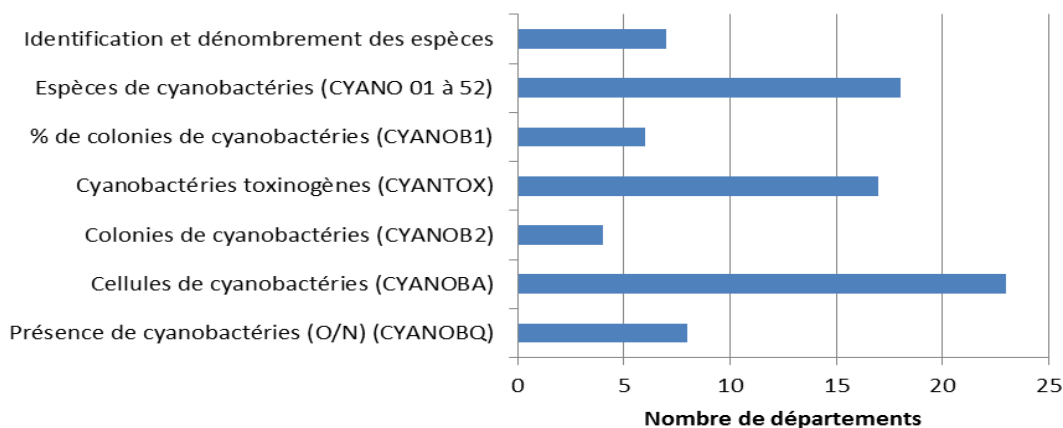
### 11.1.2.1 Paramètres du contrôle sanitaire

#### ■ Cyanobactéries

Les paramètres majoritairement recherchés sont le dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries (CYANOBA), l'identification et le dénombrement des genres (CYANO 01 à 52) et le dénombrement des cyanobactéries toxigènes (CYANTOX) (figure 25).

L'identification et le dénombrement des espèces de cyanobactéries ne sont réalisés que dans 15 départements.

Le pourcentage de cyanobactéries (CYANOB1), le dénombrement des colonies de cyanobactéries (CYANOB2) et la présence de cyanobactéries (CYANOBQ – paramètre qualitatif O/N) ne sont recherchés respectivement que dans six, quatre et huit départements.

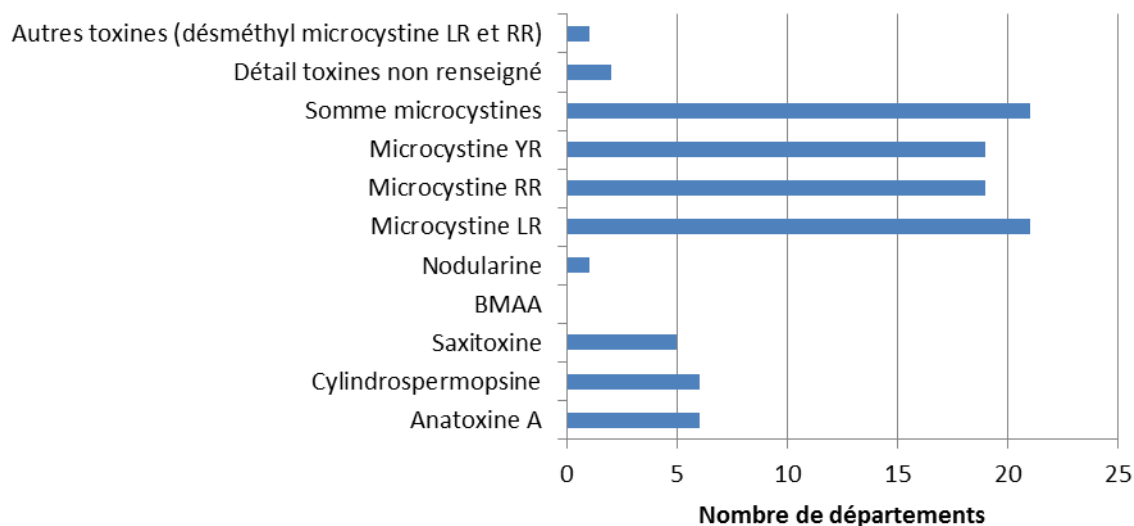


**Figure 25 : paramètres recherchés par les départements dans le cadre du suivi des cyanobactéries**

### ■ Cyanotoxines

Les microcystines sont les cyanotoxines les plus recherchées (figure 26) ; il est à noter que les analyses portent uniquement sur trois variants (LR/RR/YR), pour lesquels il existe des standards analytiques. La MC-LR n'est pas recherchée dans deux départements. D'autres variants de la MC sont recherchés sur l'un des sites : il s'agit de la desméthyl microcystine-LR et de la MC-RR. Enfin, la somme des MC est recherchée dans trois départements.

Les autres toxines (STX, CYN et ATX-a) sont peu recherchées dans le cadre du contrôle sanitaire, et le cas échéant, uniquement dans certaines régions. Un seul département recherche la nodularine et aucun département ne recherche la BMAA.



**Figure 26 : paramètres recherchés par les départements dans le cadre du suivi des cyanotoxines (en proportion de départements)**

### ■ Paramètres de terrain

À l'exception du pH et de la température de l'eau recherchés respectivement dans 13 et 17 départements, il existe une grande diversité des paramètres recherchés (tableau XXXV). Il convient toutefois de noter que la chlorophylle-a n'est recherchée dans aucun des départements ayant répondu au questionnaire. De même, le phosphore total, indicateur préconisé dans l'arbre décisionnel proposé par l'Agence en 2006, n'est recherché que dans un seul département.

La mise en place par l'exploitant de sondes à phycocyanine dans les eaux brutes n'est rapportée que pour un département.

Tableau XXXV : paramètres terrain recherchés

Paramètres	Nombre de départements	Pourcentage de départements
T°C - eau	17	57 %
pH	13	43 %
T°C - air	7	23 %
Changement anormal coloration	5	17 %
Transparence Secchi	4	13 %
Turbidité	4	13 %
Phosphore total	1	3 %
Chlorophylle-a	0	0 %

### 11.1.2.2 Période et fréquence du contrôle sanitaire

Le contrôle sanitaire des cyanobactéries et/ou cyanotoxines est (figure 27) :

- réalisé sur la période la plus à risque (juin – septembre *a minima*, voire mai – octobre / novembre selon les départements) dans 16 départements ;
- mis en place tout au long de l'année dans quatre départements ;
- adapté selon les résultats d'une ou deux recherches annuelle(s) dans cinq départements ;
- intégré aux analyses du contrôle sanitaire réalisées sur les ressources superficielles utilisées pour la production d'EDCH dans un seul département (analyse de type RS) ;
- déclenché à partir des résultats de la surveillance des paramètres de terrain (turbidité, coloration) dans un seul département.

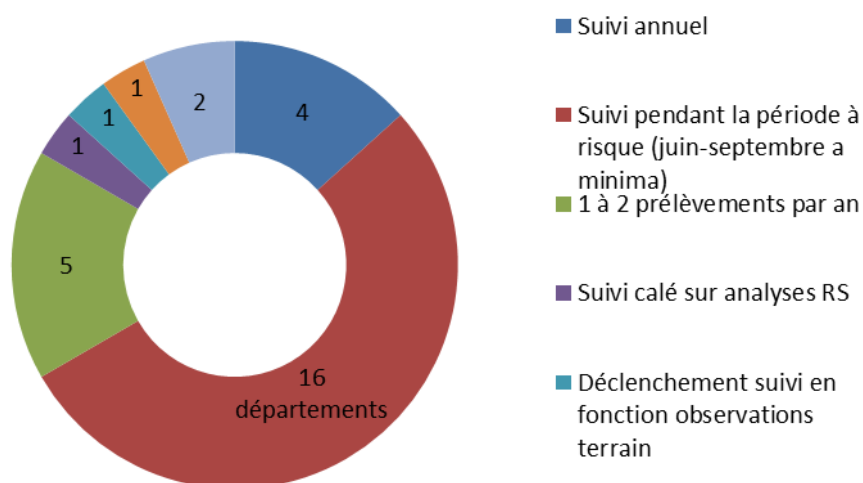


Figure 27 : modalités de mise en œuvre de la surveillance par les ARS en nombre de départements

### 11.1.2.3 Stratégie de surveillance

La stratégie de surveillance *via* le contrôle sanitaire des eaux est très variable d'un département à l'autre, que ce soit pour les paramètres recherchés, la période et la fréquence de suivi ou les seuils décisionnels utilisés pour l'adaptation de la stratégie de surveillance (figure 28). Ainsi, plus de 10 protocoles différents ont ainsi été répertoriés sur 30 réponses exploitables :

- un suivi calé sur les préconisations du rapport de l'Agence de 2006 est mis en œuvre dans six départements ;
- trois ARS ont mis en place une stratégie de surveillance harmonisée sur leur territoire, soit dix départements ;
- une stratégie de surveillance propre au département a été définie dans onze départements ;
- trois ARS n'ont pas renseigné ce point ou n'ont pas de stratégie particulière.

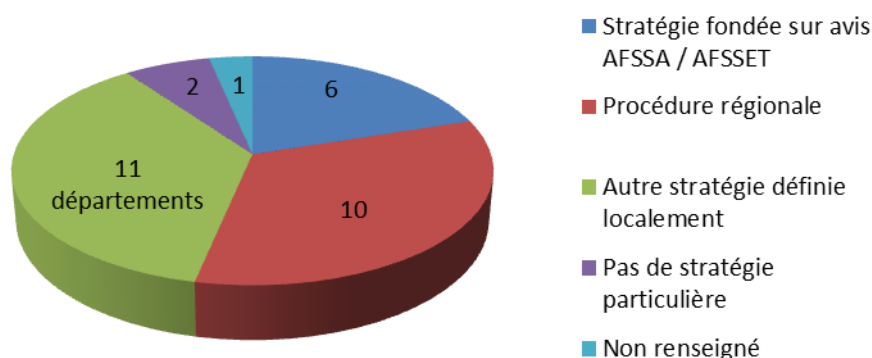


Figure 28 : stratégie de surveillance mise en œuvre par les départements

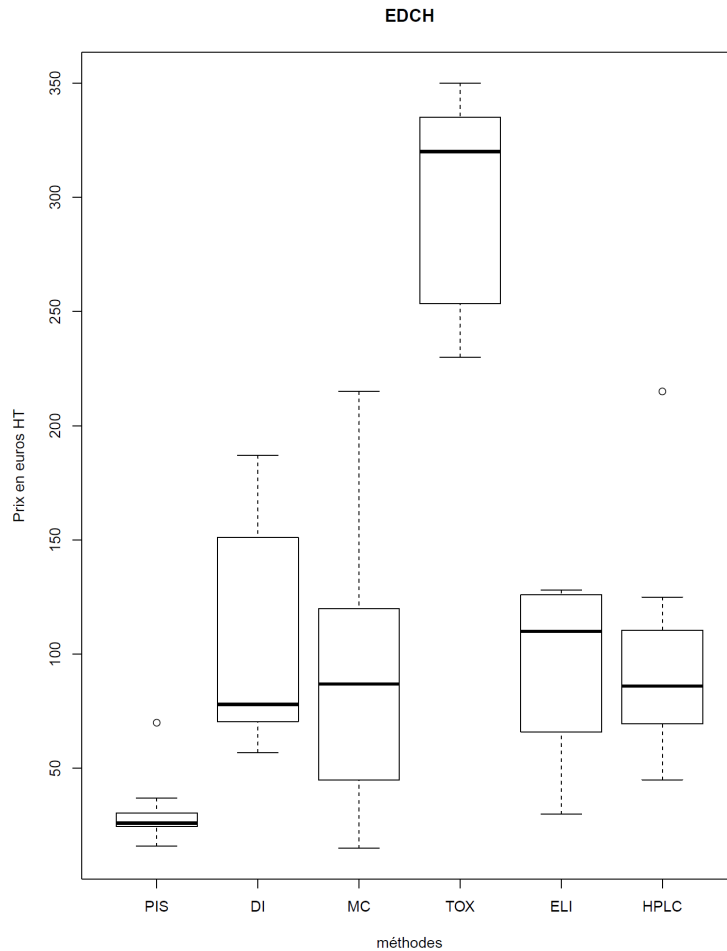
### 11.1.3 Coûts du contrôle sanitaire

Les coûts par échantillon traité sont variables d'un département à l'autre et dépendent des laboratoires en charge des analyses (figure 29).

Le coût du contrôle sanitaire est majoritairement généré par les recherches de cyanobactéries et de leurs toxines, le coût du prélèvement étant peu élevé par comparaison. Il n'y a pas de différence de coût entre l'utilisation de méthodes immunologiques (ELISA) ou chromatographiques (HPLC-MS ou HPLC-MS/MS) pour la recherche des microcystines. En revanche, l'extension du suivi à d'autres toxines que les microcystines augmente beaucoup le coût du contrôle sanitaire (297 euros hors taxe (€ HT) par dosage, contre 87 € HT en moyenne pour la seule analyse des microcystines).

Il faut noter que le coût des analyses de toxines dépend également de la matrice analysée (eau seule vs eau et biomasse).

Enfin, le coût du contrôle sanitaire est principalement, voire exclusivement pris en charge par la personne responsable de la production ou de la distribution d'eau (PRPDE). Seules trois délégations territoriales d'ARS (DT-ARS) prenaient en charge ces analyses jusqu'à présent ; un arrêt de cette prise en charge est prévu pour 2018.



PIS : prélèvement in situ ; DI : dénombrement et identification ; MC : microcystine ; TOX : toxine ; ELI ; test ELISA ; HPLC : chromatographie liquide haute performance

**Figure 29 : coût du contrôle sanitaire des cyanobactéries et de leurs toxines (exprimé en hors taxe en euros par échantillon analysé)**

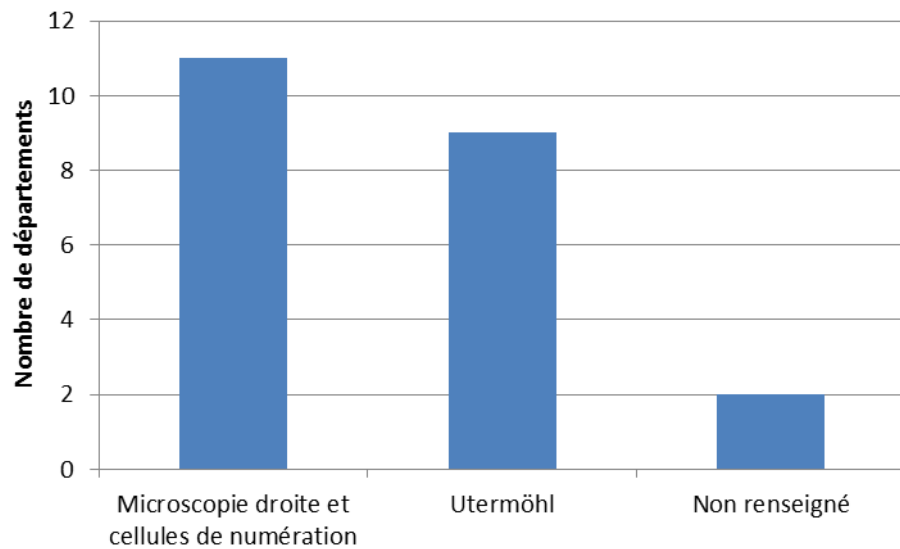
## 11.1.4 Méthodes d'analyses

### 11.1.4.1 Dénombrement et identification des cyanobactéries

Pour cette partie, 22 questionnaires ont été exploités.

#### ■ Technique analytique

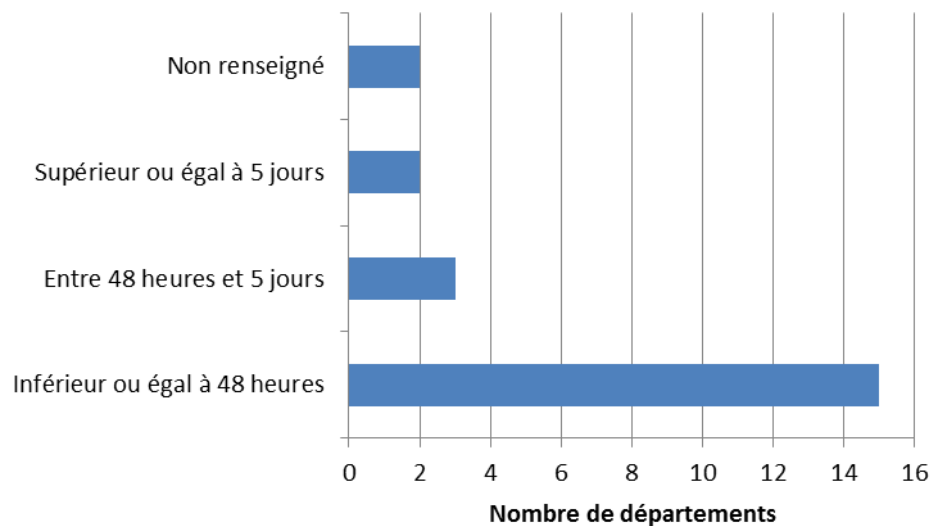
Deux techniques analytiques sont utilisées pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries, quasiment à parts égales : la microscopie droite avec cellules de numération et la méthode de microscopie inversée (méthode Utermöhl) (figure 30).



**Figure 30 : techniques analytiques mises en œuvre pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries**

■ Délais analytiques

Les résultats des analyses de cyanobactéries sont majoritairement transmis dans un délai court (inférieur à 48 heures). Le rendu des analyses intervient dans un délai « intermédiaire » entre 48 heures et 5 jours) dans trois départements. Des délais importants (supérieur à cinq jours), incompatibles avec les impératifs de gestion, sont observés dans deux départements (figure 31).



**Figure 31 : délais analytiques mis en œuvre pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries**

### 11.1.4.2 Analyses de cyanotoxines

#### ■ Technique analytique

Pour cette partie, 29 questionnaires ont été exploités.

La méthode majoritairement mise en œuvre pour les analyses de toxines est la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (CLHP-SM ou CLHP-SM/SM) (figure 32), permettant la quantification différenciée des variants de microcystines recherchés.

Néanmoins, des tests immunologiques dosant l'ensemble des variants sans différenciation sont également réalisés dans un nombre non négligeable de départements.

À noter que les méthodes chromatographiques suivies d'une détection UV (*i.e.* CLHP) ne sont pas utilisées.

Une méthode interne développée par un laboratoire est utilisée dans un département. Cette technique semble également fondée sur une technique chromatographique couplée à une spectrométrie de masse en tandem SPE-CL-SM/SM.

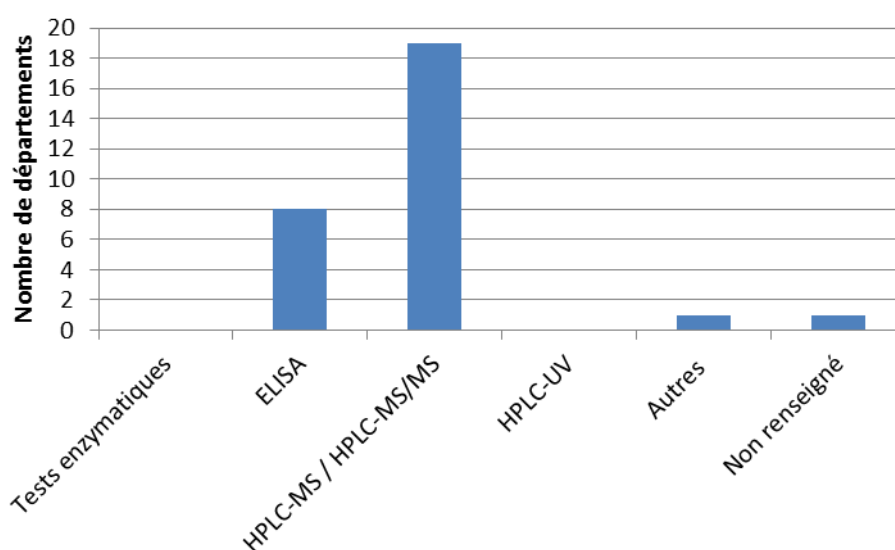


Figure 32 : techniques analytiques mises en œuvre pour l'analyse des cyanotoxines

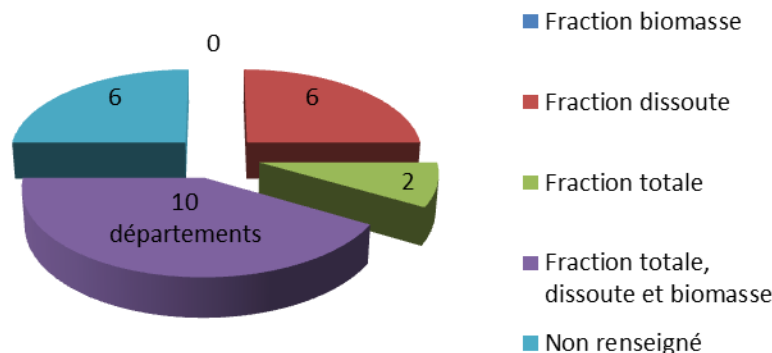
#### ■ Matrice analysée

Pour cette partie, 24 questionnaires sur les 27 complétés ont été exploités.

Il est à noter l'absence de réponse à cette question pour les eaux brutes dans six questionnaires et pour les eaux traitées dans dix questionnaires, probablement par méconnaissance de l'information.

##### ○ En eau brute

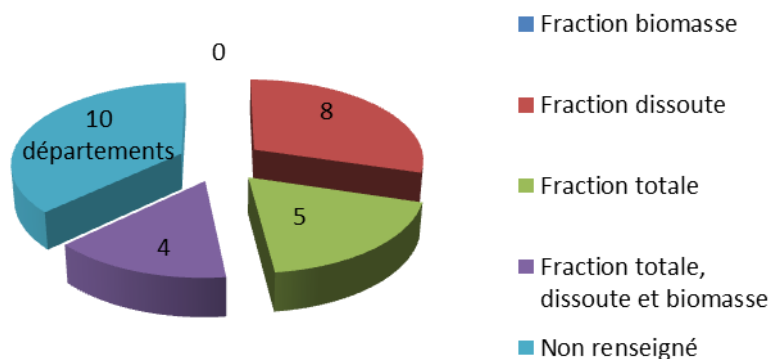
Concernant les analyses en eau brute, la recherche des cyanotoxines uniquement dans la fraction intracellulaire n'est pas réalisée en France. En revanche, la recherche des cyanotoxines dans la seule fraction extracellulaire est réalisée dans six départements. Enfin, la recherche des toxines dans les deux fractions est effectuée dans douze départements (figure 33).



**Figure 33 : fractions analysées pour le dosage des cyanotoxines en eau brute**

○ En eau traitée

La recherche des cyanotoxines dans la seule fraction intracellulaire n'est effectuée dans aucun département des 24 questionnaires exploités. Les cyanotoxines dans la seule fraction extracellulaire sont analysés dans huit départements. Enfin, cette recherche est effectuée dans les deux fractions dans neuf départements (figure 34).



**Figure 34 : fractions analysées pour le dosage des cyanotoxines en eau traitée**

■ Délais analytiques

*Pour cette partie, 29 questionnaires ont été exploités.*

Les délais analytiques observés pour la recherche des cyanotoxines, en particulier pour les méthodes chromatographiques, sont supérieurs à ceux observés pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries.

Les résultats des analyses de cyanotoxines sont reçus dans un délai supérieur à 5 jours dans 10 départements. Ces délais sont très importants et incompatibles avec les impératifs de gestion. En revanche, les résultats d'analyses sont disponibles dans un délai inférieur à 5 jours dans 15 départements (figure 35).

Les délais de transmission des résultats d'analyses de toxines obtenus par méthode chromatographiques sont généralement les plus importants.



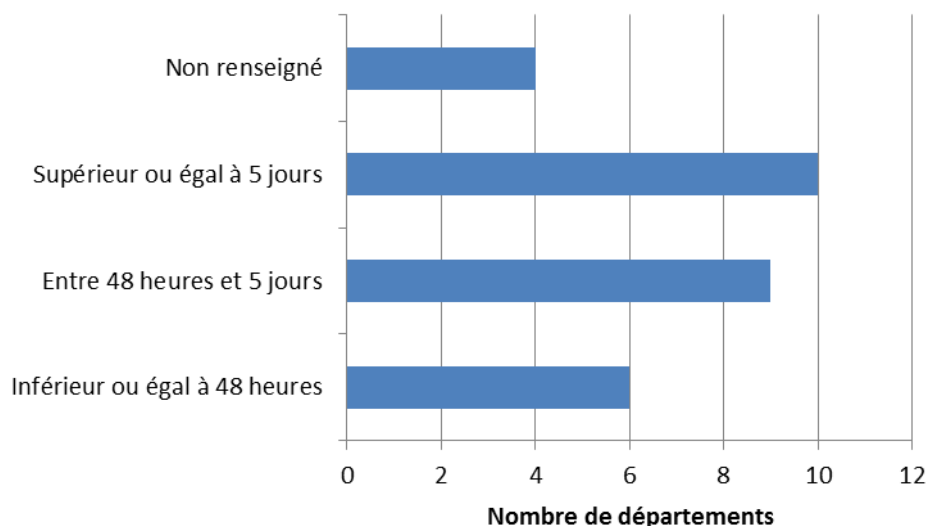


Figure 35 : délais analytiques mis en œuvre pour l'analyse des cyanotoxines

### 11.1.5 Bancarisation des données

Pour cette partie, 33 questionnaires ont été exploités.

Les résultats du contrôle sanitaire des cyanobactéries et/ou de leurs toxines sont colligés dans la base de données SISE-Eaux dans 29 départements ; cette bancarisation est partielle dans huit départements et ponctuelle (à l'image du suivi réalisé) dans trois départements. Les données ne sont pas colligées dans la base de données SISE-Eaux dans quatre départements (figure 36). Des fichiers Excel complémentaires ont été transmis par cinq départements.

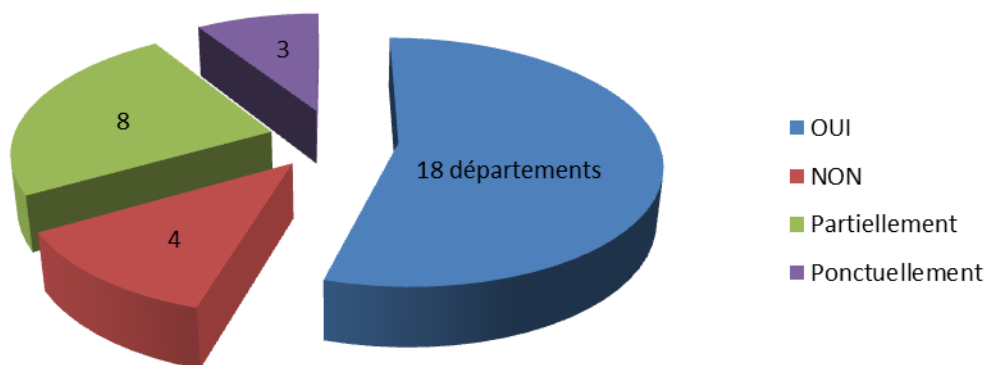


Figure 36 : bancarisation des résultats des analyses des cyanobactéries et/ou de leurs toxines dans SISE-Eaux par les départements

Les paramètres majoritairement bancarisés sont, par ordre décroissant, les résultats d'analyses de cyanotoxines, le dénombrement des cyanobactéries (CYANOBA), le dénombrement par genre (CYANO 01 à 52) et le dénombrement de cyanobactéries toxigènes (CYANTOX) (figure 37).

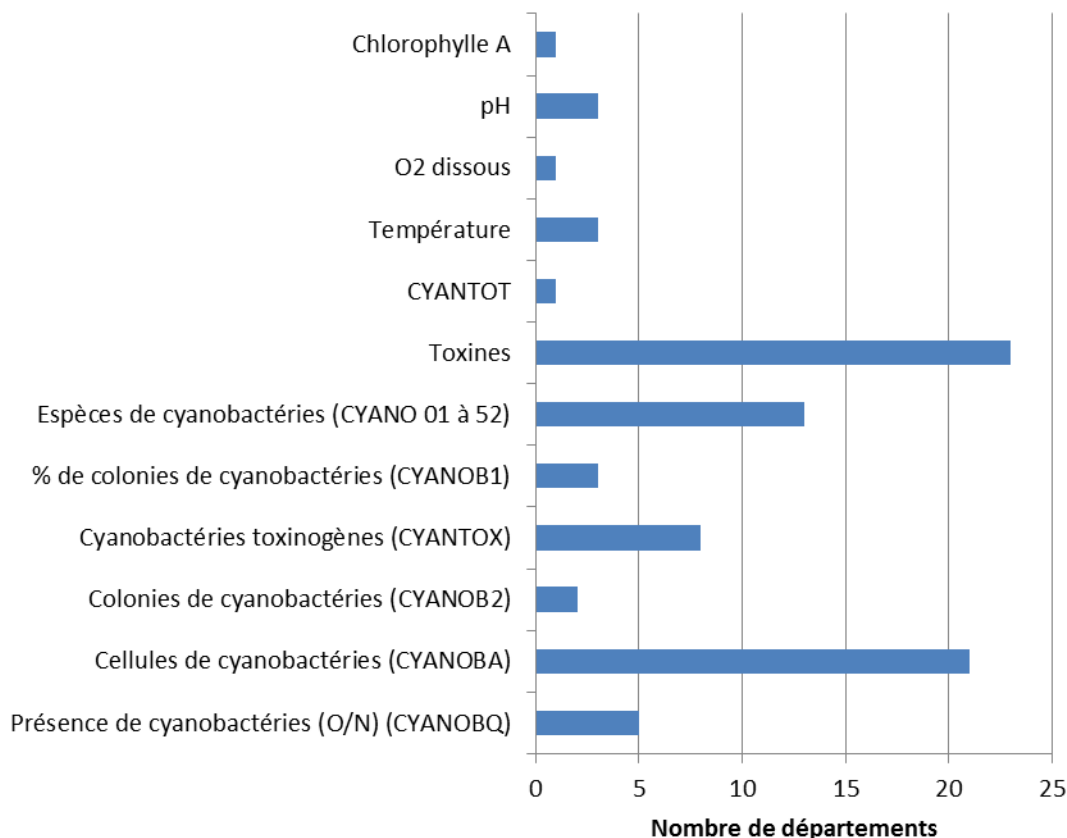


Figure 37 : paramètres bancarisés sous SISE-Eaux d'alimentation en nombre de départements

L'évolution temporelle de la bancarisation des données dans la base SISE-Eaux d'alimentation par les départements au fur et à mesure des années est représentée sur la figure 38.

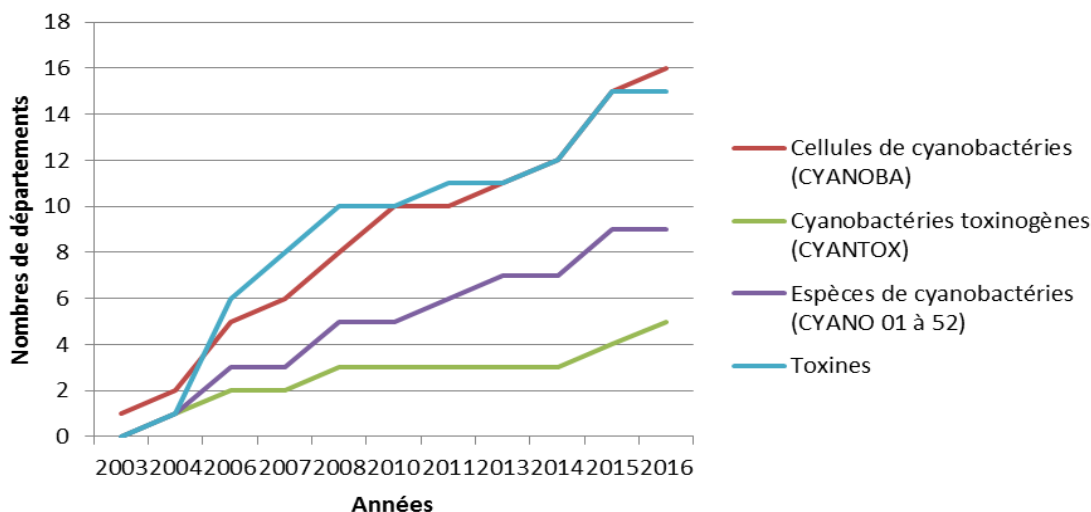


Figure 38 : évolution de la bancarisation des données par paramètre dans la base SISE-Eaux d'alimentation (en nombre de départements)

## 11.1.6 Gestion du risque sanitaire

### 11.1.6.1 Stratégie de gestion

Pour cette partie, 35 questionnaires ont été exploités.

La question relative à la stratégie de gestion des risques mise en œuvre n'a pas été complétée dans 15 questionnaires.

Dans six départements, aucune stratégie de gestion n'a été développée en l'absence de problème rencontré.

Parmi les 14 questionnaires présentant une réponse à la question (figure 39) (tableau XXXVI) :

- des stratégies de gestion harmonisée au niveau régional ont été développées. Ces stratégies prennent en compte à la fois les dénombrements des cyanobactéries et les résultats des analyses de toxines (par exemple, dans un département seules les microcystines sont recherchées alors que dans un autre, c'est une recherche élargie de toxines qui est effectuée) ; à noter que le caractère toxigène des cyanobactéries est pris en compte dans la procédure d'un département pour adapter la recherche de toxines ;
- les dénombrements de cyanobactéries, les résultats d'analyses de toxines et la capacité de l'usine de traitement à retenir les cellules algales sont pris en compte dans deux départements ;
- une stratégie de gestion locale est définie dans deux départements : celle-ci prend en compte les dénombrements des cyanobactéries (toxigènes pour l'un des départements), les résultats des analyses de toxines (microcystines uniquement pour l'un, recherche élargie de toxines pour l'autre) et la mise en œuvre d'une autosurveillance par l'exploitant ;
- l'arbre décisionnel de l'Agence de 2006 est pris comme référence dans deux départements ;
- l'arbre décisionnel de l'Agence de 2006 est pris comme référence dans deux départements ;
- la limite de qualité fixée à 1 µg.L<sup>-1</sup> dans les EDCH pour les microcystines est utilisée dans deux départements ;
- une DT-ARS indique ne pas avoir formalisé de procédure à ce stade.

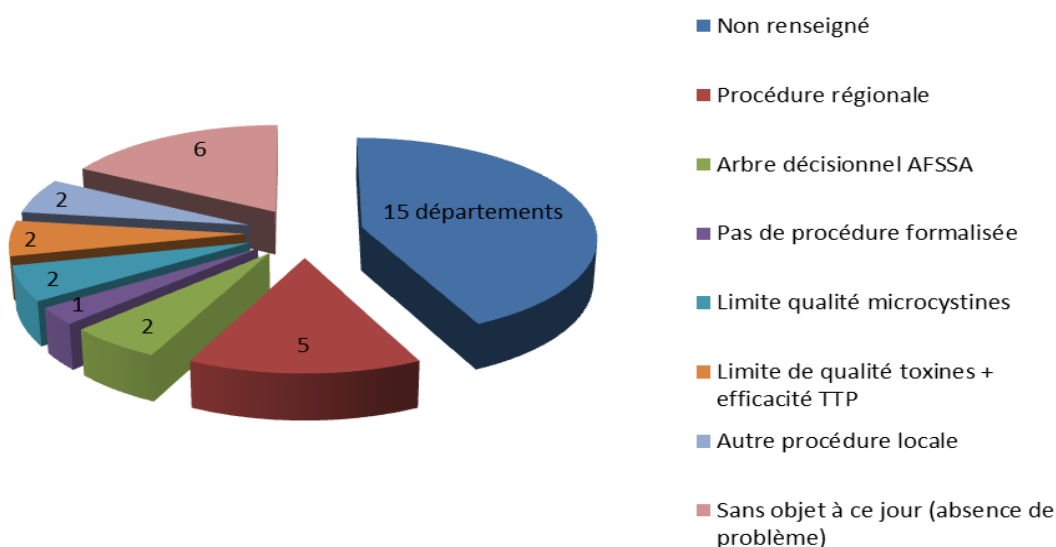


Figure 39 : stratégies de gestion mises en œuvre par les départements sur les EDCH (en nombre de départements)

**Tableau XXXVI : exemples de seuils de gestion utilisés par les Agences régionales de santé pour les cyanotoxines (hors microcystines) dans les eaux destinées à la consommation humaine**

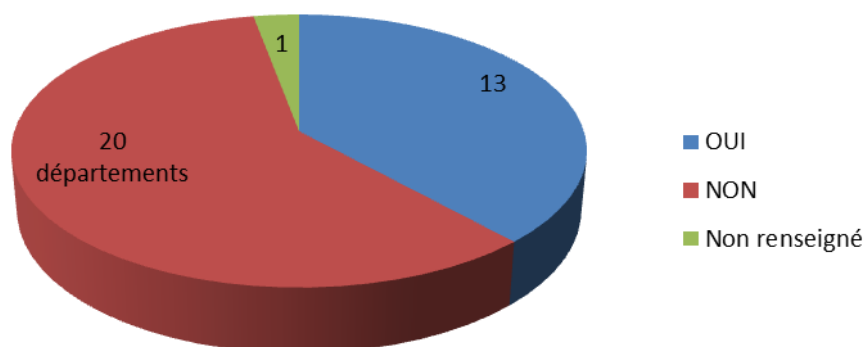
Paramètres / seuils de gestion	Franche-Comté	Mayotte
Saxitoxine	3 µg.L <sup>-1</sup>	3 µg.L <sup>-1</sup>
Cylindrospermopsine	1 µg.L <sup>-1</sup>	1 µg.L <sup>-1</sup>
Anatoxine-a	1 µg.L <sup>-1</sup>	5 µg.L <sup>-1</sup>
Nodularine	1 µg.L <sup>-1</sup>	-

### 11.1.6.2 Mesures de gestion sanitaire

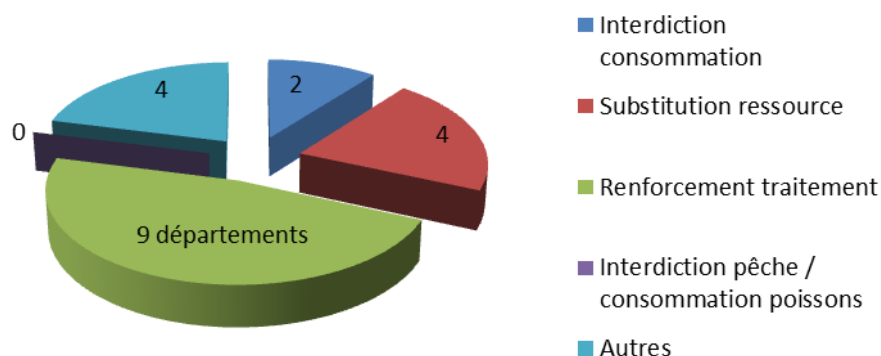
Dans cette partie, 34 questionnaires ont été exploités.

Des mesures de gestion ont déjà été mises en œuvre dans 13 départements (figure 40) ; elles consistent prioritairement en un renforcement du traitement, suivi d'une substitution de ressource puis d'une interdiction de consommation d'eau (figure 41).

Aucune interdiction de pêche / consommation de poisson n'a été prononcée en lien avec la surveillance des EDCH.



**Figure 40 : mise en œuvre de mesures de gestion sanitaire par les délégations territoriales des Agences régionales de santé (en nombre de départements)**



**Figure 41 : nature des mesures de gestion sanitaire mises en œuvre par les départements (en nombre de départements)**

Les autres mesures de gestion mises en œuvre concernent : le renforcement de la surveillance (fréquemment mise en œuvre par les DT-ARS au vu des stratégies de suivi / gestion transmises), la mise en place de restrictions d'usage à destination des femmes enceintes et nourrissons et la substitution de ressource pour l'alimentation du bétail.

### 11.1.7 Difficultés de gestion sanitaire

*Dans cette partie, 35 questionnaires ont été exploités.*

Des difficultés dans la mise en œuvre des mesures de gestion ont été signalées dans six départements. Il s'agit de difficultés liées (figure 42) :

- à l'absence de cadrage national ;
- à l'absence de limites de qualité pour les cyanotoxines autres que les microcystines ;
- aux limites des filières de traitement en termes d'adaptation ;
- à l'offre des laboratoires en termes de capacité analytique ;
- au coût de la surveillance ;
- aux délais analytiques.

À noter par ailleurs :

- qu'une délégation territoriale, n'ayant pas signalé de difficulté de gestion, s'interroge sur les pratiques de traitement (traitement au sulfate de cuivre ou au peroxyde d'hydrogène) envisagées et/ou mises en œuvre par le gestionnaire de certains plans d'eau en cas de début d'apparition de cyanobactéries afin d'empêcher l'installation d'une efflorescence ;
- le signalement par d'autre DT-ARS, n'ayant pas indiqué de difficulté de gestion, d'un problème de mauvaise odeur survenu lors du test d'une réserve de secours d'eau brute très eutrophisée en 2016 avec la présence de MIB (2-méthylisobornéol) et de géosmine.

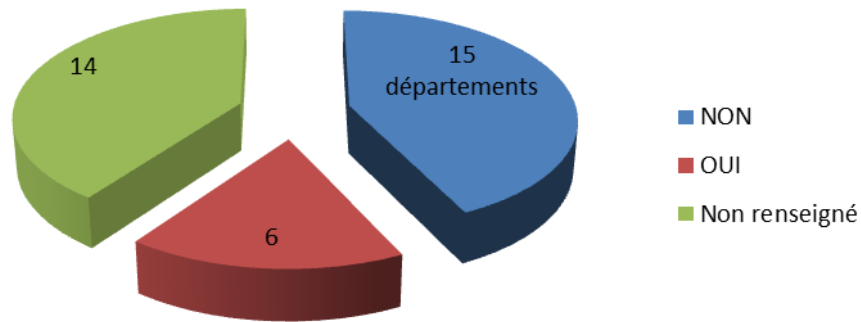


Figure 42 : difficultés de gestion rencontrées par les départements (en nombre de départements)

### 11.1.8 Signaux sanitaires

Pour cette partie, 35 questionnaires ont été exploités.

Des signaux sanitaires en lien possible avec la présence de cyanobactéries ont été signalés dans deux départements (figure 43) ; toutefois, ces signaux concernaient des mortalités survenues dans la faune sauvage (sangliers, cygnes), hors champ EDCH.

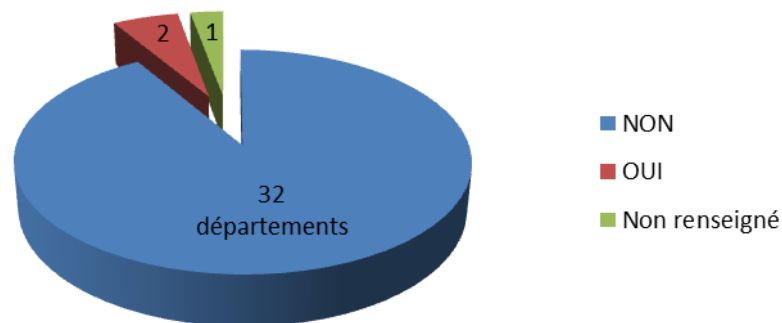


Figure 43 : signaux sanitaires portés à la connaissance des Agences régionales de santé en lien possible avec la présence de cyanobactéries

### 11.1.9 Points à retenir

Des recherches de cyanobactéries et/ou de leurs toxines sont réalisées ou ont été réalisées dans les eaux brutes dans 30 départements sur les 68 ayant répondu au questionnaire (28 départements pour les eaux traitées) depuis une vingtaine d'années.

Ces recherches concernent ou ont concerné les typologies de sites suivantes : retenues, prises d'eau en rivière, lacs/réserves collinaires et bassins de stockage.

La surveillance des cyanobactéries et/ou de leurs toxines en eau distribuée est marginale.

Une autosurveillance réalisée par l'exploitant est signalée dans cinq départements ; en l'absence de questionnement précis sur ce point, il est probable que ce nombre soit sous-estimé.

La stratégie de surveillance (paramètres, fréquence, période, seuils décisionnels) mise en œuvre par l'autorité sanitaire est très hétérogène selon les départements ; la stratégie de surveillance définie dans le précédent rapport de l'Agence n'est mise en œuvre que dans six départements.

Des toxines différentes de la microcystine ne sont recherchées que dans 6 départements. La matrice analysée (fraction dissoute seule vs fractions dissoute et biomasse) varie en fonction des départements interrogés. Le coût de la surveillance est non négligeable, hétérogène selon les laboratoires et augmente lorsque des toxines autres que les microcystines sont recherchées.

Les délais de restitution des résultats des analyses peuvent, pour certains laboratoires, être incompatibles avec les impératifs de gestion, en particulier pour les analyses de toxines.

La bancarisation partielle ou totale dans SISE-Eaux d'alimentation est effectuée dans la majorité des départements mettant en œuvre un suivi, mais cela reste peu important en nombre « brut » de départements (16 pour le paramètre le plus bancarisé).

De même, une grande variabilité dans la stratégie de gestion des risques sanitaires est relevée. Il est à noter qu'aucune mesure de gestion des risques concernant l'interdiction de pêche et/ou de consommation de poisson n'est rapportée, en lien avec la surveillance des EDCH.

Des difficultés dans la mise en œuvre de mesures de gestion des risques sont soulevées. Celles-ci sont liées à l'absence de cadrage national, de limite de qualité pour les cyanotoxines autres que les microcystines, aux capacités ou aux délais analytiques, au coût de la surveillance ou encore aux difficultés liées à l'adaptation des filières de traitement.

Enfin, aucun signal sanitaire en lien avec la consommation d'EDCH n'a été signalé par les ARS interrogées.

## 11.2 Eaux récréatives

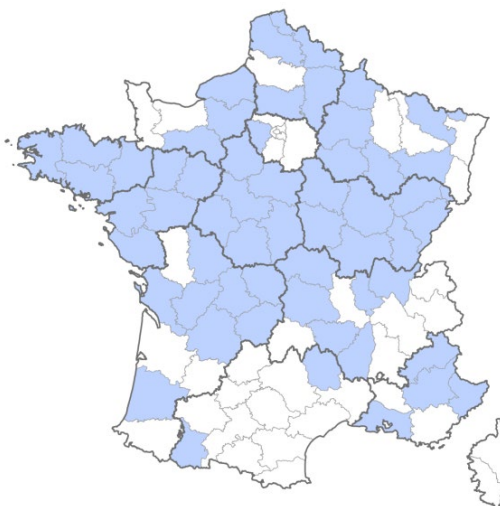
Il est à noter que la surveillance sanitaire des cyanobactéries dans les eaux de baignade n'est pas réalisée dans un département du fait de l'absence de baignade officiellement déclarée par les collectivités, mais qu'une surveillance de trois zones de loisirs nautiques a été mise en place.

Les suivis des cyanobactéries et/ou cyanotoxines ont débuté lors de la saison balnéaire 2017 dans un département.

### 11.2.1 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des baignades et zones de loisirs nautiques

#### 11.2.1.1 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux de baignade

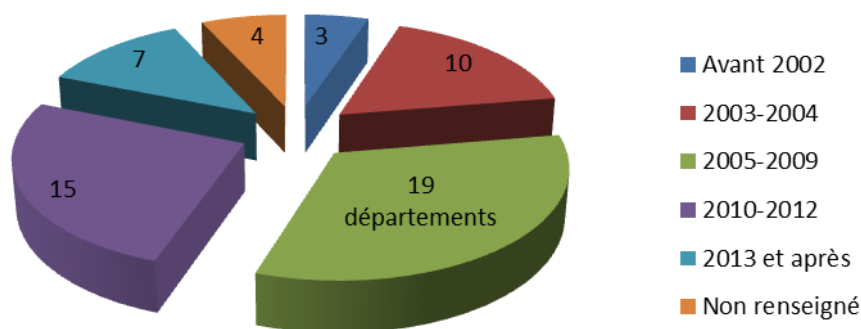
Le suivi des paramètres liés aux cyanobactéries dans les eaux de baignade est réalisé dans 58 départements (figure 44). 448 sites (dont 31 baignades artificielles) sont ou ont été concernés par ce suivi lors d'au moins une saison balnéaire. Des suivis irréguliers sont réalisés dans cinq départements.



**Figure 44 : répartition géographique des suivis de cyanobactéries et cyanotoxines dans les eaux de baignade**

À l'échelle nationale, la période de mise en œuvre du suivi des cyanobactéries est assez hétérogène (figure 45). Le suivi des baignades a débuté dans dix départements dès 2003 ou 2004, à la parution de l'avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France du 6 mai 2003 relatif aux à la gestion des situations de contamination d'eaux de baignade et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries. La recherche de cyanobactéries a démarré dans 32 départements avant 2010, année de la création des ARS, et elle a été mise en place postérieurement à la création des ARS dans 22 départements (quatre départements n'ont pas répondu).





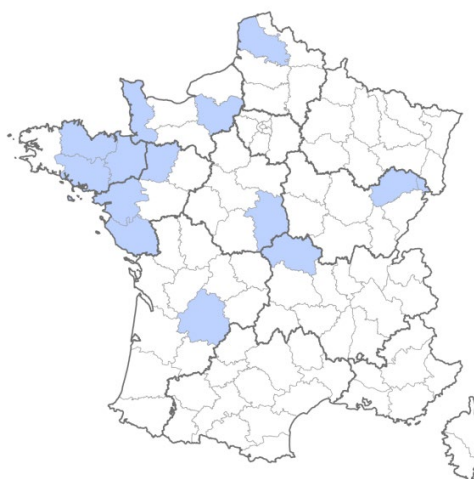
**Figure 45 : période de démarrage du suivi des cyanobactéries (eaux de baignade)**

Le nombre de baignades concernées par le contrôle sanitaire des cyanobactéries varie selon les départements. Le suivi concerne au minimum dix baignades dans 14 départements.

#### 11.2.1.2 Suivi dans le cadre du contrôle sanitaire des zones de loisirs nautiques (ZLN)

Les sites non déclarés pour un usage de baignade mais concernés par des activités nautiques ne font majoritairement pas l'objet d'un contrôle sanitaire par les ARS. Un contrôle sanitaire d'un ou plusieurs sites de loisirs nautiques (71 sites au total), selon des modalités comparables à celles des eaux de baignade est ou a été réalisé dans quatorze départements. Le suivi a été particulièrement important dans deux départements regroupant au total 48 sites de ZLN (figure 46).

À la lecture des questionnaires, il apparaît un désengagement progressif des ARS dans le suivi des ZLN puisqu'en 2017, seuls douze sites de loisirs nautiques étaient encore suivis.



**Figure 46 : répartition géographique des suivis de cyanobactéries et cyanotoxines dans les zones de loisirs nautiques**

## 11.2.2 Organisation de la surveillance au titre du contrôle sanitaire des eaux de baignade

### 11.2.2.1 Paramètres de la surveillance

Pour cette partie, 58 questionnaires ont été exploités.

#### ■ Cyanobactéries

À l'exception des paramètres relatifs au dénombrement des colonies de cyanobactéries (CYANOBA2) et au pourcentage de colonies de cyanobactéries (CYANOB1), les paramètres associés au suivi des cyanobactéries sont relativement bien recherchés par les ARS (figure 47) :

- CYANOBA : dénombrements des cellules de cyanobactéries ;
- CYANO 01 à 52 : identification et dénombrements des genres de cyanobactéries ;
- CYANTOX : dénombrements de cellules de cyanobactéries potentiellement toxigènes ;
- CYANOBQ : présence de cyanobactéries.

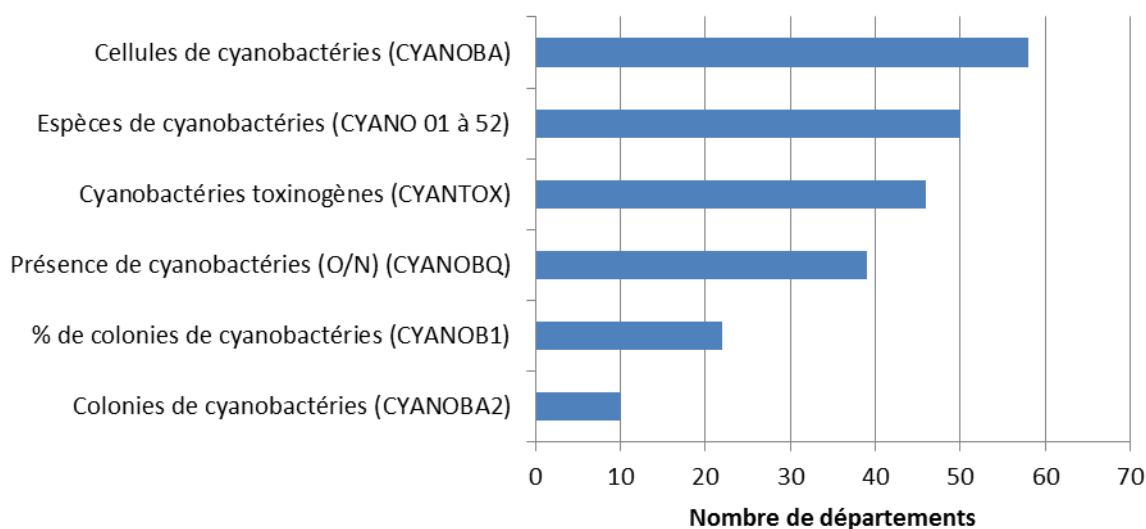


Figure 47 : paramètres de la surveillance des cyanobactéries (eaux de baignade)

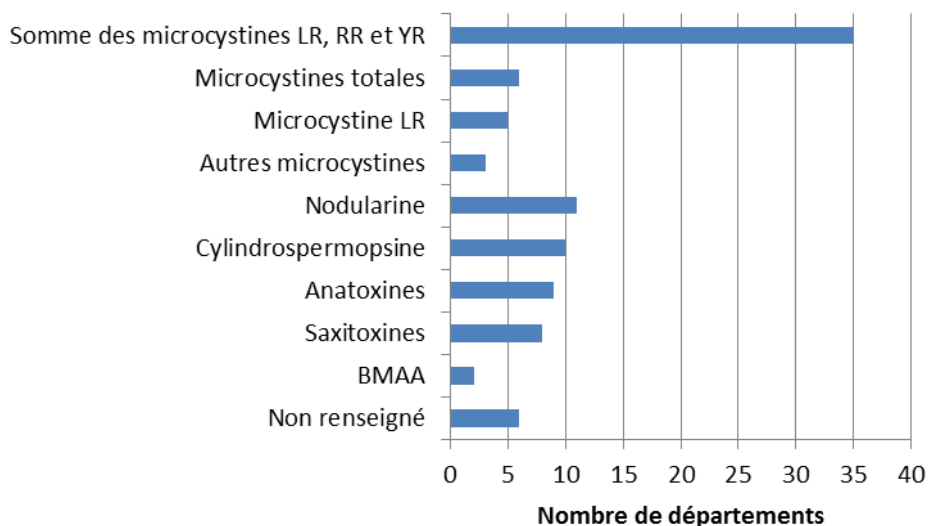
#### ■ Cyanotoxines

Les trois principaux variants de la microcystine (LR/YR/RR) sont recherchés dans 35 départements. Outre ces variants, les MC-LA, MC-LF, MC-LW, MC-LY, MC-LR-desmethyl, MC-RR-desmethyl sont recherchés dans trois départements.

Dans cinq départements, seule la MC-LR est recherchée. Des toxines autres que les microcystines sont recherchées dans une dizaine de départements. Il s'agit par ordre d'importance de la nodularine, la cylindrospermopsine, l'anatoxine-a et la saxitoxine. La BMAA est uniquement recherchée dans deux départements.

Aucune cyanotoxine n'est recherchée dans cinq départements.

Enfin, six DT-ARS n'ont pas répondu à cette question (figure 48).

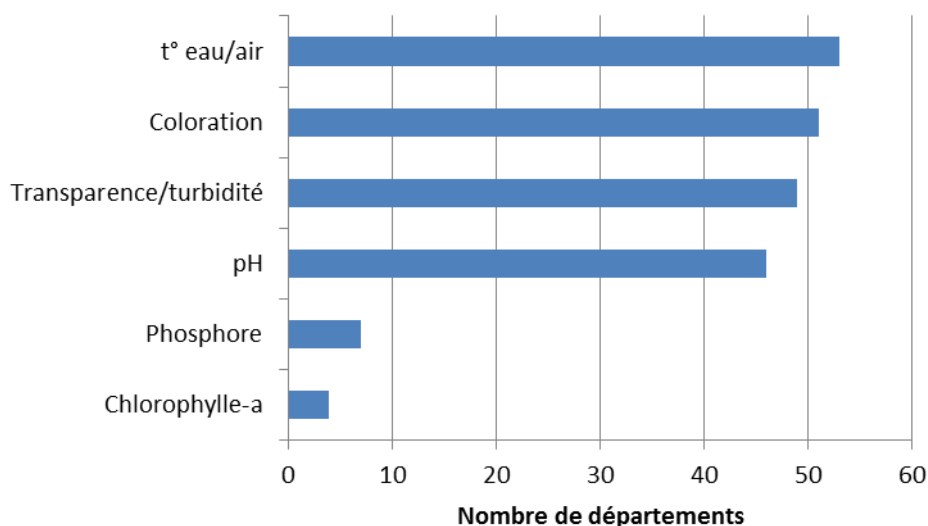


**Figure 48 : toxines recherchées à la demande des ARS (eaux de baignade)**

#### ■ Paramètres de terrain

Les mesures du pH, de la transparence/turbidité et de la température de l'eau et de l'air sont réalisées dans plus de 80 % des départements ayant répondu au questionnaire. La recherche d'une coloration anormale de l'eau est également un critère majoritairement suivi. En revanche, la mesure de chlorophylle-a n'est réalisée que dans quatre départements.

Les suivis du phosphore total sont principalement réalisés sur l'eau de remplissage des baignades artificielles (conformément aux instructions du ministère en charge de la santé<sup>47</sup>) et uniquement dans quelques départements (figure 49).



**Figure 49 : paramètres de terrain recherchés à la demande des ARS (eaux de baignade)**

<sup>47</sup> Note d'information DGS/EA4/ no 2014/166 du 23 mai 2014 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour chaque saison balnéaire à compter de l'année 2014

### 11.2.2.2 Période et fréquence du contrôle sanitaire

#### ■ Période du contrôle sanitaire

*Pour cette partie, 59 questionnaires ont été exploités.*

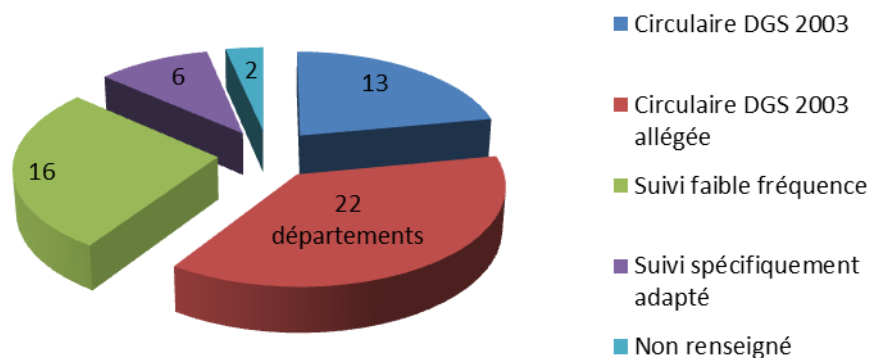
Le suivi des paramètres cyanobactéries/cyanotoxines pendant les seuls mois de juillet-août est réalisé dans 31 départements et sur une période plus ou moins élargie, entre juin et septembre dans 23 départements. Des suivis spécifiquement adaptés aux sites sont mis en œuvre dans deux départements. Dans l'un des DROM, le suivi est réalisé toute l'année.

#### ■ Fréquence du contrôle sanitaire

*Pour cette partie, 59 questionnaires ont été exploités.*

Quatre stratégies de surveillance ont été identifiées (figure 50) :

- un suivi établi selon les recommandations fondées sur la circulaire de la DGS de 2003 : suivi bimensuel en routine, devenant hebdomadaire en cas de numération supérieure à 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup>, est réalisé dans treize départements ;
- un suivi inspiré de cette même circulaire mais allégé pour les sites peu sensibles aux proliférations de cyanobactéries est réalisé dans 22 départements :
  - un suivi en routine mensuel pour les sites peu sensibles et bimensuel pour les sites sensibles, devenant hebdomadaire en cas de numération supérieure à 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup> est réalisé dans onze départements ;
  - un suivi en routine mensuel pour tous les sites, devenant hebdomadaire en cas de numération supérieure à 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup> est réalisé dans onze départements ;
- un suivi à faible fréquence avec une à trois analyses par saison est réalisé dans seize départements ;
- un suivi adapté au profil de baignade est réalisé dans six départements.



**Figure 50 : fréquence de suivi des paramètres liés aux cyanobactéries (eaux de baignade)**

#### ■ Surveillance par la personne responsable de l'eau de baignade (PREB)

*Pour cette partie, 60 questionnaires ont été exploités.*

Une surveillance a été mise en place par les PREB de chaque site de baignade dans 25 départements mais la plupart du temps, elle se limite à une surveillance visuelle de l'environnement de baignade.

Des outils d'aide rapide à la décision, complémentaires aux analyses réalisées dans le cadre du suivi officiel, sont utilisés dans trois départements : outils d'analyse rapide semi-quantitative des microcystines (tests bandelettes ELISA) ou fluorimètre de terrain.

### 11.2.3 Protocole de prélèvements

S'agissant des protocoles de prélèvements, une minorité de DT-ARS a connaissance de l'ensemble des modalités de réalisation des échantillonnages d'eau (tableau XXXVII). Ainsi, l'ensemble des informations souhaitées sont apportées seulement dans 9 questionnaires, beaucoup de questionnaires étant imprécis.

Les critères les moins connus et donc les moins renseignés dans les questionnaires sont par ordre décroissant : l'existence d'une fixation au lugol de l'échantillon d'eau (non renseigné pour 43 départements), le nombre d'échantillons d'eau prélevés (non renseigné pour onze prélèvements) et la zone de prélèvement (non renseigné pour dix départements).

**Tableau XXXVII : protocoles de prélèvement rapportés par les Agences régionales de santé (eaux de baignade)**

Nombre d'échantillons d'eau			Zone de prélèvements			Fixation lugol		
un échantillon unique	Mélange de plusieurs échantillons	NR	Subsurface	Colonne d'eau	NR	OUI	NON	NR
34	14	11	21	27	10	9	7	43

\*NR : non renseigné

#### ■ Nombre d'échantillons d'eau

Il est d'usage de réaliser un échantillon d'eau unique dans la zone de baignade dans 34 départements.

À l'opposé, plusieurs échantillons d'eau répartis dans la zone d'usage (trois lorsque cela est précisé) sont réalisés par 14 départements, constituant ainsi un prélèvement intégré, suivant les recommandations établies dans le guide méthodologique établi par le Laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) en juin 2016<sup>48</sup>. Dans ce cas, l'application du protocole est récente (2016 ou 2017) et concerne essentiellement les régions pour lesquelles une harmonisation des pratiques a pu être fixée dans le cadre d'un protocole régional.

#### ■ Zone de prélèvement

Deux techniques de prélèvements sont appliquées :

- prélèvement de subsurface (20-30 cm de profondeur), suivant les recommandations établies dans la norme NF EN ISO 19458<sup>49</sup>, le prélèvement pouvant parfois être réalisé à l'aide d'une perche (21 départements) ;
- prélèvement de l'ensemble de la colonne d'eau, à l'aide d'un tube échantillonneur (27 départements).

<sup>48</sup> Prélèvement, dénombrement et identification des cyanobactéries dans les eaux douces accueillant des activités de baignade et loisirs nautiques – ANSES/LHN/CYAME-version 0, juin 2016.

<sup>49</sup> NF EN ISO 19458, novembre 2006 : qualité de l'eau, échantillonnage pour analyse microbiologique.

- Fixation au lugol

Peu de DT-ARS ont connaissance de ce point. Or, la fixation au lugol est une étape très importante de l'analyse pouvant conditionner les délais de conservation avant analyse et particulièrement pour la détermination des genres espèces présents dans l'échantillon d'eau à analyser.

### 11.2.4 Coûts du contrôle sanitaire des baignades

*Pour cette partie, 59 questionnaires ont été exploités.*

- Prélèvements

Les frais de prélèvements (facturation du déplacement et des mesures terrain) ont été renseignés dans cinquante questionnaires. Ils sont globalement fixés autour de 30 € HT. Dans quelques départements, les prélèvements sont encore réalisés par les équipes de la DT-ARS mais la tendance est à une externalisation complète de cette prestation.

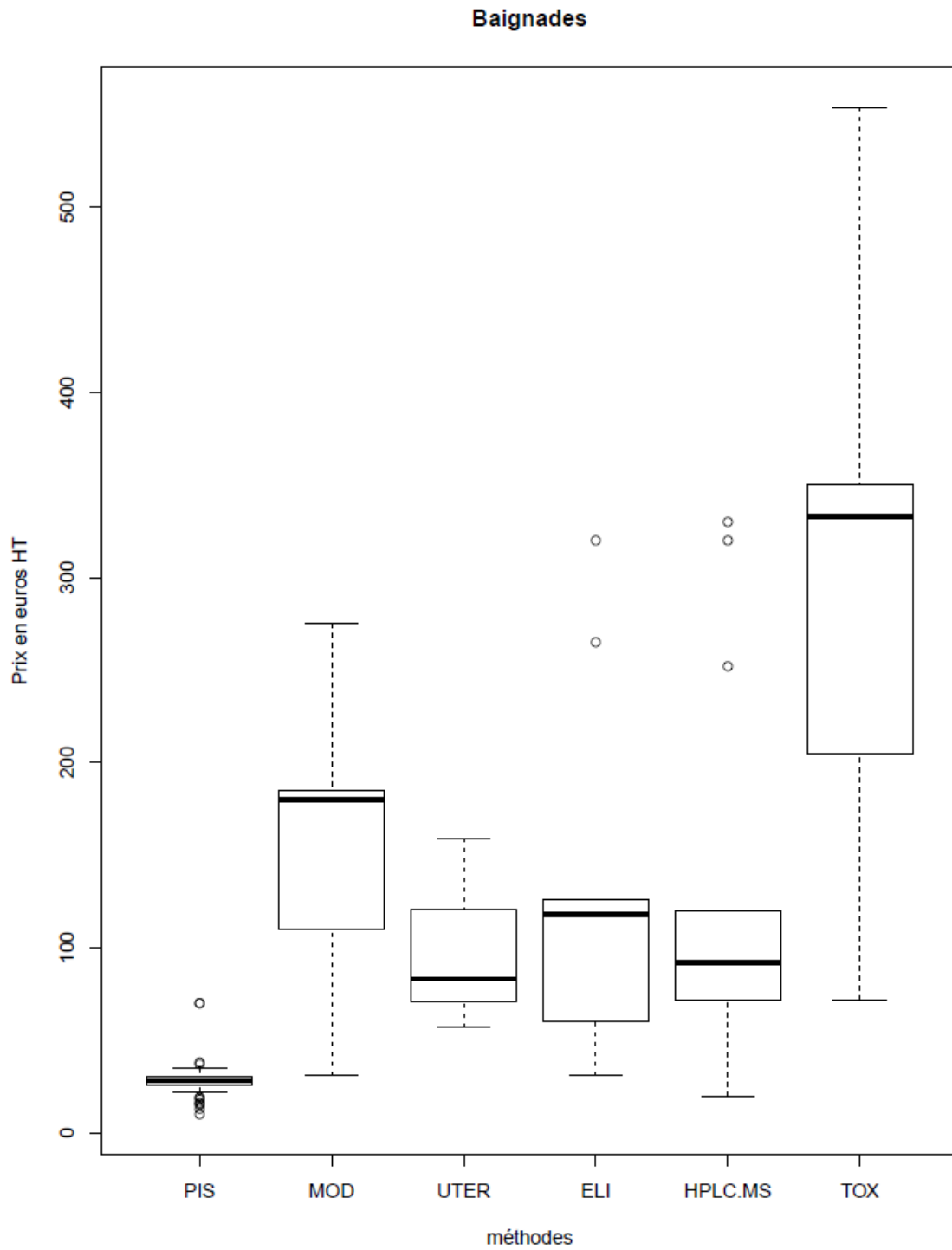
- Dénombrements

Les tarifs des dénombrements de cyanobactéries sont hétérogènes selon les départements et fonction des laboratoires attributaires du marché du contrôle sanitaire des eaux de baignades, avec une moyenne se situant à 133 € HT (dénombrement + identification taxonomique).

- Cyanotoxines

Beaucoup de réponses apportées par les DT-ARS sont inexploitable car les tarifs et/ou les méthodes d'analyses ne sont pas toujours renseignés. Les coûts associés aux analyses sont aussi étroitement liés au nombre et au type de toxines à rechercher. Les frais d'analyses augmentent lorsqu'il est demandé de rechercher et de doser d'autres toxines que les microcystines.

La figure 51 représente les différents prix relatifs à chaque type d'analyse.



PIS : prélèvement *in situ*, MOD : Microscopie optique droite, UTER : Utermöhl, ELI : test Elisa, HPLC.MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, TOX : toxines

**Figure 51 : illustration graphique des prix en fonction des différentes analyses**

- Prise en charge des frais liés au contrôle sanitaire

Dans la plupart des départements, le coût du contrôle sanitaire est supporté par les exploitants des baignades. En 2017, douze DT-ARS interviennent encore dans le financement du contrôle sanitaire, soit par une prise en charge intégrale soit par un co-financement.

## 11.2.5 Méthodes d'analyses

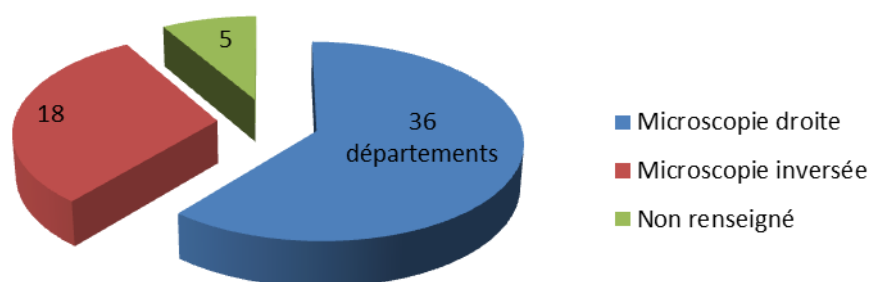
### 11.2.5.1 Dénombrements et identification des cyanobactéries

Pour cette partie, 59 questionnaires ont été exploités.

- Méthodes analytiques

Comme pour l'EDCH, deux techniques analytiques sont utilisées pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries : la microscopie droite avec cellules de numération et la méthode par microscopie inversée (méthode Utermöhl) (figure 52).

Cette partie n'a pas été complétée dans cinq questionnaires.



**Figure 52 : méthodes d'analyse pour le dénombrement des cyanobactéries (eaux de baignade)**

- Délais de transmission des résultats

Les résultats des numérations cellulaires et identifications taxonomiques sont reçus en 48 heures ou moins dans 34 départements. Mais ces délais sont importants (48 h - 5 jours) à très importants (> 5 jours) dans 23 départements. Aucune réponse à cette partie n'a été donnée dans deux questionnaires (figure 53).



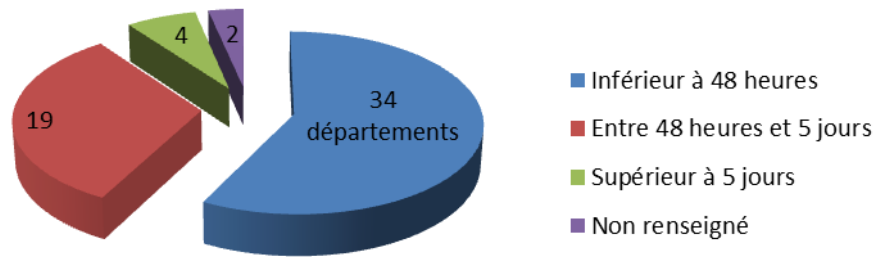


Figure 53 : délais de transmission des dénombrements de cyanobactéries (eaux de baignade)

### 11.2.5.2 Analyse des cyanotoxines

#### ■ Méthodes analytiques

*Pour cette partie, 54 questionnaires ont été exploités.*

La méthode CLHP-SM/SM est la méthode analytique utilisée dans 32 départements, parfois associée à la méthode ELISA dans sept départements. La méthode ELISA seule est utilisée dans douze départements. Dans un département, les analyses sont réalisées en CLHP-UV. La méthode d'analyse utilisée pour la recherche des cyanotoxines n'est pas renseignée dans trois questionnaires (figure 54).

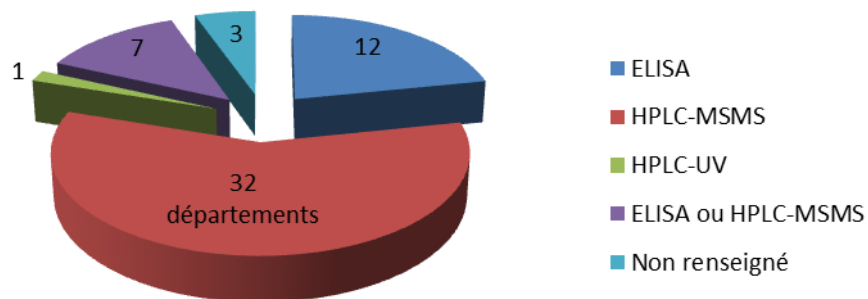
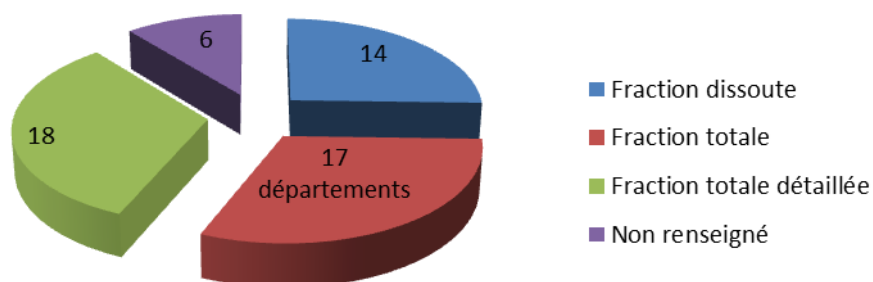


Figure 54 : méthodes d'analyse des cyanotoxines (eaux de baignade)

#### ■ Matrices analysées

Pour cette partie, 54 questionnaires ont été exploités.

Les résultats d'analyses sont généralement exprimés sur la fraction totale de l'échantillon d'eau prélevé, sans que soit détaillée la répartition des toxines entre fraction intracellulaire et fraction extracellulaire (17 départements) sauf pour (18 départements). Les résultats sont exprimés uniquement sur la fraction extracellulaire dans 14 départements (figure 55).

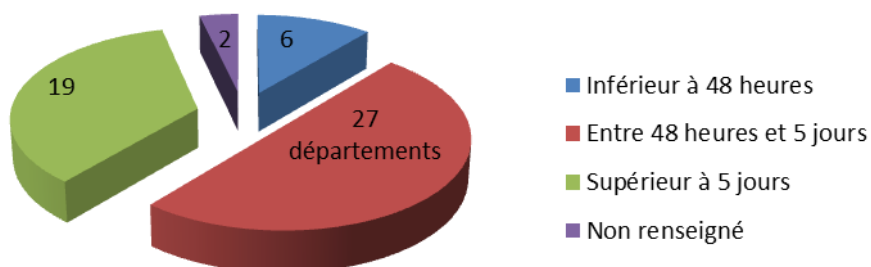


**Figure 55 : expression du résultat des analyses de cyanotoxines (eaux de baignade)**

#### ■ Délais de transmission des résultats

Pour cette partie, 59 questionnaires ont été exploités.

Les résultats d'analyse des cyanotoxines sont transmis en 2 à 5 jours par les laboratoires dans la moitié des départements. La transmission est plus rapide dans 6 départements et plus longue dans 19, pénalisant alors la mise en œuvre des mesures de gestion sanitaire par l'ARS (figure 56).



**Figure 56 : délais de transmission des analyses de cyanotoxines (eaux de baignade)**

### 11.2.6 Bancarisation des données

La proportion de bancarisation des principaux paramètres liés au contrôle sanitaire des cyanobactéries et cyanotoxines est importante pour le dénombrement de cyanobactéries totales (CYANOBA) et très correcte pour le dénombrement des cyanobactéries toxigènes (CYANTOX), l'identification taxonomique (CYANO 01 à 52) et les toxines. En revanche, on constate une faible bancarisation des données concernant les indicateurs liés aux colonies de cyanobactéries (CYANOB2 et CYANOB1). Enfin, la majorité des réponses au questionnaire ne permettent pas de déterminer si les paramètres de terrain étaient également bancarisés (tableau XXXVIII).

**Tableau XXXVIII : bancarisation des principaux paramètres de surveillance (eaux de baignade)**

Indicateur	Dénombrement des cyanobactéries totales	Dénombrement des cyanobactéries toxigènes	Genre	Toxines	Paramètres terrain
<b>NR</b>	15	11	8	13	46
<b>Bancarisé</b>	39	30	29	31	4
<b>Non bancarisé</b>	5	18	22	15	9
<b>% bancarisation</b>	<b>89 %</b>	<b>63 %</b>	<b>57 %</b>	<b>67 %</b>	<b>31 %</b>

La période à laquelle la bancarisation a débuté varie selon les paramètres.

Les résultats des dénombrements de cyanobactéries totales (CYANOBA) ont été très rapidement bancarisés dans SISE-Baignades, de sorte qu'à la création des ARS en 2010, près de deux-tiers des DT renseignaient déjà ce paramètre. Ceci peut s'expliquer par le fait que dès 2005, dans son instruction annuelle, la DGS indiquait aux DDASS de bancariser ce paramètre dans la base de données SISE-Baignades.

À l'inverse, la bancarisation des autres paramètres s'est faite de façon beaucoup plus progressive :

- Particulièrement à partir de 2014 pour le paramètre CYANTOX, certainement en lien avec l'instruction DGS annuelle annonçant des modalités de gestion prenant pour la première fois en compte le caractère toxigène des espèces ;
- Essentiellement à partir de 2010 pour les paramètres genre et toxines (même si cela est plus lissé pour ce dernier paramètre).

En 2017, les données du contrôle sanitaire ne sont pas bancarisées dans la base de données SISE-Baignades dans trois départements (figure 57).

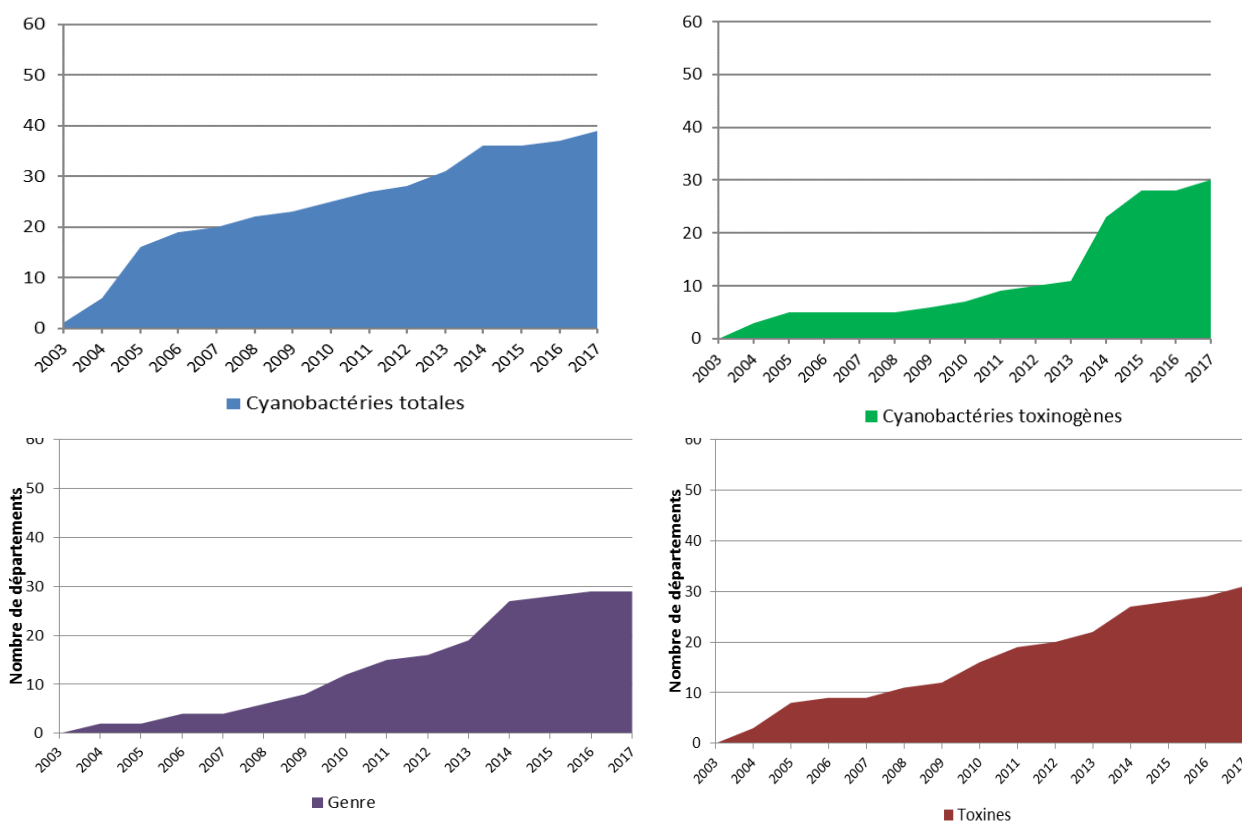


Figure 57 : bancarisation des paramètres de suivi des cyanobactéries (eaux de baignade)

## 11.2.7 Gestion sanitaire

### 11.2.7.1 Existence d'un protocole régional

Un protocole définissant les consignes de gestion sanitaire des épisodes de proliférations de cyanobactéries a été élaboré dans cinq régions ou anciennes régions (ce qui représente 31 départements).

### 11.2.7.2 Gestion des usages

Les consignes de gestion entre les départements se distinguent notamment par le fait que 13 DT-ARS n'établissent pas de mesures particulières vis-à-vis de la pratique de la pêche de loisir. Pour cette pratique, les modalités de gestion n'ont pas été renseignées dans 21 questionnaires (figure 58).

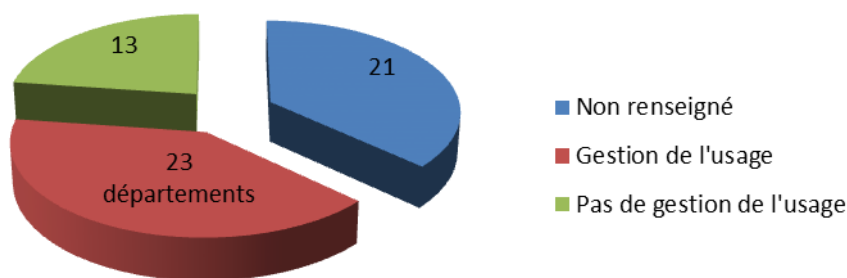


Figure 58 : principes de gestion sanitaire de l'usage pêche sur les sites de baignade surveillés

### 11.2.7.3 Typologie des protocoles de gestion sanitaire

Les protocoles de gestion n'ont pas été indiqués ou l'ont été de façon imprécise dans dix questionnaires. Ainsi, sur les 68 questionnaires réceptionnés, seuls 47 ont finalement pu être exploités pour cette question.

À la lecture des réponses, six types de protocoles de gestion appliqués dans les départements ou régions ont été identifiés. Ils sont résumés dans le tableau XXXIX.

Tableau XXXIX : protocoles de gestion sanitaire adoptés par les ARS (eaux de baignade)

Type de protocole	Principes de gestion	Particularités adoptées selon les régions/départements
<b>Protocole ①</b> (recommandations ANSES 2006 ± adaptées) (17 départements)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interdiction baignade si &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup>, écumes, mousses, mortalités animales</li> <li>• Interdiction des activités nautiques : si <math>\Sigma</math> MC &gt; 13 µg/L</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recherche toxines uniquement si dénombrements &gt; 100 000 cellules flore totale</li> <li>• Prise en compte de la valeur sanitaire ANTX-a</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Application exclusive des recommandations ANSES</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de recommandation sur la consommation de poissons</li> <li>• Pas de prise en compte de la valeur sanitaire ANTX-a</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Levée d'interdiction consommation poissons : 6 à 8 semaines après retour à la normale</li> <li>• Usages baignade/AN : levée d'interdiction si 2 résultats consécutifs à J+3 OK</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recherche toxines uniquement si dénombrements &gt; 100 000 cellules flore toxique</li> <li>• Utilisation de tests terrain ELISA pour gérer l'interdiction de baignade</li> </ul>

Type de protocole	Principes de gestion	Particularités adoptées selon les régions/départements
<p align="center"><b>Protocole ②</b> (application stricte de l'instruction DGS 2014) <b>(7 départements)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interdiction baignade si le dénombrement des cyanobactéries toxigènes &gt; 50 000 cellules.mL<sup>-1</sup> ou <math>\Sigma</math> MC &gt; 13 µg.L<sup>-1</sup> ou écumes/mousses</li> <li>• Recommandation de non pratique baignade si dénombrement des cyanobactéries &gt;100 000.mL<sup>-1</sup> et dénombrement des cyanobactéries toxigènes &lt; 20 000 cellules.mL<sup>-1</sup></li> <li>• Interdiction AN si <math>\Sigma</math> MC &gt; 13 µg.L<sup>-1</sup> ou écumes/mousses</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de recommandation sur la consommation de poissons</li> </ul>
<p align="center"><b>Protocole ③</b> (application adaptée de l'instruction DGS 2014) <b>(8 départements)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dénombrement des cyanobactéries &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et dénombrement des cyanobactéries toxigènes &lt; 50 000 cellules.mL<sup>-1</sup> ou dénombrement des cyanobactéries &lt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et dénombrement des cyanobactéries toxigènes &gt; 50 000 cellules.mL<sup>-1</sup> : pas de gestion particulière</li> <li>• Si dénombrement des cyanobactéries &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et dénombrement des cyanobactéries toxigènes &gt; 50 000 cellules.mL<sup>-1</sup> : pas d'interdiction d'usages si toxines &lt; valeurs sanitaires ; interdiction de tous les usages si &gt; valeurs sanitaires</li> <li>• Si écumes/mousses ou mortalités animales : interdiction de tous les usages</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prise en compte d'une valeur sanitaire pour MC, STX, CYL et ANTX</li> </ul>
<p align="center"><b>Protocole ④</b> (instruction DGS 2003) <b>(1 département)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Si &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et &lt; 25 µg.L<sup>-1</sup> MC-LR : limitation (géographique) baignade</li> <li>• Si &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup> et &gt; 25 µg.L<sup>-1</sup> MC-LR : interdiction baignade et limitation AN à risque de chute</li> <li>• Si écumes/mousses : interdiction baignade et AN</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de recommandation sur la consommation de poissons</li> </ul>

Type de protocole	Principes de gestion	Particularités adoptées selon les régions/départements
<p><b>Protocole ⑤</b> (protocole spécifique, basé sur la seule surveillance des toxines) <b>(6 départements)</b></p>	<p>Gestion sanitaire uniquement sur la base du résultat des MC :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- si <math>\Sigma</math> MC &lt; 13 <math>\mu\text{g.L}^{-1}</math> : aucune restriction d'usage</li> <li>- si <math>\Sigma</math> MC &gt; 13 <math>\mu\text{g.L}^{-1}</math> : interdiction baignade/AN et consommation « poissons » déconseillée</li> <li>- si écumes/mousses : interdiction baignade, consommation poissons déconseillée, interdiction ou limitation des activités nautiques selon étendue de l'efflorescence</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de prise en compte de la valeur sanitaire ANTX-a</li> </ul>
<p><b>Protocole ⑥</b> (protocole spécifique, basé sur la seule surveillance des dénombrements de cyanobactéries) <b>(8 départements)</b></p>	<p>Gestion sanitaire uniquement sur la base du résultat des dénombrements :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- si &gt; 100 000 cellules.mL<sup>-1</sup>, interdiction baignade ; pas de restriction des AN</li> <li>- si écumes/mousses, mortalités animales : interdiction baignade ; pas de restriction des activités nautiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de recommandation sur la consommation de poissons</li> </ul>

\* MC : microcystines ; AN : activités nautiques

#### 11.2.7.4 Signalements sanitaires

*Pour cette partie, 62 questionnaires ont été exploités.*

Parmi l'ensemble des questionnaires exploités, 47 DT-ARS ont déclaré n'avoir eu connaissance d'aucun signalement sanitaire pouvant être relié à un phénomène de prolifération de cyanobactéries. À l'inverse, des signalements sanitaires ont été rapportés dans dix départements, auxquels ont été ajoutés les cinq départements du Val de Loire, concernés par des épisodes de mortalités de chiens pendant l'été 2017. Sur les 15 signalements d'intoxications, 11 pourraient être liés aux cyanobactéries. Ils concernent tous des intoxications de chiens, ayant souvent conduit à la mort des animaux. Les quatre autres signalements ne sont pas suffisamment détaillés ou ont manqué d'investigations, pour établir un lien entre les intoxications et les phénomènes de proliférations de cyanobactéries.

Dans deux départements, des intoxications de chiens ont été signalées à plusieurs reprises.

#### 11.2.7.5 Difficultés de gestion sanitaire

*Pour cette partie, 60 questionnaires ont été exploités.*

Des difficultés de gestion ont été signalées, de manière plus ou moins précise et détaillée dans 34 départements.

Parmi les difficultés de gestion indiquées, les réponses ont convergé vers les mêmes interrogations ou commentaires (tableau XL).

Tableau XL : difficultés de gestion rapportées par les ARS (eaux de baignade)

Type de remarque	Nombre de remarques
<b>Incompréhension/difficultés d'application des mesures de gestion par les collectivités</b>	9
<b>Pertinence des indicateurs de surveillance</b> : remise en cause de l'indicateur dénombrement cellulaire / orientation vers un indicateur de type biomasse / orientation vers une gestion des risques exclusivement liée aux cyanotoxines	8
<b>Incompréhension du public : bonne qualité bactériologique et mauvaise qualité « algale »</b>	6
<b>Instabilité/difficultés d'application des instructions DGS</b>	4
<b>Manque de valeurs sanitaires de référence pour les cyanotoxines</b>	4
<b>Impact négatif des interdictions-restrictions d'usage en saison : fermeture définitive des sites</b>	4

D'autres difficultés ont été relevées, de façon plus isolée :

- coûts importants du contrôle sanitaire (trois départements) ;
- prise en compte du caractère toxigène (trois départements) ;
- mesures de gestion en situation de prolifération de cyanobactéries benthiques (deux départements) ;
- variabilité du résultat des dénombrements/identifications selon les laboratoires (deux départements) ;
- hétérogénéité d'application des instructions DGS au niveau d'un département ;
- délais analytiques liés aux cyanotoxines (un département) ;
- gestion de l'interdiction de consommation de poissons de pêche (un département).

### 11.2.8 Points à retenir

Un contrôle sanitaire des cyanobactéries/cyanotoxines dans les eaux de baignade est réalisé dans une majorité des départements ; alors qu'en 2017, la surveillance des zones de loisirs nautiques a été assurée dans très peu de départements (14 départements sur les 59 ayant répondu).

Les stratégies de surveillance adoptées sont hétérogènes, notamment pour la fréquence de surveillance, les protocoles de prélèvement et la liste des cyanotoxines recherchées (en lien avec les performances des laboratoires). Toutefois, la tendance est à une harmonisation progressive des modalités de surveillance, à l'échelle des nouvelles/anciennes régions administratives. Les toxines autres que les trois principaux variants de microcystines (LR/YR/RR) sont peu recherchées.

Les coûts du contrôle sanitaire peuvent être relativement élevés, dépendant notamment des méthodes d'analyses adoptées pour la recherche des toxines ainsi que du nombre de toxines recherchées. Dans plusieurs départements, les coûts liés à la réalisation des dénombrements cellulaires et l'identification taxonomique sont également élevés. Le coût du contrôle sanitaire est principalement supporté par les collectivités territoriales.



Lorsqu'elle existe, la surveillance réalisée par la personne responsable des eaux de baignade (PREB) se limite essentiellement à un contrôle visuel de l'environnement de baignade. Quelques départements expérimentent l'utilisation d'outils « terrain » d'analyse et d'évaluation rapide des risques. Ces outils sont complémentaires aux mesures et analyses prévues par la note d'information DGS/EA4/2015/181 du 2 juin 2015 relative aux échéances de la saison balnéaire 2015, aux modalités de prévention et de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries ou d'amibes, à l'information du public à proximité des sites de baignades et à la mise à disposition du manuel pour l'utilisation de l'application SISE-Eaux de baignade.

Il n'y a pas « d'harmonisation » nationale des techniques d'analyses adoptées pour la réalisation des dénombrements de cyanobactéries, leur identification taxonomique et l'analyse des cyanotoxines. Toutefois, pour l'analyse des toxines, l'outil CLHP/SM-SM tend à devenir la technique la plus utilisée.

Les délais de restitution des résultats du contrôle sanitaire aux ARS par les laboratoires sont très hétérogènes. Ils sont incompatibles avec les impératifs de gestion souhaités par les ARS (en particulier pour les résultats des toxines) dans un nombre élevé de départements (19 départements sur les 59 ayant répondu).

Les protocoles de prélèvements et les méthodes analytiques appliquées par les laboratoires sont méconnus par de nombreux départements (50 départements sur les 59 ayant répondu).

Les paramètres « CYANOBA », « CYANTOX » et « CYANO 01 à 52 » sont les mieux bancarisés dans la base de données SISE-Baignades mais les pratiques de bancarisation restent très variables selon les DT-ARS. Globalement, les séries de données bancarisées commencent à être conséquentes à partir de la période 2010-2012.

Les modalités de gestion sanitaire des résultats appliquées en France métropolitaine sont très variables. Des protocoles locaux, fondés principalement sur les recommandations de l'Agence en 2006 (17 départements) ou les instructions 2014 de la DGS (15 départements) ont été établis dans plusieurs régions avec toutefois une certaine liberté prise vis-à-vis des recommandations/instructions de référence.

Des protocoles de gestion indépendants ont été élaborés dans deux régions.

La gestion des pratiques « baignade » et « activités nautiques » sont prises en compte dans la plupart des protocoles. C'est beaucoup moins le cas pour la consommation de « poissons de pêche » pour laquelle plusieurs ARS (33 départements sur les 59 ayant répondu) ont fait le choix de s'abstenir de toute consigne sanitaire.

Les principales difficultés de gestion rapportées concernent les indicateurs de surveillance adoptés (dénombrement vs biomasse), la cohérence des modalités de gestion proposées par la DGS (vis-à-vis du risque toxique peu souvent mis en évidence) et l'impact de l'application des consignes actuelles sur la pérennité d'usage des sites de baignade.

Des interrogations locales peuvent ressortir comme la gestion à adopter en situation de prolifération de cyanobactéries benthiques. La majorité des ARS a fait état de difficultés de gestion au regard des consignes de la DGS : incompréhension / difficultés d'application des mesures de gestion, pertinence des indicateurs de surveillance, instabilité / difficultés d'application des instructions DGS, manque de valeurs sanitaires de référence pour les cyanotoxines, impact négatif des interdictions – restrictions d'usage en saison.

Globalement, au regard du contrôle sanitaire mis en œuvre pour les cyanobactéries, peu d'événements d'intoxications ont été mentionnés dans les questionnaires. Les signalements sanitaires rapportés concernent principalement des intoxications de chiens par des cyanobactéries benthiques.

## 12 Exploitation des bases de données nationales

### 12.1 Analyse des données utilisées

#### 12.1.1 Origine des données

Les résultats d'analyse en laboratoire du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de baignade alimentent respectivement la base nationale Sise-Eaux (système d'information en santé environnement) et la base SISE-Baignades. Ces deux bases constituent l'outil national de gestion du suivi de la qualité des EDCH et des eaux de baignade déployé par les services Santé-Environnement des Agences régionales de santé (ARS).

Ces deux bases fournissent des informations concernant :

- La localisation géographique et temporelle des prélèvements d'eau : un code unique correspondant au département, à la commune et au nom du site ainsi que la date du prélèvement.
- La nature du lieu de prélèvement : site de baignade artificielle, de baignade ou de loisirs nautiques dans le cas de la base SISE-Baignades ; eau de captage, eau de mélange de captage ou eau après traitement dans le cas de Sise-Eaux.
- Le motif du prélèvement.
- Le genre ou l'espèce de cyanobactéries<sup>50</sup> et/ou les toxines observés.
- Les résultats de dénombrement des cellules de cyanobactéries.
- Les résultats de dosage des toxines<sup>51</sup> : anatoxines A, desméthyl microcystine LR (DMCLR), desméthyl microcystine RR (DMCRR), microcystine LA (MCLA), microcystine LF (MCLF), microcystine LR (MCLR), microcystine LW (MCLW), microcystine LY (MCLY), microcystine RR (MCRR), microcystine YR (MCYR) et saxitoxines.

Les conditions de la requête réalisée pour les deux bases de données sont résumées en annexe 7.

La période étudiée pour le présent rapport s'étend de 2010 à 2017. L'analyse des résultats de ces deux bases ne s'est pas limitée aux périodes dites à risques (juin à septembre) mais a porté sur l'ensemble des résultats annuels. Plus de 80 000 résultats ont pu être extraits de la base Sise-Eaux et près de 160 000 pour la base SISE-Baignades. L'exploitation statistique de ces deux bases a été réalisée en différenciant la typologie des sites de prélèvement. L'exploitation présentée dans ce rapport a été réalisée en séparant les résultats d'analyses effectuées en sortie de station de traitement de ceux issues des eaux de captage et mélanges de captage pour la base Sise-Eaux. Le système hydraulique des baignades artificielles peut être un paramètre favorisant le développement des cyanobactéries. Il a ainsi été décidé de séparer les résultats des analyses effectuées au niveau des

---

<sup>50</sup> L'identification des cyanobactéries dans les données recueillies dans la base s'arrête généralement au niveau du genre. C'est à ce niveau de classification que les analyses statistiques ont été effectuées.

<sup>51</sup> Les données sur les toxines représentent un résultat équivalent aux toxines libres intra et/ou extracellulaires aussi appelées dissoutes et particulaires.

sites de baignade artificielles de ceux issus des sites de baignade réglementées et des sites de loisirs nautiques pour les données issues de la base SISE-Baignades.

### 12.1.2 Choix des composantes principales

Une extraction des données a été réalisée sur les deux bases afin d'avoir une vision nationale de la contamination des masses d'eau par les cyanobactéries. Les données traitées dans ce rapport comprennent :

- Le nombre de prélèvements réalisés par département ;
- Le nombre de résultats issus des prélèvements ;
- Le dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries, paramètre nommé CYANOBA dans les bases de données ;
- Le dénombrement des cyanobactéries toxigènes, paramètre nommé CYANTOX dans les bases de données ;
- Les concentrations en cyanotoxines dans les différents types d'eaux (microcystines, anatoxines-a, saxitoxines et cylindrospermopsine).

## 12.2 Représentation graphique des données

Les résultats des différents traitements statistiques sont représentés sous forme de cartographie. Les cartes représentent principalement les départements métropolitains en raison de l'absence de données dans les départements et les collectivités d'Outre-Mer (DROM COM). Quelques données provenant de la Réunion complètent certaines cartes relatives aux eaux de baignades. Il est également à noter une absence totale d'information pour de nombreux départements métropolitains.

Les résultats d'analyses extraits des base Sise Eaux sont représentés sous forme de pourcentage de résultat de dénombrement de cyanobactéries compris entre les différents seuils d'actions réglementaires actuels : i) pour l'EDCH, trois types de cartes ont été créées en fonction des seuils à savoir 5 000, 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> ; ii) les cartes pour les eaux récréatives sont basées sur les seuils d'action de 20 000 et 100 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Un dégradé de rouge a été utilisé pour symboliser le pourcentage de résultat de dénombrement de cyanobactéries, toxigènes ou non, pour chaque intervalle de seuil d'action retenu. Les résultats sont exprimés en nombre de cellules par millilitre. Des pointillés dans un département indiquent que l'ensemble des prélèvements effectués pendant la période 2010-2017 conduisent à des résultats d'analyses « négatifs » (absence de cyanobactéries). Les départements en blanc correspondent aux territoires pour lesquels aucune donnée n'est dispensée dans les bases Sise-Eaux.

Sur les cartes, dans chaque département ayant des résultats figurent deux chiffres. Le chiffre du haut indique le nombre de points de prélèvement recensés dans la base pour la période étudiée tandis que le chiffre du bas en **italique gras** correspond au nombre de résultats d'analyses générés. Ces deux données peuvent être différentes : un même point de prélèvement peut correspondre à plusieurs résultats analytiques.

Exemple d'un cas fictif : le prélèvement n°1 a donné des résultats pour des cyanobactéries A, B, C et D ; les résultats du dénombrement de cyanobactérie A et B sont entre 5 000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> alors que ceux des cyanobactéries C et D sont entre 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup>. Le prélèvement n°1 se voit donc attribuer plusieurs résultats, pour le même échantillon.

## 12.3 Limites de l'exploitation des données extraites

Lors de l'exploitation de ces deux bases de données, différentes difficultés ont été rencontrées car les données sont non homogènes sur l'ensemble du territoire. Par exemple, les informations ne sont pas toutes disponibles pour chaque prélèvement ou elles sont définies de manière différente d'un rapport d'analyse à l'autre. Les principales difficultés rencontrées lors de l'exploitation des bases de données sont listées ci-après.

### Problème de codification de la commune (code INSEE)

Des données en doublons ont été constatées, comme par exemple pour deux analyses provenant d'un même point de surveillance situé sur deux communes proches. Dans certains cas, un code INSEE unique est attribué à deux communes distinctes. Enfin, certains résultats reflètent une incohérence entre le code INSEE de la commune et le nom de la commune elle-même et/ou le site de prélèvement. Ces données surnuméraires et/ou erronées ont été supprimées.

### Méthodes analytiques et performances

Les laboratoires d'analyses peuvent mettre en œuvre des méthodes d'analyses différentes notamment s'agissant du traitement de l'échantillon. Par ailleurs, sur la période d'exploitation des données sélectionnées (2010-2017), les méthodes analytiques ont pu évoluer aboutissant à des limites de quantification et/ou détection différentes d'une année à l'autre. Cela constitue une limite à l'exploitation des données en termes de comparaison des résultats et l'impossibilité de comparer les départements entre eux.

Des actions correctives ont été nécessaires pour pouvoir utiliser les données et les interpréter. Elles sont présentées ci-après.

### 12.3.1 Quantifications des cyanobactéries

Les analyses ont été effectuées en associant les résultats des cyanobactéries produisant le même type de toxines. Certains résultats de quantification se sont révélés aberrants ou non utilisables (e.g « / », « ND », « NM », « <SEUIL ») et ont été supprimés. Les données de quantification de cyanobactéries inférieures ou égales à une valeur et exprimées en cell.mL<sup>-1</sup> ou col.mL<sup>-1</sup> ont également été supprimées. Les valeurs « 0 cel/mL » ont quant à elle étaient conservées même s'il n'est pas possible de savoir si ce chiffre correspond à une concentration de cyanobactéries non observée et donc non comptée, ou non comptée mais observée dans l'échantillon en dehors du protocole de comptage.

### 12.3.2 Spécificités des analyses de cyanotoxines

Dans les deux bases de données, 96 % des données brutes relatives aux cyanotoxines ne sont pas utilisables. Cela pose un problème non négligeable de représentativité. Des modifications dans le traitement des données ont dû être effectuées en raison des problèmes suivants :

#### Nombre de variants analysés

L'exploitation des données relatives aux cyanotoxines a mis en évidence une grande hétérogénéité dans le nombre de variants de chaque toxine analysée : par exemple de un à onze variants peuvent être analysés pour les microcystines en fonction des départements, des méthodes d'analyses retenues ainsi que du type de toxine analysée (toxine intra ou extracellulaire, toxine totale). Une comparaison des résultats apparaît difficile.

### Méthodes d'analyses mises en œuvre

Les résultats d'analyses obtenus par la méthode immuno-enzymatique ELISA ont été écartés car le test ne permet pas de qualifier les différents variants de toxines retrouvés dans les échantillons et limitent donc les comparaisons avec les résultats obtenus par chromatographie liquide.

### Valeurs inférieures à un seuil

Plus de 60 % des résultats des analyses de toxines ne sont pas quantifiées et sont des données censurées<sup>52</sup> inférieures à un seuil de quantification, donc difficilement exploitables. En outre, ces seuils ne peuvent pas être associés avec certitude aux limites analytiques de quantification, cette information n'étant pas communiquée dans les bases de données.

### Valeurs aberrantes

Parallèlement, et comme pour le dénombrement des cyanobactéries, certains résultats de dosage se sont révélés aberrants. Ils peuvent atteindre des valeurs très élevées difficilement comparables aux concentrations retrouvées généralement dans les eaux, quelle que soit la cyanotoxine sélectionnée (dosages supérieurs à 27 µg.L<sup>-1</sup> pour la microcystine totale dans les EDCH).

### Fraction(s) de l'échantillon soumise(s) à l'analyse

Dans les deux bases, les résultats des analyses des cyanotoxines, pour une même toxine, peuvent être présents pour la phase dissoute, pour la biomasse et/ou pour le total analysé (dissout + biomasse). Après vérification, il a été constaté que la somme de la phase dissoute et de la biomasse ne correspondait pas au résultat indiqué pour le total. Lorsque les données pour la phase dissoute et la biomasse étaient présentes, un total a été calculé à partir de ces deux paramètres. Dans le cas contraire, le résultat indiqué pour le total a été conservé.

Afin d'exploiter ce paramètre, les résultats ont été exprimés dans un intervalle de concentration avec une borne basse (Lower Bound) et une borne haute (Upper bound). Ces intervalles obéissent aux règles suivantes :

- Si la biomasse et la phase dissoute sont inférieures à un seuil, le total est correspond à un intervalle [0 ; somme des seuils] µg.L<sup>-1</sup>. Par exemple, MC-LR dissoute a pour résultat « <0,4 µg.L<sup>-1</sup> » et MC-LR biomasse « <0,2 µg.L<sup>-1</sup> », le total sera donc [0 ; 0,6] µg.L<sup>-1</sup>.
- Si la biomasse et la phase dissoute sont quantifiées, le total est alors [somme des résultats quantifiés ; somme des résultats quantifiés] afin de comparer des intervalles. Ex: MCYR dissoute a pour résultat « 0,42 µg.L<sup>-1</sup> » et MCYR biomasse « 0,37 µg.L<sup>-1</sup> » alors le total sera [0,79 ; 0,79] µg.L<sup>-1</sup>.
- Si l'un des composants est censuré et l'autre non, le total sera alors [résultat quantifié ; résultat quantifié + seuil] µg.L<sup>-1</sup>.  
Ex: MCRR biomasse a pour résultat « <0,4 µg.L<sup>-1</sup> » et MCRR dissoute « 0,25 µg.L<sup>-1</sup> » alors le total sera [0,25 ; 0,65] µg.L<sup>-1</sup>.
- Dans les cas où seul le total est disponible et donc le recalcul est impossible, les résultats ont également été recodés sous forme d'intervalle. Lorsque le résultat était quantifié, le total est [résultat quantifié ; résultat quantifié] µg.L<sup>-1</sup> et lorsqu'il était censuré, le total est [ 0 ; seuil ] µg.L<sup>-1</sup>.

Malgré ces actions correctives, les résultats obtenus ne semblent pas robustes ni complètement représentatifs de la situation en France. Au vu de la très faible quantité de résultats concernant les cyanotoxines et du manque d'homogénéité quant à leur quantification, les experts ont décidé de ne

---

<sup>52</sup> Voir glossaire

retenir que les données de concentration en microcystines et de les utiliser avec prudence pour déterminer les seuils de biovolumes.

## 12.4 Représentation graphique du dénombrement des cyanobactéries

Cette partie traite les données relatives au dénombrement des cellules de cyanobactéries, toxigènes ou non.

### 12.4.1 Contamination des eaux destinées à la consommation humaine

En France, en 2012, deux tiers des ressources en eau pour la production d'eau potable provenaient d'eau souterraine. Ces eaux ne sont pas concernées par la problématique des cyanobactéries, ce qui peut expliquer l'absence de résultats de dénombrement de cyanobactéries dans certains départements (ONEMA, 2016)

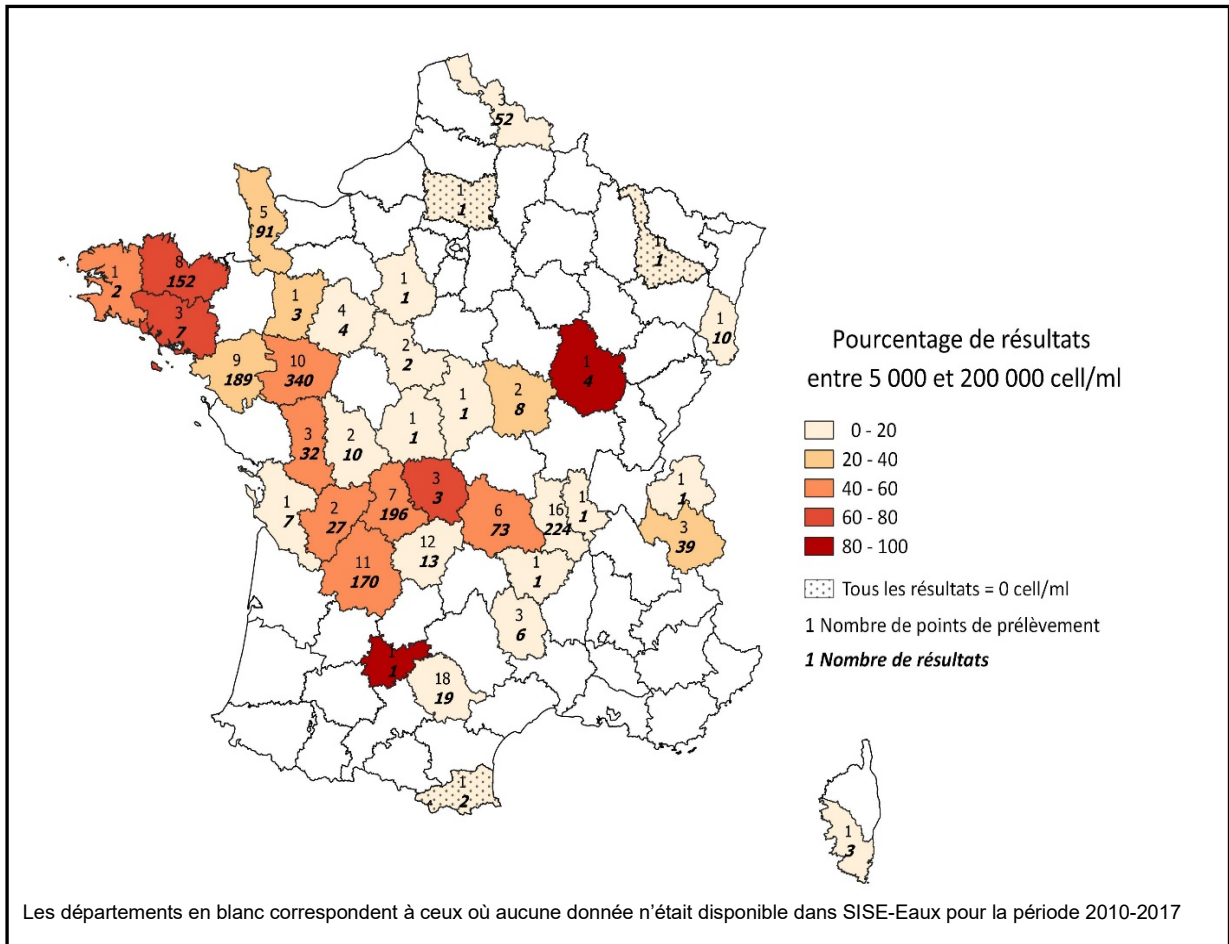
Pour ce descriptif, les analyses des eaux de captage et de mélange de captages sont traitées ensemble, indépendamment des eaux de stations de traitement.

#### 12.4.1.1 Eaux de captage

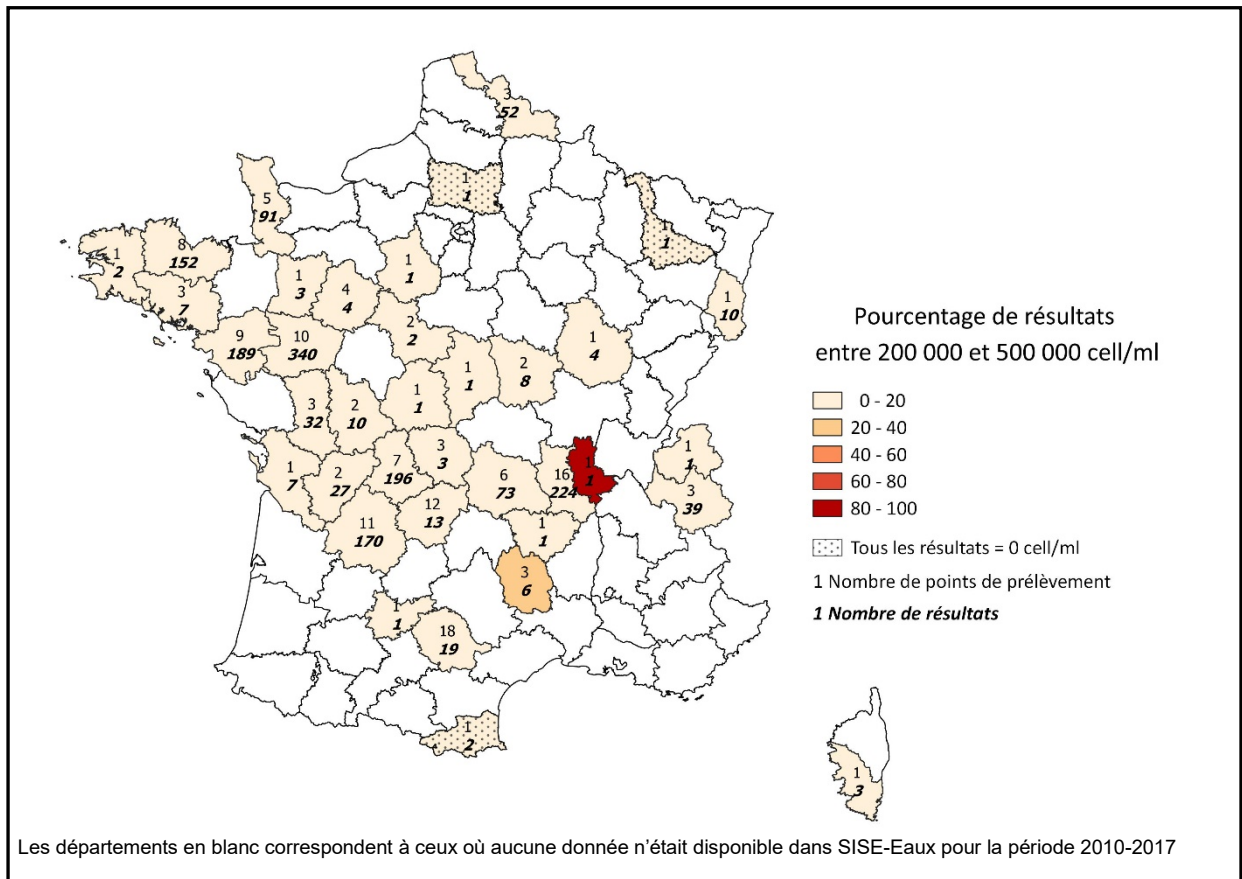
Les données concernant le dénombrement des cyanobactéries sur les sites utilisés pour produire l'EDCH ont été représentées en prenant en compte les seuils de surveillance proposés par l'Agence dans son précédent rapport : 5 000 cell.mL<sup>-1</sup>, 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup>. Les différentes cartes présentées par la suite représentent le pourcentage de résultats compris entre 5 000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup>, entre 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> et enfin supérieur à 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> pour chaque département disposant de résultats. Les cartes ci-dessous illustrent les résultats des dénombrements de cyanobactéries totales (paramètre CYANOBA) ou toxigènes (paramètre CYANTOX).

##### 12.4.1.1.1 *Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries*

Les trois représentations ci-dessous (figure 59 à 61) illustrent l'ensemble des résultats du contrôle sanitaire qui ont permis de dénombrer des cellules de cyanobactéries (paramètre CYANOBA de la base Sise-Eaux) retrouvés dans les eaux des captages.

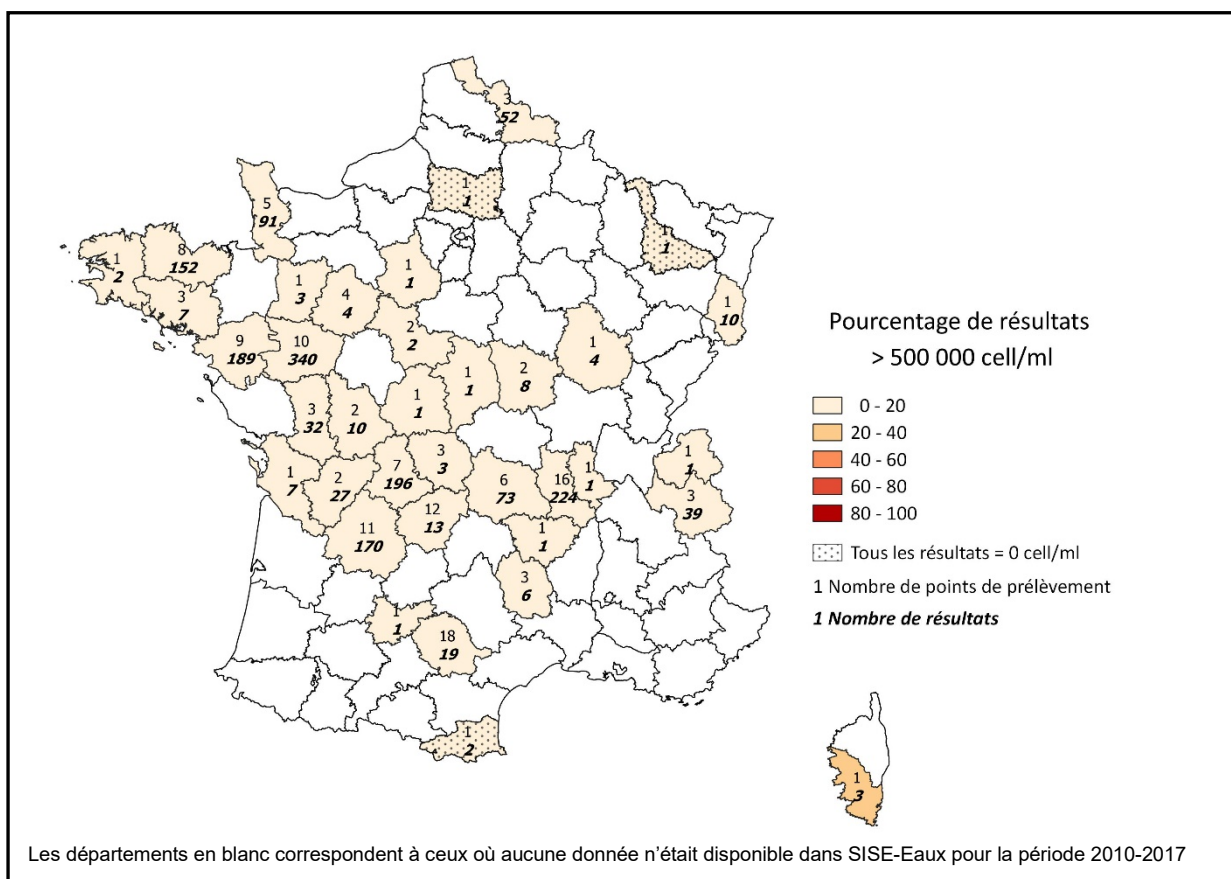


**Figure 59 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 5000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> - France métropolitaine- Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017**



**Figure 60 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> - France métropolitaine - Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017**





**Figure 61 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieurs à 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> - France métropolitaine - Eaux des captages utilisés pour produire de l'EDCH - 2010 à 2017**

À la lecture de ces trois cartes, il apparaît délicat de définir précisément les départements les plus touchés par les proliférations de cyanobactéries. Néanmoins, quatre régions semblent particulièrement concernées par cette problématique, avec un suivi sanitaire mis en place, important, à savoir la Bretagne, le Sud-Ouest de la région Centre, l'Ouest de l'Auvergne-Rhône-Alpes et le Nord de la Nouvelle-Aquitaine. Il est cependant à noter que les dénombrements des cyanobactéries y sont généralement inférieurs au seuil des 200 000 cell.mL<sup>-1</sup>, seuil à partir duquel la recherche de cyanotoxines et le dosage de microcystine deviennent bihebdomadaires.

L'exploitation de la base SISE-Eaux a permis de lister les genres de cyanobactéries retrouvés lors des efflorescences dans les eaux de captages. Le tableau XLI recense ces différents genres. Il donne pour chacun d'eux : le nombre de sites sur lequel il a été rencontré, le pourcentage de résultats de dénombrements positifs sur l'ensemble des prélèvements, la valeur maximale de dénombrement et la médiane des abondances.

**Tableau XLI : liste des genres de cyanobactéries identifiés dans les eaux de captages en France de 2010 à 2017 classés des plus fréquents aux moins fréquents (sur 1171 prélèvements)**

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvements où le genre a été recherché	% de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsines	Saxitoxines				
<i>Planktothrix</i> sp.	■				77	28,3	1 300 000	2 000
<i>Microcystis</i> sp.	■				80	28,2	3 542 857	2 307
<i>Aphanocapsa</i> sp.	■				82	25,6	489 370	1 902
<i>Woronichinia</i> sp.	■				80	25,4	662 857	2 229
<i>Pseudanabaena</i> sp.	■	■			82	23,2	443847	234
<i>Anabaena</i> sp.	■	■	■	■	83	23	400 000	431
<i>Aphanizomenon</i> sp.		■	■	■	81	22,1	1 600 000	1 500
<i>Merismopedia</i> sp.	■				83	16,7	280 000	1 110
<i>Oscillatoria</i> sp.	■	■	■		72	13,2	500 000	191
<i>Coelomoron</i> sp.					79	12,2	281 867	408
<i>Aphanothece</i> sp.					79	11,9	151 200	2 000
<i>Phormidium</i> sp.	■	■	■		63	10,8	977 340	3 400
<i>Limnothrix</i> sp.	■				76	9,1	1 096 000	432
<i>Planktolyngbya</i> sp.					66	6,4	640 000	1 598
<i>Chroococcus</i> sp.					70	5,9	15 040	26
<i>Synechococcus</i> sp.					67	5,4	62 172	1 500
<i>Coelosphaerium</i> sp.					72	4,1	58 000	930
<i>Snowella</i> sp.					68	3,8	81 520	1 930
<i>Synechocystis</i> sp.					37	2,8	322 164	2 600
<i>Cyanodictyon</i>					41	2,6	1 058 400	6 002
<i>Lemmermanniella</i> sp.					65	2,2	23 200	1 150
<i>Gomphospheria</i> sp.					61	1,2	44 800	694
<i>Romeria</i> sp.					42	1,2	116 054	4 384
<i>Lyngbya</i> sp.			■	■	62	1	4 000	470
<i>Rhabdoderma</i> sp.					58	1	12 836	975
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.			■	■	61	0,6	7 900	940
<i>Cyanocadena</i> sp.					36	0,4	9 043	2 638
<i>Leptolyngbya</i>	■				38	0,4	9 420	540
<i>Symploca</i> sp.					45	0,3	296 532	293 692
<i>Anabaenopsis</i> sp.	■				58	0,2	21	12
<i>Homéothrix</i> sp.					47	0,2	300	160
<i>Radiocystis</i> sp.	■				42	0,2	160	86

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvements où le genre a été recherché	% de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsines	Saxitoxines				
<i>Rhaphidiopsis</i> sp.					53	0,2	1 130	904
<i>Trichodesmium</i> sp.					45	0,1	240	240
<i>Calothrix</i> sp.					54	0	0	
<i>Cylindrospermum</i> sp.					45	0	0	
<i>Fischerella</i> sp.					45	0	0	
<i>Gloeotrichia</i> sp.					45	0	0	
<i>Hapalosiphon</i> sp.					45	0	0	
<i>Microcoleus</i> sp.					45	0	0	
<i>Nostoc</i> sp.					53	0	0	
<i>Schizothrix</i> sp.					45	0	0	
<i>Scytonema</i> p.					45	0	0	
<i>Spirulina</i>					45	0	0	
<i>Umezakia</i>					45	0	0	

Les calculs montrent une médiane se situant entre 12 cell.mL<sup>-1</sup> et 6 002 cell.mL<sup>-1</sup> pour l'ensemble des genres. L'analyse indique que les genres les plus fréquents sont *Planktothrix* et *Microcystis* avec plus de 28 % d'occurrence sur respectivement 77 et 80 sites différents. Les dénombrements maximum atteints pour ces genres sont de 1 300 000 et 3 542 857 cell.mL<sup>-1</sup> avec une médiane à 2 000 et 2 307 cell.mL<sup>-1</sup>. Ils sont alors aussi les plus abondants. *Anabaena* et *Merismopedia* sont les deux genres retrouvés dans les eaux de captages sur le plus grand nombre de sites (83 sites de prélèvements). Les nombres de cellules maximaux pour ces deux genres sont respectivement de 400 000 et 280 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

#### 12.4.1.1.2 Dénombrement des cyanobactéries toxigènes

Les genres caractérisés actuellement dans les bases de données comme toxigènes sont issus de la liste établie par l'Agence en 2006 (Anses, 2006) et ne correspondent pas intégralement à la liste établie en début de ce rapport.

De façon générale, les dénombrements des cyanobactéries toxigènes se situent entre 5 000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> ce qui est comparable à ce qui avait été observé pour les dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries (figure 59). Les régions où les eaux des captages sont les plus contaminées par des cyanobactéries toxigènes correspondent aux zones où sont principalement retrouvées les proliférations de cyanobactéries totales (figure 59), à l'exception de la Bretagne (absence de données). Seul le département du Rhône présente un captage avec plus de 80 % de ses résultats compris entre 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Sur l'ensemble des 356 résultats de cyanobactéries toxigènes présents dans SISE-Eaux concernant les eaux de captage, près de 56 % avaient un résultat positif avec un maximum atteignant 886 400 cell/mL et une médiane très basse à 24 cell.mL<sup>-1</sup> (tableau XLII).

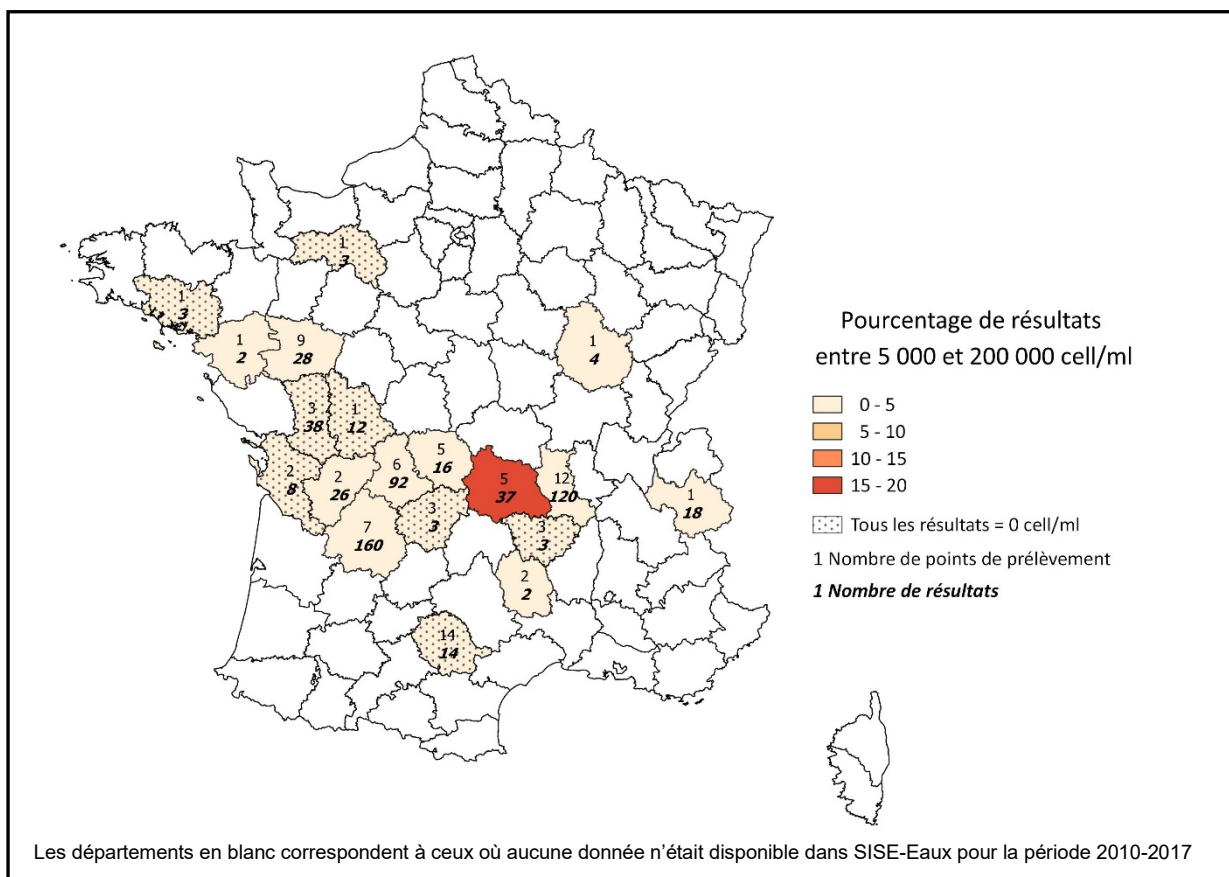
**Tableau XLII : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL<sup>-1</sup>, nombre de points de prélèvement et médiane des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries toxigènes dans les eaux de captage de 2010 à 2017**

Paramètre	Nombre de résultats	Pourcentage de résultats >0 cell.mL <sup>-1</sup>	Nombre de points de prélèvement	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane (cell.mL <sup>-1</sup> )
Cyanobactéries toxigènes	356	55,6	69	886 400	24

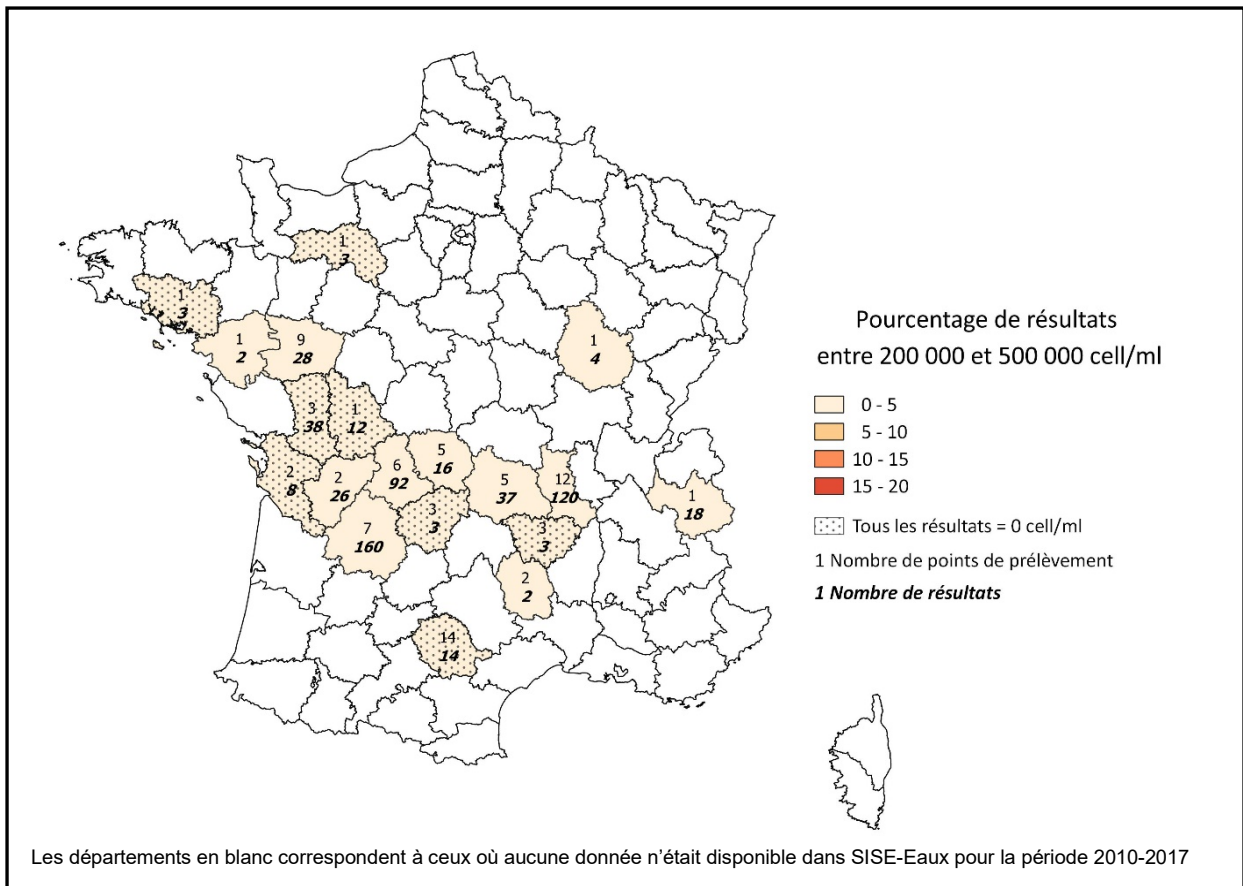
### 12.4.1.2 Eaux destinées à la consommation humaine

#### 12.4.1.2.1 *Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries*

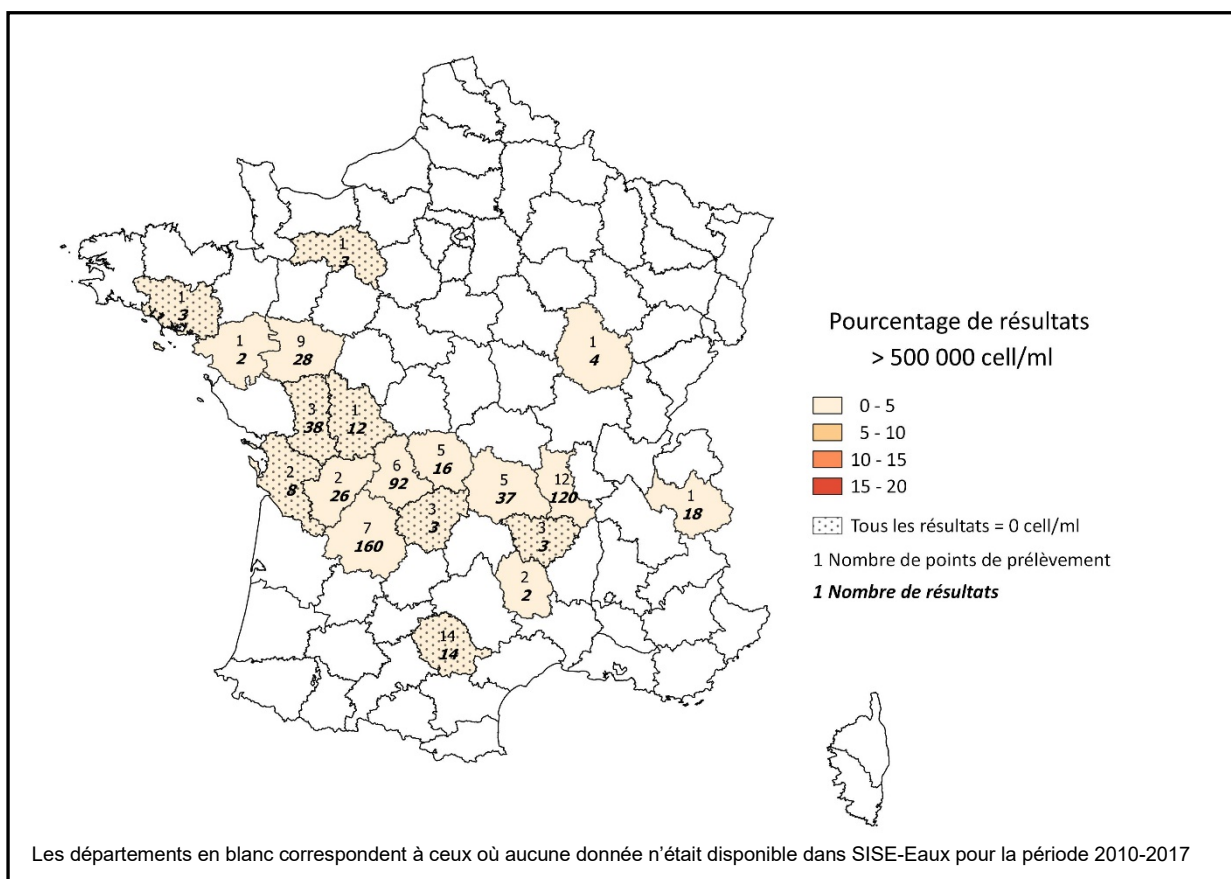
La même démarche que précédemment a été utilisée pour exploiter les résultats relatifs au dénombrement des cyanobactéries dans les eaux destinées à la consommation humaine. Les données concernant le dénombrement des cyanobactéries en sortie de station de potabilisation ont été représentées en prenant en compte les mêmes seuils que ceux des eaux de captage. Les différentes cartes (figures 62 à 64) représentent le pourcentage de résultats compris entre 5 000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup>, entre 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> et supérieur à 500 000 cell.mL<sup>-1</sup>. Ces cartes illustrent l'ensemble des genres de cyanobactéries (paramètre CYANOBA) détectées et quantifiées de 2010 à 2017.



**Figure 62 : représentation cartographique du pourcentage de résultats des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 5 000 et 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017**



**Figure 63 : représentation cartographique du pourcentage de résultats des dénombrements de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 200 000 et 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017**



**Figure 64 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieures à 500 000 cell.mL<sup>-1</sup> - Eaux destinées à la consommation humaine - France métropolitaine - 2010 à 2017**

Comme précédemment on constate que les résultats se situent majoritairement en dessous du seuil des 5000 cell.mL<sup>-1</sup>. Il faut surtout noter que huit départements ne présentent jamais de cyanobactéries dans leurs eaux traitées et que les pourcentages de résultats d'analyses « positifs » sont très faibles. Sur la période considérée, le département du Puy-de-Dôme est le département où le seuil des 500 000 cell/mL a été dépassé à plusieurs reprises. Entre 15 et 20 % des 37 dénombrements réalisés se situent entre 5 000 à 200 000 cell.mL<sup>-1</sup> et seulement entre 2 et 3 % sont supérieurs à 500 000 cell.mL<sup>-1</sup>. Pour rappel lorsque ce seuil est dépassé en eau brute, une ressource de substitution doit être utilisée.

Au regard de l'absence de lien entre le prélèvement réalisé dans la ressource et celui réalisé en sortie d'usine de traitement, l'analyse statistique de la base SISE-Eaux ne permet pas d'évaluer l'efficacité du traitement sur l'élimination des cyanobactéries et de leurs toxines. Toutefois, en comparant les dénombrements de cyanobactéries totales issus des eaux de captages avec ceux des eaux après traitement, une baisse importante du nombre d'échantillons contaminés ainsi que les seuils retrouvés mettent en évidence que des actions ont été mises en place au niveau des filières de traitement pour éliminer les cyanobactéries notamment dans les zones particulièrement concernées (Bretagne, Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle-Aquitaine) et dans une moindre mesure pour le département du Puy-de-Dôme.

Comme pour les eaux de captages, il a été recherché les genres de cyanobactéries potentiellement producteurs ou non de cyanotoxines retrouvés en sortie d'usine de potabilisation (tableau XLIII).

**Tableau XLIII : liste des genres de cyanobactéries identifiés dans les eaux traitées en France classés des plus fréquents au moins fréquents (sur 295 prélèvements)**

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvement où le genre a été recherché	Pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsines	Saxitoxines				
<i>Pseudanabaena</i> .	■	■			28	15,6	25 000	12
<i>Planktothrix</i>					31	14,2	1 094	157
<i>Oscillatoria</i> .	■	■	■		27	13,2	1 700	6
<i>Synechocystis</i> .					17	7,8	8 817	1 055
<i>Synechococcus</i> .					25	5,4	452 000	471
<i>Aphanizomenon</i> .		■	■	■	29	4,7	3 055	53
<i>Planktolyngbya</i> .					24	4,7	7 210	71
<i>Anabaena</i>	■	■	■	■	28	3,4	170	1
<i>Coelomoron</i> .					26	3,4	38	10
<i>Chroococcus</i> .					30	2,4	3	1
<i>Limnothrix</i> .	■				26	1	16 000	13
<i>Woronichinia</i> .	■				25	1	38	10
<i>Aphanothece</i> .					27	0,7	4	3
<i>Merismopedia</i> .	■				27	0,7	40	21
<i>Aphanocapsa</i>	■				24	0,3	29	29
<i>Cyanodictyon</i>					18	0,3	9	9
<i>Microcystis</i>	■				26	0,3	200	200
<i>Anabaenopsis</i> .	■				26	0	0	
<i>Calothrix</i> .	■				26	0	0	
<i>Coelosphaerium</i> .					26	0	0	
<i>Cyanocatena</i> .					16	0	0	
<i>Cylindrospermopsis</i> .			■	■	26	0	0	
<i>Cylindrospermum</i>		■			21	0	0	
<i>Fischerella</i>	■				21	0	0	
<i>Gloeotrichia</i>					21	0	0	
<i>Gomphospheria</i>					24	0	0	
<i>Hapalosiphon</i>	■				21	0	0	
<i>Homéothrix</i> .					20	0	0	
<i>Lemmermanniella</i>					26	0	0	
<i>Leptolyngbya</i>	■				16	0	0	
<i>Lyngbya</i> .			■	■	26	0	0	
<i>Microcoleus</i>		■			21	0	0	

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvement où le genre a été recherché	Pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsines	Saxitoxines				
<i>Nodularia</i>					23	0	0	
<i>Nostoc</i>					24	0	0	
<i>Phormidium.</i>					24	0	0	
<i>Radiocystis</i>					16	0	0	
<i>Rhabdoderma.</i>					24	0	0	
<i>Rhaphidiopsis.</i>					24	0	0	
<i>Romeria</i>					20	0	0	
<i>Schizothrix.</i>					21	0	0	
<i>Scytonema.</i>					21	0	0	
<i>Snowella.</i>					24	0	0	
<i>Spirulina.</i>					21	0	0	
<i>Symploca.</i>					21	0	0	
<i>Trichodesmium.</i>					21	0	0	
<i>Umezakia.</i>					21	0	0	

Il ressort de ce tableau que les genres les plus fréquemment isolés sont *Pseudanabaena*, *Planktothrix* et *Oscillatoria* avec plus de 10 % d'occurrences. Néanmoins, les maxima ne dépassent pas les 25 000 cell.mL<sup>-1</sup> et les valeurs médianes sont très faibles.

Par ailleurs, *Planktothrix* est le genre mis en évidence sur le plus grand nombre de sites (31). À noter que *Synechococcus*, bien que peu fréquent (5,4 %) présente la concentration cellulaire maximale la plus élevée (452 000 cell.mL<sup>-1</sup>), mais ce n'est pas un genre potentiellement toxique.

Le tableau XLII et le tableau XLIII montrent que les genres *Planktothrix* et *Pseudanabaena* font partie des cyanobactéries les plus détectées que ce soit en eau de captage ou dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ces deux genres sont potentiellement toxigènes.

- *Planktothrix* : 28,3 % pour l'eau de captage et 14,2 % pour l'eau traitée ;
- *Pseudanabaena* : 23,2 % pour l'eau de captage et 15,6 % pour l'eau traitée.

#### 12.4.1.2.2 Dénombrement des cyanobactéries toxigènes

Seuls sept départements ont complété le paramètre relatif aux cyanobactéries potentiellement toxigènes en sortie de station de traitement, sans qu'il soit possible de déterminer si le faible nombre de données correspond à une absence de cyanobactéries potentiellement toxigènes en sortie de filière de traitement des eaux ou à une absence de recherche de ce paramètre car dans la réglementation actuelle, il est en effet uniquement demandé de rechercher les microcystines en sortie d'usine de potabilisation. Il est à noter que les départements qui ont renseigné ce paramètre (la Loire Atlantique, la Dordogne, la Corrèze, le Puy-de-Dôme, la Loire, la Savoie et la Côte d'Or) font



également partie des départements dans lesquels des cyanobactéries potentiellement toxigènes avaient été retrouvées dans les eaux de captages.

**Tableau XLIV : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL<sup>-1</sup>, nombre de points de prélèvement et maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries potentiellement toxigènes dans le cas des eaux destinées à la consommation humaine**

Paramètre	Nombre de résultats	Pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Nombre de points de prélèvement	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane (cell.mL <sup>-1</sup> )
Cyanobactéries toxigènes	104	42,3	21	12 095	0

Sur l'ensemble des 104 résultats de cyanobactéries toxigènes disponibles dans SISE-Eaux concernant les eaux après traitement, environ 42 % des résultats sont supérieurs à 0 cell.mL<sup>-1</sup> (Tableau XLIV). Ces résultats ont été collectés au niveau de 21 points de prélèvement. La médiane des résultats de dénombrement a été calculée à 0 cell.mL<sup>-1</sup>, avec un maximum de 12 095 cell.mL<sup>-1</sup>.

### 12.4.1.3 Contamination des eaux de baignades

Les résultats issus des sites de baignade et de loisirs nautiques ont été traités ensemble. En revanche, les eaux des baignades artificielles qui présentent une hydraulicité particulière pouvant favoriser les efflorescences de cyanobactéries ont été étudiées séparément.

#### 12.4.1.3.1 *Sites de baignade et de loisirs nautiques*

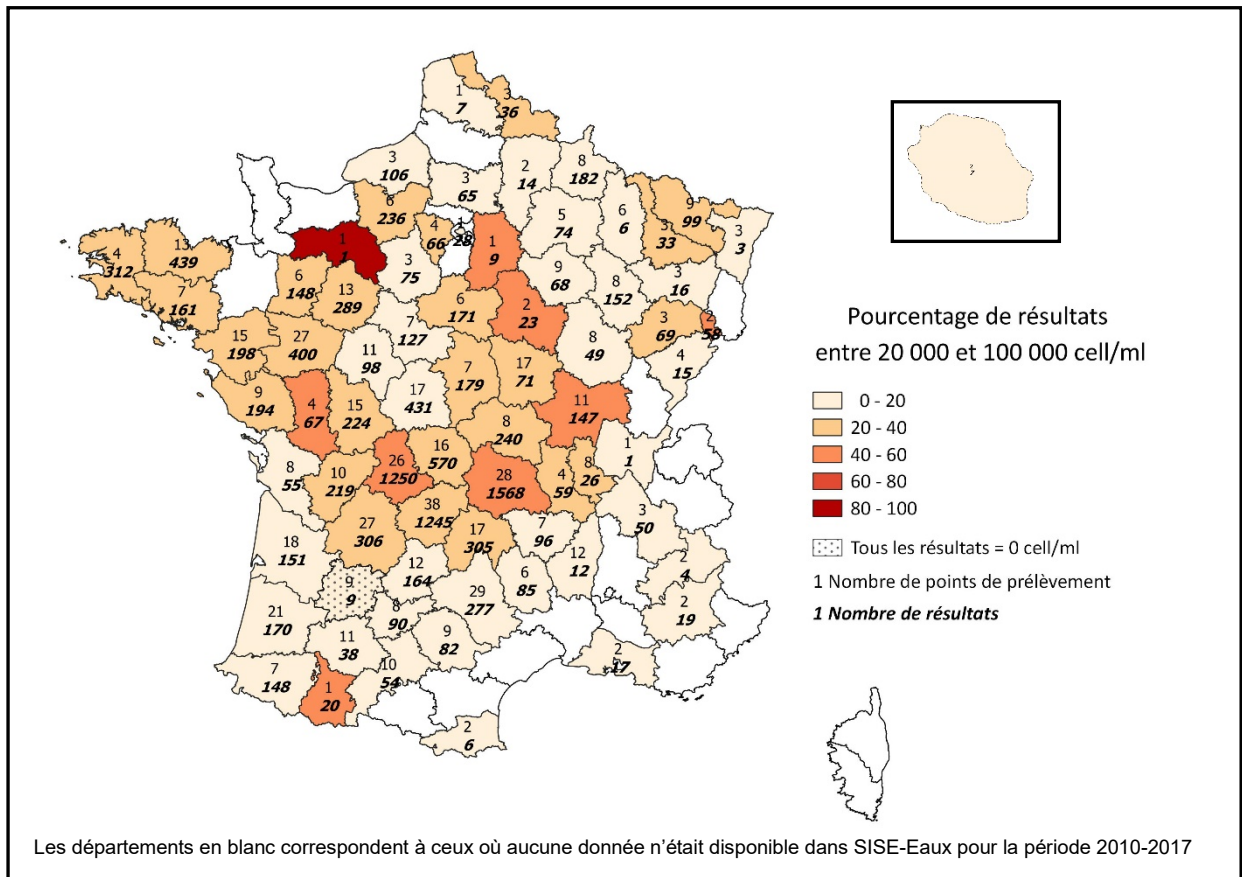
Les résultats des dénombrements des cellules de cyanobactéries sont exprimés en nombre de cellules par millilitre. Les données concernant le dénombrement en cyanobactéries ont été représentées en prenant en compte les deux seuils de gestion actuellement en vigueur en France : 20 000 cell.mL<sup>-1</sup> et 100 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Les représentations ont été effectuées pour l'ensemble des genres de cyanobactéries (paramètre CYANOBA) et pour les différents genres de cyanobactéries toxigènes (paramètre CYANTOX). La période d'extraction de données est la même que pour l'EDCH soit de 2010 à 2017.

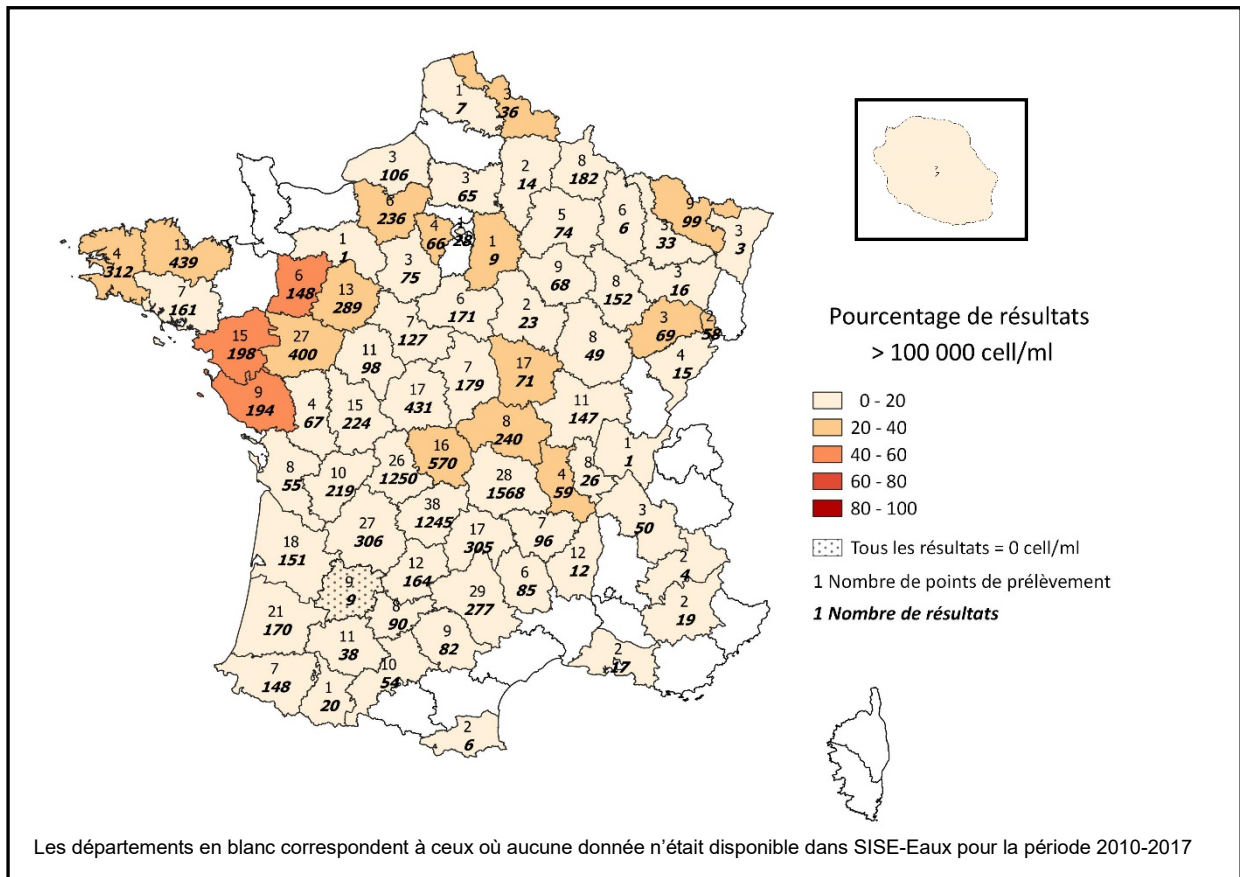
Des données ont été enregistrées pour le département de la Réunion.

- **Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries**

Les données des figures 65 et 66 correspondent au paramètre CYANOBA de la base SISE-Baignades. Elles représentent le dénombrement de l'ensemble des cellules de cyanobactéries en fonction des départements. Les dénombrements sont exprimés en pourcentage de résultats compris entre 20 000 et 100 000 cell.mL<sup>-1</sup> pour la première carte et supérieur à 100 000 cell.mL<sup>-1</sup> pour la seconde carte.



**Figure 65 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries compris entre 20 000 et 100 00 cell.mL<sup>-1</sup> – Eaux de baignade - France métropolitaine et île de la Réunion - 2010 à 2017.**



**Figure 66 : représentation cartographique du pourcentage de résultats de dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries supérieures à 100 00 cell.mL<sup>-1</sup> – Eaux de baignade - France métropolitaine et île de la Réunion - 2010 à 2017**

Les résultats de dénombrement des cyanobactéries présents dans la base SISE-Baignades montrent que l'ensemble de la France métropolitaine est concerné par les efflorescences de cyanobactéries dans les eaux récréatives. Le dépassement des seuils de surveillance apparaît principalement dans les départements du Centre-Val de Loire. La plupart des régions du Sud du territoire (Occitanie, Provence-Alpes-Côte d'Azur, Corse) ne disposent pas de données concernant le dénombrement des cyanobactéries dans la base. Il faut noter que seuls trois départements présentent plus de 40% de leurs résultats supérieurs à 100 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Comme précédemment, la liste des genres de cyanobactéries retrouvés dans les eaux de baignades est synthétisée dans le tableau ci-dessous (Tableau XLV).

**Tableau XLV : liste des genres de cyanobactérie les plus fréquemment identifiés (classés des plus fréquents au moins fréquents) lors de prélèvement dans le cas du contrôle sanitaire des sites de baignades et de loisirs nautiques sur la période 2010 à 2017**

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvement où le genre a été recherché	Pourcentage de résultat non nul (cell.mL <sup>-1</sup> )	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsine	Saxitoxines				
<i>Aphanocapsa.</i>	■				368	36,9	4 200 000	6 400
<i>Anabaena.</i>	■	■	■	■	354	32,7	11 160 000	1 600
<i>Microcystis</i>	■				366	30,2	38 000 000	2 000
<i>Aphanizomenon.</i>		■	■	■	360	29,4	2 920 800	4 000
<i>Woronichinia</i>	■				348	27,5	120 000 000	3 420
<i>Aphanothece.</i>					362	23	785 600	4 246
<i>Pseudanabaena.</i>	■	■			363	21,2	670 000	560
<i>Merismopedia.</i>	■				352	18,4	1 065 809	1 920
<i>Synechococcus.</i>					291	17,1	350 424	3 213
<i>Chroococcus.</i>					319	16,2	41 760	49
<i>Coelomoron.</i>					323	14,5	972 800	1 252
<i>Synechocystis.</i>					198	11,6	282 600	7 574
<i>Planktothrix.</i>	■				324	9,6	9 947 520	4 118
<i>Oscillatoria.</i>	■	■	■		328	9,4	15 000 000	78
<i>Coelosphaerium.</i>					309	8,3	1 438 630	1 699
<i>Limnothrix.</i>	■				319	7,7	2 400 000	2 320
<i>Planktolyngbya.</i>					295	6,4	2 764 800	985
<i>Cyanocataena.</i>					197	5,5	331 584	6 499
<i>Phormidium.</i>	■	■	■		290	4,3	11 784 000	700
<i>Snowella.</i>					289	4,1	152 865	720
<i>Cyanodictyon</i>					267	4	789 600	4 060
<i>Lemmermanniella.</i>					284	3,4	1 985 600	3 050
<i>Rhabdoderma</i>					296	2,2	514 510	10 125
<i>Cylindrospermopsis.</i>			■	■	258	1,6	1 503 432	20 761
<i>Cyanogranis.</i>					22	1,4	288 800	2 673
<i>Romeria.</i>					248	0,9	419 200	1 290
<i>Leptolyngbya</i>	■				210	0,7	87 333	272
<i>Lyngbya.</i>			■	■	278	0,7	5 600	80
<i>Gomphospheria</i>					272	0,5	10 971	408
<i>Komvoporon.</i>					17	0,3	400	48
<i>Radiocystis</i>	■				211	0,3	44 000	1 237
<i>Anabaenopsis.</i>	■				259	0,2	25 000	2 148

Genre	Toxines potentiellement produites				Nombre de sites de prélèvement où le genre a été recherché	Pourcentage de résultat non nul (cell.mL <sup>-1</sup> )	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsine	Saxitoxines				
<i>Geitlerinema.</i>					12	0,2	275 500	42 670
<i>Pannus.</i>					16	0,2	8 320	250
<i>Homéothrix.</i>					219	0,1	1 200 000	29 250
<i>Rhaphidiopsis.</i>					254	0,1	9 608	2 099
<i>Spirulina</i>					229	0,1	2 548	373
<i>Nostoc.</i>					255	0,03	24	20
<i>Cylindrospermum.</i>					217	0,02	112	112
<i>Nodularia.</i>					217	0,02	18	18
<i>Trichodesmium.</i>					216	0,02	32	32
<i>Calothrix</i>					255	0	0	
<i>Fischerella.</i>					216	0	0	
<i>Gloeotrichia</i>					215	0	0	
<i>Hapalosiphon</i>					216	0	0	
<i>Microcoleus.</i>					216	0	0	
<i>Rivularia.</i>					6	0	0	
<i>Schizothrix.</i>					216	0	0	
<i>Scytonema.</i>					216	0	0	
<i>Sphaerospermopsis.</i>					6	0	0	
<i>Symploca.</i>					216	0	0	
<i>Umezakia.</i>					215	0	0	

Cinq genres sont présents dans plus de 25 % des échantillons analysés. Il s'agit d'*Aphanocapsa*, *Anabaena*, *Microcystis*, *Aphanizomenon* et *Woronichinia*. Ce sont également les genres présentant les concentrations cellulaires les plus élevées (> 10<sup>6</sup> cell.mL<sup>-1</sup>), *Woronichinia* étant celui avec la plus forte valeur de dénombrement (120.10<sup>6</sup> cell.mL<sup>-1</sup>). *Aphanocapsa* est le genre le plus fréquemment identifié (36,9 %) et est présent sur le plus grand nombre de sites différents (368).

#### • Dénombrement des cyanobactéries potentiellement toxigènes

Sur l'ensemble des 4 313 résultats de cyanobactéries potentiellement toxigènes disponibles dans la base SISE-Baignades, plus de 88 % étaient supérieures à 0 cell.mL<sup>-1</sup> (tableau XLVI). Il apparaît que la très grande majorité des prélèvements analysés ont des valeurs de dénombrements inférieures à 20 000 cell.mL<sup>-1</sup>. À noter cependant que les départements du Rhône et de la Mayenne ont 40 à 60 % de leurs dénombrements supérieurs à 100 000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Les résultats sont associés à 450 points de prélèvement. La valeur médiane est de 6 224 cell.mL<sup>-1</sup> avec une valeur maximale de 15 113 500 cell.mL<sup>-1</sup>.

**Tableau XLVI : nombre de résultats, pourcentage de résultats supérieurs à 0 cell.mL<sup>-1</sup>, nombre de points de prélèvement, maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries toxigènes dans le cas des sites de baignade et de loisirs nautiques sur la période de 2010 à 2017**

Paramètre	Nombre de résultats	Pourcentage de résultats > 0 cell.mL <sup>-1</sup>	Nombre de points de prélèvement	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane (cell.mL <sup>-1</sup> )
Cyanobactéries potentiellement toxigènes	4 313	88,2	450	15 113 500	6 224

#### 12.4.1.3.2 Sites de baignade artificielle

- **Dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries**

Une représentation graphique des données relatives aux efflorescences de cyanobactéries dans les sites de baignade artificielle a été réalisée mais n'a pas été intégrée à ce présent rapport au vu du très faible nombre de données, non représentatif de la situation en France. Néanmoins, il a été possible d'établir la liste des genres de cyanobactéries retrouvées dans les eaux de baignades artificielles.

**Tableau XLVII : liste des genres de cyanobactéries les plus fréquemment rencontrés lors des prélèvements dans le cas des sites de baignade artificielle sur la période de 2010 à 2017 (sur 152 prélèvements)**

Genre	Toxines potentiellement produites				Nbr de sites de prélèvement où le genre a été recherché	% de résultats >0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsine	Saxitoxines				
<i>Pseudanabaena</i> .					17	16,8	211	22
<i>Oscillatoria</i> .					17	16,1	400	13
<i>Homéothrix</i>					15	9,9	478	12
<i>Planktolyngbya</i> .					17	6,8	160	36
<i>Chroococcus</i> .					18	5,6	100	5
<i>Aphanizomenon</i> .					17	4,3	100 176	21
<i>Anabaena</i> .					18	3,7	2 512	50
<i>Merismopedia</i> .					17	3,7	58	8
<i>Phormidium</i> .					16	3,7	24	11
<i>Aphanocapsa</i> .					17	2,5	64	56
<i>Leptolyngbya</i>					15	2,5	4 700	144
<i>Coelomoron</i> .					17	1,9	11 314	6
<i>Cyanodictyon</i>					16	1,2	80	44
<i>Lyngbya</i> .					16	1,2	144	73

Genre	Toxines potentiellement produites				Nbr de sites de prélèvement où le genre a été recherché	% de résultats >0 cell.mL <sup>-1</sup>	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane des résultats quantifiés (cell.mL <sup>-1</sup> )
	Microcystines	Anatoxines A	Cylindrospermopsine	Saxitoxines				
<i>Lemmermanniella</i> .					17	0,6	160	160
<i>Microcystis</i> .	■				17	0,6	14	14
<i>Planktothrix</i> .	■				17	0,6	144	144
<i>Snowella</i> .					16	0,6	19	19
<i>Synechocystis</i> .					15	0,6	18	18
<i>Anabaenopsis</i> .	■				16	0	0	
<i>Aphanothece</i> .					17	0	0	
<i>Calothrix</i> .	■				16	0	0	
<i>Coelosphaerium</i> .					16	0	0	
<i>Cyanocatena</i> .					15	0	0	
<i>Cylindrospermopsis</i> .			■	■	16	0	0	
<i>Cylindrospermum</i> .		■			15	0	0	
<i>Fischerella</i> .	■				15	0	0	
<i>Gloeotrichia</i> .					15	0	0	
<i>Gomphosphaeria</i> .					16	0	0	
<i>Hapalosiphon</i> .	■				15	0	0	
<i>Limnothrix</i> .	■				17	0	0	
<i>Microcoleus</i> .		■			15	0	0	
<i>Nodularia</i> .					15	0	0	
<i>Nostoc</i> .	■				16	0	0	
<i>Radiocystis</i> .	■				15	0	0	
<i>Rhabdoderma</i> .					16	0	0	
<i>Rhaphidiopsis</i> .		■	■	■	16	0	0	
<i>Romeria</i> .					16	0	0	
<i>Schizothrix</i> .					15	0	0	
<i>Scytonema</i> .				■	15	0	0	
<i>Spirulina</i> .	■				15	0	0	
<i>Symploca</i> .					15	0	0	
<i>Synechococcus</i> .					17	0	0	
<i>Trichodesmium</i>	■			■	15	0	0	
<i>Umezakia</i> .			■		15	0	0	
<i>Woronichinia</i> .	■				17	0	0	

En regardant l'ensemble des résultats du dénombrement des genres de cyanobactéries présents dans la base SISE-Baignades pour les sites de baignade artificielle, on constate que sur un total de 152 analyses réalisées, les genres présentant les plus fortes occurrences sont *Pseudanabaena* et *Oscillatoria*, avec respectivement 16,8 et 16,1 % de dénombrement non nuls (tableau XLVII). Néanmoins, ces genres ne présentent pas les plus fortes abondances cellulaires, seulement 400 cell.mL<sup>-1</sup> maximum pour *Oscillatoria*. Les abondances maximales ont été observées pour les genres *Aphanizomenon* (100 174 cell.mL<sup>-1</sup>) et *Coelomoron* (11 314 cell.mL<sup>-1</sup>). *Aphanizomenon* est toxigène car potentiellement producteur d'anatoxine-a, de cylindrospermopsine et de saxitoxines alors que *Coelomoron* est actuellement considéré comme un genre non toxigène.

- **Dénombrement des cyanobactéries toxigènes**

Sur l'ensemble des 150 résultats de cyanobactéries toxigènes disponibles dans SISE-Baignades dans le cas des sites de baignade artificielle, 36 % étaient supérieurs à 0 cell.mL<sup>-1</sup> avec un maximum atteignant 102 688 cell.mL<sup>-1</sup>, et une médiane de 0 cell.mL<sup>-1</sup> (tableau XLVIII).

**Tableau XLVIII : nombre de résultats, pourcentage de résultats > 0 cell.mL<sup>-1</sup>, nombre de points de prélèvement, maximum et médiane du dénombrement de l'ensemble des cyanobactéries potentiellement toxigènes dans le cas des sites de baignade artificielle sur la période de 2010 à 2017**

Paramètre	Nombre de résultats	% de résultat non nuls (cell.mL <sup>-1</sup> )	Nombre de points de prélèvement	Maximum (cell.mL <sup>-1</sup> )	Médiane (cell.mL <sup>-1</sup> )
Cyanobactéries toxigènes	150	36	19	102 688	0

## 12.5 Conclusion

L'analyse des données extraites des bases SISE-Eaux et SISE-Baignades révèle d'abord que ces bases ne sont pas renseignées par l'ensemble des délégations territoriales des ARS (tableau XLVII) et qu'elles ne peuvent donc donner qu'une vision partielle de la situation actuelle en France. L'absence de données bancarisées pour certains départements peut traduire, soit une absence d'acquisition de données, soit l'acquisition de données qui ne seraient pas reportées dans les bases SISE correspondantes. Par ailleurs, en France les ressources en eau pour la production d'EDCH sont pour environ 35 % superficielles et 65 % souterraines, il n'est pas surprenant que la problématique des cyanobactéries ne concerne pas l'ensemble du territoire (tableau XLIX).

Si les bases SISE-Eaux et SISE-Baignades contiennent de très nombreuses données, 90 % des données brutes sont impossibles à exploiter et en particulier les données relatives aux toxines. Cette perte de données s'explique par des différences dans les pratiques des laboratoires agréés en charge du contrôle sanitaire (protocoles d'échantillonnages et méthodes d'analyse - fractions analysées) associées à la façon de saisir les données dans les bases SISE. La création d'intervalles pour pouvoir utiliser les résultats relatifs aux toxines contribue à ajouter un facteur d'incertitude.



Tableau XLIX : synthèse des données issues des bases SISE-Eaux et SISE-Baignades

		Eaux de baignade	Eaux de captage	Eaux traitées
<b>Nombre de département ayant renseigné les bases SISE</b>		74	39	19
<b>Nombre de points de prélèvement</b>	Total	654	157	79
	Min-Max	1-38	1-18	1-14
	Médiane	7	2	3
<b>Nombre de résultats</b>	Total	12489	1753	589
	Min-Max	1-1568	1-340	2-260
	Médiane	79	7	14
<b>Genres les plus observés</b>		<b>Observés dans plus de 20% des résultats (par ordre d'importance)</b>		<b>Observés dans plus de 10% des résultats (par ordre d'importance)</b>
		<i>Aphanocapsa, Anabaena, Microcystis, Aphanizomenon, Woronichinia, Aphanothece, Pseudanabaena</i>	<i>Planktothrix, Microcystis, Aphanocapsa, Woronichinia, Pseudanabaena, Anabaena, Aphanizomenon</i>	<i>Pseudanabaena, Planktothrix, Oscillatoria</i>
<b>Abondance des genres les plus observés (cellules.mL<sup>-1</sup>)</b>		670.10 <sup>3</sup> < max selon genre < 120.10 <sup>6</sup> 30 < médiane selon genre < 400	400.10 <sup>3</sup> < max selon genre < 3,6.10 <sup>6</sup> 300 < médiane selon genre < 2400	1.10 <sup>3</sup> < max selon genre < 25.10 <sup>3</sup> 6 < médiane selon genre < 160

Concernant les données relatives aux cyanobactéries, la lecture des cartes construites à partir des informations bancarisées dans les bases SISE ne met pas en évidence de disparité flagrante (Nord/Sud ou Est/Ouest par exemple) de la distribution des cyanobactéries retrouvées à l'échelle du territoire national dans les eaux de baignade, les eaux de captage ou les eaux traitées.

#### **Genres de cyanobactéries les plus observés dans les eaux de baignade et les eaux de captage pour la production d'EDCH**

Sans grande surprise, la liste des genres de cyanobactéries les plus fréquemment observés (genres retrouvés dans plus de 20 % des résultats positifs, c'est-à-dire présentant un dénombrement non nul – tableau XLVII) inclut, dans les eaux de baignade comme dans les eaux de captage, le genre *Microcystis* (respectivement 30,2 et 28,2 %). Il n'est pas surprenant de trouver également dans cette liste, pour les eaux de captage, le genre *Planktothrix*, mais on peut s'étonner qu'il n'apparaisse pas dans la liste concernant les eaux de baignade. En effet, comme indiqué dans le tableau XLVII, seuls 9,6 % des résultats positifs présentent dans les eaux de baignade des individus du genre *Planktothrix* pour les départements ayant renseigné les bases SISE, alors que ce pourcentage atteint 28,3 % dans les eaux de captage. Les informations contenues dans les bases SISE ne permettent pas d'expliquer cette différence.

#### **Genres de cyanobactéries les plus observés dans les eaux destinées à la consommation humaine**

Si la synthèse des données bancarisées dans SISE-Eaux témoigne globalement d'une bonne efficacité des traitements des eaux contaminées par les cyanobactéries, l'identité des genres les plus observés dans les eaux après traitement interroge. En effet, les genres *Pseudanabaena*, *Planktothrix* et *Oscillatoria* sont respectivement observés dans 15,6, 14,2 et 13,2 % des résultats « positifs » alors que le genre *Oscillatoria* n'est pas particulièrement fréquent dans les eaux de baignade comme dans les eaux de captage (respectivement observés dans 9,4 et 13,2 % des résultats positifs). Au contraire, *Microcystis* qui est l'un des genres le plus observé dans les masses d'eau n'est retrouvé que dans 0,3 % des résultats « positifs » des eaux traitées (tableau XLIII). Considérant que *Pseudanabaena*, *Planktothrix* et *Oscillatoria* sont trois genres filamenteux alors que *Microcystis* est une cyanobactérie coloniale, on peut se demander (i) si les genres filamenteux sont moins bien éliminés dans les filières de traitement pour la production d'EDCH que les autres genres, et/ou (ii) si une dissociation des

colonies du genre *Microcystis* pendant le traitement des eaux ne se traduit pas par une sous-estimation des abondances cellulaires en raison de la petite taille des cellules (de l'ordre de 5 µm).

#### **Toxicité potentielle des genres de cyanobactéries les plus observés**

Il est important de souligner que les genres notés dans le tableau XLVI comme étant les plus fréquemment observés sont tous, à l'exception de *Aphanothece* des genres potentiellement producteurs de toxines. Tous ces genres potentiellement toxiques sont susceptibles de produire des MC sauf *Aphanizomenon* qui est potentiellement producteur d'ATX, CYN et STX. En plus des MC, *Anabaena* peut également produire ces trois toxines et *Pseudanabaena* des ATX.

#### **Abondance des genres de cyanobactéries les plus observés**

À la lecture du tableau XLVI, on observe que, pour les genres de cyanobactéries les plus souvent observés, les abondances cellulaires médianes estimées sont très en-deçà des seuils fixés dans les instructions. Ces observations suggèrent que dans la grande majorité des cas, les échantillonnages sont effectués en dehors de périodes de prolifération. Néanmoins, les abondances cellulaires maximales évaluées, qui dépassent très largement les seuils réglementaires, témoignent de la nécessité du maintien de la surveillance.

Les données bancarisées dans les bases SISE témoignent d'abondances cellulaires élevées pour le genre *Aphanocapsa*, qui est apparu en outre comme l'un des genres les plus observés en eau de baignade comme en eau de captage. Le fait que les cellules des espèces du genre *Aphanocapsa* soient de très faible volume (2 µm<sup>3</sup> par cellule en moyenne) amène à s'interroger sur le bien fondé de l'utilisation de l'abondance cellulaire comme critère de surveillance et suggère que la prise en compte des biovolumes cellulaires serait plus appropriée. Ainsi, par exemple, les abondances maximales observées dans les eaux de baignade pour les genres *Anabaena* et *Aphanocapsa* sont respectivement de 11,2.10<sup>6</sup> et 4,2.10<sup>6</sup> cellules.mL<sup>-1</sup>, soit un rapport *Anabaena* / *Aphanocapsa* de 2,66. Après conversion en biovolume en considérant les biovolumes cellulaires moyens d'*Anabaena* (99 µm<sup>3</sup>.cell<sup>-1</sup>) et d'*Aphanocapsa* (2 µm<sup>3</sup>.cell<sup>-1</sup>), le rapport est alors de 131 soit 50 fois plus élevé. L'abondance ici surestime donc très fortement la part d'*Aphanocapsa* par rapport à celle d'*Anabaena* dans les analyses effectuées. L'utilisation des biovolumes plutôt que celle des abondances cellulaires permettrait de mieux traduire l'importance relative de chaque genre dans la biomasse globale.

Finalement, si les données de cyanotoxines bancarisées dans SISE n'ont pas été jugées exploitables par les experts, les données concernant les cyanobactéries et la connaissance des genres potentiellement toxiques apportent un certain nombre d'informations pertinentes et témoignent de la réalité du risque sanitaire associé aux cyanobactéries et à leurs toxines dans les masses d'eau du territoire national. Les genres les plus observés sont potentiellement producteurs de différentes cyanotoxines (microcystines, anatoxines-a, cylindrospermopsine, saxitonines). Ainsi, la prise en compte de ces toxines dans la surveillance s'avère nécessaire.

## 13 Estimation de l'exposition *via* l'eau

### 13.1 Voies d'exposition retenues

#### 13.1.1 Eaux destinées à la consommation humaine (EDCH)

La voie majoritaire d'exposition de l'Homme *via* l'EDCH est l'ingestion d'eau. Néanmoins, l'exposition *via* le contact cutané ou l'inhalation d'aérosols lors de la prise de douche ou de bain est également possible. Cependant, en l'absence de données d'occurrence des différentes cyanotoxines dans l'air et en l'absence de VTR pour ces deux voies d'exposition, elles n'ont pas été considérées, par la suite, dans la démarche d'évaluation du risque.

#### 13.1.2 Eaux récréatives

Au cours des activités aquatiques et selon l'activité pratiquée, l'exposition des individus aux cyanobactéries et aux cyanotoxines peut survenir :

- Par contact cutané-muqueux par immersion volontaire ou involontaire d'une partie ou de tout le corps dans l'eau ;
- Par voie orale par ingestion accidentelle d'eau ;
- Par voie respiratoire par inhalation de gouttelettes lors de la pratique d'activités où la formation d'aérosols est récurrente (*e.g* ski nautique, planche à voile).

Le contact cutané-muqueux représente avec l'ingestion d'eau, l'une des deux voies d'exposition principales aux cyanobactéries et aux cyanotoxines. Elle est commune à la plupart des activités et concerne les baigneurs comme les pratiquants d'activités nautiques quel que soit leur niveau, même si selon les activités, le contact cutané est plus ou moins intense et généralisé.

L'intensité de l'exposition est influencée par un grand nombre de facteurs comme les conditions climatiques, le comportement et le niveau de maîtrise de chaque pratiquant. Elle diffère également en fonction du cadre dans lequel l'activité est réalisée : l'exposition est généralement plus forte au cours d'une activité non encadrée, en raison du comportement différent des usagers.

Bos et Meinardi (2000) ont suggéré que les cyanotoxines de masse moléculaire élevée, comme les microcystines et les cylindrospermopsines, ne peuvent pas traverser la barrière cutanée, contrairement à l'anatoxine-a qui a une plus faible masse moléculaire. Par ailleurs, il n'existe pas de valeur de coefficient de perméabilité de l'anatoxine qui permettrait de caractériser sa capacité à pénétrer le derme (Butler, 2012). Ces données ont besoin d'être confirmées pour que l'exposition par contact cutané-muqueux soit considérée dans l'étape de caractérisation du risque.

Plusieurs études ont montré la capacité des cyanobactéries et des cyanotoxines à s'aérosoliser (Chen, 2007 ; Baker *et al.*, 2010 ; Wood et Dietrich, 2011 ; Lewandowska *et al.*, 2017 ; May *et al.*, 2018, Facciponte *et al.*, 2018). Ainsi, les cyanobactéries et leurs toxines associées peuvent s'aérosoliser *via* un processus de mise en suspension de bulles formées dans la masse d'eau qui éclatent par la suite à la surface. L'évaporation des micro-gouttelettes en suspension conduit à la formation de résidus secs qui peuvent être dispersés dans l'air. La taille des particules formées détermine leur temps de séjour dans l'air ainsi que leur aptitude à pénétrer et demeurer plus ou moins profondément dans l'appareil respiratoire. Pour qu'un aérosol atteigne l'arbre trachéobronchique, les gouttelettes doivent mesurer moins de 6 µm (2 à 6 µm pour les bronches, 0,5 à 3 µm pour les bronchioles et alvéoles) comme le montre la Figure 67.

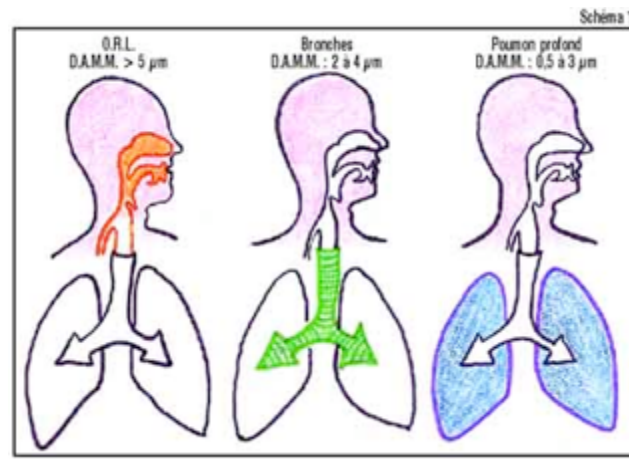


Figure 67 : arbre trachéobronchique

Source : [http://penumocourlancy.fr/pages\\_aerosoltherapie.html](http://penumocourlancy.fr/pages_aerosoltherapie.html) visité le 21 juin 2019.

Selon Wood et Dietrich (2011), les cyanobactéries présentent une taille qui leur permet de se déposer uniquement dans les voies aériennes supérieures (le diamètre de *Microcystis* variant entre 3 et 9 µm). Récemment, Facciponte *et al.* (2018) ont confirmé la capacité de *Microcystis* de pénétrer dans les cavités nasales et d'atteindre les voies respiratoires centrales (poumons). Les cyanotoxines, molécules plus petites, ont quant à elles la capacité d'atteindre les voies respiratoires profondes. Même si elle est possible, l'inhalation d'eau reste cependant une voie d'exposition minoritaire lors de la pratique de la baignade et des autres activités aquatiques.

L'ingestion accidentelle d'eau quant à elle est habituelle lors de la baignade. Elle est moins probable dans le cas des activités nautiques sauf si l'embarcation vient à se renverser. L'ingestion existe sous différentes formes : ingestion accidentelle d'eau, inondation des fosses nasales lors de la mise de la tête sous l'eau, contact mains mouillées/bouche surtout chez les enfants et ingestion d'eau volontaire.

**Au regard des données épidémiologiques citées au chapitre V, et en l'absence de données permettant de caractériser le risque par contact cutanéomuqueux ou par inhalation, les expositions par ces deux voies ne seront pas considérées dans le rapport. Pour la suite de l'évaluation des risques, seule la voie « ingestion d'eau » (EDCH ou eaux récréatives) est considérée.**

## 13.2 Populations exposées

Toutes les tranches d'âge de la population générale peuvent être exposées aux cyanobactéries et aux cyanotoxines *via* l'EDCH, les eaux récréatives ou la consommation de poissons d'eau douce.

Les expositions liées à l'ingestion d'eau de boisson, d'eaux récréatives ou à la consommation de poisson d'eau douce ont été estimées pour les enfants et pour les adultes selon un scénario d'exposition aiguë ou subchronique, selon les effets sur la santé retenus pour chaque toxine.

## 13.3 Valeurs paramétriques retenues pour l'élaboration des scénarios d'exposition

### 13.3.1 Masse corporelle

Les experts ont choisi de retenir pour les enfants les masses corporelles définies dans l'étude INCA 3 (Anses, 2017b), à savoir:

- enfants de moins de 6 ans : 15kg ;
- enfants de 7 à 10 ans : 29 kg ;
- enfants de 11 à 14 ans : 46 kg ;
- enfants de 15 à 17 ans : 62 kg.

D'après les résultats de cette même étude, un adulte est caractérisé par une masse corporelle de 73,6 kg. Cependant, les experts ont décidé de retenir comme masse corporelle, pour cette catégorie de population, celle de 70 kg recommandée dans le guide de construction des VTR proposé par l'Agence (Anses, 2017c).

### 13.3.2 Volumes d'eau ingérés

#### 13.3.2.1 EDCH

Les données de consommation de l'eau de boisson sont apportées par les résultats de l'enquête alimentaire INCA 3 réalisés auprès de 5855 individus, enfants et adultes, représentatifs de la population française (Anses, 2017b).

La consommation hydrique a été estimée en prenant en compte les cinq types d'eau de boisson suivants :

- Eau embouteillée ;
- Eau du robinet non chauffée ;
- Eau du robinet chauffée utilisée pour la préparation du café, du thé et de la tisane ;
- Eau aromatisée ;
- Sirops à l'eau.

La consommation hydrique a été calculée pour les seuls consommateurs d'au moins un des types d'eau afin de ne pas sous-estimer les niveaux de consommation.

Le ratio de la consommation hydrique journalière rapportée à la masse corporelle a été calculé pour chaque individu. Puis, afin de protéger la majorité de la population, incluant les grands consommateurs d'eau, le percentile 95 (P95) de ce ratio a été retenu pour chaque classe d'âge (Tableau L).

**Tableau L : ratios de la consommation hydrique totale quotidienne rapportée à la masse corporelle (au P95) selon les classes d'âge chez les adultes et enfants seuls consommateurs de chaque catégorie d'eau en France**

Age	Amplitude de la classe d'âge	Effectif	P95 (L/kg m.c./j)
[0-4[ ans	4	210	0,185
[4-7[ ans	3	345	0,059
[7-11[ ans	4	478	0,053
[11-15[ ans	4	541	0,030
[15-18[ ans	3	405	0,031
[18-80[ ans	62	2117	0,037

m.c. : masse corporelle

Source : Anses, 2019d

Il est à noter qu'auparavant, les calculs étaient basés sur une masse corporelle moyenne de 60 kg avec une consommation hydrique de 2 L selon les recommandations de l'OMS, conduisant à une valeur de 0,033 L/kg m.c./j pour les adultes.

### 13.3.2.2 Eaux récréatives

Le volume d'eau ingéré lors de la pratique de loisirs aquatiques varie en fonction de l'âge et de l'activité pratiquée (e.g natation, plongée, canoë, ski nautique).

Il n'existe pas à notre connaissance de données expérimentales permettant de définir avec précision pour la population française les valeurs moyennes de durée de la baignade ni la fréquence des bains par jour et par année. Cependant, plusieurs auteurs internationaux ont tenté de déterminer ces paramètres ainsi que les volumes d'eau ingérés. Schijven et De Roda Husman (2006), aux Pays-Bas, ont estimé que le volume d'eau ingéré moyen lors d'une plongée est de l'ordre de 10 mL. Dorevitch *et al.* (2011) ont déterminé les volumes d'eau ingérés en fonction de l'activité nautique pratiquée (aviron, canoë, kayak) dans la région de Chicago. Les volumes ingérés, même en cas de chavirage de l'embarcation, sont tous inférieurs à 10 mL. Plus récemment, Owen *et al.* (2018) estiment que le volume d'eau ingéré de façon accidentelle lors d'un bain en eau douce est de 50 mL.h<sup>-1</sup> pour les enfants de moins de 6 ans. Enfin, DeFlorio-Barker (2018) estime que le volume d'eau ingéré médian lors d'un bain en eau douce est de 30 mL pour les enfants de 6 à 12 ans, de 18 mL pour les enfants de 13 à 18 ans et d'environ 7 mL pour les adultes.

**Ainsi, les volumes d'eau ingérés par bain assignés par défaut pour les risques aiguë et subchronique ont été fixés à :**

- **50 mL pour les enfants de moins de 6 ans, tel que proposé par Owen *et al.* (2018) car les experts ont considéré que ce volume était le plus représentatif d'une activité de baignade en eau douce pour cette classe de la population ;**
- **30 mL pour les enfants de 7 à 14 ans, de 18 mL pour les enfants de 15 à 17 ans et de 7 mL pour les adultes (DeFlorio-Barker, 2018).**

### 13.3.3 Durée et fréquence d'exposition

La notion de durée d'exposition définit le temps durant lequel l'exposition est susceptible d'entraîner des effets toxiques. Le choix de la durée d'exposition dépend donc du type d'effet étudié.

#### 13.3.3.1 EDCH

En France, les filières de traitement qui utilisent de l'eau de retenues sont en général conçues pour éliminer les algues et les toxines. L'exposition aux microcystines et à l'ensemble des autres cyanotoxines devrait donc être de courte durée. Les experts ont donc retenu comme durée d'exposition *via* l'eau de boisson une valeur de 1 jour en cas d'ingestion unique (exposition aiguë pour l'ATX et la STX) et une durée 30 jours dans le cas d'exposition répétée dans le temps (exposition subchronique pour la MC et la CYN).

Le tableau LI résume les différentes valeurs paramétriques retenues pour élaborer les scénarios d'exposition dans l'EDCH.

**Tableau LI : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour l'EDCH**

Populations	Masse corporelle (en kg)	Ratios de la consommation hydrique totale quotidienne rapportée à la masse corporelle (au P95) <sup>1</sup> (L/kg m.c./j)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	0,131	1	30
7-10 ans	29	0,059	1	30
11-14 ans	46	0,053	1	30
15-17 ans	62	0,030	1	30
Adulte de plus de 18 ans	70	0,031	1	30

<sup>1</sup> données issues de l'étude INCA3 (Anses, 2019d) ; P95 : 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution

#### 13.3.3.2 Eaux récréatives

La notion de bain unique sur une journée est probablement erronée aux périodes les plus longues et chaudes de l'année, pour lesquelles plusieurs bains par jour peuvent avoir lieu notamment pour les enfants. En l'absence de données expérimentales publiées sur la durée et la fréquence des bains, ces paramètres ne peuvent être définis qu'en utilisant des valeurs par défaut. Selon les organismes de sécurité sanitaire tels que l'US EPA ou Santé Canada, les enfants de moins de 10 ans et les adolescents représentent les catégories de la population les plus exposées compte tenu de leur temps passé dans l'eau, estimé en moyenne à 2 h par jour lors de l'activité, ainsi que de leur manque de maîtrise des pratiques aquatiques pour les premiers et de la pratique régulière d'activité nautique au cours de l'année pour les seconds (Vial, 2004 ; Stat-INFO, 2005 ; Dufour *et al.*, 2017).

L'US EPA estime que les enfants de 6 à 11 ans passent en moyenne 6 h par jour dans l'eau et les enfants de 11-16 ans 3,8 h/j (US-EPA 2014). Owen *et al.* (2018) estime que les enfants de moins de 6 ans se baignent en moyenne pendant une durée de 79 min par jour.

Une étude pour caractériser l'exposition aux cyanobactéries et aux cyanotoxines sur des plans d'eau à usage récréatif, effectuée en France en 2004, a permis de déterminer les modalités d'exposition aux cyanobactéries en fonction de l'activité pratiquée (Tableau LII) (Vial, 2004).

Tableau LII : modalités de pratique des activités aquatiques

Activité	Cadre	Classe d'âge	Fréquence de l'activité	Durée (h)
Baignade	Loisir	Tout âge	Selon les individus	0 à 6
Plongée	Entraînement	Adulte (>25 ans)	Ponctuelle	0,5
Canoë-kayak	Loisir-promenade	Toute âge (>8ans)	Ponctuelle	1
	Scolaire encadrée	8 à 15 ans	1 fois par semaine pendant un trimestre	1 à 2
	Club	Tout âge (>8 ans)	1 à 5 fois par semaine	1 à 2
	Stages d'été	Tout âge (>8 ans)	1 semaine, 2h/j	2
Rafting	Loisir	Tout âge (>8 ans)	Ponctuelle	1
	Scolaire	Tout âge (>8 ans)	1 fois par semaine pendant un trimestre	1 à 2
Voile	Scolaire	Jeune (7-15 ans)	3 demi-journées sur une semaine	2 à 3
	Loisir	Tout âge (>7 ans)	Répétée 1 à 2 fois par semaine	2 à 3
Planche à voile	Scolaire	Jeune (7-15 ans)	3 demi-journées sur une semaine	2 à 3
	Loisir	Tout âge (>7 ans)	Ponctuelle	2 à 3
Canoë-kayak et voile	Moniteur	20-30 ans	Régulière et répétée	3 à 6

**Au vu des résultats de ces différentes études, les experts retiennent les durées moyennes d'immersion dans l'eau par jour pour les enfants proposées par Owen et Sunger (2018) pour les enfants de moins de 6 ans et les durées moyennes proposées par DeFlorio-Baker *et al.* (2018) pour les enfants de plus de 6 ans et les adultes, quelle que soit l'activité pratiquée. Les expositions répétées ont été estimées à 15 jours par an pour un vacancier pendant un séjour de vacances. Pour un riverain séjournant sur place, la durée de l'exposition est estimée à 30 jours par an.**

Le tableau LIII résume les valeurs paramétriques retenues pour élaborer les scénarios d'exposition dans les eaux récréatives.

Tableau LIII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour les eaux récréatives

Populations	Masse corporelle (en kg)	Volume d'eau ingéré par bain (en mL)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	50 <sup>1</sup>	1	15 ou 30
7-10 ans	29	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
11-14 ans	46	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
15-17 ans	62	18 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
Adulte plus de 18 ans	70	7 <sup>2</sup>	1	15 ou 30

<sup>1</sup> Owen et Sunger, 2018 – <sup>2</sup> DeFlorio-barker *et al.*, 2018



### 13.3.4 Consommation de poissons d'eau douce

L'évaluation des risques liée à la consommation de poissons d'eau douce est détaillée dans le chapitre suivant.

## 13.4 Caractérisation du risque

Pour pouvoir mener une évaluation quantifiée des risques liés à la contamination de l'EDCH, des eaux récréatives et des poissons d'eau douce par les cyanotoxines, il conviendrait de pouvoir appréhender les niveaux de contamination de chacune des matrices et les parts attribuables à chacune d'entre elles. Les données concernant les concentrations en cyanotoxines des EDCH et des eaux douces proviennent essentiellement du contrôle sanitaire des eaux. Il n'existe pas en France de système de surveillance de la contamination des poissons d'eau douce. Les experts ont jugé peu probable une exposition cumulée et simultanée par l'EDCH, les eaux récréatives et la consommation de poisson d'eau douce. Par ailleurs, la contribution de l'exposition aux cyanotoxines par d'autres voies d'exposition que l'ingestion est possible mais n'a pas été considérée dans ces travaux. Pour la suite des travaux, la contribution hydrique a donc été considérée de 100 % comme celle des poissons d'eau douce.

### 13.4.1 Estimation d'une concentration maximale tolérable de cyanotoxines dans les eaux

#### 13.4.1.1 EDCH

Les données de concentration en cyanotoxines quantifiées sont peu nombreuses dans la base SISE-Eaux. Sur les 7242 résultats d'analyses concernant les microcystines, seules 301 sont quantifiées et ils se répartissent de la façon suivante : 291 résultats d'analyses correspondant à des eaux de captage ou de mélange de captage et 10 résultats d'analyses à des eaux mises en distribution. Il en est de même pour les autres cyanotoxines puisque sur les 2067 résultats d'analyses concernant la cylindrospermopsine, aucun n'est quantifié, et sur les 2031 résultats de départ concernant la saxitoxine, deux seulement sont quantifiés et ils correspondent à des eaux de captage.

Au vu de la faible représentativité des données de contamination de l'EDCH par les cyanotoxines contenues dans la base SISE-Eaux, les experts ont décidé de ne pas réaliser de calcul de risque.

En revanche, des concentrations maximales tolérables (CMT) pour chaque catégorie de la population et pour chaque cyanotoxine ont pu être déterminées à partir des scénarii d'exposition décrits précédemment.

La mise à jour des données toxicologiques n'ayant pas permis d'actualiser la valeur toxicologique de référence de l'anatoxine-a, le calcul de la CMT n'a pas pu être effectuée pour cette cyanotoxine.

L'objectif de ce calcul est d'estimer la CMT en cyanotoxines permettant de garantir l'absence d'effets adverses sur la santé lors d'une ingestion unique ou lors d'ingestions répétées durant une année. Dans tous les cas, la CMT découle des VTR et des scénarios d'exposition décrits dans le paragraphe précédent, selon la formule suivante :

$$\text{CMT} = \text{VTR} \times \text{P} / \text{V}$$

CMT = concentration maximale tolérable de cyanotoxine dans l'eau

VTR = valeur toxicologique de référence en  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$

P = masse corporelle en kg

V = volume d'eau ingéré par jour L.  $\text{j}^{-1}$

Les calculs des CMT pour la MC et la CYN n'ont pas été pondérées par la durée d'exposition considérée (30 jours) car les VTR construites sont des VTR subchroniques qui peuvent être appliquées pour des durées d'exposition comprises entre 15 et 364 jours (Anses, 2017a).

Le Tableau LIV présente les valeurs de CMT de trois cyanotoxines (MC, CYN et STX) dans l'EDCH permettant de garantir l'absence d'effet néfaste lors d'une exposition aiguë ou subchronique en fonction de l'âge et du poids des individus, selon les scénarii définis précédemment.

**Tableau LIV : concentration maximale tolérable de cyanotoxines (microcystine, cylindrospermopsine et saxitoxine) dans l'EDCH**

Population	CMT <sub>MC</sub> ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	CMT <sub>CYN</sub> ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	CMT <sub>SAX</sub> ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
	Subchronique	subchronique	aigü
Enfant jusqu'à 6 ans	0,008	1	0,8
7-10 ans	0,019	2,6	1,9
11-14 ans	0,033	4,7	3,3
15-17 ans	0,032	4,5	3,2
Adulte plus de 18 ans	0,027	3,8	2,7

Les calculs montrent que, quelle que soit la cyanotoxine considérée, ce sont les enfants de moins de 6 ans qui sont les plus exposés. Les valeurs, qui seront reprises comme valeurs guides dans les recommandations de l'Agence, sont celles obtenues pour cette population. À noter que ces valeurs sont protectrices dans l'hypothèse de calcul, l'exposition aux cyanotoxines se faisant entièrement *via* l'eau de boisson.

#### 13.4.1.2 Eaux récréatives

La base SISE-Baignades regroupe les résultats du contrôle sanitaire des eaux de baignade. Sur les 2010 résultats d'analyses concernant les microcystines (tous variants confondus), 758 sont quantifiés. La base SISE-Baignades ne contient aucune valeur quantifiée pour les cylindrospermopsines pour les baignades en eau douce et pour les saxitoxines ; seuls neuf résultats d'analyses sont disponibles sur la période 2010-2017, la valeur de la médiane pour cette cyanotoxine étant de  $1,13 \mu\text{g.L}^{-1}$  toutes méthodes analytiques confondues.

Comme pour les EDCH, les experts ont estimé que les résultats d'analyses de cyanotoxines dans les eaux récréatives à disposition étaient peu robustes et qu'il n'était donc pas possible de caractériser le risque. Comme précédemment, des CMT, permettant de garantir l'absence d'effets néfastes pour chacune des classes de la population définies dans les scénarii d'exposition, ont été calculées pour chacune des toxines, pour les eaux récréatives (Tableau LV).

Comme dans le cas des EDCH, les calculs des CMT pour la MC et la CYN n'ont pas été pondérées par la durée d'exposition (15 jours pour les vacanciers, 30 jours pour les résidents) car les VTR construites sont des VTR subchroniques qui peuvent être appliquées pour des durées d'exposition comprises entre 15 et 364 jours (Anses, 2017a). Les calculs de CMT ont été effectués en ne considérant qu'un bain par jour, le volume d'eau ingéré par bain a été considéré comme le volume d'eau ingéré par jour quelle que soit la durée du bain.

**Tableau LV : concentrations maximales tolérables calculées pour trois cyanotoxines (microcystine, cylindrospermopsine et saxitoxine) et pour chaque classe de population considérée**

Population	CMT <sub>MIC</sub> (µg.L <sup>-1</sup> ) subchronique	CMT <sub>CYN</sub> (µg.L <sup>-1</sup> ) subchronique	CMT <sub>SAX</sub> (µg.L <sup>-1</sup> ) aigü
Enfant jusqu'à 6 ans	0,3	42	30
Enfant 7-10 ans	0,97	135	97
11-14 ans	1,53	215	153
15-17 ans	3,44	482	344
Adulte de plus de 18 ans	10	1400	1000

Parmi la population générale, les sujets les plus sensibles aux cyanotoxines *via* les eaux récréatives sont les enfants de moins de six ans, qui représentent également la classe de la population la plus exposée à ce type d'eau. En effet, les enfants de moins de 6 ans représentent la classe d'âge de la population qui passe le plus de temps en contact avec l'eau et qui présente la plus grande probabilité d'ingérer accidentellement de l'eau. De plus, ils sont les plus à même d'être en contact avec de grandes quantités de cyanobactéries car ils jouent le plus souvent dans les zones peu profondes favorables au développement ou à l'accumulation des cyanobactéries.

### 13.4.2 Estimation des incertitudes

#### Sur-estimation du risque

L'estimation des VTR tient compte des facteurs d'incertitude qui correspondent aux différentes transpositions et extrapolations intra-ou inter-espèces ou à l'absence de données. Ces facteurs d'incertitude constituent des marges de sécurité, notamment en cas d'extrapolation des données de l'animal à l'Homme. *In fine*, ces facteurs de sécurité rendent plus protectrice l'évaluation du risque. Les calculs de risque présentés tiennent compte d'une part attribuable à l'eau de 100 % pour chaque usage donc maximise le risque.

Par ailleurs, les données relatives à la biodisponibilité chez l'Homme des différentes toxines ne sont pas connues. L'hypothèse d'une absorption de 100 % a été retenue pour l'ingestion, ce qui tend à majorer le risque.

Enfin, les durées et les fréquences d'exposition, ainsi que les volumes d'eau ingérés ont pu être surestimés par rapport à la réalité. Certaines populations n'ingèrent pas de tels volumes d'EDCH par jour ou ne se baignent pas sur de si longues périodes, ce qui tend de nouveau à majorer le risque.

#### Sous-estimation du risque

Les expositions par voie cutanéomuqueuse et par inhalation n'ont pas été prises en compte faute de données de contamination et de VTR, ainsi que de l'absence de méthodologie pour la voie cutanéomuqueuse et de l'absence de coefficients de perméabilité pour les différentes toxines considérées. Ceci peut contribuer à une sous estimation du risque associée aux activités récréatives en lien avec l'eau.

De même, l'effet de mélange de différentes toxines et/ou de différents variants d'un même groupe n'a pas pu être estimé, du fait de l'absence de données toxicologiques et/ou de données de contamination, ce qui tend potentiellement à sous-estimer le risque.

### 13.4.3 Synthèse des valeurs guides

En l'absence de données de concentrations en cyanotoxines statistiquement représentatives dans les bases SISE-Eaux et SISE-Baignades, le groupe d'experts a choisi de déterminer la concentration maximale tolérable au-delà de laquelle un risque pour la santé de la population pourrait apparaître. Ces concentrations permettront de fixer des valeurs guides pour chaque toxine et pour chaque usage (EDCH, eaux récréatives, consommation de poissons d'eau douce - cf chapitre suivant).

Les experts proposent de fixer les valeurs guides suivantes pour chaque toxine pour lesquelles on dispose d'une VTR et par usage considéré (tableau LVI). Les valeurs prennent en compte les toxines (dissoutes et particulaires) et le seuil proposé représente la somme de tous les variants.

Compte tenu de la très faible valeur de CMT calculée pour la MC pour les EDCH, il est proposé de fixer comme valeur guide le seuil analytique actuellement atteignable par les laboratoires agréés au titre du contrôle sanitaire des eaux en France. Les limites de quantification moyennes et médianes actuellement atteintes sont de 0,2 µg.L<sup>-1</sup> pour la MC-LR.

Devant l'impossibilité de calculer une CMT pour l'anatoxine-a, les experts ont choisi, par mesure de protection et compte tenu du risque engendré par l'ingestion d'anatoxine-a, de proposer comme valeur guide, la limite de détection pouvant être atteinte actuellement par les laboratoires agréés au titre du contrôle sanitaire des eaux en France.

**Tableau LVI : concentrations maximales tolérables en cyanotoxines proposées pour l'EDCH et les eaux récréatives**

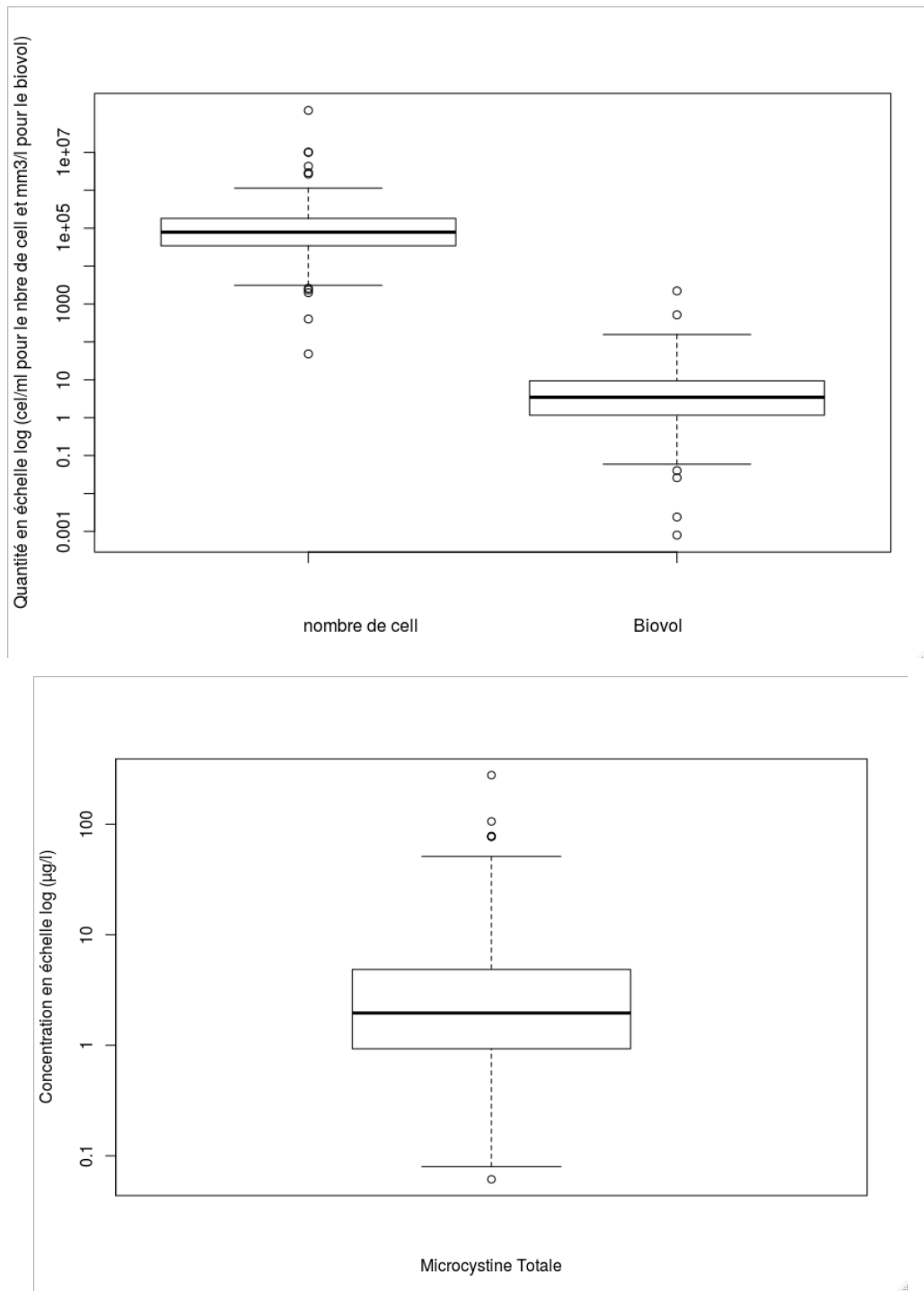
	Microcystine µg.L <sup>-1</sup>	Cylindrospermopsine µg.L <sup>-1</sup>	Saxitoxine µg.L <sup>-1</sup>	Anatoxine-a µg.L <sup>-1</sup>
EDCH	0,2	1	0,8	LD
Eaux récréative	0,3	42	30	LD

## 13.5 Élaboration des seuils de gestion

Bien que les bases de données ne soient pas assez robustes pour être exploitées, elles donnent néanmoins des informations intéressantes et suffisantes pour déterminer des corrélations entre biomasse et dénombrement de cyanobactéries.

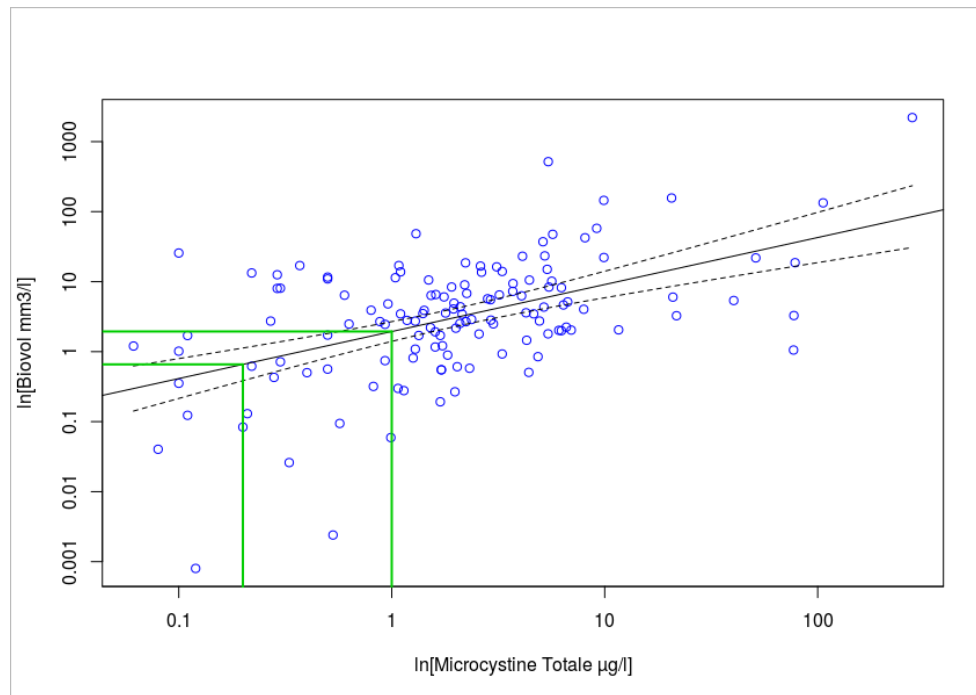
Les données relatives aux dénombrements cellulaires des genres potentiellement toxiques contenues dans la base SISE-Baignades ont été converties en biovolumes à l'aide de biovolume unitaire standard par genre (voir la liste en annexe 8). Les biovolumes sont ensuite sommés afin de disposer d'une seule valeur de biovolume total par échantillon (en mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>). Les microcystines, étant les toxines dont on dispose le plus de valeurs dans les bases, ont été retenues pour les analyses. Elles sont exprimées en microgrammes par litre de microcystines totales (somme des variants disponibles en µg.L<sup>-1</sup>). Pour perdre le moins de données possible, les valeurs LB (limite basse de la somme des variants) sont utilisées. Ces données correspondent alors dans certains cas à la somme de limites de quantification et ne représentent pas des valeurs vraies, ce qui constitue une limite pour les traitements statistiques. Le jeu de données contient 133 couples de données (biovolume total – microcystines totales). Les graphiques suivants (figure 68) illustrent la distribution des nombres de cellules par millilitre, des biovolumes et des concentrations en microcystines totales. On note que les concentrations en microcystines couvrent une gamme de 0,06 à 278 µg.L<sup>-1</sup> avec une médiane à 1,96 µg.L<sup>-1</sup>. Les dénombrements cellulaires varient de 48 à 127 410 000 cell.mL<sup>-1</sup> avec une médiane

de 78 469 cell.mL<sup>-1</sup>. Enfin, les sommes de biovolumes se répartissent entre 0,0008 et 2 205 mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup> avec une médiane de 3,46 mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>.



**Figure 68 : distribution des nombres de cellules (cell.mL<sup>-1</sup>), biovolumes (mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>) et concentrations en microcystines (µg.L<sup>-1</sup>) en échelle log de la base SISE-Baignades**

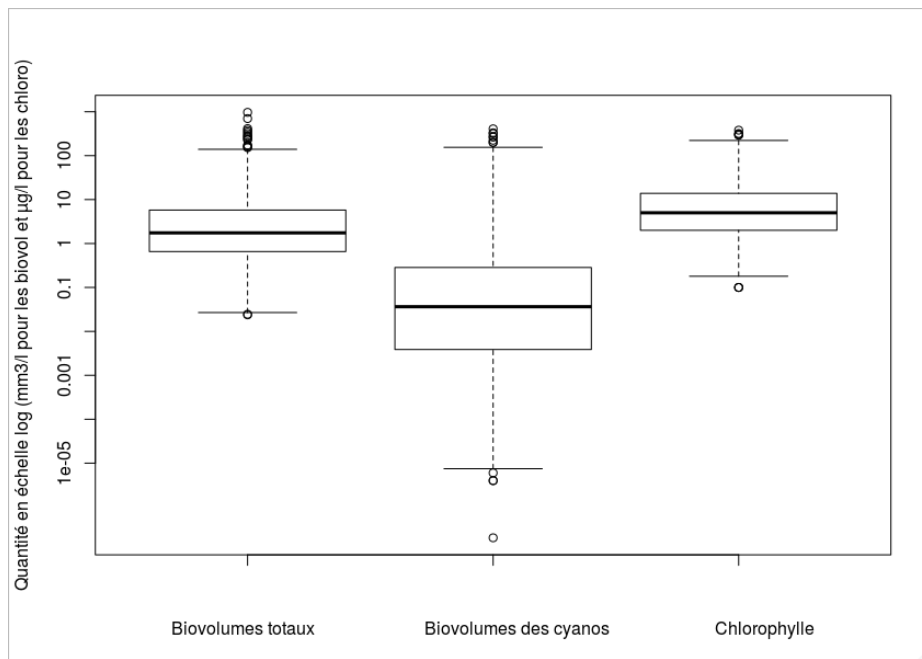
Le coefficient de corrélation de Pearson entre les biovolumes et les concentrations en microcystines est de 0,83, ce qui signifie que 69,3 % ( $100 \times \text{Coef}^2$ ) des variations de la concentration en microcystines est expliqué par les variations des biovolumes. La corrélation entre les dénombrements cellulaires ( $\text{cell.mL}^{-1}$ ) et les microcystines donnent des résultats similaires. Il est alors envisageable de représenter graphiquement cette relation (figure 69) afin d'obtenir une équation permettant de définir des seuils en biovolume à partir des seuils de microcystines à ne pas dépasser, construits précédemment.



**Figure 69 : relation entre les concentrations en microcystines et les biovolumes en cyanobactéries (en échelle log). La ligne continue représente le modèle d'équation  $Y (\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}) = e^{[0,67155x[\ln X(\mu\text{g/L})] + 0,66227]}$ . Les lignes en pointillées représentent l'intervalle de confiance à 95 % du modèle. Les lignes vertes représentent les valeurs recherchées en microcystines de 0,2 et 1  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$**

La régression linéaire est significative avec un  $r^2=0,25$  ( $p\text{-value}=3,85e^{-10}$ ). Elle a pour équation  $Y (\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}) = e^{[0,67155x[\ln X(\mu\text{g/L})] + 0,66227]}$ . Y est la valeur de biovolume recherché et X la concentration en microcystines. Cette régression permet de dériver les valeurs de référence en biovolumes correspondant aux concentrations de 0,2 et 0,3  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  définies précédemment. Ainsi, nous obtenons 0,658 et 0,86  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  respectivement. Ces valeurs sont arrondies à 0,65 et 1  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  pour les arbres décisionnels.

De la même manière, il est possible de définir un seuil limite de chlorophylle-a à partir duquel des mesures de gestion peuvent être mise en place, notamment pour les eaux de baignade. Les bases SISE ne comportant pas de données de chlorophylle, la base nationale des relevés phytoplancton en plan d'eau de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE) a été utilisée à la place. Cette dernière comporte 1879 données de biovolumes de phytoplancton avec une mesure de concentration en chlorophylle-a simultanée répartie sur l'ensemble du territoire métropolitain. Le graphique suivant (figure 70) illustre la distribution des paramètres biovolumes totaux, biovolumes de cyanobactéries et concentrations en chlorophylle-a de la base. Les biovolumes totaux varient de 0,024 à 967,27  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  avec une médiane de 1,748  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ . Ceux de cyanobactéries couvrent la gamme de 0 à 407,749  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  et présentent une médiane de 0,036  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ . Enfin, les concentrations en chlorophylle-a se répartissent entre 0,10 et 380,00  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  avec une médiane à 5,00  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ .



**Figure 70 : distribution des biovolumes totaux et de cyanobactéries ( $\text{mm}^3\cdot\text{L}^{-1}$ ) et concentrations en chlorophylle-a ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) en échelle log de la base DCE-Plan d'eau**

Le coefficient de corrélation ( $r^2$ ) de Pearson entre les biovolumes de cyanobactéries et les concentrations en chlorophylle-a est de 0,45. La corrélation est très faible bien que significative ( $p\text{-value} < 2,2\text{e}^{-16}$ ). La représentation graphique (figure 71) permet de définir le seuil de chlorophylle-a correspondant à la valeur de biovolume à ne pas dépasser ( $0,86 \text{ mm}^3\cdot\text{L}^{-1}$ ) pour les eaux de baignade soit  $9,76 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . La valeur est arrondie à  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de chlorophylle-a. Ce seuil est donc retenu pour la surveillance des eaux de baignade.

Pour les EDCH, aucun seuil de gestion chlorophylle-a n'est retenu. En effet, un seuil calculé sur le même principe que pour les eaux de baignade aurait été trop faible et aurait impliqué une entrée en vigilance systématique. Néanmoins, un dosage de la chlorophylle-a peut être recommandé dans un objectif d'acquisition de connaissance et de suivi de l'évolution de l'état des ressources.

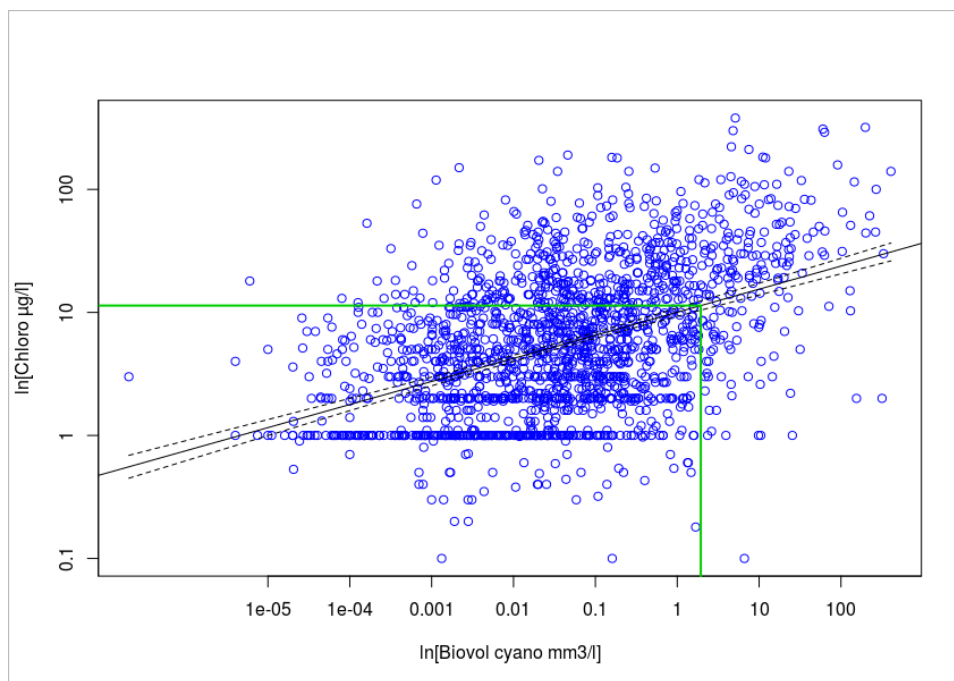


Figure 71 : corrélation entre les biovolumes de cyanobactéries et les concentrations en chlorophylle-a (en échelle log). La ligne continue représente le modèle d'équation  $Y (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = e^{[0,187561 \times \ln X (\text{mm}^3/\text{L})] + 2,306044}$ . Les lignes en pointillées représentent l'intervalle de confiance à 95% du modèle. La ligne verte représente la valeur recherchée de  $1,939 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$



## 14 Estimation de l'exposition *via* la consommation de poisson d'eau douce

La consommation de la chair d'organismes aquatiques tels que les poissons, les crustacés et les mollusques représente également une source d'exposition aux cyanotoxines présentes en milieu aquatique car elles peuvent s'accumuler dans ces organismes. Chez les poissons, l'accumulation des toxines se fait essentiellement dans les muscles et le foie.

### 14.1 Méthodologie de travail

#### 14.1.1 Méthode de calculs pour proposer des fréquences de consommation en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsine dans la chair de poisson n'entraînant pas de dépassement de la valeur toxicologie de référence (risque subchronique)

Afin de proposer des seuils sanitaires dans les poissons au regard de la contamination par les cyanotoxines, il a été pris en compte les éléments suivants :

- La Valeur Toxicologie de Référence (VTR) subchronique pour la microcystine-LR (MC-LR) élaborée par l'Anses dans son avis du 7 janvier 2019 après consultation du Comité d'Experts Spécialisé « Valeurs Sanitaires de Référence » (CES VSR). Cette VTR est de 1 ng/kg pc/j.
- La VTR subchronique pour la cylindrospermopsine (CYN) élaborée par l'Anses dans son avis du 7 janvier 2019 après consultation du CES VSR. Cette VTR est de 140 ng/kg pc/j.
- Les données de consommation de poissons des études INCA2 (Afssa, 2009b) et BEBE SFAE 2005 (Fantino et Gourmet, 2008).

Plusieurs méthodologies ont été explorées. Celle retenue propose d'associer la concentration en MC-LR dans la chair de poisson à une fréquence de consommation à ne pas dépasser pour que l'exposition soit inférieure à la VTR, pour différentes catégories de la population : les enfants de 6 mois à 3 ans, les enfants de 4 à 10 ans, les enfants de 11 à 17 ans et les adultes. Cette fréquence de consommation de poisson a été calculée en utilisant l'équation 1 et en faisant varier le niveau de contamination en MC-LR dans la chair de poisson de 0 à 500 µg/kg.

La méthodologie suivie pour la CYN est la même que pour la MC-LR. La fréquence a été calculée en utilisant l'Équation 1 et en faisant varier le niveau de contamination en CYN dans la chair de poisson de 0 à 76 mg/kg.

En l'absence d'information concernant une plus grande sensibilité des enfants, la même VTR s'applique aux estimations pour les adultes et pour les enfants.

Enfin, faute de données suffisantes, il n'a pas été possible de proposer de VTR aiguë permettant de caractériser les risques liés à une exposition au cours d'un repas à de fortes concentrations de MC-LR ou de CYN dans la chair de poisson.

$$Fq = \frac{VTR \times PC}{TP \times C} \times 365 \quad (\text{Équation 1})$$

*Fq* : fréquence annuelle de consommation de poisson (nombre de fois / an)

*VTR* : valeur toxicologique de référence (1 ng/kg pc/j pour la MCR-LR, 140 ng/kg pc/j pour la CYN)

*PC* : poids moyen de la population considérée (kg)

*TP* : taille de portion moyenne de poisson (g)

*C* : concentration en MC-LR ( $\mu\text{g/kg}$  de poids frais) ou en CYN ( $\text{mg/kg}$  de poids frais)

Note : la fréquence a été estimée par an, sans tenir compte de l'historique des efflorescences.

La taille de portion moyenne de poisson (en général) ainsi que le poids moyen des individus ont été calculés pour chaque classe d'âge (tableau LVII) à partir des données recueillies dans l'étude individuelle et nationale sur les consommations alimentaires INCA2 (Afssa, 2009b) et dans l'étude BEBE SFAE 2005 (Fantino et Gourmet, 2008). Ces données de consommation ne sont pas disponibles pour les poissons d'eau douce spécifiquement.

L'étude INCA2 a inclus 2 624 adultes et 1 455 enfants (Afssa, 2009b). La sélection des participants a été réalisée selon un plan de sondage à trois degrés et stratifié selon le degré d'urbanisation et la région. La base de sondage utilisée pour tirer les logements est le Recensement Général de la Population de 1999 (RP99) de l'Institut national de la statistique et des études économiques (INSEE) complété par les bases BSLN (Base de sondage des logements neufs) et SITADEL (Système d'information et de traitement automatisé des données élémentaires sur les logements et les locaux) pour les logements construits après 1999. La méthodologie du plan de sondage et le tirage des fiches adresses ont été réalisés par l'INSEE. Deux populations distinctes ont été incluses dans l'étude : les enfants de 3 à 17 ans et les adultes de 18 à 79 ans. Le recueil des consommations alimentaires a été réalisé avec un carnet de consommation de 7 jours consécutifs. Chaque journée était décomposée en 3 repas et 3 prises inter-repas. Pour chaque prise ou repas, le participant devait décrire le détail de tous les aliments et boissons consommés, estimer la quantité consommée à l'aide d'un manuel de photographies de portions, ou de mesures ménagères ou encore de grammages ou volumes unitaires, et indiquer les informations sur le type de produit (industriel/faït maison, frais/boîtes de conserve/surgelé, enrichi/allégé/ou non). Les informations recueillies sur les carnets de consommation alimentaire et de compléments ont été vérifiées et harmonisées par des diététiciens.

L'étude BEBE SFAE 2005 est une étude TNS-Sofres-CHU Dijon réalisée pour le Syndicat Français des Aliments de l'Enfance (Fantino et Gourmet, 2008). Cette enquête transversale a été menée entre janvier et mars 2005, sur un échantillon national représentatif des nourrissons et enfants en bas âge français, non nourris au sein au moment de l'étude. Les enfants allaités, partiellement ou exclusivement, ont été exclus en raison de la difficulté à quantifier correctement la consommation de lait maternel. De plus, compte tenu des contraintes liées au recueil des consommations alimentaires, les enfants fréquentant une crèche collective ou une école durant les 3 jours suivant le recrutement ont également été exclus. Le recrutement des familles a été effectué selon un échantillonnage proportionnel sur la base de quotas définis à partir de différents critères : la région d'habitation, l'âge des enfants, l'activité professionnelle de la mère et la catégorie socioéconomique de la famille. Cette répartition a été établie grâce des données du recensement public de 2002 de l'INSEE. Les enfants ainsi sélectionnés ont été répartis en 11 classes d'âge avec un effectif visé de 60 enfants par classe d'âge. Pour chaque enfant, il a été demandé aux personnes (le plus souvent la mère, et/ou la nourrice, avec la participation du père) de noter l'ensemble des consommations alimentaires à l'aide d'un carnet alimentaire sur 3 jours consécutifs, incluant un jour de week-end. Les tailles de portion de chaque aliment consommé ont été déterminées à l'aide d'une balance, ou à l'aide d'informations portées sur l'emballage, ou par le biais de photographies de portions préparées dans le cadre de l'étude. Le poids corporel de chaque enfant a été relevé sur le carnet de santé. Au total 705 enfants ont été recrutés.

**Tableau LVII : estimation de la taille de portion moyenne de poisson et poids moyen dans la population**

Populations	Etudes	Tailles de portion moyennes (g)	Masse corporelle (kg)
Enfants de 6 mois à 3 ans	BEBE SFAE 2005	48	12,2
Enfants de 4 à 10 ans	INCA 2	72	25
Enfants de 11 à 17 ans	INCA 2	85	54
Adultes	INCA 2	94	70

#### 14.1.2 Méthode de calculs pour proposer une concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu)

La méthodologie a pris en compte les éléments suivants :

- La Valeur Toxicologie de Référence (VTR) aiguë pour la saxitoxine (STX) élaborée par le Comité d'Experts Spécialisé « Valeurs Sanitaires de Référence » (CES VSR) et adoptée lors de sa séance du 17 octobre 2019. Cette VTR est de 0,1 µg/kg pc/j.
- Les données de consommation de poissons des études INCA2 (Afssa, 2009b) et BEBE SFAE 2005 (Fantino et Gourmet, 2008).

La méthodologie suivie propose d'estimer la concentration maximale en STX dans la chair de poisson à ne pas dépasser pour que l'exposition associée à une taille de portion élevée (percentile 95 ou 97,5) soit inférieure à la VTR aiguë, pour différentes catégories de la population : les enfants de 6 mois à 1 an, les enfants de 1 à 3 ans, les enfants de 4 à 10 ans, les enfants de 11 à 17 ans et les adultes. Les tailles de portion sont issues des études INCA 2 (Afssa, 2009b) et BEBE SFAE 2005 (Fantino et Gourmet, 2008) présentée dans le tableau LVIII.

En l'absence d'information concernant une plus grande sensibilité des enfants, la même VTR s'applique pour les adultes et pour les enfants.

Enfin, faute de données suffisantes, il n'a pas été possible de proposer de VTR chronique permettant de caractériser les risques liés à une exposition à la STX dans la chair de poisson sur le long terme.

**Tableau LVIII : taille de portion (g) de poisson selon la population aux percentiles 95 et 97,5**

Distribution	Tailles de portion (g) par classe d'âge				
	Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 1 an à 3 ans	Enfants de 6 mois à 1 an
<b>P95</b>	190	190	150	122	84
<b>P97,5</b>	224	200	200	150	92

La concentration maximale n'entraînant pas de dépassement de la VTR aiguë est estimée grâce à l'Équation 2.

$$C = \frac{VTR \times PC}{TP} \quad (\text{Équation 2})$$

*VTR* : valeur toxicologique de référence (0,1 µg/kg pc/j)

*TP* : taille de portion de poisson (g) au P95 ou P97,5

*PC* : poids moyen de la population considérée (kg)

*C* : concentration en STX ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  de poids frais)

### 14.1.3 Modalités de suivi de la contamination des poissons par les cyanotoxines

Afin de proposer des modalités de suivi de la contamination des poissons par les cyanotoxines, la méthodologie a pris en compte les éléments suivants :

- Un objectif principal de mettre en place un plan d'échantillonnage de poissons afin d'estimer les niveaux de contamination en cyanotoxines (MC-LR, CYN, STX, ATX-a) dans la chair.
- Les données de contamination en MC-LR de poissons d'eau douce, issues d'une étude menée en Lituanie (Bukaveckas et al. 2017). Le GT n'ayant pas identifié de données françaises de contamination des poissons, ces données ont été utilisées à titre d'illustration de la démarche proposée.

Bukaveckas *et al.* (2017) ont étudié l'estuaire de la rivière James (un sous-estuaire de la baie de Chesapeake aux USA) et la lagune de Curonian (un sous-estuaire de la mer Baltique en Lituanie) afin de mieux comprendre les facteurs qui déterminent la présence et la persistance de cyanotoxines dans les réseaux alimentaires. Sur une période de 2 ans, les microcystines ont été mesurées dans l'eau, les sédiments et le biote (poissons et coquillages) dans les deux sites. Ces sites ont été choisis en fonction de leur réseaux trophiques bien décrits et de leurs antécédents bien connus d'apparition de cyanobactéries toxiques et de la présence de pêches commerciales et récréatives sur les sites.

Les communautés phytoplanctoniques de la lagune de Curonian sont caractérisées par des proliférations de cyanobactéries pendant l'été, par vent faible. Des échantillons de poissons ont été prélevés en septembre 2013, mai 2014 et août 2014 pour représenter les conditions post-, pré- et pendant l'efflorescence. Six espèces de poissons appartenant à trois niveaux trophiques ont été sélectionnées : les carnassiers avec le sandre (*Sander lucioperca*) et la perche<sup>53</sup> d'Europe (*Perca fluviatilis*), les omnivores benthiques avec le gardon (*Rutilus rutilus*) et la brème (*Abramis brama*), et les planctonivores avec la carpe sabre (*Pelecus cultratus*) et l'ablette (*Alburnus alburnus*) (tableau LIX). Les poissons ont été capturés à l'aide de filets maillants déployés de 2 à 4 m de profondeur. Les carpes sabres ont été obtenues grâce aux pêcheurs professionnels. Le dosage des microcystines a été effectué sur les tissus du muscle dorsal par la méthode ELISA-ADDA (Abraxis). Le test mesure de nombreuses formes de microcystines libres à l'aide d'anticorps polyclonaux, ce qui permet d'obtenir une quantification de tous les variants réactifs de la microcystine (exprimés en équivalents MC-LR) mais il ne permet pas de mesurer les microcystines liées aux protéines (de façon covalente). Au final, 206 valeurs de contamination ont été retenues dans le présent travail. Les données correspondent à des poissons adultes (les données relatives aux poissons juvéniles n'ont pas été retenues).

---

<sup>53</sup> Bukaveckas *et al.* (2017) ont classé la perche d'Europe parmi les poissons omnivores benthiques mais le GT a estimé qu'elle devait être classée parmi les poissons carnassiers.

**Tableau LIX : répartition du nombre d'individus considérés dans l'étude de Bukaveckas *et al.* (2017), à partir des données brutes transmises par les auteurs**

Période de collecte	Espèces de poissons						Total
	<i>Alburnus alburnus</i>	<i>Pelecus cultratus</i>	<i>Abramis brama</i>	<i>Rutilus rutilus</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	<i>Sander lucioperca</i>	
	Ablette	Carpe sabre	Brème	Gardon	Perche d'Europe	Sandre	
	Planctonivores		Omnivores benthiques		Carnassiers		
Post-efflorescence	5	11	26	19	10	14	85
Pré-efflorescence	15	7	7	5	14	7	55
Pendant l'efflorescence	7	11	7	15	15	11	66
Total	27	29	40	39	39	32	206

Pour la réalisation d'un plan d'échantillonnage, le nombre d'individus à prélever par espèce est défini à l'aide de l'Équation 3. Deux plans d'échantillonnage sont élaborés en tenant compte ou non de la période de collecte des données (post, pré et durant l'efflorescence).

$$n = \frac{|t|_{\alpha}^2 \times \sigma^2}{(i \times \mu)^2} \quad (\text{Équation 3})$$

- $n$  : le nombre d'individus nécessaire
- $\sigma^2$  : la variance de l'échantillon
- $i$  : la précision souhaitée
- $\mu$  : la moyenne de l'échantillon
- $\alpha$  : le risque de première espèce
- $|t|$  : la valeur de la statistique de Student à la probabilité de 5% avec un nombre de degrés de liberté dépendant de l'effectif de l'espèce (sous l'hypothèse de normalité)

## 14.2 Fréquences de consommation de poisson en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsine dans la chair de poisson

Les fréquences de consommation sont présentées dans un tableau à double entrées tenant compte de la population concernée ainsi que de la classe de concentration en MC-LR ou en CYN dans la chair de poisson.

### 14.2.1 Pour la microcystine-LR

Le tableau LX présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de 1 ng/kg pc/j en fonction du niveau de contamination en MC-LR dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration (compte tenu de l'incertitude de la mesure, il n'est pas nécessaire d'être plus précis).

Le tableau se lit comme suit :

- si la concentration en MC-LR est de 5 µg/kg dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 à 2 fois par semaine » pour les adultes, « 2 à 3 fois par mois » pour les enfants de 11 à 17 ans, « 1 fois par mois » pour les enfants de 6 mois à 10 ans ;
- si la concentration en MC-LR est de 50 µg/kg dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois tous les 2 mois » pour les adultes, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 11 à 17 ans, « 1 à 2 fois par an » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau LX : fréquences de consommation de poisson à ne pas dépasser selon la contamination en MC-LR, pour les adultes et les enfants**

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en MC-LR (µg/kg de poids frais)			
<b>Fréquences de consommation</b>	1 à 2 fois par semaine	[0 – 5]	[0 – 3]	[0 – 2]	[0 – 1]
	2 à 3 fois par mois	]5 – 10]	]3 – 6]	]2 – 3]	]1 – 3]
	1 fois par mois	]10 – 20]	]6 – 17]	]3 – 10]	]3 – 8]
	1 fois tous les 2 mois	]20 – 60]	]17 – 30]	]10 – 20]	]8 – 17]
	1 fois tous les 3 mois	]60 – 100]	]30 – 80]	]20 – 40]	]17 – 30]
	1 à 2 fois par an	]100 – 500]	]80 – 400]	]40 – 200]	]30 – 150]

Selon les données de la littérature (Anses 2016 et mise à jour à août 2019), la concentration moyenne la plus élevée rapportée en MC-LR dans le muscle de poisson en Europe est de  $119 \pm 33$  µg/kg de poids frais par méthode ELISA, chez la carpe en Grèce (Papadimitriou *et al.*, 2012).

**À noter :** les données de la littérature montrent que la concentration en MC-LR dans le muscle de poisson est très variable entre les individus et dans le temps (selon le moment du prélèvement par rapport à l'efflorescence). Il est donc recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 14.2.2 Pour la cylindrospermopsine

La méthodologie suivie pour la CYN est la même que pour la MC-LR. Le Tableau LXI présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de 140 ng/kg pc/j en fonction du niveau de contamination en CYN dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration.

Le tableau se lit comme suit :

- si la concentration en CYN est de 0,8 mg/kg dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 à 2 fois par semaine » pour les adultes, « 2 à 3 fois par mois » pour les enfants de 6 mois à 17 ans ;
- si la concentration en CYN est de 5 mg/kg dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois par mois » pour les adultes et les enfants de 11 à 17 ans, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau LXI : fréquences de consommation de poisson à ne pas dépasser selon la contamination en CYN, pour les adultes et les enfants**

Attention : les concentrations en CYN sont exprimées en  $\text{mg.kg}^{-1}$  (alors qu'elles sont exprimées en  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  pour la MC-LR)

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en CYN ( $\text{mg/kg}$ de poids frais)			
Fréquences de consommation	1 à 2 fois par semaine	[0 – 0,8]	[0 – 0,7]	[0 – 0,35]	[0 – 0,3]
	2 à 3 fois par mois	]0,8 – 3,5]	]0,7 – 3]	]0,35 - 1]	]0,3 – 1]
	1 fois par mois	]3,5 – 6]	]3 – 5]	]1 - 2,5]	]1 – 2]
	1 fois tous les 2 mois	]6 – 9]	]5 – 8]	]2,5 - 3,5]	]2 – 3]
	1 fois tous les 3 mois	]9 – 16]	]8 – 14]	]3,5 - 7]	]3 – 5]
	1 à 2 fois par an	]16 – 76]	]14 – 65]	]7 - 35]	]5 – 25]

L'analyse de la littérature (Anses 2016 et mise à jour à août 2019) n'a identifié qu'une seule étude rapportant une analyse de CYN dans le muscle de poisson en Europe. Les concentrations mesurées par ELISA dans deux échantillons de muscle de truites en Italie étaient de 0,1 et 0,8  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de poids frais (Messineo *et al.*, 2010).

**A noter** : il est recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 14.3 Concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu)

La VTR de la STX (0,1  $\mu\text{g/kg}$  pc) étant construite sur un effet aigu pouvant survenir après une seule prise alimentaire, la méthodologie suivie pour la STX est différente de celle suivie pour les MC et la CYN, dont les VTR sont construites sur un effet subchronique. Au lieu d'associer une fréquence de consommation à la concentration en cyanotoxines, c'est la concentration maximale en STX à ne pas dépasser dans la chair de poisson qui a été estimée à partir des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges (tableau LXII).

Le seuil sanitaire en STX dans les poissons pourra être défini par le gestionnaire du risque en fonction de l'objectif de santé publique recherché (P95 ou P97,5 de la population cible).

**Tableau LXII : estimation de la concentration maximale en STX à ne pas dépasser pour des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges**

		Classes d'âge	Concentration maximale en STX à ne pas dépasser ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids frais)
<b>P95 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	84 g	Enfants de 6 mois à 1 an	11
	122 g	Enfants de 1 à 3 ans	10
	150 g	Enfants de 4 à 10 ans	17
	190 g	Enfants de 11 à 17 ans	28
	190 g	Adultes	37
<b>P97,5 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	92 g	Enfants de 6 mois à 1 an	10
	150 g	Enfants de 1 à 3 ans	9
	180 g	Enfants de 4 à 10 ans	14
	200 g	Enfants de 10 à 17 ans	27
	224 g	Adultes	31

L'analyse de la littérature (Anses 2016 et mise à jour à août 2019) n'a identifié aucune étude rapportant une analyse de STX dans le muscle de poisson en Europe.

#### 14.4 Pour l'anatoxine-a

Concernant la contamination des poissons par l'anatoxine-a (ATX-a), les données de toxicité sont trop limitées pour pouvoir caractériser le danger pour l'Homme. Il n'a pas été possible d'élaborer une valeur sanitaire de référence. En conséquence, il n'est pas non plus possible d'émettre des recommandations relatives à des seuils sanitaires. Le mode d'action révèle un caractère neurotoxique puissant, avec une implication dans des épisodes de mortalités d'animaux. L'ATX-a est un agoniste cholinergique des récepteurs nicotiques à l'acétylcholine. Elle induit un blocage neuromusculaire et la contraction du muscle squelettique. La toxicité aiguë chez la souris montre des effets rapides avec paralysie musculaire et détresse respiratoire. Au regard de la toxicité aiguë de l'ATX-a, le GT recommande de ne pas consommer de poissons dès que la concentration mesurée est supérieure à la limite de détection de la méthode analytique.

Dans le cadre d'une étude réalisée par le Muséum national d'histoire naturelle (MNHN) en 2017<sup>54</sup>, des poissons ont été prélevés (2 brèmes, 2 gardons, 2 mulots et petite friture) sur 2 sites de la Loire et la concentration en ATX-a a été mesurée par spectrométrie de masse haute résolution (UHPLC-HRMS) dans le muscle, les viscères et l'encéphale. Ces données montrent que la concentration peut atteindre  $7642 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de poids frais dans le muscle de gardon. Les concentrations sont encore plus élevées dans l'encéphale, atteignant  $33\,591 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

#### 14.5 Corrélation des valeurs guides proposées pour la baignade à un risque lié à la consommation de poissons

Sur la base d'une revue systématique de la littérature, le rapport d'appui scientifique et technique « État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les

<sup>54</sup> Recherche de toxines de cyanobactéries (anatoxines et congénères) dans des prélèvements d'eau, les matrices de biofilms et les matrices de poissons (rapport du 21 décembre 2017, 22 p).



cyanotoxines » de l'Anses (2016) avait identifié une centaine d'articles susceptibles d'apporter des informations utiles. Cet important travail de synthèse avait mis en évidence les nombreuses carences notamment dans les connaissances des cinétiques de contamination et d'élimination des cyanotoxines par les poissons, ainsi que dans le lien potentiel avec la cinétique de prolifération des cyanobactéries.

Ce travail de synthèse a montré que :

- la très large majorité des travaux portent sur les microcystines (MC) ;
- la contamination des espèces piscicoles planctonivores semblent plus élevée que celle des carnassiers, même si certaines études tendent à montrer l'inverse ;
- au sein d'une même espèce, les individus de petites tailles apparaissent plus contaminés que ceux de grandes tailles ;
- les MC s'accumulent préférentiellement dans le foie et les viscères et dans une moindre mesure dans les tissus musculaires ;
- il n'était pas possible d'identifier de relation simple entre la contamination en MC dans le muscle et la dose ou la durée d'exposition aux cyanobactéries via l'eau environnante ;
- la cinétique d'élimination des cyanotoxines dans le muscle n'est pas connue et est sujette à controverses (i.e. les MC musculaires seraient éliminées en quelques jours selon certaines études, très lentement pour d'autres, alors que d'autres travaux ont observé des concentrations plus élevées dans le muscle plusieurs jours après la fin de l'exposition) ;
- les MC liées aux protéines peuvent représenter une part très importante des MC totales<sup>55</sup>, mais les informations quant à leur biodisponibilité et/ou leur redistribution au sein des organismes sont encore insuffisantes (selon certains auteurs, la mobilisation de ces toxines liées depuis le foie vers le muscle pourrait expliquer l'augmentation des concentrations musculaires observées parfois après l'arrêt de l'exposition).

Au regard de ces travaux, il apparaît alors impossible :

- d'établir un seuil de contamination de l'eau par les MC ou les cellules de cyanobactéries en-dessous duquel la contamination des muscles de poisson ne présenterait pas de risque sanitaire associé à leur consommation ;
- d'identifier une durée permettant une élimination significative des MC dans les muscles après l'épisode d'efflorescence de cyanobactéries.

Une actualisation de la revue systématique a été réalisée en février 2019 (annexe 3) et a permis d'identifier 144 nouveaux articles scientifiques traitant de la contamination des poissons d'eau douce par les microcystines. L'intégralité de ces travaux a fait l'objet d'une double lecture afin de sélectionner les articles éligibles sur la base de leur pertinence et de la fiabilité des méthodes analytiques, puis d'en extraire les données de contamination chez le poisson. Au final, 24 articles ont été jugés éligibles et un seul comportait des données quantitatives qui ont pu être incluses dans la base de données.

Aucun de ces nouveaux articles ne comporte d'information sur la cinétique de contamination des poissons que ce soit *via* l'eau ou par voie trophique.

Un article (Calado *et al.*, 2018) comporte des informations sur la cinétique d'élimination des microcystines chez une espèce d'intérêt piscicole non présente en Europe (*Geophagus brasiliensis*). Cinquante individus collectés dans un réservoir brésilien sujet à efflorescence cyanobactérienne ont été placés en aquarium dans une eau exempte de cyanotoxine. La teneur en MC dans le muscle a été mesurée par LC-MS/MS chez dix individus sacrifiés au bout de 0, 7, 15, 30 ou 90 jours. Après une diminution de la concentration musculaire en MC libres (somme de MC-LR, MC-RR et MC-YR) observée après 7 jours de dépuración, la concentration augmente au bout de 15 jours pour atteindre une concentration plus élevée que la concentration initiale à T0, avec un pic à 30 jours. Puis la concentration diminue à nouveau à 90 jours, à peu près à la moitié de la concentration initiale. Cet article confirme la complexité de la cinétique de dépuración des MC dans le muscle de poissons et

---

<sup>55</sup> Greer *et al.* (2017) ont estimé que 85% des MC totales dans le muscle de tilapia étaient sous forme liée.

montre qu'une longue période dans une eau non contaminée par les MC (jusqu'à 90 jours) ne permet pas de garantir l'élimination totale des MC libres accumulées dans le muscle de poisson.

À partir de cette même actualisation de la revue systématique et des 144 nouveaux articles identifiés, une seconde sélection a été réalisée afin de rechercher les études comportant à la fois des données de contamination des poissons et de l'eau par les microcystines. Seize articles ont été sélectionnés, mais ces travaux n'ont que rarement assuré une réelle correspondance entre les dates et/ou la localisation des prélèvements des poissons et des échantillons d'eau. Il s'avère donc trop hasardeux de rechercher une relation entre les concentrations de ces deux matrices (même dans l'hypothèse d'une relation simple entre celles-ci). Une rapide description des principaux résultats de ces études figure en annexe 9.

### 14.5.1 Conclusions

Les conclusions de cette analyse restent les mêmes que celles formulées par l'Anses en 2016. En l'état de connaissances, il apparaît impossible :

- d'établir un seuil de contamination de l'eau par les MC ou les cellules de cyanobactéries en-dessous duquel la contamination des muscles de poisson ne présenterait pas de risque sanitaire associé à leur consommation ;
- d'identifier une durée permettant une élimination significative des MC dans les muscles après l'épisode d'efflorescence de cyanobactéries.

Seul l'article de Calado *et al.* (2018), qui vise à apprécier l'évolution des concentrations en MC dans le muscle de poisson lorsque celui-ci est extrait à toute source d'exposition aux cyanobactéries, serait susceptible d'apporter des éléments de connaissance nécessaires à la détermination d'un délai minimal de dépuración, permettant d'envisager une réouverture des activités de pêche. Or, ce travail, comme d'autres travaux déjà répertoriés dans le cadre du rapport de l'Anses (2016a), montre que suite à l'arrêt de l'exposition aux cyanobactéries, les teneurs en MC dans le muscle ne décroissent ni immédiatement, ni de manière linéaire. Ce travail conforte par ailleurs les données décrivant une augmentation des concentrations dans le muscle, puis une élimination lente des MC.

La levée d'une interdiction de pêche devrait donc reposer sur une analyse de cyanotoxines dans les poissons plutôt que sur une période de temps post-efflorescence.

## 14.6 Proposition de modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade indépendamment des seuils de cyanobactéries actuels

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux accompagnés des moyennes de contamination des poissons et de leur écart-type.

Dans l'étude de Bukaveckas *et al.* (2017), la moyenne de contamination en MC-LR dans la chair de poisson varie entre 3,93 et 81,4 µg/kg selon l'espèce de poissons, respectivement pour la perche (*Perca fluviatilis*) et l'ablette (*Alburnus alburnus*), sur l'ensemble de la période d'étude. Le Tableau LXIII présente le nombre de poissons à échantillonner afin d'estimer les niveaux de contamination moyens observés avec une précision autour de la moyenne à 20 ou 30 % selon l'espèce de poisson mais sans tenir compte de la période de prélèvement des poissons. Une précision à 20 % est plus satisfaisante qu'une précision à 30 %.

Tableau LXIII : nombre de poissons à prélever selon l'espèce

Espèces de poissons	NT	Moyenne de contamination ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Ecart-type	Nombre de poissons (précision : 20%)	Nombre de poissons (précision : 30%)
<i>Alburnus alburnus</i>	P	81,4	61,7	61	27 <sup>56</sup>
<i>Pelecus cultratus</i>	P	12,4	8,5	49	22 <sup>6</sup>
<i>Abramis brama</i>	Ob	11,4	9,6	72	32
<i>Rutilus rutilus</i>	Ob	9,85	7,9	65	29 <sup>6</sup>
<i>Perca fluviatilis</i>	C	3,93	2,3	37	16 <sup>6</sup>
<i>Sander lucioperca</i>	C	5,08	3,3	45	20 <sup>6</sup>

NT : niveau trophique, P : planctonivore, Ob : omnivore benthique, C : carnassier

Le tableau se lit de la façon suivante :

- Pour estimer la moyenne de contamination de l'ablette (*Alburnus alburnus*) avec une précision autour de la moyenne de 20 %, soit à 16,3  $\mu\text{g/kg}$  près, 55 poissons sont nécessaires. Le dosage en MC-LR des 55 poissons doit être fait séparément ;
- Pour estimer la moyenne de contamination du sandre (*Sander lucioperca*) avec une précision autour de la moyenne de 30 %, soit à 1,5  $\mu\text{g/kg}$  près, 18 poissons sont nécessaires. Le dosage en MC-LR des 18 poissons doit être fait séparément.

Tableau LXIV : contaminations moyennes en MC-LR de la chair de poisson en fonction de l'espèce et de la période de prélèvement

Période de prélèvement	Espèces	NT	Moyenne de contamination ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Ecart-type
Post-efflorescence	<i>Alburnus alburnus</i>	P	29,4	13,6
	<i>Pelecus cultratus</i>	P	9,98	6,12
	<i>Abramis brama</i>	Ob	10	10
	<i>Rutilus rutilus</i>	Ob	10,8	9,33
	<i>Perca fluviatilis</i>	C	4,29	2,47
	<i>Sander lucioperca</i>	C	4,23	3,33
Pré-efflorescence	<i>Alburnus alburnus</i>	P	82,5	60,4
	<i>Pelecus cultratus</i>	P	12	5,62
	<i>Abramis brama</i>	Ob	15,2	10,5
	<i>Rutilus rutilus</i>	Ob	10,2	8,42
	<i>Perca fluviatilis</i>	C	4,28	2,58
	<i>Sander lucioperca</i>	C	3,08	1,3
Pendant l'efflorescence	<i>Alburnus alburnus</i>	P	117	64,4

<sup>56</sup> Il conviendrait d'arrondir le nombre de prélèvements à 30 individus. Ce nombre est défini sous l'hypothèse de normalité, or les niveaux de concentrations en MC ne suivent pas une loi normale.

Période de prélèvement	Espèces	NT	Moyenne de contamination ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Ecart-type
	<i>Pelecus cultratus</i>	P	15,2	11,4
	<i>Abramis brama</i>	Ob	12,9	6,32
	<i>Rutilus rutilus</i>	Ob	8,5	5,73
	<i>Perca fluviatilis</i>	C	3,36	2,09
	<i>Sander lucioperca</i>	C	7,44	2,98

NT : niveau trophique, p : planctonivore, Ob : omnivore benthique, C : carnassier

La moyenne de contamination estimée en fonction de l'espèce de poisson et de la période de prélèvement varie entre 3,08 et 117  $\mu\text{g/kg}$ , respectivement pour le sandre prélevé lors de la période pré-efflorescence et l'ablette prélevée pendant l'efflorescence (Tableau LXIV). Ces moyennes ainsi que leur variance permettent de définir le nombre de poissons nécessaires à l'estimation de la contamination moyenne selon deux niveaux de précision testés, 20 et 30 % (Tableau LXV).

**Tableau LXV : nombre de poissons à prélever selon l'espèce et la période de collecte des données**

Espèces de poissons	NT	Post-efflorescence		Pré-efflorescence		Pendant l'efflorescence	
		n (p = 20%)	n (p = 30%)	n (p = 20%)	n (p = 30%)	n (p = 20%)	n (p = 30%)
<i>Alburnus alburnus</i>	P	41	18 <sup>57</sup>	62	27 <sup>7</sup>	45	20 <sup>7</sup>
<i>Pelecus cultratus</i>	P	47	21 <sup>7</sup>	33	15 <sup>7</sup>	69	31
<i>Abramis brama</i>	Ob	106	47	72	32	36	16 <sup>7</sup>
<i>Rutilus rutilus</i>	Ob	82	37	131	58	52	23 <sup>7</sup>
<i>Perca fluviatilis</i>	C	42	19 <sup>7</sup>	43	19 <sup>7</sup>	45	20 <sup>7</sup>
<i>Sander lucioperca</i>	C	72	32	27 <sup>7</sup>	12 <sup>7</sup>	20 <sup>7</sup>	9 <sup>7</sup>

NT : niveau trophique, P : planctonivore, Ob : omnivore benthique, C : carnassier

*Les nombres de poissons à prélever indiqués dans les tableaux LXIV et LXV sont présentés à titre indicatif et ne sont en aucun cas obligatoires lors de la réalisation du plan d'échantillonnage. Ils permettent d'avoir une idée de la précision qui pourrait être obtenue en fonction du nombre d'individus prélevés. Les moyennes données ne représentent pas les niveaux de contamination de microcystines en France.*

<sup>57</sup> Il conviendrait d'arrondir le nombre de prélèvements à 30 individus. Ce nombre est défini sous l'hypothèse de normalité or les niveaux de concentrations en MC ne suivent pas une loi normale.

## 15 Synthèse et recommandations

Depuis les précédents travaux de l'Agence relatifs aux cyanobactéries, la présence en France métropolitaine et ultramarine de proliférations de cyanobactéries a été largement confirmée dans les eaux de surface. La grande diversité de ces organismes et de leur mode de développement conduit à des situations très différentes, notamment selon le type de réseau hydrographique concerné et le type de cyanobactéries rencontrées (planctoniques ou benthiques). Régulièrement, les efflorescences sont accompagnées de production de cyanotoxines dont les plus recherchées actuellement en eau douce, restent les microcystines (MC) qui comprennent de nombreux variants. Néanmoins, des épisodes de contamination par d'autres toxines, notamment les anatoxines (ATX) et les saxitoxines (STX), ont été signalés en France métropolitaine ces dernières années.

Les proliférations massives de cyanobactéries peuvent avoir des conséquences à la fois écologiques, sanitaires et économiques :

- écologiques car elles peuvent impacter la santé des écosystèmes. Des densités importantes de cyanobactéries peuvent altérer le fonctionnement physico-chimique et écologique des écosystèmes. C'est ainsi par exemple que la décomposition, par les bactéries chimio organotrophes aérobies (souvent qualifiées d'hétérotrophes), de la matière organique produite par les cyanobactéries peut conduire à une désoxygénation de la colonne d'eau et à une mortalité massive de poissons et d'invertébrés ;
- sanitaires à travers la production de cyanotoxines qui peuvent représenter un risque pour la santé de l'Homme et des animaux qui sont en contact avec l'eau contaminée et/ou qui la consomment. Des mortalités d'animaux, principalement des chiens, mais également parfois du bétail ou de la faune sauvage ont été recensées ces dernières années à la suite d'exposition à des efflorescences de cyanobactéries (benthiques le plus souvent). Ces événements ont été corrélés à la présence de cyanobactéries productrices d'ATX ;
- économiques car l'aspect repoussant des plans d'eau dû à la modification de leur couleur, à l'accumulation possible de fortes densités de cyanobactéries en surface et/ou sur les rives et à des mauvaises odeurs, peuvent conduire à une limitation des usages aquatiques tels que la baignade, le nautisme ou la pêche. Les proliférations de cyanobactéries peuvent ainsi avoir des effets négatifs directs sur l'industrie touristique en bordure des plans d'eau, accentués, le cas échéant, par les mesures de restrictions sanitaires des usages récréatifs. Dans les ressources exploitées pour la production d'EDCH, les proliférations de cyanobactéries et la production de cyanotoxines et/ou de molécules malodorantes (autres métabolites de cyanobactéries) entraînent une augmentation du coût de production des EDCH, par exemple par l'augmentation des coûts de traitements de l'eau ou par la nécessité d'aménager les filières de traitement pour prendre en compte ce problème.

La DGS a élaboré en juin 2003 des recommandations de contrôle sanitaire et de gestion des cyanobactéries dans les eaux de baignade. Les recommandations effectuées par l'Agence en 2006 ont permis de proposer des modalités de mise en œuvre du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de baignade. L'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique préconise une limite de qualité de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  en microcystines totales dans les EDCH. Les résultats de ces contrôles ont été collectés dans les bases de données SISE-Eaux et SISE-Baignades. Il apparaît cependant à travers l'analyse de ces données, que les méthodologies de contrôle sanitaire, de bancarisation et de traitement des résultats d'analyse récoltés sont très hétérogènes et ne permettent donc pas de les utiliser pleinement pour réaliser une évaluation du risque sanitaire au niveau national. En outre, ces bases ne contiennent pas d'information relative aux proliférations de cyanobactéries benthiques. Néanmoins, cette acquisition de données a permis de confirmer que le phénomène de prolifération des cyanobactéries concerne l'ensemble du territoire français (métropole et territoires d'outre-mer, même s'il y a peu de données

disponibles dans les bases sur ces territoires) et que le nombre de sites sujets à des proliférations de cyanobactéries semble être croissant dans le temps. L'intensification de ces phénomènes peut s'expliquer localement par l'augmentation des pressions anthropiques dans les bassins versants des plans d'eau concernés, l'envasement et/ou le faible taux de renouvellement de certaines masses d'eau.

Par ailleurs, l'impact du changement climatique sur les proliférations de cyanobactéries est actuellement discuté dans la communauté scientifique. L'augmentation globale des températures, mais également les modifications des régimes pluviométriques qui se traduisent par la multiplication de périodes de grandes sécheresses alternant avec des épisodes de tempêtes et de pluies violentes, provoquent des modifications dans l'hydrologie des bassins versants (par exemple étiage des rivières de plus en plus longs et sévères) et dans le fonctionnement physique des plans d'eau (par exemple durée de stratification des lacs allongée). Ces modifications semblent favoriser les proliférations de cyanobactéries. Cependant, les interactions entre tous ces facteurs et processus sont multiples et encore largement méconnues. Il est donc très difficile de prédire quels seront réellement leurs impacts sur les proliférations de cyanobactéries potentiellement toxiques.

Dans les zones au climat tempéré, les proliférations de cyanobactéries interviennent le plus souvent en été, quand l'ensoleillement est important et les températures de l'eau supérieures à 20°C, mais aussi parfois dès le printemps. Ces proliférations peuvent se prolonger jusqu'en automne. Dans certains cas plus rares, des proliférations pérennes sont observées tout au long de l'année ou bien encore spécifiquement en hiver. Sous les climats tropicaux et subtropicaux, les proliférations peuvent être observées toute l'année si les conditions sont réunies pour leur développement.

Les proliférations de cyanobactéries planctoniques surviennent principalement dans les eaux stagnantes (plans d'eau et rivières très lentes) eutrophisées. Elles nécessitent en effet, pour soutenir la production de biomasse, des concentrations élevées en phosphore (P) et en azote (N) dont les apports, directs ou indirects, peuvent avoir des origines multiples et diverses (par exemple effluents d'élevage, compost, boues de station de traitement des eaux usées, engrais épandus sur les sols, rejets d'eaux usées insuffisamment traités, lessivage des sols lors d'épisodes pluvieux importants). **La réduction des apports de phosphore et d'azote dans les eaux de surface reste aujourd'hui la seule façon durable de protéger et/ou de restaurer ces écosystèmes vis-à-vis des proliférations de cyanobactéries planctoniques.**

Les proliférations de cyanobactéries benthiques sont quant à elles rencontrées le plus souvent dans des eaux courantes peu profondes (rivières et certains grands fleuves) ayant un statut trophique pouvant aller de l'oligotrophie<sup>58</sup> à l'eutrophie<sup>59</sup>. Les connaissances actuelles sur ces proliférations sont beaucoup plus restreintes que pour les cyanobactéries planctoniques. Il semble cependant que les développements de biofilms à cyanobactéries benthiques surviennent préférentiellement en périodes d'étiages prolongés, dans des zones de profondeurs inférieures à 1 m et présentant un courant de l'ordre de 0,2 à 1 m.s<sup>-1</sup>. Le décrochage de ces biofilms, leur transport puis leur accumulation sur les rives résultent de divers processus encore mal connus.

À la vue des nouvelles connaissances scientifiques générées depuis les précédents travaux de l'Agence (2006), les experts proposent une série de recommandations visant à l'amélioration de la prise en compte du danger lié à la présence des cyanobactéries sur le territoire français (métropolitain et ultramarin) afin de limiter l'exposition des populations aux cyanotoxines. Les recommandations proposées visent d'une part à optimiser la gestion des ressources en eau utilisées pour la production d'EDCH ainsi que celle des usines de production de l'EDCH, et d'autre part, à optimiser la gestion des milieux aquatiques utilisés pour la baignade et les autres activités nautiques. Des éléments d'aide à la gestion des situations de contamination des masses d'eau exploitées pour la pêche professionnelle ou de loisirs sont également apportés.

<sup>58</sup> Un milieu oligotrophe est un milieu pauvre en éléments nutritifs. Dans un milieu oligotrophe, les eaux sont peu minéralisées, bien oxygénées et la transparence de l'eau est forte.

<sup>59</sup> Il faut distinguer l'eutrophisation naturelle qui se produit à l'échelle des temps géologiques, de l'eutrophisation anthropique qui correspond à un apport excessif et rapide d'éléments nutritifs dans les eaux, entraînant une prolifération massive des producteurs primaires, dont les cyanobactéries, un appauvrissement en oxygène et conduit à un déséquilibre de l'écosystème.

Les mesures proposées ont trait principalement à :

- la taxonomie des cyanobactéries toxigènes ;
- la toxicologie des cyanotoxines ;
- la détection et la quantification des cyanobactéries ;
- la détection et la quantification des cyanotoxines ;
- les moyens de prévention et de maîtrise des proliférations de cyanobactéries ;
- la prise en compte des risques liés à la pêche et à la consommation de poissons d'eau douce ;
- la stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des ressources en eau destinées à produire de l'EDCH et sur les filières de traitement ;
- la stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de loisirs ;
- les mesures de gestion à mettre en œuvre en fonction des résultats de la surveillance et/ou du contrôle sanitaire.

## 15.1 Identification des cyanobactéries potentiellement toxigènes

L'identification des cyanobactéries sous microscope optique est effectuée sur la base de nombreux ouvrages de référence, de manuels ou de clés d'identification taxonomiques. Il n'existe cependant pas de référence nationale permettant l'identification de ces micro-organismes de façon homogène. L'inconvénient principal de la consultation de différents ouvrages est qu'elle peut constituer une source importante d'incohérences, surtout si l'identification est poussée jusqu'au niveau de l'espèce. Pour cette raison, les experts ont établi une liste des taxons producteurs des différentes cyanotoxines retrouvées à ce jour dans les eaux douces en France métropolitaine et ultramarine et qui présentent une toxicité avérée pour les vertébrés aquatiques ou terrestres, en s'arrêtant au niveau du genre (tableau VIII). La détermination du genre est essentielle pour identifier une toxicité potentielle même si cette toxicité peut varier de façon importante en fonction des génotypes, et donc des souches de cyanobactéries.

Cette liste a été élaborée à partir d'une revue et d'une analyse de la littérature scientifique récente. Il est à noter que la classification des cyanobactéries et les connaissances concernant leur potentiel toxique font régulièrement l'objet de révisions. La liste actuelle des cyanobactéries productrices de toxines peut donc être modifiée, grâce à l'avancement des connaissances scientifiques, notamment en génomique, physiologie et classification.

**Afin de compléter cette liste, les experts recommandent de poursuivre l'identification des cyanobactéries planctoniques et benthiques, et les toxines produites, dans les eaux douces utilisées comme ressource pour la production d'EDCH et dans les eaux récréatives, en particulier dans les DROM COM, dès qu'une prolifération de cyanobactéries est avérée.**

## 15.2 Voies d'exposition aux cyanotoxines et cas d'intoxication recensés en France

Une eau provenant d'une ressource présentant une prolifération de cyanobactéries est susceptible de contenir des cyanotoxines libérées principalement lors de la mort cellulaire et partiellement seulement par excrétion. La quantité de toxine(s) produite(s) par une même population est très variable au cours d'une efflorescence, en fonction de la dynamique de croissance de la population et de la dynamique de la production de toxines par les cellules disposant du matériel génétique pour en produire.

La baignade, les loisirs nautiques, la consommation d'eau et l'ingestion de poissons contaminés représentent autant de sources d'exposition aux cyanotoxines pour l'Homme.

Les effets des cyanotoxines sur la santé humaine sont variables en fonction des molécules incriminées. La fièvre et les symptômes gastro-intestinaux (nausées, vomissements) sont les effets les plus fréquemment rapportés mais des atteintes oculaires ou cutanées (irritations et éruptions), des myalgies, des atteintes hépatiques et rénales, sont également décrites.

Les délais d'apparition des symptômes sont très variables parce qu'ils dépendent du type de toxine impliquée, de la dose et de la voie d'exposition. Ils peuvent aller de quelques minutes à quelques heures pour les symptômes cutanés et les troubles neurologiques, jusqu'à plusieurs heures pour les troubles gastro-intestinaux.

En France, 95 cas d'intoxication humaine par des cyanobactéries ont été recensés par les centres antipoison (CAP) entre le 1<sup>er</sup> janvier 2006 et le 31 décembre 2018. La majorité de ces cas concerne la période 2016-2018 (13 cas en 2016, 12 cas en 2017 et 16 cas en 2018), pour la plupart en période estivale (juin, juillet et août). Ce nombre est probablement très sous-estimé du fait d'un manque de connaissance de ce phénomène par le grand public et de symptômes peu spécifiques, qui de plus peuvent disparaître rapidement et ne font pas nécessairement l'objet d'un signalement par la population aux médecins et autorités sanitaires. D'autre part, lorsque le diagnostic est évoqué, un manque d'investigation ne permet pas toujours de le confirmer. Parmi les cas recensés par le CAP, cinquante-huit étaient symptomatiques d'une intoxication<sup>60</sup> à des cyanotoxines, même si le niveau d'imputabilité entre symptômes et exposition est souvent difficile à établir avec certitude en raison de l'absence de données météorologiques associées (Greillet *et al.*, 2020).

La majorité des intoxications rapportées ces trois dernières années ont été observées en été, au nord de la Loire et dans un contexte de baignade ou de loisirs nautiques. Seules trois personnes ont été exposées dans un contexte alimentaire. Les cas décrits concernent essentiellement des enfants et de jeunes adultes, ce qui correspond au public le plus exposé lors des activités aquatiques, avec une symptomatologie principalement digestive, cutanée et neurologique/neuromusculaire. Aucun cas grave ayant nécessité une hospitalisation n'a été rapporté.

Ces dernières années, ce sont surtout des cas d'intoxications animales (mortalités de chiens notamment) qui ont attiré l'attention des pouvoirs publics et des médias.

**Afin d'améliorer le suivi des cas d'intoxication, les experts recommandent donc :**

- 1) de développer les moyens et outils permettant la collecte des cas d'intoxication par les cyanobactéries et/ ou les cas d'intoxications par les toxines supposés ou confirmés. Les relations des agences régionales de santé (ARS) avec les CAP devraient être accrues. Pour mener à bien cette épidémiologie, les professionnels concernés (médecins, vétérinaires, pharmaciens) devront être (i) sensibilisés à envisager cette étiologie face à des intoxications et (ii) incités à signaler les cas suspects ou avérés aux autorités sanitaires (ARS et CAP) ;**
- 2) d'élaborer un référentiel d'investigation permettant la validation des cas d'intoxications animales et humaines par les cyanotoxines ;**
- 3) de mener une étude épidémiologique des risques associés à l'exposition aux cyanobactéries et d'identifier la (les) cyanotoxine(s) impliquées dans les intoxications.**

### **15.3 Effets toxiques des cyanotoxines, valeurs toxicologiques de référence**

Les études relatives à la toxicité des cyanotoxines présentes dans les eaux douces concernent principalement une exposition par ingestion d'eau. Très peu d'études ont porté sur une exposition par inhalation ou par contact cutané. Pour l'ensemble des cyanotoxines considérées, il n'a donc pas été possible d'établir de valeurs toxicologiques de référence permettant de caractériser les dangers et les risques spécifiques à ces deux dernières voies d'exposition.

---

<sup>60</sup> L'état dans lequel se trouve un organisme après ingestion d'une trop grande quantité de toxines.



Considérant qu'en France les filières de production d'EDCH sont généralement en mesure d'éliminer à la fois les cellules de cyanobactéries et les toxines présentes dans les eaux des ressources, l'exposition chronique aux cyanotoxines paraît aujourd'hui peu probable. Par contre une exposition répétée pendant quelques mois n'est pas à exclure en considérant notamment la saisonnalité des activités de baignade.

#### **Microcystine-LR**

Les nouvelles données toxicologiques disponibles depuis les précédents travaux de l'Agence de 2006 ont permis d'actualiser la VTR de la MC-LR. Plusieurs études récentes révèlent des effets sur l'appareil reproducteur mâle à des doses, par voie orale, inférieures à celles de l'étude qui avait été utilisée jusqu'à présent par l'OMS pour dériver la VTR et proposer des seuils de gestion. Une VTR subchronique par voie orale, basée sur l'altération de la qualité spermatique chez la souris, comprenant la diminution de la mobilité spermatique, la diminution du nombre de spermatozoïdes et l'augmentation du nombre d'anomalies spermatiques, a donc pu être développée (Anses, 2019). Cette valeur est associée à un indice de confiance moyen. Il est à noter que les études toxicologiques disponibles n'ont pas permis de construire une VTR aiguë pour la MC-LR.

#### **Cylindrospermopsine**

D'après les travaux chez le rongeur, les effets les plus sensibles à la CYN (apparaissant aux doses testées les plus faibles), lors d'une exposition subchronique par voie orale, sont observés au niveau du foie et des reins. À partir des données bibliographiques récentes, une nouvelle VTR subchronique par voie orale basée sur l'augmentation de la masse du foie et des reins a pu être construite (Anses, 2019). Cette valeur est associée à un indice de confiance moyen.

#### **Saxitoxine**

Le principal effet toxique de la STX et de ses variants est la neurotoxicité. D'après les études expérimentales chez la souris, les effets les plus sensibles (apparaissant aux doses testées les plus faibles) lors d'une exposition aiguë par voie orale à la STX se manifestent par une respiration abdominale, une léthargie, et la diminution du comportement exploratoire des animaux (Munday *et al.*, 2013). Une nouvelle VTR aiguë par voie orale a été construite pour la STX en retenant comme effet critique le dysfonctionnement des muscles squelettiques qui traduit des troubles neurologiques engendrés par le blocage des canaux sodiques voltage-dépendants (Anses, 2020). Un niveau de confiance faible a été attribué à cette VTR.

#### **Anatoxine-a**

Il n'a pas été possible d'établir une VTR aiguë par voie orale pour l'ATX-a car les données toxicologiques disponibles à ce jour sont trop limitées pour pouvoir caractériser le danger pour l'Homme. Néanmoins, l'ATX-a provoque d'une manière générale, une paralysie rapide des muscles et du système respiratoire des organismes intoxiqués.

Les VTR retenues dans le cadre de la présente expertise pour caractériser le risque lié aux cyanotoxines présentes dans les eaux douces et les poissons sont résumées dans le tableau LXVI.

Tableau LXVI : valeurs toxicologiques de référence retenues pour trois cyanotoxines retrouvées en eau douce et dans les poissons d'eau douce

Cyanotoxine	Voie et durée d'exposition	Effet critique (études clés)	Concentration critique	Facteur d'incertitude	VTR
Microcystine-LR CAS n°101043-37-2	Orale subchronique	Altération de la qualité spermatique  Chen <i>et al.</i> (2011)	DSENO <sup>61</sup> = 1 µg.L <sup>-1</sup> = 0,15 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique</u> <sup>62</sup> DSENO <sub>HED</sub> = 0,02 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	25  UF <sub>A</sub> : 2,5 UF <sub>D</sub> : 10	1 ng.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
					Niveau de confiance Moyen
Cylindrospermopsine CAS n°143545-90-8	Orale subchronique	Augmentation du poids du foie et des reins, corrélée à des atteintes histologiques et biochimiques  Chernoff <i>et al.</i> (2018)	DMENO = 75 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique</u> DMENO <sub>HED</sub> = 10,31 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	75  UF <sub>A</sub> = 2,5 UF <sub>H</sub> = 10 UF <sub>L</sub> = 3	0,14 µg.kg <sup>-1</sup> pc.j <sup>-1</sup>
					Niveau de confiance Moyen
Saxitoxine CAS n °35523-89-8	Orale aiguë	Dysfonction des muscles squelettiques  Munday <i>et al.</i> (2013)	DSENO = 164 µg.kg pc <sup>-1</sup>  <u>Ajustement allométrique</u> DSENO <sub>HED</sub> = 22 µg.kg pc <sup>-1</sup>	250  UF <sub>A</sub> : 2,5 UF <sub>D</sub> : 10 UF <sub>H</sub> : 10 UF <sub>L</sub> : 1 UF <sub>S</sub> : 1	0,1 µg.kg pc <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
					Niveau de confiance Faible

<sup>61</sup> DSENO : Dose maximale sans effet néfaste observé ; DMENO : Dose minimale entraînant un effet néfaste observé

<sup>62</sup> Ajustement allométrique : calcul de la dose ou la concentration équivalente pour l'Homme dans le cas d'une étude chez l'animal

La revue de la littérature ayant montré que les effets toxiques des cyanotoxines restent à ce jour encore très lacunaires, les experts recommandent de développer les efforts de recherche et l'acquisition des connaissances en particulier sur les thématiques suivantes :

- 1) **la toxicité aiguë de l'ATX-a pour élaborer une VTR aiguë par voie orale ;**
- 2) **la toxicité aiguë de la MC-LR afin d'élaborer une VTR aiguë par voie orale ; la toxicité de la STX, en exposition aiguë ainsi qu'en exposition (sub)chronique par voie orale ;**
- 3) **la toxicité des différents variants connus des cyanotoxines ;**
- 4) **la toxicité aiguë et (sub)chronique de mélanges de cyanotoxines ;**
- 5) **la toxicité éventuelle des nombreux autres métabolites produits par les cyanobactéries ;**
- 6) **la nature des composés et les mécanismes à l'origine de la dermatotoxicité et des irritations cutanées.**

## 15.4 Maîtrise des dangers

Sachant, comme il est dit plus haut, que les cyanotoxines restent en grande partie intracellulaires jusqu'à la lyse des cellules des cyanobactéries, les cyanobactéries potentiellement productrices de ces toxines sont considérées dans ce rapport comme agents de contamination des EDCH et des eaux récréatives par les cyanotoxines et agents du risque d'exposition à ces toxines. Ainsi, la maîtrise des risques associés aux cyanotoxines passe inévitablement par la maîtrise du développement des cyanobactéries qui les produisent. À notre connaissance, les réflexions et les mises en œuvre relatives à la maîtrise des dangers ont, à ce jour, exclusivement concerné les proliférations de cyanobactéries planctoniques. Celles-ci étant liées à l'état d'eutrophisation des masses d'eau, les experts insistent sur le fait que le contrôle des nutriments sur le long terme, en particulier du phosphore et de l'azote, est la seule solution durable pour limiter les proliférations de cyanobactéries planctoniques. Des solutions à court terme reposant sur des procédés chimiques, biologiques et physiques sont proposées aux gestionnaires des ressources en eau pour réduire et/ou éliminer ponctuellement les efflorescences avec des résultats souvent peu satisfaisants et des effets sur l'environnement mal documentés.

Ainsi, les experts estiment que des procédés physiques tels que ceux visant à la déstratification de la colonne d'eau ou à l'oxygénation hypolimnique<sup>63</sup> ne sont pas adaptés à tous les plans d'eau et ne devraient être mis en place que de manière transitoire, et en complément d'actions visant à la réduction directe des apports en éléments nutritifs.

En outre, les experts ne sont pas favorables aux traitements chimiques des masses d'eau dans les milieux naturels, que ce soit en mode préventif ou en mode curatif, pour les raisons suivantes :

- risque de libération de cyanotoxines dans le milieu (dans les ressources, les bassins de stockage de l'eau brute ou au niveau des filières de traitement) ;
- méconnaissance ou évaluation incomplète des impacts de ce type de produits sur la faune et la flore présentes.

Si ces traitements devaient être malgré tout utilisés, les experts rappellent que tout algicide doit avoir reçu une autorisation de mise sur le marché selon le règlement européen concernant la mise sur le marché et l'utilisation des produits biocides (RPB, règlement (UE) n° 528/2012).

Les experts rappellent également que selon l'article R.1321-43 du code de la santé publique, il n'est pas possible d'utiliser des produits et procédés de traitement directement dans les masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH.

Les experts rappellent par ailleurs que la qualité de l'eau brute utilisée pour la production d'EDCH doit être surveillée en permanence afin de prévenir les dangers liés à la présence de toxines dans l'EDCH.

---

<sup>63</sup> Technique visant à éviter la mise en place d'une zone anoxique en profondeur pour éviter le relargage de phosphore par les sédiments

La vulnérabilité vis-à-vis des cyanobactéries/cyanotoxines doit être prise en compte lors de l'établissement des plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux.

En cas de constat de proliférations de cyanobactéries dans la ressource, il est nécessaire d'adapter au mieux le traitement sur la filière et de renforcer la surveillance des cyanobactéries et de leurs toxines. Les experts recommandent, lorsque cela est possible, l'utilisation d'une prise d'eau à hauteur variable qui permet le pompage dans des couches d'eau moins contaminées par les cyanobactéries.

Si la ressource est régulièrement sujette à des proliférations de cyanobactéries, une filière basée sur un traitement « multibarrières » comprenant une combinaison d'étapes basées sur des principes différents, permettra de maîtriser le risque lié à la présence de toxines dans l'EDCH.

Les experts recommandent en premier lieu l'utilisation de la clarification physico-chimique qui permet une très bonne élimination des cellules de cyanobactéries. La flottation à air dissous est la technique de séparation recommandée par les experts lors d'une clarification physico-chimique pour les filières de traitement pompant une ressource sujette régulièrement à des proliférations de cyanobactéries. Une fois les cellules éliminées, les experts recommandent un ou plusieurs traitements d'affinage. L'adsorption sur charbon actif en poudre est à privilégier car la dose de charbon actif à ajouter peut être facilement adaptée à la concentration en toxines<sup>64</sup> dissoutes présentes dans l'eau à traiter. La nanofiltration ou l'osmose inverse utilisant des membranes de seuil de coupure inférieur à la masse molaire des cyanotoxines sont également recommandées par les experts comme traitement d'affinage. Les traitements d'oxydation chimique (ozone, chlore, dioxyde de chlore) permettent quant à eux, de dégrader les toxines mais ils doivent être appliqués sur des eaux peu riches en matière organique (COT < 2 mg.L<sup>-1</sup>) car des doses élevées de ces oxydants peuvent conduire à la formation de sous-produits (sous-produits d'oxydation classiquement recherchés dans les EDCH pouvant être dangereux pour la santé humaine).

Les experts insistent sur la nécessité d'une bonne maîtrise des différentes étapes de traitement par les gestionnaires et recommandent pour l'exploitation des filières, lors de prolifération constatée de cyanobactéries sur l'eau brute :

- un arrêt des étapes de préoxydation afin de ne pas libérer les toxines intracellulaires dans l'eau destinée à être traitée ;
- une adaptation des étapes de traitement et des doses de réactif à mettre en œuvre :
  - dose de coagulant/floculant à optimiser afin de garantir l'élimination des cellules par coagulation/floculation et décantation ou flottation ;
  - dose de charbon actif en poudre à adapter en fonction de la concentration en toxines dissoutes ;
  - doses d'oxydant (ozone, chlore, dioxyde de chlore) à adapter afin de bien satisfaire la demande en oxydant tout en gardant les propriétés désinfectantes requises.

Les experts recommandent également un suivi renforcé des paramètres d'exploitation sur les filières de traitement et préconisent notamment :

- 1) **l'extraction régulière, et donc la diminution des temps de séjour des boues des décanteurs afin de prévenir la lyse possible des cyanobactéries stockées dans les boues pouvant conduire à la libération des toxines intracellulaires ;**
- 2) **le suivi en continu de la perte de charge des filtres et de la turbidité de l'eau filtrée afin d'éviter un percement des filtres pouvant conduire à la libération d'un grand nombre de cellules dans l'eau filtrée ;**
- 3) **l'optimisation des cycles de filtration afin d'éviter le relargage de toxines intracellulaires dans l'eau filtrée (issues de cellules de cyanobactéries stockées dans le matériau filtrant) ;**
- 4) **l'arrêt du recyclage des eaux de lavage des filtres si ces eaux ne sont pas traitées par un traitement d'adsorption efficace avant leur réinjection en tête de filière. Si ces eaux sont traitées par un traitement spécifique, une adaptation du taux de traitement et la vérification de son efficacité sont nécessaires ;**

---

64 Toxines présentes dans l'eau brute ou libérées après lyse des cellules lors des étapes de traitement précédentes

- 5) l'adaptation de la fréquence de régénération du charbon actif en grains en cas de proliférations récurrentes.

## 15.5 État des lieux de la présence des cyanobactéries et des cyanotoxines en France

Les résultats d'analyses générés par les laboratoires agréés dans le cadre du contrôle sanitaire des EDCH et des eaux de baignade, alimentant respectivement la base nationale SISE-Eaux (système d'information en santé environnement) et la base SISE-Baignades, ont été extraits sur la période 2010-2017 afin d'avoir une vision nationale de la contamination des masses d'eau par les cyanobactéries. Plus de 80 000 résultats ont pu être extraits de la base SISE-Eaux et près de 160 000 de la base SISE-Baignades. Lors de l'exploitation de ces deux bases de données, différentes difficultés ont été rencontrées en raison (i) d'une hétérogénéité dans les informations associées à chaque prélèvement et analyses, (ii) d'une répartition des données hétérogène sur le territoire métropolitain et d'une quasi-absence de données dans les territoires ultramarins et (iii) d'une répartition temporelle des analyses très hétérogène d'un département à l'autre. Ainsi, quelle que soit la base considérée, SISE-Eaux ou SISE-Baignades, les résultats enregistrés sont difficiles à comparer entre eux et ne sont pas pleinement exploitables.

En conséquence, les données extraites relatives aux cyanotoxines sont insuffisantes aujourd'hui pour estimer l'exposition de la population française aux différentes cyanotoxines *via* l'EDCH ou les eaux récréatives. En effet, quand des résultats de concentration en cyanotoxines sont disponibles, l'information est biaisée par le fait que la recherche de toxines n'est effectuée que lorsque le seuil de cyanobactéries est supérieur au seuil réglementaire en EDCH ou en eau de baignade. Par ailleurs, les méthodes analytiques utilisées pour la recherche des toxines sont différentes selon les laboratoires/départements et ne fournissent donc pas le même niveau d'information.

Si le traitement statistique des données du contrôle sanitaire n'a pas permis de cartographier de façon précise la contamination des masses d'eau par les cyanobactéries sur le territoire national, il en ressort tout de même un certain nombre d'informations. En particulier, les genres les plus fréquemment observés en eaux de baignade et en eaux de captage (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena* *Woronichinia*) sont, à l'exception d'un seul (*Aphanothece*), tous potentiellement toxigènes. Ils sont susceptibles de produire des toxines appartenant aux principales familles de cyanotoxines : MC, ATX, CYN et STX.

Ainsi, la collecte de données sur la contamination des cours d'eau et plans d'eau doit être poursuivie et améliorée car c'est une étape essentielle dans l'estimation de l'exposition des populations en France métropolitaine et dans les territoires ultramarins aussi bien pour la consommation d'EDCH que lors de la pratique d'activités récréatives dulçaquicoles.

**Pour améliorer l'intérêt des données collectées et leur exploitation, les experts recommandent :**

- concernant l'organisation de la récolte des données et leur bancarisation :
  - 1) d'harmoniser le recueil des données de surveillance et du contrôle sanitaire en standardisant les paramètres de surveillance et les règles de bancarisation ;
  - 2) de compléter les données d'abondance saisies pour chaque genre de cyanobactéries par les données de biovolume en utilisant les biovolumes standards attribués à chacun des genres (annexe 8) ;
  - 3) de mettre en place le suivi de l'ensemble des cyanotoxines dans les eaux douces ;
  - 4) de favoriser le contrôle sanitaire dans les régions ultramarines afin d'estimer les contaminations par les cyanobactéries et les cyanotoxines dans ces régions ;

- concernant l'acquisition de connaissances :
- 1) de poursuivre les travaux de recherche relatifs à la contamination des eaux saumâtres par les cyanobactéries et les cyanotoxines ;
- 2) d'évaluer le risque du transfert des cyanobactéries et cyanotoxines le long du *continuum* eau douce/estuaire/eau marine.

## 15.6 État des pratiques des agences régionales de santé en matière de contrôle sanitaire et gestion sanitaire des proliférations de cyanobactéries

Une enquête visant à réaliser un état des lieux des pratiques des agences régionales de santé (ARS) en matière de surveillance et de gestion des proliférations de cyanobactéries a été élaborée par le GT « Cyanobactéries » et adressée à l'ensemble des ARS par la DGS. Elle portait à la fois sur les EDCH, les eaux de baignade et de loisirs nautiques et abordait les points suivants : existence d'un suivi des cyanobactéries et/ou de leurs toxines, organisation du contrôle sanitaire (paramètres, période et fréquence, stratégie, techniques analytiques, coût), modalités de bancarisation des résultats, stratégie de gestion sanitaire, existence de signaux sanitaires et enfin difficultés de gestion. Au total, des réponses au questionnaire ont été obtenues pour 68 départements, dont 67 en métropole et un en outre-mer.

Les réponses obtenues ont mis en exergue :

- des disparités importantes dans la mise en œuvre du contrôle sanitaire des cyanobactéries et/ou de leurs toxines en fonction des départements. Il est inexistant dans certains départements et dans ceux où il est pratiqué, les modalités et les coûts de mise en œuvre sont très hétérogènes ;
- des délais de transmission des résultats de dénombrement des cyanobactéries et des analyses de cyanotoxines des laboratoires d'analyses vers les ARS souvent incompatibles avec les impératifs de gestion sanitaire ;
- une forte hétérogénéité dans la bancarisation des résultats, ce qui a rendu difficile l'exploitation des bases SISE-Eaux et SISE-Baignades ;
- une importante variabilité des pratiques de gestion sanitaire et des difficultés dans la mise en place de cette gestion.

**Pour pallier ces disparités entre les départements, une harmonisation des pratiques au niveau national est préconisée, basée sur la définition d'une stratégie de surveillance prenant en compte les connaissances scientifiques les plus récentes sur les cyanobactéries et leurs toxines.** C'est dans cet objectif d'harmonisation que des arbres décisionnels détaillés ont été élaborés par le GT « Cyanobactéries » pour la surveillance des EDCH comme pour les eaux de baignade.

## 15.7 Estimation des risques sanitaires

Les données de concentrations en cyanotoxines colligées dans les bases de données SISE-Eaux et SISE-Baignades sont insuffisantes pour pouvoir établir des valeurs de concentration moyennes robustes permettant par la suite de caractériser le risque sanitaire lié à l'ingestion de ces molécules via l'eau de boisson ou l'eau de baignade. Dans ce contexte, des concentrations maximales tolérables (CMT) de cyanotoxines dans les EDCH et les eaux récréatives ont été estimées afin que l'exposition soit inférieure à la valeur toxicologique de référence en cas d'ingestion unique (exposition aiguë pour l'ATX et la STX) ou répétée dans le temps (exposition subchronique pour la MC et la CYN). Les CMT ont été dérivées à partir des VTR et des scénarios d'exposition retenus par le GT « Cyanobactéries ».

Outre l'ingestion, d'autres voies d'exposition aux cyanotoxines sont possibles (inhalation, contact cutanéomuqueux) mais n'ont pas été considérées dans la détermination des CMT. Les valeurs guides ont été établies en appliquant une part attribuable de 100 % à l'EDCH et aux eaux récréatives.

Les tableaux LXVII et LXVIII récapitulent l'ensemble des valeurs paramétriques retenues pour calculer les CMT dans l'EDCH et les eaux récréatives.

**Tableau LXVII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour l'EDCH**

Populations	Masse corporelle (en kg)	Ratios de la consommation hydrique totale quotidienne rapportée à la masse corporelle (au P95) <sup>1</sup> (L/kg m.c./j)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	0,131	1	30
7-10 ans	29	0,059	1	30
11-14 ans	46	0,053	1	30
15-17 ans	62	0,030	1	30
Adulte de plus de 18 ans	70	0,031	1	30

<sup>1</sup> données issues de l'étude INCA3 (Anses, 2019c) ; P95 : 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution

**Tableau LXVIII : scénario d'exposition aiguë et subchronique pour les eaux récréatives**

Populations	Masse corporelle (en kg)	Volume d'eau ingéré par bain (en mL)	Durée d'exposition aiguë (en jours)	Durée d'exposition subchronique (en jours)
Enfant jusqu'à 6 ans	15	50 <sup>1</sup>	1	15 ou 30
7-10 ans	29	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
11-14 ans	46	30 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
15-17 ans	62	18 <sup>2</sup>	1	15 ou 30
Adulte plus de 18 ans	70	7 <sup>2</sup>	1	15 ou 30

<sup>1</sup> Owen et Sunger, 2018 – <sup>2</sup> DeFlorio-barker *et al.*, 2018

Ces données montrent que le ratio masse corporelle sur le volume d'eau ingéré est le plus élevé pour les enfants de moins de six ans. Les valeurs guides à ne pas dépasser dans les EDCH et les eaux récréatives proposées dans le tableau V sont donc les valeurs des CMT calculées pour les enfants de moins de six ans.

Compte tenu de l'absence de VTR pour l'ensemble des variants de chaque toxine, les valeurs guides proposées correspondent à la concentration de la somme de tous les variants de chaque toxine à ne pas dépasser.

La valeur de CMT calculée pour les MC pour les EDCH est de 8 ng.L<sup>-1</sup> pour les enfants de moins de six ans, et à l'instar de ce qu'a pratiqué l'OMS pour certains micropolluants (e.g bromates), il est proposé de fixer comme concentration maximale admissible la limite de quantification des laboratoires agréés en France. La limite de quantification est actuellement de 0,2 µg.L<sup>-1</sup> pour les MC (communication Laboratoire d'hydrologie de Nancy).

De même, en l'absence de VTR pour l'ATX-a, il est proposé de vérifier, lors des contrôles sanitaires que les ATX sont non détectables.

**Tableau LXIX : concentrations maximales tolérables en cyanotoxines proposées pour l'EDCH et les eaux récréatives**

	Microcystines* (en µg .L <sup>-1</sup> )	Cylindrospermopsines* (en µg .L <sup>-1</sup> )	Saxitoxines* (en µg .L <sup>-1</sup> )	Anatoxines *
EDCH	0,2	1	0,8	< LD
Eaux récréatives	0,3	42	30	< LD

\* Somme des variants recherchés et quantifiés

## 15.8 Détection et Quantification des cyanobactéries

Les cyanotoxines n'étant pour une grande part pas excrétées par les cyanobactéries qui les produisent et restant donc dans les cellules jusqu'à leur sénescence et leur lyse, le risque sanitaire lié aux cyanotoxines est étroitement lié au risque d'exposition aux cyanobactéries toxigènes. Ainsi, la détection et la quantification des cyanobactéries d'une part et des cyanotoxines d'autre part sont deux approches nécessaires à l'évaluation du risque sanitaire.

### 15.8.1 Détection des proliférations

La principale difficulté inhérente à la détection des proliférations et à la quantification des cyanobactéries est liée à l'hétérogénéité de leur distribution dans les plans d'eau et les rivières. En effet, qu'il s'agisse de cyanobactéries planctoniques ou de cyanobactéries benthiques, leur distribution spatiale et temporelle dans les masses d'eau peut présenter de fortes variations liées entre autres au cycle de vie des espèces, au transport par les courants ou par les vents, aux migrations circadiennes ou à la prédation. L'optimisation des protocoles de prélèvements et de quantification représente donc un enjeu fondamental pour la détection et la quantification des cyanobactéries.

Il ressort de la revue bibliographique que la détection des proliférations de cyanobactéries, tant planctoniques que benthiques, doit se faire dans un premier temps par l'observation visuelle. L'utilisation de clés de reconnaissance des types de prolifération est alors recommandée (annexe 5).

Pour les cyanobactéries planctoniques, la surveillance visuelle des masses d'eau (ressource d'EDCH ou eaux destinées aux activités nautiques) doit être couplée à une mesure, dans le milieu ou dans l'eau prélevée, de l'évolution des concentrations en pigments photosynthétiques. Il s'agit de mesurer régulièrement, *in situ* ou en laboratoire, la concentration en chlorophylle-a totale (c'est-à-dire attribuée à l'ensemble de la biomasse phytoplanctonique) et/ou la concentration en équivalent chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries et/ou la concentration en pigments accessoires propres aux cyanobactéries (phycocyanine, phycoérythrine). Pour les ressources destinées à produire de l'EDCH, le suivi par la personne responsable de la production et de la distribution de l'eau (PRPDE) d'indicateurs tels que le pH, l'oxygène dissous ou la turbidité (paramètres pouvant être mesurés *in situ* en continu) peuvent apporter des informations supplémentaires utiles à la détection de proliférations et ainsi permettre d'améliorer la gestion de la filière de traitement.

La détection des proliférations de cyanobactéries doit aussi s'appuyer sur des prélèvements d'eau (pour les cyanobactéries planctoniques) et de biofilms (pour les cyanobactéries benthiques) afin de vérifier la présence des cyanobactéries en microscopie optique, d'identifier les genres présents et d'évaluer l'abondance des genres potentiellement toxiques. Si besoin, ces prélèvements pourront également être utilisés pour déterminer les concentrations en cyanotoxines dans les cyanobactéries (cyanotoxines intracellulaires) et dans l'eau (cyanotoxines libres).

Pour la détection des proliférations de cyanobactéries benthiques, l'observation visuelle permettra la définition des zones et périodes de développements des biofilms mais aussi celle des périodes



favorables aux décrochements des biofilms puis des zones d'accumulation après leur transport par la rivière. La mise en œuvre de ces observations nécessite une formation à la reconnaissance de ces biofilms et elle s'appuie sur des fiches descriptives illustrées. Une confirmation de la dominance des cyanobactéries dans les biofilms pourra ensuite être effectuée en microscopie optique. Les épisodes de développement de cyanobactéries benthiques sur la Loire et le Cher durant les étés 2017 et 2019 montrent que l'estimation du taux de recouvrement des substrats au fond des cours d'eau (comme préconisé en Nouvelle-Zélande où le fond des rivières est principalement rocheux, constitué de galets et de blocs) n'est pas toujours adaptée pour évaluer l'étendue d'une prolifération de cyanobactéries benthiques dans ces rivières. En effet, dans la Loire et le Cher, il a été observé que les biofilms se développaient souvent sur des macrophytes flottant dans le courant, ou sur des zones sableuses et meubles. Dans cette situation, l'estimation des taux de recouvrement est rendue difficile et ces taux peuvent de plus varier en un temps très court au gré d'augmentations, même légères, des courants pouvant conduire au détachement des biofilms et à leur mise en suspension. Le taux de recouvrement est alors réduit et pour autant, le risque reste présent car les biofilms circulent alors dans la masse d'eau et peuvent s'accumuler sur les bords.

### 15.8.2 Prélèvement de cyanobactéries

Lors des prélèvements, il est recommandé d'établir une fiche de terrain. Sur cette fiche doivent apparaître, outre les coordonnées géographiques du point de surveillance et la localisation des échantillons prélevés, toutes les informations relatives au site et à son environnement au moment de l'échantillonnage (couleur de l'eau ou du fond, direction et intensité du vent, présence ou non de dépôts colorés sur la berge, d'agglomérats/flocs en suspension ou en surface, ou toute autre observation pertinente comme la présence de poissons morts, mauvaises odeurs, etc.). Un exemple de fiche de renseignements de terrain est présenté en annexe 10.

Afin d'harmoniser les pratiques, un guide méthodologique provisoire portant sur le prélèvement des cyanobactéries dans les eaux douces accueillant des activités de baignade et de loisirs nautiques a été largement communiqué aux autorités sanitaires et aux laboratoires en charge des prélèvements et des analyses au titre du contrôle sanitaire en 2016 (Anses, 2016b). Néanmoins les dispositions qui figurent dans ce guide méthodologique ne sont pas toutes adaptées aux ressources utilisées pour produire de l'eau potable ni à l'échantillonnage en sortie d'usine de potabilisation. Ce guide ne tient pas compte non plus des spécificités des cyanobactéries benthiques. De ce fait, des compléments, définis ci-dessous, sont nécessaires pour compléter ce document.

**Compte tenu de leurs stratégies de développement différentes, l'échantillonnage des cyanobactéries planctoniques et benthiques ne peut être effectué de la même façon. Pour cette raison, ces deux catégories seront traitées séparément par la suite.**

#### 15.8.2.1 Prélèvement et conservation des cyanobactéries planctoniques et des cyanotoxines

##### 15.8.2.1.1 *Matériel et flaconnage*

###### **Matériel de prélèvement**

Divers appareils et modes de prélèvement existent et sont utilisés actuellement en France dans les différentes masses d'eau. Dans un objectif d'optimisation et d'harmonisation des pratiques de prélèvements, le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation d'un tube échantillonneur d'une longueur de 1 m et d'un volume minimum de 250 mL manipulable d'une seule main pour assurer les prélèvements.

###### **Flaconnage**

Pour les échantillons destinés à l'analyse de la chlorophylle-a, des flacons en polyéthylène opaque ou en verre brun de 1 L devront être utilisés. Ils seront remplis complètement de façon à ne pas avoir d'air. Pour le dénombrement de cyanobactéries, deux flacons en polypropylène (PP) ou en verre d'une contenance de 200 mL au minimum (idéalement 500 mL) seront utilisés. Des flacons en verre

ambré d'une contenance de 200 mL minimum (idéalement 500 mL) seront utilisés pour le prélèvement en vue de l'analyse ultérieure des toxines.

#### *15.8.2.1.2 Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques*

En zone de baignade et lieu de pratique d'activités nautiques, au moins un échantillon composite est préconisé. Il correspond au mélange d'échantillons prélevés en trois points d'échantillonnage au minimum, régulièrement répartis dans la zone suivie.

En chaque point d'échantillonnage, le prélèvement s'effectuera sur le premier mètre de la colonne d'eau avec le tube échantillonneur. En fonction du volume du tube échantillonneur, plusieurs prélèvements successifs seront effectués afin de disposer du volume nécessaire à la réalisation des analyses ultérieures.

L'ensemble des prélèvements sera mélangé dans un récipient type seau (préalablement rincé avec l'eau du milieu) dans lequel seront ensuite prélevés le ou les échantillons pour analyses. La prise d'échantillon(s) doit se faire immédiatement après l'homogénéisation du contenu du seau. Ces échantillons serviront à l'identification et au dénombrement des cyanobactéries, au dosage de chlorophylle-a et à la recherche éventuelle de toxines (en fonction des résultats de dénombrement).

En cas de prolifération, si une zone d'accumulation est observée en un lieu du plan d'eau, un 4<sup>ème</sup> point de prélèvement pourra être réalisé spécifiquement dans cette zone. Dans ce cas, le prélèvement ne sera pas mélangé aux autres pour pouvoir être traité séparément.

#### *15.8.2.1.3 Prélèvement des ressources d'origine superficielle utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement*

Pour les ressources utilisées pour la production d'EDCH, la stratégie de surveillance mise en œuvre par l'exploitant (surveillance) doit être optimisée en fonction de l'objectif recherché : représentativité de la qualité de l'eau de surface qui va alimenter la prise d'eau ou alerte de début de prolifération pouvant affecter la ressource. Ainsi, il sera important, lors d'épisodes d'efflorescence, de prélever l'eau en différents points de la ressource et à différentes profondeurs afin de bien cerner la distribution des cyanobactéries aussi bien sur le plan horizontal que vertical. Chaque prélèvement sera analysé individuellement et il n'y aura donc pas de réalisation d'échantillon composite dans ce cas.

Pour le contrôle sanitaire des EDCH mis en œuvre par l'ARS, en règle générale, il est jugé suffisant de réaliser un prélèvement correspondant à la ressource et un prélèvement au niveau de l'eau mise en distribution, à des fins d'analyses de toxines. Ces prélèvements seront réalisés directement avec un flacon ou avec un tube échantillonneur et comme dit précédemment, l'ensemble des prélèvements sera analysé séparément (dénombrement des cyanobactéries et dosage des concentrations en chlorophylle-a et si nécessaires des toxines).

Au sein des filières de traitement, en cas de prolifération sur la ressource, il est nécessaire de réaliser des prélèvements à différentes étapes de traitement (eau décantée, eau filtrée). Ces prélèvements seront en général effectués aux différentes étapes de la filière sur des robinets aménagés à cet effet. Les recherches des cyanobactéries et cyanotoxines pourront être réalisées sur chaque prélèvement effectué. Pour les prélèvements effectués après une étape de désinfection chimique (ozone, chlore), il est nécessaire que le flaconnage utilisé contienne du thiosulfate de sodium afin de neutraliser l'oxydant résiduel. Cet ajout devra être pris en compte dans le protocole d'analyse.

#### *15.8.2.1.4 Conservation et transport*

Les consignes de conservation et de transport décrites dans la norme XP T90 719 sur l'échantillonnage du phytoplancton en eau intérieure s'appliquent en grande partie aux prélèvements de cyanobactéries.

Ainsi, les échantillons destinés à l'identification et au dénombrement des cyanobactéries planctoniques doivent être fixés au lugol alcalin, lors du prélèvement à une concentration de 0,5 % en

volume (16 gouttes pour un flacon de 200 mL rempli à 80 %, permettant l'obtention d'une couleur orangée). Au laboratoire, ils peuvent être conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

En revanche, l'addition de tout fixateur est à proscrire pour les échantillons destinés à la quantification de toxines.

Tous les échantillons doivent être transportés dans une enceinte réfrigérée maintenant une température de 5 +/- 3 °C, selon la norme NF EN ISO 5667-3 (relative à la conservation et manipulation des échantillons d'eau) et à l'obscurité jusqu'au laboratoire. Si les toxines ne sont pas analysées immédiatement, les échantillons peuvent être conservés en enceinte réfrigérée jusqu'à 36 h maximum après le prélèvement.

### 15.8.2.2 Prélèvement et conservation des cyanobactéries benthiques et des cyanotoxines

#### *15.8.2.2.1 Matériel et flaconnage*

##### **Matériel de prélèvement**

Le prélèvement s'effectue avec des gants, sur les supports (blocs, galets, sable, végétaux) à l'aide de pinces fines à bout plat.

##### **Flaconnage**

Les échantillons de biofilms destinés à l'identification des cyanobactéries peuvent être placés dans des tubes en polypropylène-PP de 5 mL ou plus. Ceux destinés à la recherche de toxines dans des tubes ou flacons en verre ambré de 50 mL.

#### *15.8.2.2.2 Prélèvement en zone de baignade et de pratique d'activités nautiques*

Dans les zones où des développements ou accumulations de biofilms à cyanobactéries sont visibles, trois échantillons de biofilms au minimum répartis sur la zone de développement, seront prélevés. Dans l'hypothèse où, dans une même zone, des développements sont observés sur des substrats différents (galets et macrophytes par exemple), les prélèvements seront effectués sur ces différents substrats. Des fragments de taille équivalente de chaque biofilm prélevé seront regroupés dans un premier tube en vue de l'identification en microscopie et dans un deuxième tube en vue de la recherche éventuelle de toxines. Les échantillons de biofilms destinés à l'identification seront complétés avec de l'eau afin d'être totalement immergés dans les tubes.

Les prélèvements seront effectués sur le substrat, soit *in situ* directement dans l'eau, soit *ex situ*, quand cela est possible, après avoir extrait le support du biofilm de l'eau pour faciliter la prise d'échantillon.

#### *15.8.2.2.3 Prélèvement des ressources utilisées pour la production d'EDCH et au sein des filières de traitement*

Dans l'état actuel des connaissances, les zones de captage n'étant pas concernées par les cyanobactéries benthiques, le GT « Cyanobactéries » ne préconise pas le suivi de ces cyanobactéries.

#### *15.8.2.2.4 Conservation et transport*

Les échantillons destinés à l'identification des cyanobactéries benthiques et à la détermination de leur dominance dans les biofilms, doivent être fixés au lugol alcalin lors du prélèvement, en ajoutant un

volume variable de lugol (selon la densité des biofilms) permettant l'obtention d'une couleur orangée. Au laboratoire, ils peuvent être conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

L'addition de tout fixateur est à proscrire pour les échantillons destinés à la quantification de toxines.

Tous les échantillons doivent être transportés dans une enceinte réfrigérée maintenant une température de 5 +/- 3 °C, et à l'obscurité jusqu'au laboratoire. Si les toxines ne sont pas analysées immédiatement, les échantillons peuvent être conservés en enceinte réfrigérée jusqu'à 36 h maximum après le prélèvement.

### **15.8.3 Quantification de la chlorophylle-a, identification et quantification des cyanobactéries**

Afin que les mesures de gestion à mettre en œuvre par les PRPDE et/ou les personnes responsables des masses d'eau destinées à des usages récréatifs soient déployées dès que possible, les résultats d'analyse doivent être rendus très rapidement. Le GT « Cyanobactéries » recommande un délai maximum de 48 h à compter du prélèvement pour la transmission des résultats relatifs à la concentration en chlorophylle-a, à l'identification taxonomique et au dénombrement des cyanobactéries.

#### **15.8.3.1 Quantification de la chlorophylle-a dans les échantillons phytoplanctoniques**

La quantification de la chlorophylle-a dans la masse d'eau peut servir de système d'alerte à la mise en place d'une prolifération de cyanobactéries planctoniques potentiellement toxiques.

Les analyses de la chlorophylle-a doivent être réalisées en laboratoire par spectrophotométrie selon la norme NFT 90-117 ou par CLHP/UV selon la norme NFT 90-116 notamment pour le contrôle sanitaire. En complément, et notamment dans le cadre de la surveillance exercée par les exploitants, des mesures *in situ* par sonde peuvent être réalisées (chlorophylle-a totale, chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries ou phycocyanine). Les analyses de chlorophylle-a ne sont pas nécessaires en sortie de station de potabilisation.

#### **15.8.3.2 Identification et quantification des cyanobactéries par microscopie**

##### ***15.8.3.2.1 Identification et quantification des cyanobactéries planctoniques***

La méthode Utermöhl (1958) utilisant la microscopie inversée après sédimentation des échantillons a été standardisée et normalisée en Europe en 2006 (CEN 2006). Cette technique est classiquement utilisée à travers le monde et demeure une référence. Une étude de comparaison d'efficacité de cette méthode avec la méthode de dénombrement et d'identification des cyanobactéries par microscopie droite avec cellule de Nageotte (Brient *et al.*, 2008), qui a bénéficié d'un financement de l'Agence, est en cours (CRD-2018-CYAME). Dans l'attente des conclusions de cette étude, le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation de la méthode Utermöhl pour le dénombrement des cyanobactéries planctoniques. Dans le but d'harmoniser les pratiques, il est recommandé de suivre les protocoles de dénombrement proposés en annexe 11.

Afin d'obtenir un résultat en quantité de matière et non en dénombrement de cellules, le GT « Cyanobactéries » recommande que les résultats des dénombrements soient convertis en biovolume exprimé en mm<sup>3</sup>.L<sup>-1</sup>. Il s'agit d'estimer pour chaque genre de l'échantillon le volume cellulaire associé, afin de s'affranchir des limites de la concentration cellulaire qui n'intègre pas la différence de taille existant entre les cellules selon les taxons et qui peut conduire à surestimer l'importance relative de genres de petites tailles. Cette méthode est normalisée au niveau européen (norme NF EN 16695) et est intégrée aux outils de comptage.

Pour ce faire, le GT « Cyanobactéries » préconise l'utilisation de biovolumes génériques cellulaires

moyens (annexe 8) afin de limiter les problèmes de comparaison de résultats d'estimation des biovolumes. Le biovolume de chaque genre rencontré dans l'échantillon est calculé par utilisation du volume cellulaire moyen spécifique à ce genre et sa multiplication par le nombre de cellules comptées par unité de volume.

Le calcul du biovolume de chaque genre d'un échantillon exige beaucoup de temps et de précision dans les mesures, et reste plutôt voué au domaine de la recherche. C'est pourquoi certains outils informatiques libres comme Phytobs (Laplace-Treytoure *et al.*, 2017) intègrent un biovolume moyen par espèce/genre pour en faciliter la mise en œuvre.

L'identification des cyanobactéries et leur dénombrement sont des étapes délicates qui nécessitent du personnel formé. Or, le nombre de limnologues et de taxonomistes susceptibles d'assurer des déterminations fiables est insuffisant. **Un effort de formation en matière d'identification et de dénombrement des cyanobactéries doit donc être mis en œuvre pour les opérateurs de laboratoire.** La formation de ces opérateurs ainsi que leur participation à des essais inter-laboratoires (EILA) sont nécessaires pour garantir la qualité des résultats obtenus. L'obtention des résultats d'analyses, du prélèvement au dénombrement, sous accréditation, par des laboratoires agréés pourrait aussi être mis en œuvre pour fiabiliser les résultats.

#### 15.8.3.2 Identification des cyanobactéries benthiques

L'identification des cyanobactéries dans les biofilms récoltés doit être effectuée sous un microscope optique droit et entre lame et lamelle.

En revanche, le GT « Cyanobactéries » ne recommande pas de quantification des cyanobactéries benthiques dans les échantillons de biofilms récoltés car celle-ci ne permet pas d'évaluer la biomasse de ces organismes à l'échelle de la zone du cours d'eau étudiée.

## 15.9 Détection et quantification des toxines

Concernant les échantillons de cyanobactéries benthiques, il faudra veiller, avant la recherche de toxines, à homogénéiser complètement l'échantillon résultant du mélange dans un flacon de plusieurs fragments de biofilms.

Le GT « Cyanobactéries » recommande l'utilisation du test ELISA comme méthode de contrôle sanitaire pour l'analyse des cyanotoxines dans l'eau sous réserve de l'emploi d'une méthode validée. Parmi les tests ELISA commercialement disponibles, ceux qui présentent le niveau de réaction croisée le plus important vis-à-vis des différents variants sont à privilégier. Ainsi, pour l'analyse des MC, les tests ELISA anti-ADDA doivent être utilisés.

Le choix d'utiliser la méthode d'analyse ELISA pour le contrôle sanitaire des cyanotoxines tient compte de la simplicité, de la rapidité, de la sensibilité, et de la disponibilité des kits pour un large spectre de cyanotoxines ainsi que de la possibilité de traiter simultanément plusieurs échantillons. La chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM), plus spécifique et qui présente l'avantage de pouvoir identifier et quantifier les différents variants dont les étalons sont disponibles dans le commerce, est une technique complémentaire de l'ELISA qui pourrait être utilisée à des fins de recherche pour la production de données complémentaires, dans l'attente de l'établissement de facteurs d'équivalents toxiques harmonisés au niveau européen et/ou international.

Le GT « Cyanobactéries » recommande également de réaliser en première approche la recherche de cyanotoxines dans la chair de poisson par la méthode ELISA sous réserve de l'emploi d'une méthode validée.

Quelle que soit la matrice considérée, le GT « Cyanobactéries » souligne l'importance de veiller à renseigner les informations minimales permettant de juger de la fiabilité de la méthode analytique considérée (LD, LQ et rendement d'extraction). Les résultats des analyses des toxines sont à communiquer au maximum en 72 h et ce quelle que soit la matrice considérée.

Le GT « Cyanobactéries » recommande par ailleurs de poursuivre les efforts en matière de recherche et développement sur les thématiques suivantes :

1. La validation de méthodes pour favoriser une harmonisation des pratiques de surveillance et de contrôle sanitaire au niveau national ;
2. Une amélioration des connaissances propres aux caractéristiques des différentes méthodes utilisées (par exemple, selon les normes AFNOR : limites de détection et de quantification, rendements d'extraction, effets matrices, répétabilité et reproductibilité interne). Cette étape est nécessaire en vue de l'accréditation de chaque méthode d'analyse pour garantir les résultats obtenus et obtenir l'agrément du laboratoire d'analyse ;
3. La pérennisation et la diversification des sources commerciales de matériaux de référence et d'étalons ainsi que des kits de tests ELISA pour l'ensemble des familles de cyanotoxines ;
4. Le développement d'alternatives à l'oxydation de Lemieux utilisée pour l'analyse des formes totales (libre et liée) des MC, car ce procédé présente de nombreux inconvénients méthodologiques.

## 15.10 Contamination des poissons d'eau douce par les cyanobactéries

### 15.10.1 Fréquences de consommation à ne pas dépasser en fonction de la concentration en microcystines et en cylindrospermopsines dans la chair de poisson

Afin d'apporter des éléments d'éclairage utiles aux gestionnaires, tant pour l'interdiction que pour la levée d'interdiction de consommation de poissons d'eau douce en lien avec des proliférations de cyanobactéries, le GT « Cyanobactéries » a estimé, pour les cyanotoxines à effets subchroniques (MC, CYN), des fréquences de consommation de chair de poisson à ne pas dépasser en fonction de la concentration en toxines mesurée, afin de limiter les expositions à des niveaux inférieurs à la valeur toxicologique de référence. Pour les cyanotoxines à effets aigus (STX), le GT a estimé des concentrations maximales à ne pas dépasser dans la chair de poisson. Ces estimations sont proposées pour la population générale, subdivisée en plusieurs catégories selon l'âge des individus. En l'absence de VTR pour l'ATX-a, cette démarche n'a pas pu être suivie et le GT recommande de ne pas consommer de poissons dès que la concentration mesurée est supérieure à la limite de détection de la méthode analytique.

Les données de consommation sont issues des études INCA2 et BEBE SFAE 2005 (détaillées dans le rapport d'expertise). En l'absence d'information concernant une plus grande sensibilité des enfants, la même VTR s'applique aux estimations pour les adultes et pour les enfants.

#### 15.10.1.1 Microcystine-LR

Le Tableau LXX présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de 1 ng/kg pc/j en fonction du niveau de contamination en MC-LR dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration (compte tenu de l'incertitude de la mesure, il n'est pas possible d'être plus précis).

Le tableau se lit comme suit : si la concentration en MC-LR est de 50 µg.kg<sup>-1</sup> dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois tous les 2 mois » pour les adultes, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 11 à 17 ans, « 1 à 2 fois par an » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau LXX : fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en MC-LR, pour les adultes et les enfants**

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en MC-LR ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de masse fraîche)			
Fréquences de consommation	1 à 2 fois par semaine	]0 – 5]	]0 – 3]	]0 – 2]	]0 – 1]
	2 à 3 fois par mois	]5 – 10]	]3 – 6]	]2 – 3]	]1 – 3]
	1 fois par mois	]10 – 20]	]6 – 17]	]3 – 10]	]3 – 8]
	1 fois tous les 2 mois	]20 – 60]	]17 – 30]	]10 – 20]	]8 – 17]
	1 fois tous les 3 mois	]60 – 100]	]30 – 80]	]20 – 40]	]17 – 30]
	1 à 2 fois par an	]100 – 500]	]80 – 400]	]40 – 200]	]30 – 150]

Selon les données de la littérature (Anses 2016a et mise à jour jusqu'à août 2019), la concentration moyenne la plus élevée rapportée en MC-LR dans le muscle de poisson en Europe est de  $119 \pm 33 \mu\text{g.kg}^{-1}$  de poids frais par méthode ELISA, chez la carpe en Grèce (Papadimitriou *et al.*, 2012).

**À noter** : les données de la littérature montrent que la concentration en MC-LR dans le muscle de poisson est très variable entre les individus et dans le temps (selon le moment du prélèvement par rapport à l'efflorescence). Il est donc recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 15.10.1.2 Cylindrospermopsine

Le tableau LXXI présente la fréquence de consommation de poisson d'eau douce à ne pas dépasser pour que l'exposition moyenne soit inférieure à la VTR subchronique de  $140 \text{ ng/kg pc/j}$  en fonction du niveau de contamination en CYN dans la chair de poisson, exprimé par un intervalle de concentration.

Le tableau se lit comme suit : si la concentration en CYN est de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  dans la chair de poisson, la fréquence de consommation à ne pas dépasser est de « 1 fois par mois » pour les adultes et les enfants de 11 à 17 ans, « 1 fois tous les 3 mois » pour les enfants de 6 mois à 10 ans.

**Tableau LXXI : fréquences de consommation de poissons d'eau douce à ne pas dépasser selon la contamination en CYN, pour les adultes et les enfants**

		Adultes	Enfants de 11 à 17 ans	Enfants de 4 à 10 ans	Enfants de 6 mois à 3 ans
		Concentrations en CYN ( $\text{mg.kg}^{-1}$ de masse fraîche)			
Fréquences de consommation	1 à 2 fois par semaine	]0 – 0,8]	]0 – 0,7]	]0 – 0,35]	]0 – 0,3]
	2 à 3 fois par mois	]0,8 – 3,5]	]0,7 – 3]	]0,35 - 1]	]0,3 – 1]
	1 fois par mois	]3,5 – 6]	]3 – 5]	]1 - 2,5]	]1 – 2]
	1 fois tous les 2 mois	]6 – 9]	]5 – 8]	]2,5 - 3,5]	]2 – 3]
	1 fois tous les 3 mois	]9 – 16]	]8 – 14]	]3,5 - 7]	]3 – 5]
	1 à 2 fois par an	]16 – 76]	]14 – 65]	]7 - 35]	]5 – 25]

L'analyse de la littérature (Anses, 2016a et mise à jour jusqu'en août 2019) n'a identifié qu'une seule étude rapportant une analyse de CYN dans le muscle de poisson en Europe. Les concentrations mesurées par ELISA dans deux échantillons de muscle de truites en Italie étaient de 0,1 et 0,8  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de poids frais (Messineo *et al.*, 2010).

**À noter** : il est recommandé de s'appuyer sur plusieurs prélèvements de poissons dans le temps afin d'identifier la fréquence adéquate à recommander, qui sera également fonction de l'objectif de santé publique recherché (la fréquence peut être fonction de la concentration moyenne ou de la concentration la plus élevée).

### 15.10.1.3 Concentration maximale en saxitoxine à ne pas dépasser dans la chair de poisson (risque aigu)

La VTR de la STX (0,1  $\mu\text{g/kg pc}$ ) étant construite sur un effet aigu pouvant survenir après une seule prise alimentaire, la méthodologie suivie pour la STX est différente de celle suivie pour les MC et la CYN, dont les VTR sont construites sur un effet subchronique. Au lieu d'associer une fréquence de consommation à la concentration en cyanotoxines, c'est la concentration maximale en STX à ne pas dépasser dans la chair de poisson qui a été estimée à partir des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges (Tableau LXXII).

Le seuil sanitaire en STX dans les poissons pourra être défini par le gestionnaire du risque en fonction de l'objectif de santé publique recherché (P95 ou P97,5 de la population cible).

**Tableau LXXII : estimation de la concentration maximale en STX à ne pas dépasser pour des tailles de portion aux percentiles 95 et 97,5 de la population, pour les adultes et les enfants de différentes classes d'âges**

		Classes d'âge	Concentration maximale en STX à ne pas dépasser ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de masse fraîche)
<b>P95 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	84 g	Enfants de 6 mois à 1 an	11
	122 g	Enfants de 1 à 3 ans	10
	150 g	Enfants de 4 à 10 ans	17
	190 g	Enfants de 11 à 17 ans	28
	190 g	Adultes	37
<b>P97,5 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge</b>	92 g	Enfants de 6 mois à 1 an	10
	150 g	Enfants de 1 à 3 ans	9
	180 g	Enfants de 4 à 10 ans	14
	200 g	Enfants de 10 à 17 ans	27
	224 g	Adultes	31

L'analyse de la littérature (Anses 2016a et mise à jour à août 2019) n'a identifié aucune étude rapportant une analyse de STX dans le muscle de poisson en Europe.

### 15.10.1.4 Anatoxine-a

Concernant la contamination des poissons par l'ATX-a, les données de toxicité sont trop limitées pour pouvoir caractériser le danger pour l'Homme. Il n'a pas été possible d'élaborer une valeur sanitaire de référence. En conséquence, il n'est pas non plus possible d'émettre des recommandations relatives à des seuils sanitaires. Le mode d'action révèle un caractère neurotoxique puissant, avec une



implication dans des épisodes de mortalités d'animaux. L'ATX-a est un agoniste cholinergique des récepteurs nicotiques à l'acétylcholine. Elle induit un blocage neuromusculaire et la contraction du muscle squelettique. La toxicité aiguë chez la souris montre des effets rapides avec paralysie musculaire et détresse respiratoire. Au regard de la toxicité aiguë de l'ATX-a, le GT recommande de ne pas consommer de poissons dès que la concentration mesurée est supérieure à la limite de détection de la méthode analytique.

Dans le cadre d'une étude réalisée par le Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) en 2017<sup>65</sup>, des poissons ont été prélevés (2 brèmes, 2 gardons, 2 mulots et petite friture) sur deux sites de la Loire et la concentration en ATX-a a été mesurée par spectrométrie de masse haute résolution (UHPLC-HRMS) dans le muscle, les viscères et l'encéphale. Ces données montrent que la concentration peut atteindre 7642 µg.kg<sup>-1</sup> de masse fraîche dans le muscle de gardon. Les concentrations sont encore plus élevées dans l'encéphale de gardon, atteignant 33 591 µg.kg<sup>-1</sup>.

### **15.10.2 Possibilité de corrélérer des seuils de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans les eaux de baignade à un risque lié à la consommation de poisson d'eau douce**

Sur la base d'une revue systématique de la littérature, le rapport d'appui scientifique et technique « État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines » de l'Anses (2016a) avait identifié une centaine d'articles susceptibles d'apporter des informations utiles. Cet important travail de synthèse avait mis en évidence les nombreuses carences notamment dans les connaissances des cinétiques de contamination et d'élimination des cyanotoxines par les poissons, ainsi que dans le lien potentiel avec la cinétique de prolifération des cyanobactéries.

Ce travail de synthèse avait montré que :

- la très large majorité des travaux porte sur les MC ;
- la contamination des espèces piscicoles planctonivores semble plus élevée que celle des carnassiers, même si certaines études tendent à montrer l'inverse ;
- au sein d'une même espèce, les individus de petites tailles apparaissent plus contaminés que ceux de grandes tailles ;
- les MC s'accumulent préférentiellement dans le foie et les viscères et dans une moindre mesure dans les tissus musculaires ;
- il n'était pas possible d'identifier de relation simple entre la contamination en MC dans le muscle et la dose ou la durée d'exposition aux cyanobactéries dans l'eau ;
- la cinétique d'élimination des cyanotoxines dans le muscle n'est pas connue et est sujette à controverses (*i.e.* les MC musculaires seraient éliminées en quelques jours selon certaines études, très lentement pour d'autres, alors que d'autres travaux ont observé des concentrations plus élevées dans le muscle plusieurs jours après la fin de l'exposition) ;
- les MC liées aux protéines peuvent représenter une part très importante des MC totales<sup>66</sup>, mais les informations quant à leur biodisponibilité et/ou leur redistribution au sein des organismes sont encore insuffisantes (selon certains auteurs, la mobilisation de ces toxines liées depuis le foie vers le muscle pourrait expliquer l'augmentation des concentrations musculaires observées parfois après l'arrêt de l'exposition).

Au regard de ces travaux, il apparaissait alors impossible :

---

<sup>65</sup> Recherche de toxines de cyanobactéries (anatoxines et congénères) dans des prélèvements d'eau, les matrices de biofilms et les matrices de poissons (rapport du 21 décembre 2017, 22 p).

<sup>66</sup> Greer *et al.* (2017) ont estimé que 85% des MC totales dans le muscle de tilapia étaient sous forme liée.

- d'établir un seuil de contamination de l'eau par les MC ou les cellules de cyanobactéries en-dessous duquel la contamination des muscles de poisson ne présenterait pas de risque sanitaire associé à leur consommation ;
- d'identifier une durée permettant une élimination significative des MC dans les muscles après l'épisode d'efflorescence de cyanobactéries.

Une actualisation de la revue systématique a été réalisée en février 2019 et a permis d'identifier 144 nouveaux articles scientifiques traitant de la contamination des poissons d'eau douce par les MC. L'intégralité de ces travaux a fait l'objet d'une double lecture afin de sélectionner les articles éligibles sur la base de leur pertinence et de la fiabilité des méthodes analytiques, puis d'en extraire les données de contamination chez le poisson. Au final, 24 articles ont été jugés éligibles et un seul comportait des données quantitatives qui ont pu être incluses dans la base de données.

Aucun de ces nouveaux articles ne comporte d'information sur la cinétique de contamination des poissons que ce soit *via* l'eau ou par voie trophique.

Concernant la cinétique de décontamination, l'un d'eux souligne la complexité du processus d'élimination des MC accumulées dans la chair de poisson, sur une période de 90 jours (Calado *et al.*, 2018).

Par ailleurs, 16 des 144 articles comportant à la fois des données de concentration de MC dans les poissons d'eau douce et dans l'eau ont été analysés. Cependant, il n'existait que très rarement au sein de ces travaux une concordance entre les dates et/ou la localisation des prélèvements des poissons et des échantillons d'eau. Il s'avère donc trop hasardeux de rechercher une relation entre les concentrations de ces deux matrices (même dans l'hypothèse d'une relation simple entre celles-ci).

**Les conclusions de cette analyse systématique de la littérature restent donc les mêmes que celles formulées par l'Anses en 2016.**

La levée d'une interdiction de pêche devrait donc reposer sur une analyse de cyanotoxines dans les poissons plutôt que sur une période de temps post-efflorescence.

Par ailleurs, le GT « Cyanobactéries » recommande la réalisation d'études qui permettraient d'apporter des éléments de connaissance sur la cinétique de contamination et d'élimination des cyanotoxines chez les poissons et sur le lien avec les efflorescences de cyanobactéries.

Afin d'acquérir des données sur les relations entre la présence de cyanobactéries/cyanotoxines dans l'eau et la concentration en cyanotoxines dans les poissons, le GT recommande que des études soient menées en conditions contrôlées en laboratoire et *in situ* dans les écosystèmes. Dans ce dernier cas, ces études devront s'appuyer sur des prélèvements conjoints (en termes de lieu et de temps) d'eau et de poissons d'espèces consommées, en prenant en considération leurs divers régimes alimentaires. Il serait utile d'étudier l'évolution saisonnière de la contamination en cyanotoxines de la chair de poissons.

Enfin, au regard de la littérature qui témoigne de relations complexes entre MC liées et libres, ainsi que d'un organotropisme qui nécessite d'être mieux déterminé, la prise en considération des formes libres et liées des MC qui peuvent être présentes au sein de divers organes (muscle, foie, viscères) semble nécessaire.

### **15.10.3 Modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade**

Concernant la question relative aux modalités de la surveillance des poissons, la méthodologie a pris en compte les éléments suivants :

- Un objectif principal de mettre en place un plan d'échantillonnage de poissons afin d'estimer les niveaux de contamination en cyanotoxines (MC-LR, CYN, STX, ATX-a) dans la chair.
- Les données de contamination en MC-LR de poissons d'eau douce, issues d'une étude menée en Lituanie (Bukaveckas *et al.*, 2017). Le GT n'ayant pas identifié de données

françaises de contamination des poissons, ces données ont été utilisées à titre d'illustration de la démarche proposée.

Afin d'établir un plan d'échantillonnage, le nombre d'individus à prélever par espèce est défini à l'aide de l'équation ci-dessous. Deux plans d'échantillonnage ont été élaborés en tenant compte ou non de la période de collecte des données (post, pré et durant l'efflorescence).

$$n = \frac{|t|_{\alpha}^2 \times \sigma^2}{(i \times \mu)^2}$$

- $n$  : le nombre d'individus nécessaire
- $\sigma^2$  : la variance de l'échantillon
- $i$  : la précision souhaitée
- $\mu$  : la moyenne de l'échantillon
- $\alpha$  : le risque de première espèce
- $|t|$  : la valeur de la statistique de Student à la probabilité de 5 % avec un nombre de degrés de liberté dépendant de l'effectif de l'espèce (sous l'hypothèse de normalité)

Le GT « Cyanobactéries » souligne qu'une bonne connaissance de la masse d'eau (plan d'eau, étang de pisciculture, cours d'eau) est un préalable à la mise en place d'une surveillance des poissons pour évaluer leur contamination par les cyanotoxines. Cet **état des lieux** doit prendre en compte la typologie du plan d'eau, les espèces de poissons pêchées/consommées, l'historique (fréquence, durée, intensité) des épisodes d'efflorescence et des cyanotoxines mesurées, la présence de biofilms de cyanobactéries benthiques, les niveaux de cyanotoxines dans la chair de poisson selon les espèces ou les régimes alimentaires.

À partir des données issues de cet état des lieux, il sera possible de définir un plan de surveillance s'appuyant le cas échéant sur une ou des espèces sentinelles<sup>67</sup> de poisson. À titre d'illustration, le GT « Cyanobactéries » s'est appuyé sur des données de la littérature pour montrer comment de telles données pourraient être utilisées afin d'estimer le nombre de spécimens de poissons à analyser selon la précision visée par le gestionnaire (disponible dans le rapport d'expertise).

**Pour limiter l'exposition des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » rappelle les recommandations générales d'ététer et d'éviscérer les poissons avant consommation (ou avant congélation) et de ne pas consommer entiers les petits poissons (fritures).**

Afin de pouvoir estimer l'exposition alimentaire des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » recommande d'acquérir des données :

- de contamination par les cyanotoxines (MC, CYN, STX, ATX-a) des poissons d'eau douce en France (espèces consommées, prélevées tout au long de l'année) ainsi que d'autres organismes dulçaquicoles consommés par l'Homme (e.g écrevisses, grenouilles) ;
- de consommation des poissons d'eau douce en France (espèces, taille de portion, fréquence de consommation), ainsi que d'autres organismes dulçaquicoles tels que les écrevisses et les grenouilles ;
- de pratiques de pêche (zones de pêche, saisonnalité, prise en compte ou pas de la présence d'efflorescence, congélation de la pêche pour une consommation tout au long de l'année, proportion de pêche de loisir en « no kill »).

<sup>67</sup> Une espèce sentinelle (poisson) se contamine plus rapidement et à des niveaux plus élevés que les autres espèces, par exemple la moule est utilisée par l'Ifremer comme espèce sentinelle pour la surveillance de la contamination des mollusques bivalves filtreurs par les biotoxines marines. Une espèce sentinelle doit aussi être suffisamment abondante sur le site, de manière permanente et doit être facile à prélever, en quantité adéquate pour l'analyse.

## 15.11 Stratégie de surveillance des ressources utilisées pour la production d'eau potable et gestion sanitaire

### 15.11.1 Cyanobactéries planctoniques

Le suivi sanitaire des ressources utilisées pour la production d'EDCH est réalisé à deux niveaux :

- surveillance effectuée par l'exploitant (PRPDE). Les paramètres et les fréquences de suivi sont fixés par l'exploitant ;
- contrôle sanitaire (CS) des eaux diligenté par les ARS. Les paramètres suivis et la fréquence d'analyse sont fixés par arrêté (arrêté du 11 Janvier 2007 relatif au programme de prélèvements et d'analyse de contrôle sanitaire pour les eaux fournies par un réseau de distribution publique, pris en application des articles R-1321-10, R 1321-15 et R 1321-16 du code de la santé publique modifié).

Actuellement, le contrôle sanitaire préconise la recherche de MC dans les eaux brutes et traitées lorsque les observations visuelles et/ou analytiques mettent en évidence un risque de prolifération de cyanobactéries. À la suite des auditions des gestionnaires et exploitants de ressources, il apparaît nécessaire que les masses d'eau superficielles utilisées pour la production d'EDCH fassent l'objet d'un suivi réalisé directement par l'exploitant de la ressource (surveillance) complété par un contrôle régulier mis en œuvre par l'autorité sanitaire (*cf.* arbre décisionnel, figure 72).

La stratégie de surveillance des ressources destinées à la production d'EDCH doit être basée sur un suivi de routine qui sera renforcé en cas de suspicion (seuil d'entrée en vigilance) ou de confirmation (seuil d'entrée en alerte) de prolifération de cyanobactéries. Elle doit s'accompagner de mesures de gestion si des proliférations de cyanobactéries sont observées dans la ressource utilisée.

Pour cela, lors de l'établissement des plans de gestion de sécurité sanitaire des eaux (PGSSE), il est recommandé de caractériser de façon systématique la vulnérabilité de la ressource vis-à-vis des cyanobactéries et la capacité de la filière de traitement à éliminer le cas échéant les cyanobactéries et leurs toxines intracellulaires ou dissoutes dans l'eau, lorsque l'approvisionnement est assuré en tout ou partie par des eaux superficielles.

Un état des lieux de toutes les ressources d'eau superficielles utilisées pour la production d'EDCH doit être mis en place. En fonction des résultats de bilans réalisés *a minima* sur une période de trois ans, la fréquence du contrôle sanitaire pourra alors être adaptée par les autorités sanitaires en fonction de la vulnérabilité des prises d'eau (par exemple, absence de suivi si absence totale de cyanobactéries durant ces trois ans, ou suivi mensuel uniquement pendant la période estivale).

- Surveillance des exploitants et contrôle sanitaire

#### Surveillance par l'exploitant

Les proliférations de cyanobactéries sont des phénomènes évolutifs, très dynamiques, qui apparaissent de manière plus ou moins stochastique, en France métropolitaine, le plus souvent entre le mois de mai et le mois d'octobre mais qui peuvent survenir tout au long de l'année dans les départements d'outre-mer. Les facteurs et processus régulant les proliférations de cyanobactéries étant particulièrement complexes, ces phénomènes sont souvent difficilement prévisibles. Il peut arriver que des épisodes de prolifération surviennent entre deux prélèvements réalisés au titre du contrôle sanitaire et passent donc inaperçus au regard des autorités sanitaires. C'est pourquoi, il apparaît important de réaliser un suivi visuel quotidien des ressources en eau et d'utiliser d'autres paramètres ou outils (tels que des sondes équipées de capteurs) pour compléter cette surveillance ponctuelle. De tels équipements permettraient une meilleure réactivité.

Le GT « Cyanobactéries » recommande donc comme première approche de ce suivi (*cf.* arbre décisionnel, figure 72), une surveillance visuelle journalière de la ressource réalisée par l'exploitant

afin de repérer en temps réel, notamment à travers d'un changement de la couleur de l'eau, l'apparition d'éventuelles proliférations de cyanobactéries. Cette surveillance visuelle des ressources constitue une approche directe qui doit être associée à des mesures ponctuelles ou en continu (par capteurs) de plusieurs paramètres physico-chimiques de l'eau, à *minima* du pH, de la turbidité et de l'oxygène dissous. Pour les sites connus comme étant vulnérables aux proliférations de cyanobactéries ou susceptibles de l'être, le GT « Cyanobactéries » recommande également un suivi de la chlorophylle-a pour anticiper les variations de la biomasse phytoplanctonique et/ou d'autres pigments plus spécifiques des cyanobactéries comme par exemple la phycocyanine.

Dès les premiers signes d'une prolifération de cyanobactéries (modification de couleur de la masse d'eau, présence d'accumulations en surface, d'odeur et/ou de goût de l'eau) et/ou d'une variation rapide et importante d'au moins un des paramètres physico-chimiques suivis, l'exploitant devra analyser la situation et prévenir les autorités compétentes. En complément, cette dernière pourra effectuer des prélèvements et analyses ponctuelles afin de mieux cerner l'étendue de la prolifération (par exemple sur l'ensemble de la surface du plan d'eau et dans toute la colonne d'eau) et l'impact sur la qualité de l'eau alimentant la filière de traitement. La stratégie de surveillance sera à définir localement et s'appuiera, le cas échéant, sur les conclusions du PGSSE. L'exploitant devra rapidement mettre en place les actions adéquates pour adapter sa filière de traitement.

Les cyanobactéries étant capables d'évoluer verticalement dans la colonne d'eau, les experts préconisent, lorsque la conception de la prise d'eau le permet, de faire varier la profondeur à laquelle l'eau est pompée pour la production d'EDCH afin d'éviter de prélever l'eau dans la couche la plus chargée en cyanobactéries. L'exploitant veillera également à adapter la surveillance de la filière de traitement à la situation rencontrée : la recherche de toxines à différentes étapes de traitement en vue d'identifier l'étape critique et d'optimiser la filière peut s'avérer nécessaire, notamment en cas de mise en évidence de cyanotoxines dans l'eau traitée.

Lorsque des toxines sont mises en évidence dans l'eau traitée, les mesures de gestion à mettre en œuvre sont proposées, en fonction des valeurs mesurées.

Finalement, tous les signes de prolifération de cyanobactéries sur la ressource et/ou toutes les anomalies de fonctionnement sur la filière (par exemple colmatage de filtres, perte de charge importante), s'ils sont jugés préoccupants par l'exploitant, devront d'une part conduire ce dernier à une adaptation de la filière de traitement et d'autre part être signalés à l'ARS. Cette dernière mettra alors en œuvre des analyses supplémentaires (étape vigilance) afin de vérifier si les modifications observées sont liées, ou non, à des proliférations de cyanobactéries.

### **Contrôle sanitaire par l'ARS**

Parallèlement à la surveillance réalisée par l'exploitant, un contrôle sanitaire des ressources effectué par les ARS doit être mis en place toute l'année, à *minima* selon les dispositions définies dans l'arrêté du 11 janvier 2007 modifié. Le GT « Cyanobactéries » préconise, dans une première étape de ce contrôle, le dosage de la chlorophylle-a et l'identification des cyanobactéries puis, si des genres toxigènes sont identifiés, le dénombrement de leurs cellules et l'évaluation de leurs biovolumes totaux dans les eaux brutes. Il convient de rappeler que si l'on considère un genre potentiellement toxique se développant dans un plan d'eau ou un cours d'eau, ses populations peuvent être composées dans des proportions qui varient dans le temps et même quelques fois dans l'espace à l'échelle du plan d'eau, par des individus possédants ou non le matériel génétique nécessaire à la synthèse des cyanotoxines. Le GT « Cyanobactéries » préconise l'estimation des biovolumes des genres identifiés de cyanobactéries toxigènes qui serviront uniquement d'indicateurs de la possible présence de toxines, au même titre que la biomasse phytoplanctonique globale (exprimée en concentration de chlorophylle-a par unité de volume d'eau).

La préconisation du suivi de la chlorophylle-a au cours du contrôle sanitaire tient au fait que les données ainsi collectées permettront potentiellement de rechercher s'il est possible d'établir une corrélation par plan d'eau entre la concentration en chlorophylle-a et le dénombrement de cyanobactéries potentiellement toxigènes. Cela pourrait permettre d'utiliser ce paramètre comme indicateur de suivi sachant que pour l'instant, il n'a pas été possible de proposer un seuil de gestion basé sur la chlorophylle-a pour les EDCH. En effet, un seuil calculé sur le même mode que pour les eaux de baignade serait trop bas et entraînerait une entrée en vigilance systématique.

Les experts ont fixé un seuil de vigilance en biovolume total représenté dans la masse d'eau par les genres toxigènes de  $0,65 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ . Ce seuil a été calculé par rapport à la concentration maximale tolérable en MC. Son dépassement doit conduire à une augmentation de la fréquence du contrôle sanitaire (une fois par semaine) et à la recherche dans l'eau traitée des toxines associées (fraction totale) aux genres identifiés potentiellement toxigènes (Alerte 1). Ce renforcement du contrôle sanitaire sera maintenu jusqu'à l'obtention d'un biovolume en cyanobactéries potentiellement toxigènes inférieur au seuil de  $0,65 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ .

Concernant l'Alerte 1, le GT « Cyanobactéries » a fixé des valeurs seuils pour plusieurs cyanotoxines basées sur le calcul d'une valeur guide telle que définie par l'OMS, en considérant que la part de l'exposition attribuable à l'eau serait de 100 %. Ainsi, sur la base des nouvelles VTR élaborées par l'Anses pour la MC, la CYN et la STX, les valeurs guides à ne pas dépasser, pour la population des enfants de moins de six ans (population la plus sensible), sont indiquées dans le tableau LXIX. Les valeurs proposées pour les toxines concernent les toxines totales (intra et extracellulaire) et l'ensemble des variants de chaque toxine. Les données toxicologiques disponibles à ce jour ne concernent que l'ingestion.

En cas d'alerte de niveau 1 ou en cas de mise en évidence de cyanotoxines dans l'eau traitée, le GT « Cyanobactéries » recommande une intensification du suivi de la filière de traitement.

Pour les ATX-a et les STX, qui peuvent générer des effets aigus, le dépassement de la limite de détection pour les ATX-a et de la dose journalière d'exposition correspondante à la VTR aigüe pour les STX conduisent directement à la mise en œuvre des mesures de gestion prévues en cas d'alerte 2.

Pour les MC et CYN, les valeurs guide sont basées sur des effets observés chez des rongeurs lors d'une exposition subchronique aux cyanotoxines (exposition supérieure à 14 jours). Le GT « Cyanobactéries » recommande alors qu'en cas de dépassement des valeurs guides, la surveillance des toxines dans l'eau traitée soit poursuivie et le délai de retour à la normale (*i.e* absence de détection de toxines dans l'eau traitée) ne dépasse pas une exposition cumulée de sept jours. Cette période de tolérance permettra à l'exploitant d'identifier la ou les étape(s) critique(s) de la filière et de mettre en œuvre les mesures correctives adaptées avant le prochain prélèvement du contrôle sanitaire.

Lorsque l'alerte 2 est atteinte, le GT « Cyanobactéries » recommande alors de changer de ressource temporairement tout en continuant à surveiller les dénombrements en cyanobactéries et les concentrations en cyanotoxines dans la ressource incriminée, jusqu'à ce que le biovolume et la concentration en toxines soient inférieurs aux valeurs seuils respectives définies en alerte 2. Si aucune autre ressource n'est disponible, le GT « Cyanobactéries » recommande de restreindre l'usage de l'eau produite par la ressource incriminée et de fournir à la population de l'eau embouteillée par exemple.

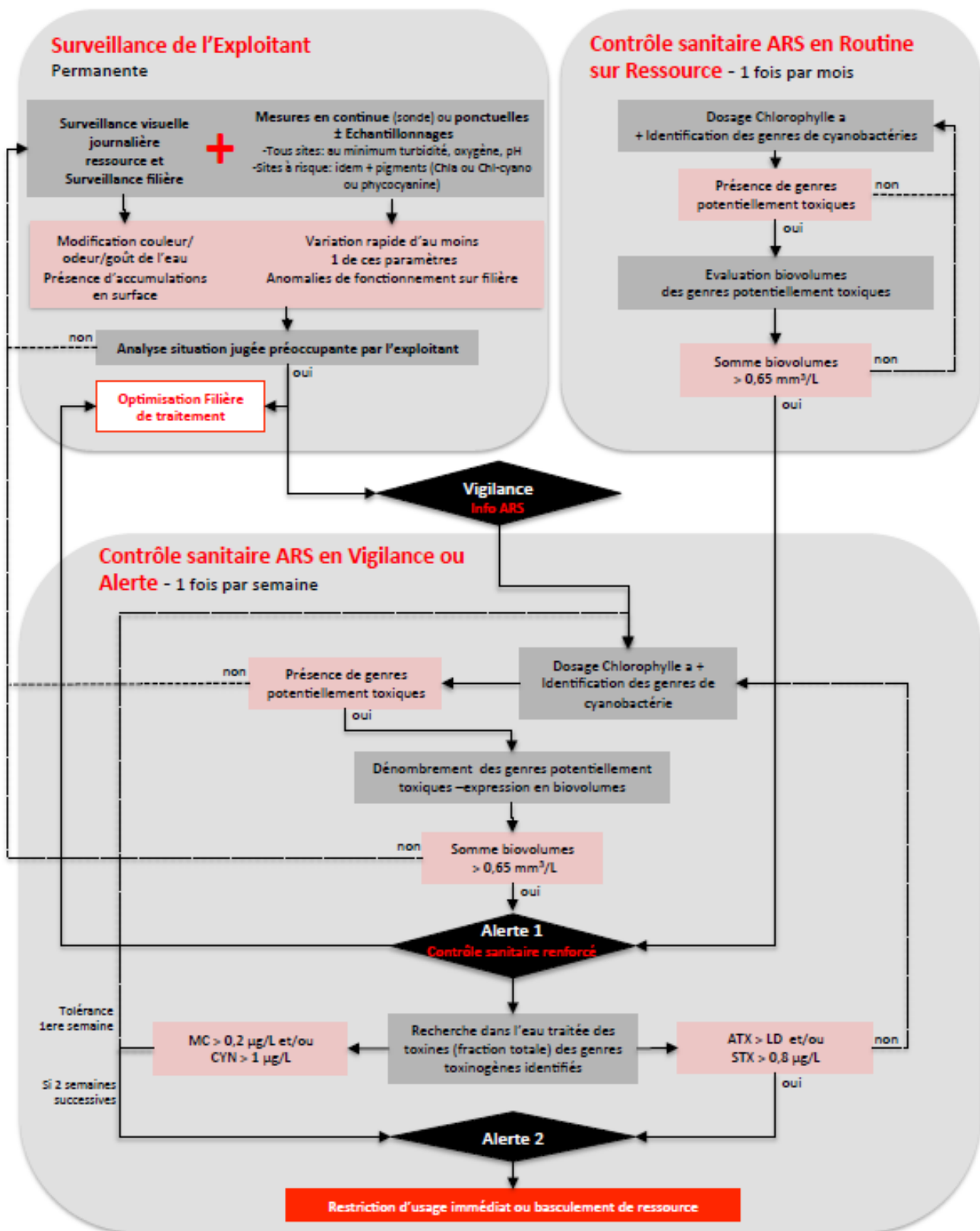


Figure 72 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des EDCH vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques

### 15.11.2 Cyanobactéries benthiques

Compte tenu de la typologie des masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH et en particulier de leur profondeur qui n'est pas favorable au développement de cyanobactéries benthiques, le GT « Cyanobactéries » ne préconise pas de surveillance systématique des cyanobactéries benthiques dans les ressources utilisées pour la production d'eau potable. En revanche, en cas de mise en évidence de proliférations de cyanobactéries benthiques en amont des prises d'eau EDCH, il recommande que des analyses d'ATX dans l'eau traitée soient réalisées.

## 15.12 Stratégie de suivi des eaux récréatives et gestion sanitaire

### 15.12.1 Cyanobactéries planctoniques

La mise en place d'un programme de surveillance adapté aux zones de baignade et aux zones de pratiques de loisirs nautiques permet de réduire le risque d'exposition des usagers et des professionnels aux toxines associées aux cyanobactéries.

Comme dans le cas des masses d'eau utilisées pour la production d'EDCH, le GT « Cyanobactéries » recommande d'associer une surveillance du gestionnaire du site à un contrôle sanitaire régulier par l'autorité sanitaire (figure 73).

Dans le cas des zones de loisirs nautiques, en l'absence de dispositions réglementaires relatives au contrôle sanitaire de ces sites, la mise en œuvre d'un suivi, si cela s'avère nécessaire au vu des résultats de la surveillance, relèverait du gestionnaire du site, qui pourra alors s'appuyer sur les dispositions proposées ci-dessous dans le cadre de la surveillance des eaux de baignade.

#### 15.12.1.1 Eaux de baignade

##### **Surveillance par le gestionnaire**

Comme dans le cas des ressources utilisées pour la production d'EDCH, le contrôle visuel des masses d'eau réalisé par le gestionnaire est le premier indicateur de prolifération de cyanobactéries. Il peut lui être associé un suivi de pigments photosynthétiques par sonde.

Dès les premiers signes d'une prolifération de cyanobactéries (modification de couleur de la masse d'eau, présence d'accumulation en surface) et/ou d'une variation rapide des concentrations des paramètres suivis par les sondes ou en cas de mortalité animale (faune domestique ou faune sauvage), la personne responsable du site de baignade devra informer les autorités compétentes afin que ces dernières fassent procéder à des analyses complémentaires pour l'évaluation du risque.

##### **Contrôle sanitaire par l'ARS**

Parallèlement à la surveillance exercée par le gestionnaire, le GT « Cyanobactéries » préconise lors du contrôle sanitaire du site de baignade, la mise en place de l'observation visuelle de la masse d'eau couplée à un dosage de chlorophylle-a. En cas de dépassement du seuil de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  en chlorophylle-a, une identification des cyanobactéries présentes dans l'eau sera réalisée (Vigilance). Si la présence de genres potentiellement toxigènes est identifiée, les cyanobactéries seront alors dénombrées. Dans ce cas, la fréquence du contrôle sanitaire devra être augmentée (une fois par semaine). Comme dans le cas des ressources utilisées pour la production d'EDCH, les résultats de dénombrement seront exprimés en biovolume.



L'alerte 1 est déclenchée si la somme des biovolumes est supérieure à  $1 \text{ mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ . La recherche des toxines susceptibles d'être produites par les cyanobactéries toxigènes identifiées est alors effectuée.

Lorsque des toxines sont mises en évidence, comme dans le cas des ressources utilisées pour produire de l'EDCH, les mesures de gestion suivantes sont préconisées par le GT « Cyanobactéries » :

- Pour les ATX et les STX, le dépassement de la limite de détection pour la première famille et de  $30 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  pour la seconde, conduisent à une interdiction de la baignade et à une information du public (Alerte 2) ;
- Pour la MC et la CYN, lorsque les valeurs guides respectivement de  $0,3 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  et de  $42 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  sont dépassées, les mesures de gestion définies pour l'alerte 2 sont mises en place.

Afin de limiter l'exposition des consommateurs, le GT « Cyanobactéries » recommande de ne pas consommer de poisson lorsque l'alerte 2 est déclenchée (dans l'attente de résultats d'analyse de poissons pour la recherche de cyanotoxines).

Si les seuils et valeurs guides ne sont pas dépassés, une information du public relative au risque lié à la présence de cyanobactéries est mise en place, mais les activités récréatives et de baignade sont maintenues.

#### 15.12.1.2 Zones de loisirs nautiques

Il existe trois voies principales d'exposition aux cyanobactéries lors de la pratique d'activités nautiques : l'ingestion, l'inhalation et le franchissement de la barrière cutané-muqueuse. L'inhalation d'aérosols contaminés par des cyanobactéries et leurs cyanotoxines est possible par des aérosols générés lors d'activités nautiques, à l'exemple du ski nautique. Des activités impliquant une immersion ponctuelle de la tête (planche à voile, dériveur, canoë-kayak ou équivalents) peuvent conduire à une exposition par ingestion par voie buccale voire par voie nasale.

C'est pourquoi, lors d'une alerte de type 2, le GT « Cyanobactéries » recommande d'éviter la pratique des activités de loisirs nautiques précitées, sur les sites concernés ou à proximité.

En fonction du contexte local et du niveau de pratique des usagers, les responsables et les éducateurs sportifs qui encadrent des activités nautiques pourront adapter les mesures de restriction de la pratique des activités nautiques.

#### 15.12.1.3 Recommandations générales

Dès lors que l'alerte 1 est atteinte, le GT « Cyanobactéries » recommande la mise en place d'un dispositif d'affichage destiné au public fréquentant les sites concernés. Dans ce cas, il est nécessaire d'installer à proximité des zones d'usage, un panneau de prévention des risques liés à la présence de cyanobactéries (annexe 12), et un panneau affichant les résultats de contrôle sanitaire et les mesures de restriction d'usage qui pourraient en découler. Le GT « Cyanobactéries » recommande également que les plaintes des baigneurs et usagers des activités nautiques soient recueillies au niveau des postes de secours et transmises aux ARS et CAP.

D'une manière générale, quel que soit le site (zones de baignade ou zones de loisirs nautiques), dès qu'un affichage informant le public sur la présence de cyanobactéries est mis en place, le GT « Cyanobactéries » recommande que les conseils suivants soient diffusés :

- les enfants ne doivent pas s'amuser avec les amas de cyanobactéries accumulées en surface ou sur les rives et/ou les pierres et cailloux en bordure de plans d'eau ou de cours d'eau ;
- une douche doit être prise et une consultation médicale doit être effectuée en cas d'apparition de signes cliniques suspects (tels que gastro-entérite, démangeaisons, rougeurs,

conjonctivite, vertiges, altérations des sensations) consécutifs à une exposition avec de l'eau contaminée lors d'une baignade ou activité nautique.

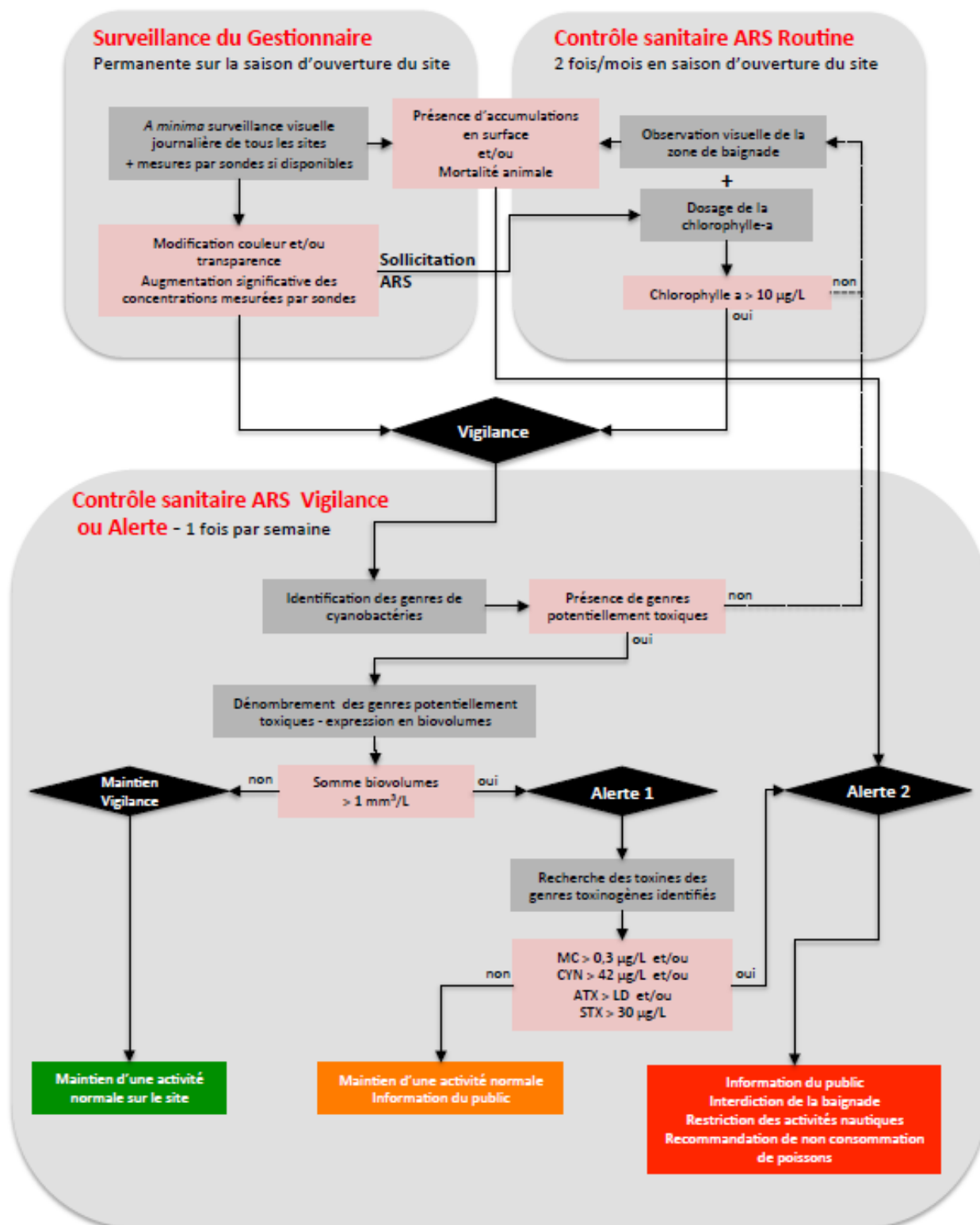


Figure 73 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques

### 15.12.2 Cyanobactéries benthiques

Dans les rivières, où les cyanobactéries benthiques sont susceptibles de proliférer, un plan de suivi est plus complexe à mettre en œuvre car (i), il existe une grande variabilité spatio-temporelle du développement des biofilms et (ii), des biofilms produits en amont de la zone de baignade peuvent se disséminer sur cette zone au gré des courants. Les modalités de prélèvements doivent être adaptées en fonction des caractéristiques locales et de leurs éventuelles modifications (par exemple à la suite d'événements pluvieux : augmentation de la profondeur, augmentation du débit, de la vitesse du courant).

Il n'apparaît cependant pas nécessaire de réaliser un suivi systématique des cyanobactéries benthiques sur tous les cours d'eau.

Une surveillance adaptée et ciblée (figure 74) pourrait être mise en œuvre pendant la saison balnéaire (quatre mois correspondant à la période estivale), notamment après une augmentation du débit du cours d'eau consécutive à une période d'étiage, car c'est à ce moment-là que les biofilms sont susceptibles d'être détachés de leurs supports et d'être visibles sous forme de floccs flottant en surface.

Les sites à surveiller sont les zones fréquentées par le public et/ou ayant déjà présenté des proliférations de cyanobactéries benthiques.

Il est proposé aux gestionnaires, pour les sites ayant déjà connu des épisodes de proliférations de cyanobactéries benthiques, d'informer le public par des affichages (le développement d'une vigilance citoyenne est également recommandé *via* des appels téléphoniques / photos).

Pour tous les sites surveillés, en cas d'observation de développement ou d'accumulation de biofilms détachés en surface (Vigilance), l'information au public doit être renforcée (par voie d'affichage tels que ceux proposés par l'ARS Lozère ou l'ARS Centre-Val de Loire (annexe 12) ou mise à disposition de flyers dans les campings, hôtels, offices du tourisme). Le GT « Cyanobactéries » recommande également que les gestionnaires proposent d'éviter les activités dans les zones de développement et d'accumulation de cyanobactéries, de surveiller les jeunes enfants et d'inciter les maîtres de chiens à éviter que leurs chiens ne puissent accéder à la zone de développement. Les gestionnaires devront suivre l'évolution de la situation. Dans le cas où le site concerné constitue une zone de baignade, le gestionnaire devra, en outre, informer l'autorité responsable du contrôle sanitaire, de l'observation des biofilms.

L'autorité sanitaire compétente devra, en cas d'entrée en vigilance suite aux observations de biofilms faites dans le cadre du contrôle sanitaire (deux fois par mois) ou suite à une sollicitation de l'exploitant, procéder à une vérification de la dominance des cyanobactéries dans les échantillons de biofilms prélevés. Si ces observations confirment la dominance des cyanobactéries (Alerte 1), la recherche d'ATX sera effectuée. Si la toxine est détectée (Alerte 2), la possibilité d'adapter la zone de baignade (restriction de la surface de la zone définie ou déplacement) pour une zone non contaminée par les cyanobactéries sera discutée. Si aucune adaptation n'est possible, la baignade devra être interdite.

L'alerte 2 pourra conduire par ailleurs à la recommandation de non consommation de poissons qu'ils soient pêchés en zone de baignade ou en dehors de ces zones.

Il convient de noter qu'actuellement dans certaines régions, en l'absence de recommandations, les situations de proliférations sont gérées en axant les actions uniquement sur l'information du public. C'est le cas notamment pour les Gorges du Tarn, lieu souvent touché ces dernières années par ce phénomène avec des mortalités de chiens, et où a été privilégiée la communication préventive sur ce danger (coordination par l'ARS Occitanie – délégation de la Lozère). Des affiches et des flyers sont distribués à la population, notamment aux propriétaires d'animaux domestiques et aux parents de jeunes enfants (distribution dans les campings, offices de tourisme, location de canoë), et des panneaux d'information sont disposés sur les zones d'accès aux rivières. Il n'y a ici ni interdiction de pêche ni de consommation, mais des recommandations (éviscération et étêtage systématique des produits).

Si la communication est un élément important dans la gestion de ces épisodes, il convient d'en évaluer l'efficacité et son déploiement, le cas échéant, dans d'autres départements.

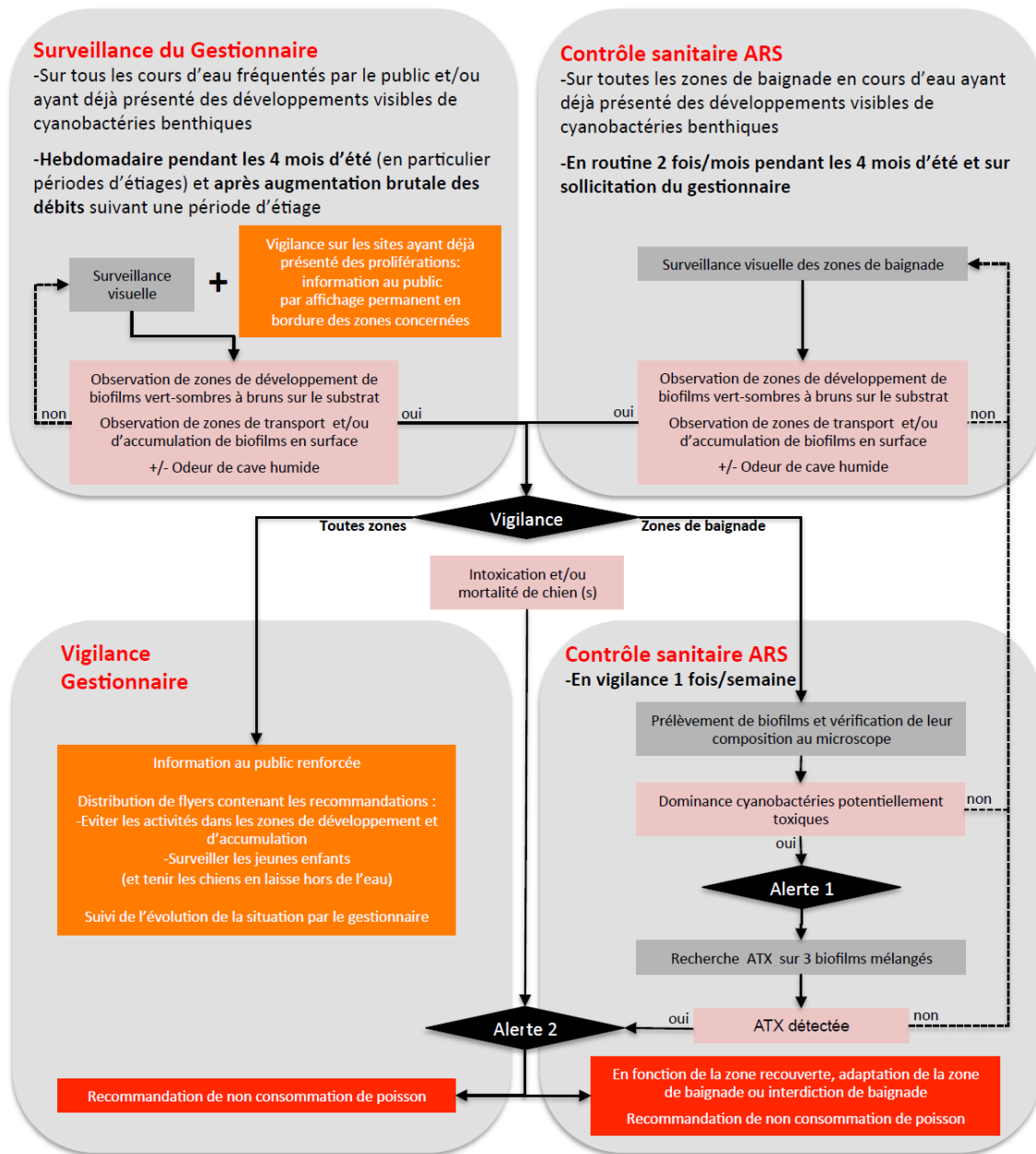


Figure 74 : proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries benthiques

### 15.13 Recommandations générales

Afin d'harmoniser les pratiques et de disposer de référentiels nationaux relatifs aux cyanobactéries et à leurs toxines, le GT « Cyanobactéries » recommande par ailleurs de mettre en place une structure nationale de référence, telle que celles consacrées aux micro-organismes pathogènes, à l'exemple de celle existant pour les légionelles.

Une telle structure pourrait être chargée :

- du développement, de la validation et de l'harmonisation des protocoles d'échantillonnage tant pour les cyanobactéries planctoniques que pour les cyanobactéries benthiques ;
- du développement, de l'optimisation et de la validation des méthodes d'analyse des cyanobactéries et de leurs toxines ainsi que de la participation à leur validation/normalisation ;
- de la coordination, avec le Laboratoire d'hydrologie de l'Anses, de l'organisation de tests inter-laboratoires, la confirmation de résultats d'analyse réalisées par les laboratoires agréés, l'organisation de sessions de formation ;
- de répondre à toute demande d'expertise scientifique ou technique des ministères ;
- de la veille scientifique et technique.

## 16 Bibliographie

### 16.1 Publications

#### 16.1.1 Rapports

Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) (2009a). Note relative à la situation de contamination des plans d'eau de la base de loisirs de Champs sur Marne par des saxitoxines. 4 pages. <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAU2009sa0180.pdf>

Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) (2009b). Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA2) (2006-2007), Septembre 2009, 229 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/PASER-Ra-INCA2.pdf>

Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) (2008a). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la pertinence des outils de détection des phycotoxines lipophiles dans les coquillages.

Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) (2008b). Note relative à la consommation de produits alimentaires en présence d'efflorescence de cyanobactéries (saisine n°2007-SA-0219). 10 pages. <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP2007sa0219.pdf>

Afssa-Afsset (2006). Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives", 227pp, juillet 2006.

AFSSET (2004) Avis de l'Agence Française de Sécurité sanitaire de l'Environnement et du Travail relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans les plans et cours d'eau destinés à la baignade ou à d'autres usages, Saisine AFSSET 2004/008.

Agence régionale de santé. 2017. Qualité sanitaire des eaux de baignade en Seine Maritime et dans l'Eure Bilan de la saison 2016. 33p. En ligne : [https://www.normandie.ars.sante.fr/system/files/2017-05/276\\_bilan2016.pdf](https://www.normandie.ars.sante.fr/system/files/2017-05/276_bilan2016.pdf) (consulté le 19 décembre 2017).

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2020) Avis et rapport de l'Anses relatif à la proposition de VTR aiguë par voie orale pour la saxitoxine (CAS n°35523-89-8), 51p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2016SA0299Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2019a). Avis du 7 janvier 2019 et rapport d'expertise relatifs à la proposition de VTR subchronique par voie orale pour la microcystine-LR, 96p, saisine n°2016-SA-0297. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2016SA0297Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2019b). Avis du 7 janvier 2019 et rapport d'expertise relatifs à la proposition de VTR subchronique par voie orale pour la cylindrospermopsine, 80p, saisine n°2016-SA-0298. <https://www.anses.fr/fr/system/files/VSR2016SA0298Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2019c). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux pinnatoxines dans les coquillages.

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2019d). Avis du 17 décembre 2019 relatif à la détermination des valeurs sanitaires maximales (Vmax) pour différents pesticides et métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine, 33p, saisine n°2018-SA-0134. <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAU2018SA0134.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2017a). Valeurs toxicologiques de référence-Guide d'élaboration de l'Anses, 181p, Saisine n° 2017-SA-0016. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBSTANCES2017SA0016Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2017b). Avis et rapport de l'Anses relatif à l'Étude individuelle Nationale des consommations alimentaires 3 (INCA 3), 535p., saisine n°2014-SA-0234. <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2014SA0234Ra.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2017c). Risques sanitaires associés au recyclage d'effluents de lavage dans les filières de traitement d'eau destinée à la consommation humaine et modalités de gestion à mettre en œuvre (proposition d'une démarche d'analyse du risque) - Version révisée – Saisine 2011-SA-0041. 122pp, juin 2017.

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2016a). Etat des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines. Rapport d'appui scientifique et technique de juin 2016, 262 p. Saisine n°2015-SA-0206. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2015SA0206.pdf>

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2016b). Guide méthodologique en sécurité sanitaire des eaux. Prélèvement, dénombrement et identification des Cyanobactéries dans les eaux douces accueillant des activités de baignade et de loisirs nautiques. Laboratoire d'hydrologie de Nancy. Version 0, 20p.

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2013). Risques sanitaires associés au recyclage d'effluents de lavage dans les filières de traitement d'eau destinée à la consommation humaine et modalités de gestion à mettre en œuvre (Proposition d'une démarche d'analyse du risque)

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2010). Évaluation de l'innocuité des réacteurs équipés de lampes à rayonnements ultraviolets et de l'efficacité de ces procédés pour la désinfection des eaux destinées à la consommation humaine – Saisine 2009-SA-0002. 89pp, novembre 2010.

Anses/InVS (2011). Étude nationale d'imprégnation aux polychlorobiphényles des consommateurs de poissons d'eau douce (ICAR-PCB). Rapport d'étude scientifique. Novembre 2011, 176 p.

Anses - OCA (2010). Description des consommations d'eaux à partir de l'étude INCA 2. Agence nationale de sécurité sanitaire.

CAPTIV (2017). Cyanobactéries : cas rapportés aux Centres antipoison entre le 01/01/2006 et le 01/09/2017. De Haro L, Labadie M, Manel J, rapporteurs. 20 pages.

Chorus I. (2012). Current Approaches to Cyanotoxin Risk Assessment, Risk Management and Regulations in Different Countries, 151pp.

Commissariat général au développement durable (2016). L'eau et les milieux aquatiques. Chiffres clés. Service de l'observation et des statistiques, 60p

Coudert L., Rolland D., Blais J.-F., Laurion I., Mercier G. (2014). État de l'art en matière d'analyse des cyanobactéries et des cyanotoxines. Rapport de recherche R-1475, INRS, 365 p.

Eaux&Rivières de Bretagne (2007). Historique. Disponible sur : <http://eau-et-rivieres.asso.fr.iodia.info/media/user/File/PDF/HISTORIQUE.pdf>

European Environment Agency (2010). Annual report and Environmental statement. doi:10.2800/72655

EFSA (European Food Safety Authority) (2017). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment, 41pp. Disponible sur <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4658>

EFSA (European Food Safety Authority) (2016). Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. En ligne : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998/epdf>, consulté le 20/06/2017.

EFSA (European Food Safety Authority) (2009). Marine Biotoxins in shellfish - Saxitoxin group. EFSA Journal (25 march 2009): p.1-76.

European Parliament (2000). Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Journal Officiel, Communauté Européenne, Bruxelles, 72 p.

FAO (2003). Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. FAO Fisheries technical paper 444.

FAO/WHO (2016). Toxicity Equivalency Factors for Marine Biotoxins Associated with Bivalve Molluscs.

GIP Loire Estuaire, 2005. L'eau support de vie. Vitalité du plancton végétal. Cahier Indicateurs 8.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. Lancet Oncol 7: 628-629.

IARC (2010). Ingested Nitrate and Nitrite, and Cyanobacterial Peptide toxins. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human Volume 94 (CIRC)

INSPC (Institut national de santé publique du Québec) (2009). Mémoire déposé à la Commission des transports et de l'environnement concernant les effets potentiels sur la santé liés à la présence des algues bleu-vert (cyanobactéries)

INSPQ (Institut National de Santé Publique du Québec) (2005). Guidelines for Managing Risks in Recreational Water. National Health and Medical Research Council, 2004. Propositions de critères d'intervention et de seuils d'alerte pour les cyanobactéries.

Instituto superior di sanita (2013). Cyanobacteria in water for human consumption – Guidelines for risk management, 64pp, octobre-décembre 2013.

JRC (Joint Research Centre) (2017). technical report. Cyanotoxins: methods and approaches for their analysis and detection, 70pp. En ligne

<http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC106478/kjna28624enn.pdf>

JRC (Joint Research Centre) (2016). technical report. Algal Bloom and its economic impact, 52pp. En ligne : <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC101253/lbna27905enn.pdf>

National Rivers Authority (1990). Toxic blue-green algae. Water Quality Series No.2. London: National Rivers Authority; 1990.

NHMRC (2004). Australian drinking water guidelines. National Health and Medical Research Council of Australia. Disponible à : [www.nhmrc.gov.au/guidelines/publications/eh34](http://www.nhmrc.gov.au/guidelines/publications/eh34)

NHRMC, NRMCC (2017). Australian drinking water guidelines, 1167p, octobre 2017.

ONEMA (2016) Repères. L'eau et les milieux aquatiques Chiffres clés Édition 2016. <https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/sites/default/files/2018-10/reperes-2016-eau-milieux-aquatiques-b.pdf> (consulté le 10 décembre 2019)

OMS (2017). Directives de qualité pour l'eau de boisson: Quatrième édition intégrant le premier additif, 564pp.

OMS (2012). Progress on sanitation and drinking-water 2012. 18p

OMS (2011). Management of cyanobacteria in drinking water supplies – Technical brief, 12pp. En ligne : [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/2011/dwq\\_guidelines/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/).

OMS (2003a). Cyanobacterial toxins : microcystins-LR in drinking water. Background document for development of WHO guidelines for drinking water quality, 18pp, mai 2002. [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/water-quality/guidelines/chemicals/microcystin/en/](https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/microcystin/en/)

OMS (2003b). Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1 : coastal and freshwaters, 219pp.

OMS (1998). Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Addendum to Vol. 2. Healthcriteria and other supporting information, 283pp.

Santé Canada (2016). Recommandations pour la qualité de l'eau potable – Les toxines cyanobactériennes dans l'eau potable – Document de consultation publique, 208pp.



Santé Canada (2012). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada, troisième édition. Bureau de l'eau, de l'air et des changements climatiques, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario). Disponible à : [www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/guide\\_water-2012-guide\\_eau/index-fra.php](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/guide_water-2012-guide_eau/index-fra.php)

Santé Canada (2002). Recommandations pour la qualité de l'eau potable : preuves à l'appui – Les toxines cyanobactériennes – Les microcystines-LR, 24pp, juillet 2002.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (2016). Human health recreational ambient water quality criteria or swimming advisories for microcystins and cylindrospermopsin. Draft. Décembre 2016.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (2015a). " Health Effects Support Document for the Cyanobacterial Toxin Microcystins :138p, juin 2015.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (2015b). Drinking Water Health Advisory for the Cyanobacterial Microcystin Toxins : 75p, juin 2015.

US-EPA (United States Environmental Protection Agency) (2015c). Method 544: Determination of microcystins and nodularin in Drinking Water by solid phase extraction and LC/MS/MS. [http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/EPA Document #: EPA/600/R-14/474](http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/EPA_Document#:EPA/600/R-14/474).

US-EPA (United States Environmental Protection Agency) (2015d). Method 545: Determination of Cylindrospermopsin and Anatoxin-a, in Drinking Water by Aqueous Direct Injection and LC/MS/MS. <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/epa815r15009.pdf>

US-EPA (United States Environmental Protection Agency), (2014). child-specific exposure scenarios exemple : <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/epa815r15009.pdf>

### 16.1.2 Articles scientifiques

Aballay-Gonzalez A., Ulloa V., Rivera A., Hernández V., Silva M., Caprile T., Delgado-Rivera L., Astuya A. (2016). Matrix effects on a cell-based assay used for the detection of paralytic shellfish toxins in bivalve shellfish samples. *Food Additives & Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, vol.33: p. 869-875, doi: 10.1080/19440049.2016.1166741.

Abramsson-Zetterberg L., Sundh U.B., Mattsson R. (2010). Cyanobacterial extracts and microcystin-LR are inactive in the micronucleus assay *in vivo* and *in vitro*. *Mutation Research*, vol 699 (1-2) : p 5-10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2010.04.001.

Abrieu J.C. (1994). *Pratiques sociales et représentations*. Paris.PUF.

Acero J.L., Rodriguez E., Meriluoto J. (2005). Kinetics of reactions between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins. *Water Research*, vol 39: p.1628–1638. doi: [10.1016/j.watres.2005.01.022](https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.01.022).

Adeyemo O. M., Sirén A.-L. (1992). Cardio-respiratory changes and mortality in the conscious rat induced by (+)- and (±)-anatoxin-a. *Toxincon*, vol. 30(8) : p. 899-905. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(92\)90388-L](https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90388-L).

Afzal A., Oppenländer T., Bolton J.R., El-Din M.G. (2010). Anatoxin-a degradation by advanced oxidation processes: vacuum-UV at 172 nm, photolysis using medium pressure UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Water Research*, vol. 44 : p. 278–286.

Aguete E. C., Gago-Martínez A., Leão J. M, Rodríguez-Vázquez J. A., Menàrd C. et Lawrence J. F. (2003). HPLC and HPCE analysis of microcystins RR, LR and YR present in cyanobacteria and water by using immunoaffinity extraction. *Talanta*, vol 59 (4) : p. 697-705.

Ahern C. A., Payandeh J., Bosmans F., Chanda B. (2016). The hitchhiker's guide to the voltage-gated sodium channel galaxy. *Journal of General Physiology*, vol. 147 (1): p1-24. doi: 10.1085/jgp.201511492.

- Ahn C.Y., Park M.H., Joung S.H., Kim H.S., Jang K.Y., Oh H.M. (2003). Growth Inhibition of Cyanobacteria by Ultrasonic Radiation: Laboratory and Enclosure Studies. *Environmental Science & Technology*, vol. 37: p. 3031–3037. doi:10.1021/es034048z.
- Alexander J., Benford D., Cockburn A., Cravedi J.P., Dogliotti E., Di Domenico A., Fernandez-Cruz M.L., Fink- Gremmels J., Fürst P., Galli C. (2009). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Marine Biotoxins in Shellfish—Saxitoxin Group. *EFSA Journal*, vol.1019 : p.1-76.
- Algermissen D., Mischke R., Seehusen F., Göbel J., Beineke A. (2011). Lymphoid depletion in two dogs with nodularin intoxication. *Veterinary Record*, vol.169 : p.15.
- Al Momani F.A., Jarrah N. (2010). Treatment and kinetic study of cyanobacterial toxin by ozone. *Journal of Environmental Science and Health - Part A*, vol.45(6) : p.719-731. doi : [10.1080/10934521003648933](https://doi.org/10.1080/10934521003648933).
- Almuhtaram H., Cui Y., Zamyadi A., Hofmann R. (2018) : Cyanotoxins and cyanobacteria cell accumulations in drinking water treatment plants with a low risk of bloom formation at the source. *Toxins*, vol.10(11) : 430. <https://doi.org/10.3390/toxins10110430>.
- Al-Sammak M. A., Hoagland K. D., Cassada D., Snow D. D. (2014). Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants. *Toxins (Basel)*, vol. 6 (2): p. 488-508.
- Alvarez M., Rose J., Bellamy B. (2010). Treating Algal Toxins Using Oxidation, Adsorption, and Membrane Technologies. *Water research foundation* : p.222.
- Amirkolaie A. K. (2011). Reduction in the environmental impact of waste discharged by fish farms through feed and feeding. *Reviews in Aquaculture*, vol. 3(1): p.19-26.
- An J., Carmichael W.W. (1994). Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon*, vol. 32: p.1495–1507.
- Andersen R.J., Luu H.A., Chen D.Z.X., Holmes, C.F.B., Kent M.L., Le Blanc M., Taylor F.J.R., Williams D.E. (1993). Chemical and biological evidence links microcystins to salmon 'netpen liver disease'. *Toxicon*, vol. 31 : p.1315-1323, doi: 10.1016/0041-0101(93)90404-7.
- Andrinolo D., Gomes P., Fraga S., Soares-Da-Silva P., Lagos A N. (2002a). Transport of the organic cations gonyautoxin 2/3 epimers, a paralytic shellfish poison toxin, through the human and rat intestinal epitheliums. *Toxicon*, vol.40 : p.1389-1397. doi: 10.1016/S0041-0101(02)00118-6.
- Andrinolo D., Iglesias V., Garcia C., Lagos N. (2002b). Toxicokinetics and toxicodynamics of gonyautoxins after an oral toxin dose in cats. *Toxicon*, vol.40 : p.699-709. doi: 10.1016/S0041-0101(01)00263-X.
- Andrinolo D., Michea L. F., Lagos N. (1999). Toxic effects, pharmacokinetics and clearance of saxitoxin, a component of paralytic shellfish poison (PSP), in cats. *Toxicon*, vol. 37 (3): p.447-464. doi: 10.1016/S0041-0101(98)00173-1.
- Annadotter H., Cronberg G., Lawton L., Hansson H.B., Göthe U., Skulberg O. (2001). An extensive outbreak of gastroenteritis associated with the toxic cyanobacterium *Planktothrix agardhii* (*Oscillatoriales, Cyanophyceae*) in Scania, south Sweden. *Cyanotoxins – occurrence, causes, consequences*. Edited by: Chorus I. 2001, Berlin: Springer-Verlag, p.200-208.
- Aoshiba K., Yokohori N., Nagai A. (2003). Alveolar wall apoptosis causes lung destruction and emphysematous changes. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol.28 (5) : p.555-62.
- Aracava Y., Deshpande S.S., Swanson K.L., Rapoport H., Wonnacott S., Albuquerque E.X. (1987). Nicotinic acetylcholine receptors in cultured neurons from the hippocampus and brain stem of the rat characterized by single recording. *FEBS Letters*, vol.222 : p.63-70.
- Aranda-Rodriguez R., Jin Z., Harvie J., Cabecinha A. (2015). Evaluation of three field test kits to detect microcystins from a public health perspective. *Harmful Algae*, vol. 42 (0) : p 34-42.

- Araoz R., Molgo J., Tandeau de Marsac N. (2010). Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*, vol.56 : p.813-828.
- Aráoz R., Guérineau V., Rippka R., Palibroda N., Herdman M., Laprevote O., Döhren H., Tandeau de Marsac N., Erhard M. (2008). MALDI-TOF-MS detection of the low molecular weight neurotoxins anatoxin-a and homoanatoxin-a on lyophilized and fresh filaments of axenic *Oscillatoria* strains. *Toxicon*, vol. 51(7) : p 1308-1315.
- Aráoz R., Nghiêm H. O., Rippka R., Palibroda N., Tandeau de Marsac N., et Herdman M. (2005). Neurotoxins in axenic oscillatorian cyanobacteria: coexistence of anatoxin-a and homoanatoxin-a determined by ligand-binding assay and GC/MS. *Microbiology*, vol 151 (4): p 1263-1273.
- Aranda-Rodriguez R., Jin Z., Harvie J., Cabecinha A. (2015). Evaluation of three field test kits to detect microcystins from a public health perspective. *Harmful Algae*, vol 42 : p 34-42.
- Arnich N., Thébault A. (2018). Dose-Response Modelling of Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) in Humans. *Toxins*, vol. 10 (4). doi: 10.3390/toxins10040141.
- Aronstam R.S., Witkopk B. (1981). Anatoxin-a interactions with cholinergic synaptic molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol.78 : p.4639-4643.
- Asman W. A. H., Sutton M.A., Schjorring A. K.J. (1998). Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. *New Phytologist*, vol.139: p. 27–34.
- Astrachan N.B., Archer B.G., Hilbelink D.R. (1980). Evaluation of the subacute toxicity and teratogenicity of anatoxin-a. *Toxicon*, vol.8 : p.684-688.
- Astuya A., Carrera C., Ulloa V., Aballay A., Nunez-Acuna G., Hegaret H., Gallardo-Escarate C. (2015). Saxitoxin. Modulates Immunological Parameters and Gene Transcription in *Mytilus chilensis* Hemocytes. *International journal of molecular science*, vol. 16 (7): p.15235-15250. doi: 10.3390/ijms160715235.
- Aune T., Ramstad H., Heidenreich B., Landsverk T., Waaler T., Egaas E., Julshamn K. (1998). Zinc accumulation in oysters giving mouse deaths in paralytic shellfish poisoning bioassay. *The Journal of Shellfish Research*, vol. 17: p. 1243-1246.
- Austruy E. (2012). Apports de phosphore et proliférations de cyanobactéries dans le lac au Duc (Morbihan) : Diagnostic et propositions d'actions préventives et curatives potentielles, Rapport d'étude, ODEM.
- Azevedo S.M.F.O., Carmichael W.W., Jochimsen E.M., Rinehart K.L., Lau S., Shaw G.R., Eaglesham G.K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru—Brazil. *Toxicology* , vol.181–182 : p. 441–446. doi:10.1016/S0300-483X(02)00491-2.
- Backer L.C., Mc Neel S.V., Barber T., Kirkpatrick B., Williams C., Irvin M., Zhou Y., Johnson T.B., Nierenberg K., Aubel M., LePrell R., Chapman A., Foss A., Corum S., Hill V.R., Kieszak S.M., Chen Y.S. (2010). Recreational exposure to microcystins during algal blooms in two California lakes, *Toxicon*, vol.55 : p. 909-921. doi:10.1016/j.toxicon.2009.07.006.
- Backer L.C. (2002). Cyanobacterial harmful algal blooms (CyanoHABs): developing a public health response. *Lake and Reservoir Management* , vol. 18 (1): p. 20–31.
- Bagu J.R., Sykes B.D, Craig M.M., Holmes D.F.B. (1997). A molecular basis for different interactions of marine toxins with protein phosphatase-1. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 272 : p. 5087-5097.
- Bain P., Shaw G., Patel B. (2007). Induction of p53-regulated gene expression in human cell lines exposed to the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, vol. 70 (19): p.1687-1693. doi: 10.1080/15287390701434877.
- Baird D.J., Soares A.M.V.M., Girling A.E., Barber I., Bradley M.C., Calow P. (1989). The long-term maintenance of *Daphnia magna* for use in ecotoxicity tests: Problems and prospects. In: H. Lokke, H. Tyle and F. Bro-Rasmussen [Eds] *Proceedings of the First Conference on Ecotoxicology*, Lyngby, Denmark, p.144-148.

- Bandala E.R., Martinez D., Martinez E., Dionysiou D.D. (2004). Degradation of microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes. *Toxicon*, vol.43 : p.829-832. doi : 10.1016/j.toxicon.2004.03.013. (cité dans Sharma ).
- Banker R., Carmeli S., Werman M., Teltsch B., Porat R., Sukenik A. (2001). Uracil Moiety is Required for Toxicity of the Cyanobacterial Hepatotoxin Cylindrospermopsin, *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, vol. 62 (4): p. 281-288.
- Barbiero R.P., James W.F., Barko J.W. (1999). The effects of disturbance events on phytoplankton community structure in a small temperate reservoir. *Freshwater Biology*, vol. 42(3) : p. 503-512.
- Barco M., Lawton L.A., Rivera J., Caixach J. (2005). Optimization of intracellular microcystin extraction for their subsequent analysis by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, vol. 1074 (1–2) : p. 23-30.
- Barco M., Flores C., Rivera J., Caixach J. (2004). Determination of microcystin variants and related peptides present in a water bloom of *Planktothrix (Oscillatoria) rubescens* in a Spanish drinking water reservoir by LC/ESI-MS. *Toxicon*, vol. 44(8) : p. 881-886.
- Barco M., Rivera J., Caixach J. (2002). Analysis of cyanobacterial hepatotoxins in water samples by microbore reversed-phase liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol. 959: p.103–111.
- Barroin G. (1999). Limnologie appliqué au traitement des lacs et des plans d'eau. Etude inter-agences de l'eau n°62. INRA Thonon-les-Bains. 215 p.
- Bazin E., Huet S., Jarry G., Le Hégarat L., Munday J.S., Humpage A.R., Fessard V. (2012). Cytotoxic and genotoxic effects of cylindrospermopsin in mice treated by gavage or intraperitoneal injection. *Environmental Toxicology*, vol.27(5) : p.277-284.
- Bazin E., Mouro A., Humpage A.R., Fessard V. (2010a). Genotoxicity of a Freshwater Cyanotoxin, Cylindrospermopsin, in Two Human Cell Lines: Caco-2 and HepaRG. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, vol.51(3) : p.251-259.
- Bazin E., Huet S., Jarry G., Le Hégarat L., Munday J.S., Humpage A.R., Fessard V., (2010b). Cytotoxic and genotoxic effects of cylindrospermopsin in mice treated by gavage or intraperitoneal injection. *Environmental Toxicology*, vol. 27(5) : p. 277-284.
- BEBE SFAE (2005). Consommation alimentaire des nourrissons et enfants français en bas âge de 1 à 36 mois – Analyse des données nutritionnelles, Etude SOFRES 2005/Université de Bourgogne.
- Behm D. (2003). Coroner cites algae in teen's death – experts are uncertain about toxin's role. *Milwaukee Journal Sentinel* : p.4.
- Belleville D., Brisson G., Chevalier P., Dubé K. (2009). Mémoire déposé à la Commission des Transports et de l'Environnement concernant les effets potentiels liés à la présence d'algues bleu-vert (cyanobactéries), Québec, INSPQ, Direction de la santé environnementale et de la toxicologie.
- Belov A. P., Giles J. D. (1997). Dynamical model of buoyant cyanobacteria. *Hydrobiologia*, vol. 349 (1-3): p. 87-97.
- Ben-Gigirey B., Rodríguez-Velasco M.L., Otero A., Vieites J.M., Cabado A.G. (2012). A comparative study for PSP toxins quantification by using MBA and HPLC official methods in shellfish. *Toxicon*, vol.6: p. 864-873. doi: 10.1016/j.toxicon.2012.05.022.
- Benson J.M., Hutt J.A., Rein K., Boggs S.E., Barr E.B., Fleming L.E. (2005). The toxicity of microcystin LR in mice following 7 days of inhalation exposure. *Toxicon*, vol. 45(6) : p.691-698. doi: 10.1016/j.toxicon.2005.01.004.
- Bernardina S.D. (2000), « Algues tueuses » et autres fléaux. Pour une anthropologie de l'imaginaire écologique en milieu marin : le cas de *Caulerpa taxifolia*, *La Ricerca Folklorica*, vol.42 : p. 43-55.doi: 10.2307/1479976.

- Bernhardt J., Elliott J. A., Jones I. D. (2008). Modelling the effects on phytoplankton communities of changing mixed depth and background extinction coefficient on three contrasting lakes in the English Lake District. *Freshwater Biology*, vol. 53(12): p. 2573-2586.
- Bernhardt H., Clasen J. (1991). Flocculation of micro-organisms. *Journal of Water Supply : Research and Technology-Aqua*, vol. 40 : p. 76-81.
- Berry J.P., Jaja-Chimedza A., Dávalos-Lind L., Lind O. (2012). Apparent bioaccumulation of cylindrospermopsin and paralytic shellfish toxins by finfish in Lake Catemaco (Veracruz, Mexico). *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, vol. 29 (2) : p. 314-321.
- Berry J.P., Lee E., Walton K., Wilson A.E, Bernal-Brooks F. (2011). Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in Lago de Patzcuaro (Michoacan, Mexico). *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 30 (7): p.1621-1628.
- Berry J. P., Lind O. (2010). First evidence of "paralytic shellfish toxins" and cylindrospermopsin in a Mexican freshwater system, Lago Catemaco, and apparent bioaccumulation of the toxins in "tegogolo" snails (*Pomacea patula catemacensis*). *Toxicon*, vol.55 (5) : p. 930-938.
- Bertone E., Burford M. A., Hamilton D. P. (2018). Fluorescence probes for real-time remote cyanobacteria monitoring: A review of challenges and opportunities. *Water research*, vol. 141 : p. 152-162.
- Beutler M., Wiltshire K.H., Meyer B., Moldaenke C., Lüring C., Meyerhöfer M., Hanse U.P., Dau H. (2002). A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*. *Photosynthesis Research*, vol.72(1) : p.39-53.
- Billings W.H. (1981). Water-associated human illness in northeast Pennsylvania and its suspected association with blue-green algae blooms. In *The water environment – Algal toxins and health* Edited by: Carmichael WW. New York: Plenum: p. 243-255.
- Bjork S., Pokorny J., Hauser V. (2010). Restoration of lake through sediment removal, with case studies from lakes Trummen, Sweden and Vajgar, Czech Republic. In: EiseltovaM(ed) *Restoration of lakes, streams, floodplains, and bogs in Europe: principles and case studies*. Springer Publishing, p. 101–122.
- Boers P., Vanderdoes J., Quaak M., Vandervlugt J., Walker P. (1992). Fixation of phosphorus in lake-sediments using iron(iii) nchloride - experiences, expectations. *Hydrobiologia*, vol. 233 : p. 211-212. doi:10.1007/BF00016109.
- Bogialli S., Di Gregorio F.N., Lucentini L., Ferretti E., Ottaviani M., Ungaro N., Abis P.P., Cannarozzi de Grazia M. (2013). Management of a Toxic Cyanobacterium Bloom (*Planktothrix rubescens*) affecting an Italian drinking water basin: A Case Study. *Environmental Science and Technology*, vol. 47 : p. 574-583. doi : 10.1021/es302260p.
- Bogialli S., Bruno M., Curini R., Di Corcia A., Lagana A. (2006). Simple and rapid determination of anatoxin-a in lake water and fish muscle tissue by liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol.1122 (1-2): p.180-185.
- Bogialli S., Bruno M., Curini R., Di Corcia A., Laganá A., Marie B. (2005). Simple assay for analyzing five microcystins and nodularin in fish muscle tissue: Hot water extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53 (17) : p. 6586-6592.
- Borraz O., Gilbert C., Joly P-B. (2005). Risques, crises et incertitudes : pour une analyse critique. *Cahiers du GIS Risques collectifs et situations de crise*. 3. Grenoble. MSH Alpes.
- Bormans M., Marsalek B., Jancula D. (2016). Controlling internal phosphorus loading in lakes by physical methods to reduce cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology*, vol. 50 : p. 407–422. doi:10.1007/s10452-015-9564-x.
- Bos J.D., Meinardi M.M. (2000). The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*, vol. 9(3): p. 165-169.

- Botha N.M., Van de Venter M., Downin T.G., Shepard E.G., Gehringer M.M. (2004). The effect of intraperitoneally administered microcystin-LR on the gastrointestinal tract of Balb/c mice. *Toxicol*, vol. 43(3) : p.251–254. doi: 10.1016/j.toxicol.2003.11.026.
- Bouaïcha N., Maatouk I., Plessis M.J., Perin F. (2005). Genotoxic potential of microcystin-LR and nodularin *in vitro* in primary cultured rat hepatocytes and *in vivo* in rat liver. *Environmental Toxicology*, vol.20(3) : p.341-347.
- Bouaïcha N., Maatouk I. (2004). Microcystin-LR and nodularin induce intracellular glutathione alteration, reactive oxygen species production and lipid peroxidation in primary cultured rat hepatocytes. *Toxicology Letters*, vol.148 : p.53-63. doi: 10.1016/j.toxlet.2003.12.005.
- Bourdin C. (2013). Étude des sous-unités auxiliaires du canal sodium dépendant du potentiel d'insecte : Approches moléculaires, électrophysiologiques et pharmacologiques. Neurosciences, Université d'Angers.
- Bourke A.T.C., Hawes R.B., Neilson A., Stallman N.D. (1983). An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicol*, vol.3: p. 45-48.
- Brackenbury W. J., Calhoun J. D, Chen C., Miyazaki H., Nukina N., Oyama F., Ranscht B., Isom L. L. (2010). Functional reciprocity between Na<sup>+</sup> channel Nav1.6 and beta1 subunits in the coordinated regulation of excitability and neurite outgrowth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 107 (5) : p. 2283-2288. doi: 10.1073/pnas.0909434107.
- Brattebo S.K., Welch E.B., Gibbons H.L., Burghdoff M.K., Williams G.N., Oden J.L. (2017) : Effectiveness of alum in a hypereutrophic lake with substantial external loading. *Lake and Reservoir Management*, vol. 33 : p. 108–118. doi:10.1080/10402381.2017.1311390.
- Briand E., Escoffier N., Straub C., Sabart M., Quiblier C., Humbert J.F. (2009). Spatiotemporal changes in the genetic diversity of a bloom-forming *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) population. *The International society for microbial ecology journal*, vol.3 : p.419-429. doi:10.1038/ismej.2008.121.
- Briand E., Humbert J. F., Quiblier C. (2008). Competition between microcystin-and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environmental microbiology*, vol. 10(12): p. 3337-3348.
- Briand J.F., Jacquet S., Bernard C., Humbert J.F. (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surfacewater ecosystems. *Veterinary Research*, vol.34 : p.361-377.
- Brient L., Lengronne M., Bertrand E., Rolland D., Sipel A., Steinmann D., Baudin I., Legeas M., Le Rouzica B., Bormans M. (2008). A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. *Journal of Environmental Monitoring*, vol.10 : p.248-255.
- Brooks W.P., Codd G.A. (1987). Distribution of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin and interactions with hepatic microsomes in mice. *Pharmacology and Toxicology*, vol. 60(3) : p.187-191.
- Brunberg A.K., Blomqvist P. (2003). Recruitment of *Microcystis* from lake sediments: the importance of littoral inocula. *Journal of Phycology*, vol. 39: p. 58-63.
- Brunberg A.K., Blomqvist P. (2002). Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. *Journal of Plankton Research*, vol. 24 : p.1247-1252.
- Brusick D., Aardema M., Kier L., Kirkland D., Williams G. (2016). Genotoxicity Expert Panel review: weight of evidence evaluation of the genotoxicity of glyphosate, glyphosate-based formulations, and aminomethylphosphonic acid. *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 46 (sup1) : p.56-74. doi: 10.1080/10408444.2016.1214680.
- Bukaveckas P.A., Lesutiene J., Gasiunaitė Z.R., Lozys L., Olenina I., Pilkaite R., Putys Z., Tassone S., Wood J. (2017). Microcystin in aquatic food webs of the Baltic and Chesapeake Bay regions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 191: p.50-59.
- Bumke-Vogt C., Mailahn W., Chorus I. (1999). Anatoxin-a and neurotoxic cyanobacteria in German lakes and reservoirs. *Environmental Toxicology*, vol. 14 (1) : p. 117-125.

- Buratti F.M., Manganelli M., Vichi S., Stefanelli M., Scardala S., Testai E., Funari E. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology*, vol. 91: p.1049-1130. doi:10.1007/s00204-016-1913-6.
- Buratti F.M., Testai E. (2015). Species- and congener-differences in microcystin-LR and -RR GSH conjugation in human, rat, and mouse hepatic cytosol. *Toxicology Letters*, vol. 232(1) : p.133-140. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.10.020.
- Buratti F.M., Scardala S., Funari E., Testai E. (2013). The conjugation of microcystin-RR by human recombinant GSTs and hepatic cytosol. *Toxicology Letters*, vol. 219 : p.231-238.
- Buratti F.M., Scardala S., Funari E., Testai E. (2011). Human glutathione transferases catalyzing the conjugation of the hepatotoxin microcystin-LR. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 24(6) : p.926-933. doi: 10.1021/tx2000976.
- Burger D.F., Hamilton D.P., Pilditch C.A. (2008): Modelling the relative importance of internal and external nutrient loads on water column nutrient concentrations and phytoplankton biomass in a shallow polymictic lake. *Ecological Modelling*, vol. 211: p. 411–423. doi:10.1016/j.ecolmodel.2007.09.028.
- Burger J., Sanchez J., MacMahon M., Leonard J., Lord C., Ramos R., Gochfeld M. (1999). Resources and Estuarine Health : Perception of Elected Officials and Recreational Fishers, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, vol. 58(4): p.245-260.
- Byth S. (1980). Palm Island mystery disease. *The Medical Journal of Australia*, vol.2 : p.40-42.
- Cadel-Six S., Moyenga D., Magny S., Trottereau S., Ederly M, Krys S. (2014). Detection of free and covalently bound microcystins in different tissues (liver, intestines, gills, and muscles) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Method characterization. *Environmental Pollution*, vol 185 : p.333-339.
- Calado S.L.D.M., Santos G.S., Leite T.P.B., Wojciechowski J., Nadaline M., Junior Bozza D.C., Magalhães V.F.D., Cestari M.M., Prodócimo V., Silva de Assis H.C. (2018). Depuration time and sublethal effects of microcystins in a freshwater fish from water supply reservoir. *Chemosphere*, vol. 210 : p. 805-815.
- Campbell K., Vilariño N., Botana L.M., Elliott C.T. (2011). A European perspective on progress in moving away from the mouse bioassay for marine-toxin analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, vol.30: p. 239-253. doi: 10.1016/j.trac.2010.10.010.
- Campbell L., Olson R.J., Sosik H.M., Abraham A., Henrichs D.W., Hyatt C.J., Buskey E.J. (2010). First harmful Dinophysis (*Dinophyceae*, Dinophysiales) bloom in the US is revealed by automated imaging flow cytometry. *Journal of Phycology*, vol. 46 (1) : p.66-75.
- Campinas M., Rosa M.J. (2010). Evaluation of cyanobacterial cells removal and lysis by ultrafiltration. *Separation and purification Technology*, vol.70 : p.345-353. doi : i:10.1016/j.seppur.2009.10.021.
- Campos A., Vasconcelos V. (2010). Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. *International Journal of Molecular Sciences*, vol.11(1) : p.268-287. doi: 10.3390/ijms11010268.
- Carmichael W.W., Boyer G.L. (2016). Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. *Harmful Algae*, vol.54 : p.194-212. doi: 10.1016/j.hal.2016.02.002.
- Carmichael W.W., Yuan M., Friday C.F. (2004). Human mortality from accidental ingestion of toxic cyanobacteria – a case re-examined. *Sixth International Conference on Toxic Cyanobacteria*, Bergen: p.61-62.
- Carmichael W.W., Azevedo S.M., An J.S., Molica R.J., Jochimsen E.M., Lau S., Rinehart K.L., Shaw G.R., Eaglesham G.K. (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, vol.109 : p.663-668.
- Carmichael W.W. (1995). Toxic microcystin and the environment. In Watanabe MF, Harada K, Carmichael WW., Fujiki H. *Toxic microcystin* CRC Press. ISBN 9780849376931 - CAT# 7693. 272 pp

- Carmichael W. W. (1994). The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, vol. 270(1): p.78-86.
- Carmichael W.W., Jones C.L., Mahmood N.A., Theiss W.C., Krogh P. (1985). Algal toxins and water-based diseases. *Critical Review in Environmental Control*, vol15 (3): p. 275–313.
- Carmichael W.W., Gorham P.R., Biggs D.F. (1977). Two laboratory case studies on the oral toxicity to calves of the freshwater cyanophyte (blue-green alga) *Anabaena flos-aquae* NRC-44-1. *Canadian Veterinary Journal*, vol.18 : p.71-75.
- Cartmell C., Evans D.M., Elwood J.M.L., Fituri H.S., Murphy P.J., Caspari T., Poniedzialek B., Rzymiski P. (2017). Synthetic analogues of cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin and their toxicological activity. *Toxicology In Vitro*, vol.44 : p.172-181.
- Carraro E., Guyennon N., Hamilton D., Valsecchi L., Manfredi E.C., Viviano G., Copetti D. (2012). Coupling high-resolution measurements to a three-dimensional lake model to assess the spatial and temporal dynamics of the cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in a medium-sized lake. In *Phytoplankton responses to human impacts at different scales* (pp. 77-95). Springer, Dordrecht.
- Carey R. O., Migliaccio K. W. (2009). Contribution of wastewater treatment plant effluents to nutrient dynamics in aquatic systems: a review. *Environmental management*, vol. 44(2) : p. 205-217.
- Carrière A., Prévost M., Zamyadi A., Chevalier P., Barbeau B. (2010). Vulnerability of Quebec drinking-water treatment plants to cyanotoxins in a climate change context. *Journal of water and health*, vol. 8(3): p.455-465. doi: 10.2166/wh.2009.207.
- Carrillo J. H., Hastings M. G., Sigman D. M., Huebert B. J. (2002). Atmospheric deposition of inorganic and organic nitrogen and base cations in Hawaii. *Global Biogeochemical cycles*, vol. 16 (4) : p. 1076. doi:10.1029/2002GB001892
- Cartier T., Dubuisson C., Panetier P., Volatier J.L. (2012) Consommation hydrique en France métropolitaine : résultats issus de l'étude alimentaire INCA2. *Environnement, Risque et Santé*, vol.11(6) : p.479-491.
- Carvalho L., McDonald C., de Hoyos C., Mischke U., Phillips G., Borics G., Poikane S., Skjelbred B., Solheim A.L., Van Wichelen J., Cardoso A.C. (2013). Sustaining recreational quality of European lakes: minimizing the health risks from algal blooms through phosphorus control. *Journal of Applied Ecology*, vol. 50: p.315–323. doi:10.1111/1365-2664.12059.
- Castiglioni B., Rizzi E., Frosini A., Sivonen K., Rajaniemi P., Rantala A., Mugnai M.A., Ventura S., Wilmotte A., Boutte C., Grubisic S., Balthasart P., Consolandi C., Bordoni R., Mezzelani A., Battaglia C., De Bellis G. (2004). Development of a universal microarray based on the ligation detection reaction and 16S rRNA gene polymorphism to target diversity of cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, vol.70(12) : p.7161-7172.
- Catherine A., Escoffier N., Belhocine A., Nasri A.B., Hamlaoui S., Yéprémian C., Bernard C., Troussellier M. (2012). On the use of the FluoroProbe®, a phytoplankton quantification method based on fluorescence excitation spectra for large-scale surveys of lakes and reservoirs. *Water Research*, vol. 46(6) : p.1771-1784.
- Catherine A., Bernard C., Spoo L., Bruno M. (2017). Microcystins and Nodularins. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* : p.109-126.
- Causse J., Baurès E., Mery Y., Jung A. V., Thomas O. (2015). Variability of N export in water: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 45(20) : p.2245-2281.
- CCTV (2008). Risques sanitaires lors de prolifération de cyanobactéries, Rapport fait à la demande de la DGS, Rapport définitif, avril.
- Cervantes Cianca R. C., Faro L. R., Duran B. R., Alfonso P. M. (2011). Alterations of 3,4-dihydroxyphenylethylamine and its metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic produced in rat brain tissues after systemic administration of saxitoxin. *Neurochemistry International*, vol. 59 (5): p.643-647. doi: 10.1016/j.neuint.2011.06.005.



- Cervenka R., Zarrabi T., Lukacs P., Todt H. (2010). The outer vestibule of the Na<sup>+</sup> channel-toxin receptor and modulator of permeation as well as gating. *Marine Drugs*, vol. 8 (4): p.1373-1393. doi: 10.3390/md8041373.
- Chambers E., Wagrowski-Diehl D.M., Lu Z., Mazzeo J.R., (2007). Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. *Journal of Chromatography B*, vol; 852 (1–2) : p. 22-34.
- Chen Y., Wang J., Zhang G. Q., Xiang Z., Li D., Han X. (2017). Microcystin-leucine arginine exhibits immunomodulatory roles in testicular cells resulting in orchitis. *Environmental Pollution*, vol.229 : p.964-975. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.081.
- Chen L., Li S., Guo X., Xie P., Chen J. (2016a). The role of GSH in microcystin-induced apoptosis in rat liver: Involvement of oxidative stress and NF-kappaB. *Environmental Toxicology*, vol.31(5) : p.552-560. doi: 10.1002/tox.22068.
- Chen Y., Zhou Y., Wang J., Wang L., Xiang Z., Li D., Han X. (2016b). Microcystin-Leucine Arginine Causes Cytotoxic Effects in Sertoli Cells Resulting in Reproductive Dysfunction in Male Mice. *Scientific Reports* 6:39238. doi: 10.1038/srep39238.
- Chen Y., Shen D., Fang D. (2013). Nodularins in poisoning. *Clinica Chimica Acta*, vol.425 : p.18-29.
- Chen L., Zhang X., Zhou W., Qiao Q., Liang H., Li G., Wang J., Cai F. (2013a). The interactive effects of cytoskeleton disruption and mitochondria dysfunction lead to reproductive toxicity induced by microcystin-LR. *PLOS One*, vol.8(1) : e53949. doi: 10.1371/journal.pone.0053949.
- Chen J.J., Yan T.T., Xu J.L., He S., Zhao P., Yan X.J. (2012). Simultaneous determination of toxins in algae and water samples by high-performance liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, vol; 35 (9): p.1094-1101.
- Chen Y., Xu J., Li Y., Han X. (2011). Decline of sperm quality and testicular function in male mice during chronic low-dose exposure to microcystin-LR. *Reproductive Toxicology*, vol.31(4) : p.551-557. doi: 10.1016/j.reprotox.2011.02.006.
- Chen J., Xie P., Li L., Xu J. (2009a). First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicological Science*, vol; 108: p.81-89 .
- Chen K-N., Bao C-H., Zhou W-P. (2009b). Ecological restoration in eutrophic Lake Wuli : A large enclosure experiment. *Ecological Engineering*, vol. 35: p.1646–1655. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.10.009.
- Chen X., Shi H., Adams C.D., Timmons T., Ma Y. (2009c). Effects of oxidative and physical treatments on inactivation of *Cylindrospermopsis raciborskii* and removal of cylindrospermopsin. *Water Science Technology*, vol.60(3) : p.689-697. doi : 10.2166/wst.2009.385.
- Cheng H., Yan W., Wu Q., Lu J., Liu C., Hung T. C., Li G. (2018). Adverse reproductive performance in zebrafish with increased bioconcentration of microcystin-LR in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Science: nano*, vol. 5(5): p. 1208-1217.
- Cheng Y.S., Zhou Y., Irvin C.H., Kirkpatrick B., Backer L.C. (2007). Characterization of Aerosols Containing Microcystin, *Marine drugs*, vol.5(4) : p.136-150.
- Cheng X., Maher J., Dieter M.Z., Klassen C.D. (2005). Regulation of mouse organic anion-transporting polypeptides (OATPS) in liver by prototypical microsomal enzyme inducers that activate distinct transcription factor pathways. *Drug Metabolism and Disposition*, vol. 33(9) : p.1276-1282. doi: 10.1124/dmd.105.003988.
- Cheng Cheng X., Shi H., Adams C.D., Timmons T., Ma Y. (2009). Effects of oxidative and physical treatments on inactivation of *Cylindrospermopsis raciborskii* and removal of cylindrospermopsin. *Water Science Technology*, vol. 60 : p.689–698.
- Chernoff N., Hill D.J., Chorus I., Diggs D.L., Huang H., King D., Lang J.R., Le T.T., Schmid J.E., Travlos G.S., Whitley E.M., Wilson R.E., Wood C.R. (2018). Cylindrospermopsin toxicity in mice

following a 90-d oral exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol. 25 : p.1-18.

Chernoff N., Rogers E.H., Zehr R.D., Gage M.I., Travlos G.S., Malarkey A.D.E., Brix A., Schmid J.E., Hill D. (2014). The course of toxicity in the pregnant mouse after exposure to the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin: clinical effects, serum chemistries, hematology and histopathology. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol. 77(17) : p.1040-1060.

Chernoff N., Rogers E.H., Zehr R.D., Gage M.I., Malarkey D.E., Bradfield C.A., Liu Y., Schmid J.E., Jaskot R.H., Richards J.H., Wood C.R., Rosen M.B. (2011). Toxicity and recovery in the pregnant mouse after gestational exposure to the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Journal of Applied Toxicology*, vol. 31(3) : p.242-254.

Cheymol J., Toan T. (1969). Paralyzing neuromuscular activity of saxitoxin in rats. *Thérapie*, vol. 24 (1): 191-198.

Cheymol J., Bourillet F., Long P., Roch-Arveiller M. (1968). Neuromuscular paralyzing action of saxitoxin. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, vol. 174 (2) : p.393-412.

Chiswell R.K., Shaw G.R., Eaglesham G., Smith M.J., Norris R.L., Seawright A.A., Moore M.R. (1999). Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology*, vol. 14 (1): p. 155-161.

Chong M.W.K., Wong B.S.F., Lam P.K.S., Shaw G.R., Seawright A.A. (2002). Toxicity and uptake mechanism of cylindrospermopsin and lophytotoxin in primary rat hepatocytes. *Toxicon*, vol.40 : p.205-211.

Chorus I., Bartram J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management. WHO. London: E&FN Spon.

Chow C.W.K., Drikas M., House J., Burch M.D., Velzeboer R.M.A. (1999). The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, vol.33(15) : p.3253-3262.

Chow C.W.K., Panglisch S., House J., Drikas M., Burch M.D., Gimbel R. (1997). A study of membrane filtration for the removal of cyanobacterial cells. *Journal of Water Supply : Research and Technology*, vol. 46: p.324–334.

Christopher P., Davis P., Falconer I., Bowling L., Dyson J. (1991). Blue-green algae hit Lake Cargelligo. *NSW Public Health Bulletin*, vol. 2: p.110-113.

Cianc R. C. C., Barbosa R. D., Faro L. R. F., Adan L. V., Gago-Martínez A., Pallares M. A. (2009). Differential changes of neuroactive amino acids in samples obtained from discrete rat brain regions after systemic administration of saxitoxin. *Neurochemistry International*, vol. 54 (5-6) : p.308-313. doi: 10.1016/j.neuint.2008.12.014.

Cianca R. C. C., Pallares M. A., Barbosa R. D., Adan L. V., Martins J. M. L, Gago-Martínez A. (2007). Application of precolumn oxidation HPLC method with fluorescence detection to evaluate saxitoxin levels in discrete brain regions of rats. *Toxicon*, vol. 49 (1) : p.89-99. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.09.021.

Codd G.A., Plinski M., Surosz W., Hutson J., Fallowfield H.J. (2015). Publication in 1672 of animal deaths at the Tuchomskie Lake, northern Poland and a likely role of cyanobacterial blooms. *Toxicon* vol.108 : p.285-286.

Codd G.A., Metcalf J.S., Ward, C.J., Beattie K.A., Bell S.G., Kaya K., Poon G.K. (2001). Analysis of cyanobacterial toxins by physicochemical and biochemical methods. *Journal of AOAC International*, vol.84: p. 1626-1635.

Codd G., Bell S., Kaya K., Ward C., Beattie K., Metcalf J. (1999). Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *European Journal of Phycology*, vol. 34: p.405-415.

Codd G.A., Beattie K.A. (1991). Cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins: awareness and action in the United Kingdom. *PHLS Microbiology Digest*, vol.8 : p.82-86.

- Codd G.A., Bell S.G., Brooks W.P. (1989). Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology*, vol. 21(3): p. 1-13.
- Cohen S.G., Reif C.B. (1953). Cutaneous sensitization to blue-green algae. *Journal of Allergy*, vol. 24 (5): p.452-457.
- Coleman R.M., Ojeda-Torres G., Bragg W., Fearey D., McKinney P., Castrodale L., Verbrugge D., Stryker K., DeHart E., Cooper M., Hamelin E., Thomas J., Johnson R.C. (2018). Saxitoxin Exposure Confirmed by Human Urine and Food Analysis. *Journal of anal toxicology*, vol. 42 (7): e61-e64. doi: 10.1093/jat/bky031.
- Collins R., Mcleod M., Hedley M., Donnison A., Close M., Hanly J., Horne D., Ross C., Davies-Colley R., Bagshaw C., Matthews L. (2007). Best management practices to mitigate faecal contamination by livestock of New Zealand waters, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, vol. 50: p.267-278.
- Collos Y., Husseini-Ratrema J., Bec B., Vaquer A., Hoai T.L., Rougier C., Pons V., Souchu P. (2005). Pheopigment dynamics, zooplankton grazing rates and the autumnal ammonium peak in a Mediterranean lagoon. *Hydrobiologia*, vol. 550: p.83–93. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-4365-1>.
- Cook D., Newcombe G. (2008). Comparison and modeling of the adsorption of two microcystin analogues onto powdered activated carbon. *Environmental Technology*, vol. 29: p.525–534.
- Copetti D., Finsterle K., Marziali L., Stefani F., Tartari G., Douglas G., Reitzel K., Spears B.M., Winfield I.J., Crosa G., D'Haese P., Yasserli S., Lürling M. (2016). Eutrophication management in surface waters using lanthanum modified bentonite: A review. *Water Research*, vol. 97: p. 162–174. doi:10.1016/j.watres.2015.11.056.
- Corall L.A., Zamyadi A., Barbeau B., Bassetti F.J., Lapolli F.R., Prevost M. (2013). Oxidation of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae* by ozone : Impacts on cell integrity and chlorination by-product formation. *Water Research*, vol.47: p.2983-2994. doi : 10.1016/j.watres.2013.03.012.
- Costa P.R., Baugh K.A., Wright B., RaLonde R., Nance S.L., Tatarenkova N., Etheridge S.M., Lefebvre K.A. (2009). Comparative determination of paralytic shellfish toxins (PSTs) using five different toxin detection methods in shellfish species collected in the Aleutian Islands, Alaska. *Toxicon*, vol.54: p. 313-320. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.04.023.
- Couto N., Guedes P., Ferreira A.R., Teixeira M.R., Mateus E.P., Ribeiro A.B. (2015). Electrodialytic process of nanofiltration concentrates phosphorus recovery and microcystins removal. *Electrochimica Acta*, vol.181: p.200-207. doi : 10.1016/j.electacta.2015.04.081.
- Coulon O. (2016). Les cyanobactéries dans le bassin Loire-Bretagne, retour d'expérience large échelle , Colloque GIS Cyano, Cyanobactéries et zones récréatives, 9 mars, Biscarosse.
- Craig M., McCready T.L., Luu H.A., Smillie M.A., Dubord P., Holmes C.F. (1993). Identification and characterization of hydrophobic microcystins in Canadian freshwater cyanobacteria. *Toxicon*, vol. 31(12): p.1541-1549.
- Cusick K.D., Sayler G.S. (2013). An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: Genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Marine Drugs*, vol. 11: p. 991-1018, doi: 10.3390/md11040991.
- Dahlmann J., Budakowski W.R., Luckas B. (2003). Liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry based method for the simultaneous determination of algal and cyanobacterial toxins in phytoplankton from marine waters and lakes followed by tentative structural elucidation of microcystins. *Journal of Chromatography A*, vol. 994 (1-2): p. 45-57.
- Dai M., Xie P., Liang G., Chen J., Lei H. (2008). Simultaneous determination of microcystin-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, vol. 862 (1-2): p. 43-50.
- Da Silva C.A., De Moraes E.C., Costa M.D., Ribas J.L., Guiloski I.C., Ramsdorf W.A., Zanata S.M., Cestari M.M., Ribeiro C.A., Magalhaes V.F., Trudeau V.L., de Assis H.C. (2014). Saxitoxins induce cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in teleost neurons in vitro. *Toxicon*, vol. 86: p.8-15. doi: 10.1016/j.toxicon.2014.04.016.

Da Silva C. A., Oba E. T., Ramsdorf W. A., Magalhaes V. F., Cestari M. M., Oliveira Ribeiro C. A., Silva de Assis H. C. (2011). First report about saxitoxins in freshwater fish *Hoplias malabaricus* through trophic exposure. *Toxicon*, vol. 57 (1): p.141-147. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.10.015.

Davio S.R. (1985). Neutralization of saxitoxin by anti-saxitoxin rabbit serum. *Toxicon*, vol. 23 (4): p.669-675. doi: 10.1016/0041-0101(85)90371-x.

De Almeida C., Costa de Arruda A.C., Cadas de Queiroz E., Matias de Lima Costa H.T., Barbosa P.F., Araújo Moura Lemos T.M., Oliveira C.N., Pinto E., Schwarz A., Kujbida P. (2013). Oral exposure to cylindrospermopsin in pregnant rats: Reproduction and foetal toxicity studies. *Toxicon*, vol. 74: p.127- 129.

Davies-Colley R.J., Nagels J.W., Smith A.R., Young R.G., Phillips C.J. (2004). Water quality impact of a dairy cow herd crossing a stream. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, vol. 38: p.569-576.

DeFlorio-Barker S., Wing C., Jones R.M., Dorevitch S. (2018). estimate of incidence and cost of recreational waterborne illness on United States surface waters. *Environmental Health*, vol. 17: 3 <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0347-9>

Degrémont (2005). *Mémento technique de l'eau*. Editions Lavoisier.

DeGrasse S.L., van de Riet J., Hatfield R., Turner A. (2011). Pre- versus post-column oxidation liquid chromatography fluorescence detection of paralytic shellfish toxins. *Toxicon*, vol. 57 (4): p.619-624.

Dehghani M.H. (2016). Removal of cyanobacterial and algal cells from water by ultrasonic waves — A review. *Journal of Molecular Liquids*, vol. 222: p. 1109–1114. doi:10.1016/j.molliq.2016.08.010.

Dell'Aversano C., Hess P., Quilliam M.A. (2005). Hydrophilic interaction liquid chromatography–mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins. *Journal of Chromatography A*, vol. 1081 (2): p. 190-201.

Dell'Aversano C., Eaglesham G.K., Quilliam M.A. (2004). Analysis of cyanobacterial toxins by hydrophilic interaction liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol. 1028 (1): p.155-164.

Delwiche C.F., Palmer J.D. (1997). *Origins of the Algae and Their Plastids*, ed. Bhattacharya, D. (Springer, Berlin), pp. 53–96.

DeMott W.R., Zhang Q.-X., Carmichael W.W. (1991). Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 36(7), 1346– 1357. <https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.7.1346>

De Reviers B. (2003). *Biologie et phylogénie des algues : t.2*, Belin Sup Sciences : biologie. Belin, Paris : p.255.

De Reviers B. (2002). *Biologie et phylogénie des algues : t.1*, Belin Sup Sciences : biologie. Belin, Paris. p.352.

Devic E., Li D., Dauta A., Henriksen P., Codd G.A., Marty J.L., Fournier D. (2002). Detection of anatoxin-a(s) in environmental samples of cyanobacteria by using a biosensor with engineered acetylcholinesterases. *Applied Environment and Microbiology*, vol. 68: p.4102-4106. doi: 10.1128/AEM.68.8.4102-4106.2002.

Devlin S., Meneely J.P., Greer B., Greef C., Lochhead M.J., Elliott C.T. (2013). Next generation planar waveguide detection of microcystins in freshwater and cyanobacterial extracts, utilising a novel lysis method for portable sample preparation and analysis. *Analytica Chimica Acta*, vol. 769 (0): p.108-113.

De Vos P., Trüper H.G. (2000). Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the Meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 50: p.2239–2244.

- Dewailly E., Grondin J., Gingras S. (1999). Enquête santé sur les usages et perceptions du Saint Laurent. Ottawa. Unité de recherche en santé publique du CHUQ et Saint Laurent Vision 2000, 196 p. ;
- Dias E., Louro H., Pinto M., Santos T., Antunes S., Pereira P., Silva M.J. (2014). Genotoxicity of microcystin-LR in *in vitro* and *in vivo* experimental models. *BioMed Research International*, vol. 2014: p. 949521. doi: 10.1155/2014/949521.
- Diehl F., Ramos P. B., dos Santos J. M., Barros D. M., Yunes J.S. (2016). Behavioral alterations induced by repeated saxitoxin exposure in drinking water. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, vol. 22: 18. doi: 10.1186/s40409-016-0072-9.
- Dietrich D, Hoeger S. (2005). Guidance values for microcystins in water and cyanobacterial supplement products (blue-green algal supplements): a reasonable or misguided approach? *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203: p. 273-289.
- Dillenberg H.O., Dehnel M.K. (1960). Toxic waterbloom in Saskatchewan, 1959. *Canadian Medical Association Journal*, vol. 83 (22): p.1151–1154.
- Dimitrakopoulos I.K., Kaloudis T.S., Hiskia A.E., Thomaidis N.S., Koupparis M.A. (2010). Development of a fast and selective method for the sensitive determination of anatoxin-a in lake waters using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and phenylalanine-d(5) as internal standard. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 397 (6): p.2245-2252.
- Ding J., Shi H., Timmons T., Adams C. (2010). Release and removal of Microcystins from *Microcystis* during oxidative-, physical- and UV-based disinfection. *Journal of Environmental Engineering*, vol.136(1) : p.2-11. doi : [10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000114](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000114).
- Ding X.S., Li X.Y., Duan H.Y., Chung I.K., Lee J.A. (2006). Toxic effects of *Microcystis* cell extracts on the reproductive system of male mice. *Toxicon*, vol. 48 (8): p.973-979. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.07.039.
- Ding W.X., Ong C.N. (2003). Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 220 (1): p.1-7.
- Ding W.X., Shen H.M., Zhu H.G., Lee B.L., Ong C.N. (1999). Genotoxicity of microcystic cyanobacteria extract of a water source in China. *Mutation Research*, vol. 442 (2): p.69-77.
- Dittmann E., Gugger M., Sivonen K., Fewer D.P. (2015). Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria. *Trends in Microbiology*, vol.23 (10): p.642-652. doi: 10.1016/j.tim.2015.07.008.
- Dixon M.B., Richard Y., Ho L., Chow C.W.K., O'neill B.K., Newcombe G. (2011). Integrated membrane systems incorporating coagulation, activated carbon and ultrafiltration for the removal of toxic cyanobacterial metabolites from *Anabaena circinalis*. *Water Science and Technology*, vol.63 (7): p.1405-1411. doi : 10.2166/wst.2011.318.
- Doerr F.A., Rodriguez V., Molica R., Henriksen P., Krock B., Pinto E. (2010). Methods for detection of anatoxin-a(s) by liquid chromatography coupled to electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Toxicon*, vol. 55 (1): p.92-99.
- Dokulil M.T., Teubner K. (2012). Deep living *Planktothrix rubescens* modulated by environmental constraints and climate forcing. *Hydrobiologia*, vol. 696: p. 29–46.
- Donati C., Drikas M., Hayes R., Newcombe G. (1994). Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. *Water Research*, vol. 28 :p.1735–1742.
- Dong L., Duan L., Zhang H., Cheng X. (2008). Study on DNA-protein crosslinks of certain organs of mice induced by microcystin-LR. *Wei Sheng Yan Jiu (Journal of hygiene research)*, vol. 37 (2): p.144-146.
- Đorđević N. B., Matic S. L.J., Simić S. B., Stanić S. M., Mihailović V. B., Stanković N. M., Stanković V. D., Ćirić A. R. (2017). Impact of the toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* (*Woloszynska*) *Seenayya & Subba Raju* on laboratory rats *in vivo*. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24: p.14259–14272.

- Dorevitch S., Panthi S., Huang Y., Li H., Michalek A.M., Pratap P., Wroblewski M., Liu L., Scheff P.A., Li A. (2011). Water ingestion during water recreation. *Water Research*, vol. 45(5): p.2020-2028.
- Dos Anjos F. M., Bittencourt-Oliveira M. D., Zajac M. P., Hiller S., Christian B., Eler K., Luckas B., Pinto E. (2006). Detection of harmful cyanobacteria and their toxins by both PCR amplification and LC-MS during a bloom event. *Toxicon*, vol. 48 (3): p. 239-245.
- Doucette G. J., Logan M. M., Ramsdell J. S., Van Dolah F. M. (1997). Development and preliminary validation of a microtiter plate-based receptor binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins. *Toxicon*, vol. 35(5) : p. 625-636. doi: 10.1016/S0041-0101(96)00189-4.
- Drábková M., Admiraal W., Maršálek B. (2007). Combined Exposure to Hydrogen Peroxide and Light Selective Effects on Cyanobacteria, Green Algae, and Diatoms. *Environmental Science & Technology*, vol.41: p.309–314. doi:10.1021/es060746i.
- Draisci R., Ferretti E., Palleschi L., Marchiafava C. (2001). Identification of anatoxins in blue-green algae food supplements using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants* , vol.18: p.525-531.
- Drikas M., Chow C.W.K., House J., Burch M.D. (2001). Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxic cyanobacteria. *Journal of American Water Works Association*, vol.93(2) : p.100-111.
- Drobac D., Tokodi N., Simeunović J., Baltić V., Stanić D., Svirčev Z. (2013). Human exposure to cyanotoxins and their effects on health. *Archives of industrial Hygiene and technology*, vol. 64 : p.119-130.
- Drobac D., Tokodi N., Lujic J., Marinović Z., Subakov-Simić G., Dulić T., Vazić T., Nybom S., Meriluoto, J., Codd G. A., Svirčev Z., (2016). Cyanobacteria and cyanotoxins in fishponds and their effects on fish tissue. *Harmful Algae*, vol. 55: p.66-76.
- Dubé K., Brisson G., Doyon S., Lévesque B. (2016). La prolifération des cyanobactéries au Québec : une perspective de sciences sociales sur le risque et la gestion , *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement* [En ligne], Vo.16(2) mis en ligne le 28 septembre 2016, consulté le 07 mars 2017. URL : <http://vertigo.revues.org/17684> ; DOI : 10.4000/vertigo.17684
- Dubé K. (2012). La problématisation d'un phénomène naturel. Analyse des représentations sociales d'un risque et de la nature, des discours et des pratiques, des discours et des pratiques en lien avec ce phénomène au lac William, à la baie Missisquoi et au lac Roxton. Mémoire de maîtrise en anthropologie. Université de Laval. Québec
- Dubelaar G.B.J., Casotti R., Tarran G.A., Biegala I.C. (2007). Phytoplankton and their Analysis by Flow Cytometry. *Flow Cytometry with Plant Cells : Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes* : p.287-322.
- Dufour A.P., Behymer T.D., Cantú R., Magnuson M., Wymer L.J. (2017). Ingestion of swimming pool water by recreational swimmers. *Journal of Water Health*. vol. 15(3): p.429-437. doi: 10.2166/wh.2017.255.
- Dunn J. (1996). Algae kills dialysis patients in Brazil. *British Medical Journal (Clin. Res. Ed.)*, vol. 312 (7040): p. 1183–1184.
- Duran-Riveroll L. M., Cembella A. D., Band-Schmidt C. J., Bustillos-Guzman J. J., Correa-Basurto J. (2016). Docking Simulation of the Binding Interactions of Saxitoxin Analogs Produced by the Marine Dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* to the Voltage-Gated Sodium Channel Nav1.4. *Toxins*, vol. 8 (5) : p.129 doi: 10.3390/toxins8050129.
- Durai P., Batool M., Choi, S. (2015). Structure and effects of cyanobacterial lipopolysaccharides. *Marine drugs*, vol. 13(7): p. 4217-4230.
- Eaglesham G.K., Norris R.L., Shaw G.R., Smith M.J., Chiswell R.K., Davis B.C., Moore M.R. (1999). Use of HPLC-MS/MS to monitor cylindrospermopsin, a blue-green algal toxin, for public health purposes. *Environmental Toxicology: An International Journal*, vol. 14(1): p. 151-154.
- Echenique-Subiabre I., Zancarini A., Heath M.W., Wood S.A., Quiblier C., Humbert J.-F. (2018a). Multiple processes acting from local to large geographical scales shape bacterial communities

- associated with *Phormidium* (cyanobacteria) biofilms in French and New Zealand rivers. *Science Report*, vol. 8: article 14416.
- Echenique-Subiabre I., Tenon M., Humbert J.F., Quiblier C. (2018b). Spatial and Temporal Variability in the Development and Potential Toxicity of *Phormidium* Biofilms in the Tarn River, France. *Toxins*, vol. 10 (10): 418. doi:10.3390/toxins10100418.
- Echenique-Subiabre I., Dalle C., Duval C., Heath M.W., Coute A., Wood S.A., Humbert J.F., Quiblier C. (2016). Application of a spectrofluorimetric tool (bbe BenthosTorch) for monitoring potentially toxic benthic cyanobacteria in rivers. *Water Research*, vol.101 : p.341 - 350.
- Edwards A.C., Withers P.J.A. (2008). Transport and delivery of suspended solids, nitrogen and phosphorus from various sources to freshwaters in the UK. *Journal of Hydrology*, vol. 350 (3-4): p.144-153.
- Edwards C., Lawton L.A., Beattie K.A., Codd G.A., Pleasance S., Dear G.J. (1993). Analysis of Microcystins from Cyanobacteria by Liquid Chromatography with Mass Spectrometry using Atmospheric-pressure Ionization. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 7 (8): p.714-721.
- Eijkelkamp N., Linley J.E., Baker M.D., Minett M.S., Cregg R., Werdehausen R., Rugiero F., Wood J.N. (2012). Neurological perspectives on voltage-gated sodium channels. *Brain*, vol. 135(9): p.2585-2612. doi: 10.1093/brain/aws225.
- Elliott J.A. (2012). Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. *Water Research*, vol. 46: p.1364–1371.
- El Saadi O., Esterman A.J., Cameron S., Roder D.M. (1995). Murray River water, raised cyanobacterial cell counts, and gastrointestinal and dermatological symptoms. *The Medical Journal of Australia*, vol.162: p. 122-125.
- El Saadi O., Cameron A.S. (1993). Illness associated with blue-green algae. *The Medical Journal of Australia*, vol.158: p.792-793.
- Eriksson J.E., Grönberg L., Nygard S., Slotte J.P., Meriluoto J.A.O. (1990). Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, vol. 1025(1): p.60-66. doi: 10.1016/0005-2736(90)90190-Y.
- Esculier F., Le Noë J., Barles S., Billen G., Créno B., Garnier J., Lesavre J., Petit L., Tabuchi J.-P. (2019). The biogeochemical imprint of human metabolism in Paris Megacity: A regionalized analysis of a water-agro-food system. *Journal of Hydrology*, vol. 573: p. 1028-1045. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.02.043>
- Facciponte D.N., Bough M.W., Seidler D., Carroll J.L., Ashare A., Andrew A.S., Tsongalis G.J., Vaickus L.J., Henegan P.L., Butt T.H., Stommel E.W. (2018). Identifying aerosolized cyanobacteria in the human respiratory tract: A proposed mechanism for cyanotoxin-associated diseases. *Science of the total environment*, vol. 605: p.1003-1013.
- Falconer I.R. (2004). Is cylindrospermopsin a human carcinogen? 6th International Conference on Toxic Cyanobacteria, Bergen, Norway
- Falconer I.R., Humpage A.R. (2001). Preliminary evidence for in vivo tumour initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, vol.16 : p.192-195.
- Falconer I.R., Hardy S.J., Humpage A.R., Froschio S.M., Tozer G.J., Hawkins P.R. (1999). Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Cylindrospermopsis raciborskii* in male Swiss albino mice. *Environmental Toxicology*, vol.14: p.143-150.
- Falconer I.R., Humpage A.R. (1996a). Tumour promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia*, vol.35 : p.74-79. doi: 10.2216/i0031-8884-35-6S-74.1.
- Falconer I.R. (1996b). Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, vol. 35: p. 6-11.

- Falconer I.R., Burch M.D., Steffensen D.A., Choice M., Coverdale O.R. (1994). Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environmental Toxicology and Water Quality*, vol.9 : p.131-139. doi: 10.1002/tox.25300902091994.
- Falconer IR. (1993). Measurement of toxins from blue-green algae in water and foodstuffs. In: Falconer IR (ed) *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. London: Academic Press, pp 165–75.
- Falconer I.R., Dornbusch M., Moran G., Yeung S.K. (1992). Effect of the cyanobacterial (blue-green algal) toxins from *Microcystis aeruginosa* on isolated enterocytes from the chicken small intestine. *Toxicon*, vol. 30(7): p.790-793. doi: 10.1016/0041-0101(92)90016-X.
- Falconer IR; Yeung DS. (1992). Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chemico-Biological Interaction*, vol. 81: p. 181–196. DOI : [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(92\)90033-H](https://doi.org/10.1016/0009-2797(92)90033-H).
- Falconer I.R. (1991). Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality*, vol. 6(2): p.177-184. doi: 10.1002/tox.2530060207.
- Falconer I.R., Smith J.V., Jackson A.R., Jones A., Runnegar M.T. (1988). Oral toxicity of a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* administered to mice over periods of up to one year. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, vol.24(3) : p.291-305. doi: 10.1080/15287398809531163.
- Falconer I.R., Buckley T., Runnegar M.T.C. (1986). Biological half-life, organ distribution and excretion of 125I-labelled toxic peptide from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Australian Journal of Biological Sciences*, vol. 39(1): p.17-21. doi: 10.1071/B19860017.
- Falconer I.R. Beresford A.M., Runnegar M.T. (1983). Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *The Medical Journal of Australia*, vol. 1(11): p.511–514.
- Fantino M., Gourmet E. (2008). Apports nutritionnels en France en 2005 chez les enfants non allaités âgés de moins de 36 mois. *Archives de pédiatrie*, vol. 15(4) : p.446-455.
- Farrer D., Counter M., Hillwig R., Cude C. (2015). Health-Based Cyanotoxin Guideline Values Allow for Cyanotoxin-Based Monitoring and Efficient Public Health Response to Cyanobacterial Blooms. *Toxins*, vol.7 : p.457-477. doi:10.3390/toxins7020457
- Fastner J., Rucker J., Stuken A., Preussel K., Nixdorf B., Chorus I., Kohler A., Wiedner C. (2007). Occurrence of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in northeast Germany. *Environmental Toxicology*, vol. 22 (1): p: 26-32.
- Fastner J., Neumann U., Wirsing B., Weckesser J., Wiedner C., Nixdorf B., Chorus I. (1999). Microcystins (hepatotoxic heptapeptides) in German fresh water bodies. *Environmental Toxicology*, vol.14 (1): p.13-22.
- Fayad P.B., Roy-Lachapelle A., Duy S.V., Prevost M., Sauve S. (2015). On-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry for the analysis of cyanotoxins in algal blooms. *Toxicon*, vol. 108: p.167-175.
- Fawell J.K., James C.P., James H.A. (1994). Toxins from blue-green algae : Toxicological assessment of Microcystin-LR and a method for its determination in water. Medmenham, Marlow, Bucks, Water Research Centre: p. 1-46.
- Fawell J.K., Mitchell R.E., Everett D.J., Hill R.E. (1999a). The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: I microcystin-LR. *Human and Experimental Toxicology*, vol.18(3) : 162-167. doi: 10.1177/096032719901800305.
- Fawell J.K., Mitchell R.E., Hill R.E., Everett D.J. (1999b). The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse, II Anatoxin-a. *Human and Experimental Toxicology*, vol.18(3): p.168 -173.
- Fernandez D.A., Louzao M.C., Vilarino N., Fraga M., Espina B., Vieytes M.R., Botana L.M. (2014). Evaluation of the intestinal permeability and cytotoxic effects of cylindrospermopsin. *Toxicon*, vol. 91: p. 23-34



- Fessard V., Bernard C. (2003). Cell alterations but no DNA strand breaks induced in vitro by cylindrospermopsin in CHOK1 cells. *Environmental Toxicology*, vol. 18(5): p.353-359.
- Feurstein D., Stemmer K., Kleinteich J., Speicher T., Dietrich D.R. (2011). Microcystin congener- and concentration-dependent induction of murine neuron apoptosis and neurite degeneration. *Toxicological Sciences*, vol. 124: p.424-431.
- Feurstein D., Holst K., Fischer A., Dietrich D.R. (2009). Oatp-associated uptake and toxicity of microcystins in primary murine whole brain cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 234(2): p.247-255. doi: 10.1016/j.taap.2008.10.011.
- Finch S.C., Boundy M.J., Harwood D.T. (2018). The Acute Toxicity of Tetrodotoxin and Tetrodotoxin-Saxitoxin Mixtures to Mice by Various Routes of Administration. *Toxins*, vol. 10 (11): p 423 doi: 10.3390/toxins10110423.
- Finlay J.C., Small G.E., Sterner R.W. (2013). Human influences on nitrogen removal in Lakes. *Science*, vol. 342: p.247–250.
- Fischer A., Hoeger S.J., Stemmer K., Feurstein D.J., Knobloch D., Nussler A., Dietrich D.R. (2010). The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners in vitro: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 245(1): p.9-20. doi: 10.1016/j.taap.2010.02.006.
- Fischer W.J., Altheimer S., Cattori V., Meier P.J., Dietrich D.R., Hagenbuch B. (2005). Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203 (3 SPEC. ISS.): p.257-263. doi: 10.1016/j.taap.2004.08.012.
- Fischer W.J., Garthwaite I., Miles C.O., Ross K.M., Aggen J.A., Chamberlin A.R., Towers N.R., Dietrich D.R. (2001). Congener-independent immunoassay for microcystins and nodularins. *Environmental Science & Technology*, vol. 35: p.4849–4856.
- Fitzgeorge R.B., Clark S.A., Keevil C.W. (1994). Routes of intoxication. Dans *Detection methods for cyanobacterial toxins*, édité par G. A. Codd, Jefferies T.M., C.W. Keevil et E. Potter, 69-74. London: Royal Society of Chemistry.
- Fleming L.E., Rivero C., Stephan W.B., Burns J., Williams C. (2001). Blue green algal exposure, drinking water and colorectal cancer study. *The Florida Harmful Algal Bloom Taskforce Final Report*, 1-44. St. Petersburg, Florida
- Fleming L.E., Rivero C., Burns J., Williams C., Beana J., Shea K., Stinn J. (2002). Blue green algal (cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida. *Harmful Algae*, vol. 1: p.157-168.
- Flöder S. (1999). The influence of mixing frequency and depth on phytoplankton mobility. *International review of hydrobiology*, vol. 84(2): p. 119-128.
- Flores N.M., Miller T.R., Stockwell J.D. (2018). A global analysis of the relationship between concentrations of microcystins in water and fish. *Frontiers in Marine Science* 5(FEB).
- Fonta O.I., Vieytes M.R., Baptista De Sousa J.M.V., Louzao M.C., Botana L.M. (1999). A fluorescent microplate assay for microcystin-LR. *Analytical Biochemistry*, vol. 269: p.289-296. doi: 10.1006/abio.1999.3099.
- Freitas M., Azevedo J., Carvalho A.P., Mendes V.M., Manadas B., Campos A., Vasconcelos V. (2016). Bioaccessibility and changes on cylindrospermopsin concentration in edible mussels with storage and processing time. *Food Control*, vol.59: p.567-574.
- Froschio S.M., Cannon E., Lau H.M., Humpage A.R. (2009). Limited uptake of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin by Vero cells. *Toxicon* vol. 54(6): p.862-868.
- Froschio S.M., Humpage A.R., Burcham P.C., Falconer I.R. (2003). Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from acute toxicity in mouse hepatocytes. *Environmental Toxicology*, vol. 18: p.243-251.

- Froschio S.M., Humpage A.R., Burcham P.C., Falconer I.R. (2001). Cell-free protein synthesis inhibition assay for the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, vol. 16: p. 408-412, doi: 10.1002/tox.1050.
- Furey A., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., James K. J. (2005). Strategies to avoid the mis-identification of anatoxin-a using mass spectrometry in the forensic investigation of acute neurotoxic poisoning. *Journal of Chromatography A* 1082 (1 SPEC. ISS.): p.91-97.
- Furey A., Crowley J., Shuilleabhain A. N., Skulberg A. M, James K.J. (2003). The first identification of the rare cyanobacterial toxin, homoanatoxin-a, in Ireland. *Toxicon*, vol. 41 (3): p.297-303.
- Gad S.E. (2014). Saxitoxin. Dans *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 218-220. : Elsevier.
- Gaget V., Lau M., Sendall B., Froschio S., Humpage A.R. (2017). *Water Research*, vol. 118: p.227-238.
- Gallacher S., Birkbeck T.H. (1992). A tissue culture assay for direct detection of sodium channel blocking toxins in bacterial culture supernates. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 92: p. 101-107, doi: 10.1016/0378-1097(92)90549-4
- Garcia C., Barriga A., Diaz J.C., Lagos M., Lagos N. (2010). Route of metabolization and detoxication of paralytic shellfish toxins in humans. *Toxicon*, vol. 55 (1): p.135-44. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.07.018.
- Garcia C., del Carmen Bravo M., Lagos M., Lagos N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, vol. 43 (2): p.149-58. doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.018.
- Garcia-Villada L., Ricol M., Altamirano M., Sanchez-Martin L., Lopez-Rodas V., Costas E. (2004). Occurrence of Copper Resistant Mutants in the Toxic Cyanobacteria *Microcystis Aeruginosa*: Characterisation and Future Implications in the Use of Copper Sulphate as Algacide. *Water Research*, vol. 38(8): p.2207-2213. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.01.036>.
- Garcia C., Barriga A., Diaz J.C., Lagos M., Lagos N. (2010). Route of metabolization and detoxication of paralytic shellfish toxins in humans. *Toxicon*, vol. 55: p135-144.
- Garcia C., Del Carmen Bravo M., Lagos M., Lagos N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, vol. 43: p.149-158.
- García-Villada L., Rico M., Altamirano M., Sánchez-Martín L., López-Rodas V., Costas E. (2004): Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*: characterisation and future implications in the use of copper sulphate as algacide. *Water Research*, vol. 38: p. 2207–2213. doi:10.1016/j.watres.2004.01.036.
- Garibo D., Flores C., Cetó X., Prieto-Simón B., del Valle M., Caixach J., Diogène J., Campàs M. (2014). Inhibition equivalency factors for microcystin variants in recombinant and wild-type protein phosphatase 1 and 2A assays. *Environmental Science and Pollution Research*. vol. 21: p. 10652-10660. doi: 10.1007/s11356-014-3065-7.
- Gaudin J., Huet S., Jarry G., Fessard V. (2008). In vivo DNA damage induced by the cyanotoxin microcystin-LR: comparison of intra-peritoneal and oral administrations by use of the comet assay. *Mutation Research*, vol. 652(1): p.65-71. doi: 10.1016/j.mrgentox.2007.10.024.
- Gehring M.M. (2004). Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: a dualistic response. *FEBS Letters*, vol. 557(1–3): p.1-8.
- Geh E. N., de la Cruz A. A., Ghosh D., Stelma G., Bernstein J. A. (2016). Sensitization of a child to Cyanobacteria after recreational swimming in a lake. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 137 (6): p.1902-1904.e3. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1340>.
- Geis-Asteggiant L., Lehotay S. J., Fortis L. L., Paoli G., Wijey C., Heinzen H. (2011). Development and validation of a rapid method for microcystins in fish and comparing LC-MS/MS results with ELISA. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 401 (8): p.2617-2630.

- Gessner B.D., Bell P., Doucette G.J., Moczydlowski E., Poli M.A., Van Dolah F., Hall S. (1997). Hypertension and identification of toxin in human urine and serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. *Toxicon*, vol. 35 (5): p.711-722. doi: [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(96\)00154-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(96)00154-7).
- Gessner B.D., Middaugh J.P. (1995). Paralytic shellfish poisoning in Alaska: a 20-year retrospective analysis. *American Journal of Epidemiology*, vol. 141 (8): p. 766-770. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a117499.
- Giannuzzi L., Sedan D., Echenique R., Andrinolo D. (2011). An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. *Marine Drugs*, vol. 9: p.2164–2175.
- Graha S.A., Mendelssohn I.A. (2010). Multiple levels of nitrogen applied to an oligohaline marsh identify a plant community response sequence to eutrophication. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 417: p. 73-82.
- Gijsbertsen-Abrahamse A.J., Schmidt W., Chorus I., Heijman S.G.J. (2006). Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration *Journal of Membrane Science*, vol. 276: p.252–259 doi :10.1016/j.memsci.2005.09.053.
- Gilbert C. (2013). Les sciences sociales face au risque, *in* Bourg D., Joly P.B., Kaufmann A. (dir.) *Du risque à la menace. Penser la catastrophe*. Paris, PUF, p. 219-236.
- Graham J.L., Loftin K. A., Meyer M. T., Ziegler A. C. (2010). Cyanotoxin mixtures and taste-and-odor compounds in cyanobacterial blooms from the midwestern United States. *Environmental Science and Technology*, vol. 44: p.7361–7368.
- Greer B., Maul R., Campbell K., Elliott C.T. (2017). Detection of freshwater cyanotoxins and measurement of masked microcystins in tilapia from Southeast Asian aquaculture farms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 409: p.4057–4069.
- Greer B., McNamee S.E., Boots B., Cimarelli L., Guillebault D., Helmi K., Marcheggiani S., Panaiotov S., Breitenbach U., Akcaalan R., Medlin L. K., Kittler K., Elliott C. T., Campbell K. (2016). A validated UPLC-MS/MS method for the surveillance of ten aquatic biotoxins in European brackish and freshwater systems. *Harmful Algae*, vol. 55: p.31-40.
- Gregor J. Marsalek B. (2004). Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: A comparative study of *in vitro*, *in vivo* and *in situ* methods. *Water Research*, vol. 38: p.517-522.
- Greillet C., Labadie M., Manel J., De Haro L. (2020). Étude des cas d'exposition aux cyanobactéries rapportés aux Centres antipoison entre le 01/01/2006 et le 31/12/2018. Study of cyanobacterial exposure cases reported to poison control centers between January 1, 2006 and December 31, 2018. *Toxicologie Analytique et Clinique*, vol. 32(1) : p.70-80. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2019.07.006>
- Griffiths D.J., Saker M.L. (2003). The Palm Island mystery disease 20 years on: A review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, vol. 18(2): p.78-93.
- Grützmacher G., Böttcher G., Chorus I., Bartel H. (2002). Removal of microcystins by slow sand filtration. *Environmental Toxicology*, vol. 17(4): p.386-394. doi : 10.1002/tox.10062.
- Gulati R.D., Pires L.M.D., Van Donk E. (2008): Lake restoration studies: Failures, bottlenecks and prospects of new ecotechnological measures. *Limnologia*, vol. 38: p. 233–247. doi:10.1016/j.limno.2008.05.008.
- Gunnarsson H., Sanseovic A.-M. (2001). Possible linkages between algae toxins in drinking water and related illnesses in Windhoek, Namibia. Bachelor's degree project. Kristianstad University School of Engineering, Sweden. 34 pages.
- Gupta R.C. (2004). Brain regional heterogeneity and toxicological mechanisms of organophosphates and carbamates. *Toxicology Mechanisms and Methods*, vol. 14: p.103-143.
- Gupta R. S. (2003). Evolutionary relationships among photosynthetic bacteria. *Photosynthesis Research*, vol. 76(1-3): p.173-183

- Guo N., Xie P. (2006). Development of tolerance against toxic *Microcystis aeruginosa* in three cladocerans and the ecological implications. *Environmental Pollution*, vol. 143: p.513–518. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.11.044>
- Gurbuz F., Uzunmehmetoğlu O.Y., Diler Ö., Metcalf J.S., Codd G.A. (2016). Occurrence of microcystins in water, bloom, sediment and fish from a public water supply. *Science of the Total Environment*, vol. 562: p.860-868.
- Guven B., Howard A. (2006). Modelling the growth and movement of cyanobacteria in river systems. *Science of the Total Environment*, vol. 368(2-3): p.898-908.
- Guzman-Guillen R., Maisanaba S., Prieto Ortega A.I., Valderrama-Fernandez R., Jos A., Camean A.M. (2017). Changes on cylindrospermopsin concentration and characterization of decomposition products in fish muscle (*Oreochromis niloticus*) by boiling and steaming. *Food Control*, vol. 77: p.210-220.
- Guzman-Guillen R., Moreno I., Prieto Ortega A. I., Soria-Diaz M.E., Vasconcelos V., Camean A. M. (2015). CYN determination in tissues from freshwater fish by LC-MS/MS: Validation and application in tissues from subchronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Talanta*, vol. 131: p.452-459. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.091>
- Guzmán-Guillén R., Prieto A.I., Moreno I., Vasconcelos V.M., Moyano R., Blanco A., Cameán Fernandez A.M. (2015). *Cyanobacterium* producing cylindrospermopsin cause histopathological changes at environmentally relevant concentrations in subchronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental toxicology*, vol. 30(3): p.261-277.
- Haande S., Rohrlack T., Semyalo R.P., Brettum P., Edvardsen B., Lyche-Solheim A., Larsson P. (2011). Phytoplankton dynamics and cyanobacterial dominance in Murchison Bay of Lake Victoria (Uganda) in relation to environmental conditions. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, vol. 41(1): p. 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2010.04.001>
- Hackett J.D., Wisecaver J.H., Brosnahan M.L., Kulis D.M., Anderson D.M., Bhattacharya D., Plumley F. G., Erdner D.L. (2013). Evolution of saxitoxin synthesis in cyanobacteria and dinoflagellates. *Molecular Biology Evolution*, vol. 30 (1): p.70-8. doi: 10.1093/molbev/mss142.
- Hallegraef G.M. (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, vol. 32: p.79-99.
- Hao H.W., Wu M.S., Chen W.F., Tang J.W., Wu Q.Y. (2004). Cyanobacterial bloom control by ultrasonic irradiation at 20 kHz and 1.7 MHz. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, vol. 39: p.1435–1446. doi:10.1081/ESE-120037844.
- Harada K.-i., Nakano T., Fujii K., Shirai M. (2004). Comprehensive analysis system using liquid chromatography–mass spectrometry for the biosynthetic study of peptides produced by cyanobacteria. *Journal of Chromatography A*, vol. 1033 (1): p.107-113.
- Harada K.I., Murata H., Qiang Z., Suzuki M., Kondo F. (1996). Mass spectrometric screening method for microcystins in cyanobacteria, *Toxicon*, vol. 34 (6): p.701-710.
- Harada K.I., Nagal H., Kimura Y., Suzuki M., (1993). Liquid Chromatography/Mass Spectrometric Detection of Anatoxin-a, a Neurotoxin from Cyanobacteria. *Tetrahedron*, vol. 49 (41): p.9251-9260.
- Harada K., Matsuura K., Suzuki M., Watanabe M.F., Oishi S., Dahlem A.M., Beasley V.R., Carmichael W.W. (1990). Isolation and characterization of the minor components associated with microcystins LR and RR in the cyanobacterium (blue-green algae). *Toxicon*, vol. 28(1): p.55-64.
- Hardy F.J., Johnson A., Hamel K., Preece E. (2015). Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 187 (11): p. 667. doi: 10.1007/s10661-015-4875-x
- Hawkins P.R., Novic S., Cox P., Neilan B.A., Burns B.P., Shaw G., Wickramasinghe W., Peerapornpisal Y., Ruangyuttikarn W., Itayama T., Saitou T., Mizuochi M., Inamori Y. (2005). A review of analytical methods for assessing the public health risk from microcystin in the aquatic environment. *Journal of Water Supply Research and Technology*, vol. 54(8): p.509-518.

- Hawkins P.R., Chandrasena N.R., Jones J.G., Humpage A.R., Falconer I.R. (1997). Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon*, vol. 35(3): p.341-346.
- Hawkins P.R., Runnegar M.T., Jackson A.R., Falconer I.R. (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (*Woloszynska*) *Seenaya and Subba Raju* isolated from a domestic water supply reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 50(5): p.1292–1295.
- Hayashi R., Saito H., Okumura M., Kondo F. (2006). Cell bioassay for paralytic shellfish poisoning (PSP): Comparison with postcolumn derivatization liquid chromatographic analysis and application to the monitoring of PSP in shellfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54: p. 269-273, doi: 10.1021/jf050649t.
- Hayman J. (1992). Beyond the Barcoo--probable human tropical cyanobacterial poisoning in outback Australia. *The Medical Journal of Australia*, vol. 157: p.794-796.
- He J., Li G., Chen J., Lin J., Zeng C., Chen J., Deng J., Xie P. (2017). Prolonged exposure to low-dose microcystin induces nonalcoholic steatohepatitis in mice: a systems toxicology study. *Archives of Toxicology*, vol. 91(1): p.465-480. doi: 10.1007/s00204-016-1681-3.
- He X., De la Cruz A.A., Hiskia A., Kaloudis T., O'Shea K., Dionysiou D.D. (2015). Destruction of microcystins (cyanotoxins) by UV-254 nm-based direct photolysis and advanced oxidation processes (AOPs): Influence of variable amino acids on the degradation kinetics and reaction mechanisms. *Water Research*, vol. 74: p.227-238. doi : 10.1016/j.watres.2015.02.011.
- He J., Chen J., Wu L., Li G., Xie P. (2012). Metabolic response to oral microcystin-LR exposure in the rat by NMR-based metabolomic study. *Journal of Proteome Research*, vol. 11(12): p.5934-5946. doi: 10.1021/pr300685g.
- Heath M.W., Wood S.A., Young R. G., Ryan K. G. (2016). The role of nitrogen and phosphorus in regulating *Phormidium* sp. (cyanobacteria) growth and anatoxin production. *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 92 (3): p. 1-8. DOI: 10.1093/femsec/fiw021
- Heath M.W., Wood S.A., Brasell K.A., Young R.G., Ryan, K.G. (2015). Development of Habitat Suitability Criteria and In-Stream Habitat Assessment for the Benthic Cyanobacteria *Phormidium*. *River Research and Application*, vol. 31: p. 98-108. doi:10.1002/rra
- Heath M.W., Wood S.A., Ryan K.G. (2011). Spatial and temporal variability in *Phormidium* mats and associated anatoxin-a and homoanatoxin-a in two New Zealand rivers. *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 64: p.69-79.
- Heath M.W., Wood S.A., Ryan K.G. (2010). Polyphasic assessment of fresh-water benthic mat forming cyanobacteria in New-Zealand. *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 73: p.95-109.
- Heinemann S.H., Terlau H., Stühmer W., Imoto K., Numa S. (1992). Calcium channel characteristics conferred on the sodium channel by single mutations. *Nature*, vol. 356 (6368): p.441-443. doi: 10.1038/356441a0.
- Henderson R., Parsons S.A., Jefferson B. (2008). The impact of algal properties and pre-oxidation on solid/liquid separation of algae. *Water Research*, vol. 42(8-9): p.1827-1845. doi : 10.1016/j.watres.2007.11.039.
- Heinze R. (1999). Toxicity of the Cyanobacterial Toxin Microcystin-LR to Rats After 28 Days Intake with the Drinking Water. *Environmental Toxicology*, vol. 14(1): p.57-60. doi:10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1<57::AID-TOX9>3.0.CO;2-J.
- Hendriks A.T.W.M., Langeveld J.G. (2017). Rethinking Wastewater Treatment Plant Effluent Standards: Nutrient Reduction or Nutrient Control? *Environmental Science & Technology*, vol. 51: p. 4735–4737. doi:10.1021/acs.est.7b01186.
- Herfindal L., Krakstad C., Myhren L., Hagland H., Kopperud R., Teigen K., Schwede F., Kleppe R., Døskeland S.O. (2014). Introduction of aromatic ring-containing substituents in cyclic nucleotides is associated with inhibition of toxin uptake by the hepatocyte transporters OATP 1B1 and 1B3. *PLoS One*, vol. 9(4): e94926.

- Henriksen P., Carmichael W.W., An J., Moestrup Ø. (1997). Detection of an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in natural blooms and cultures of cyanobacteria/blue-green algae from danish lakes and in the stomach contents of poisoned birds. *Toxicon*, vol. 35 (6): p.901-913. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(96\)00190-0](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(96)00190-0)
- Henry E., Gilbert C. (2012). La définition des problèmes publics, entre publicité et discrétion. *Revue française de science politique*, vol. 1(531): p.35-59.
- Hense I., Beckmann A. (2010). The representation of cyanobacteria life cycle processes in aquatic ecosystem models. *Ecological Modelling*, vol. 221: p. 2330–2338.
- Hickey C.W., Gibbs M.M. (2009): Lake sediment phosphorus release management—Decision support and risk assessment framework. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, vol. 43: p. 819–856. doi:10.1080/00288330909510043.
- Hilborn E.D., Roberts V.A., Backer L., Deconno E., Egan J.S., Hyde J.B., Nicholas,D.C., Wiegert E.J., Billing L.M., Diorio M. (2014). Algal bloom associated disease outbreaks among users of freshwater lakes-United States, 2009-2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, vol. 63: p.11-15.
- Hilborn E.D., Carmichael W.W., Soares R.M., Yuan M., Servaites J.C., Barton H.A., Azevedo S.M. (2007). Serologic evaluation of human microcystin exposure. *Environmental Toxicology*, vol. 22(5): p.459-463. doi :10.100 2/tox.20281.
- Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U., Zohary T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, vol. 35: p.403-424.
- Hiller S., Krock B., Cembella A., Luckas B. (2007). Rapid detection of cyanobacterial toxins in precursor ion mode by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, vol. 42 (9): p.1238-1250
- Hines H. B., Naseem S. M., Wannemacher Jr. R. W. (1993). [3H]-Saxitoxinol metabolism and elimination in the rat.*Toxicon*, vol. 31 (7): p.905-908. doi: 10.1016/0041-0101(93)90226-9.
- Ho L., Tang T., Monis P.T., Hoefel D. (2012). Biodegradation of multiple cyanobacterial metabolites in drinking water supplies. *Chemosphere*, vol. 87: p.1149-1154. doi : 10.1016/j.chemosphere.2012.02.020.
- Ho L., Lambling P., Bustamante H., Duker P., Newcombe G. (2011). Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. *Water Research*, vol. 45: p.2954-2964. doi : 10.1016/j.watres.2011.03.014.
- Ho L., Tanis-plant P., Kayal N., Slyman N., Newcombe G. (2009). Optimising water treatment practices for the removal of *Anabaena circinalis* and its associated metabolites, geosmin and saxitoxins. *Journal of Water and Health*, vol. 7: p.544-556. doi : 10.2166/wh.2009.075. (cité dans Westrick *et al.*, 2010).
- Ho L., Onstad G., von Gunten U., Rinck-Pfeiffer S., Craig K., Newcombe G. (2006). Differences in the chlorine reactivity of four microcystin analogues. *Water Research*, vol. 40: p.1200-1209. doi : 10.1016/j.watres.2006.01.030.
- Hoagland P., Anderson M., Kaoru Y., White A.W. (2002). The Economic Effects of Harmful Algal Blooms in the United States : Estimates, Assessment Issues, and Information Needs, *Estuaries*,vol. 25(4b): p.819-37.
- Hoeger S.J., Schmid D., Blom J.F., Ernst B., Dietrich D.R. (2007). Analytical and functional characterization of microcystins [Asp3]MC-RR and [Asp3,Dhb7]MC-RR: consequences for risk assessment? *Environmental Science and Technology*, vol. 41: p.2609–2616.
- Hoeger S.J., Hitzfeld B.C., Dietrich D.R. (2005). Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203: p.231-242. doi:10.1016/j.taap.2004.04.015.
- Hong B., Chen H., Han J., Xie Q., He J., Bai K., Dong Y., Yi R. (2017). A Study of 11-[(3)H]-Tetrodotoxin Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion (ADME) in Adult Sprague-Dawley Rats. *Marine Drugs*, vol. 15(6): p. 159-173.doi: 10.3390/md15060159.

- Hong H.Z, Lam P.K.S., Hsieh D.P.H. (2003). Interactions of paralytic shellfish toxins with xenobiotic-metabolizing and antioxidant enzymes in rodents. *Toxicon*, vol. 42: p.425-431.
- Horvath H., Matyas K., Süle G., Presing M. (2013). Contribution of Nitrogen Fixation to the External Nitrogen Load of a Water Quality Control Reservoir (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary). *Hydrobiologia*, vol. 702(1): p.255-65. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1329-0>.
- Hooser S.B., Kuhlenschmidt M.S., Dahlem A.M., Beasley V.R., Carmichael W.W., Haschek W.M. (1991). Uptake and subcellular localization of tritiated dihydro-microcystin-LR in rat liver. *Toxicon*, vol. 29(6): p.589-601. doi: 10.1016/0041-0101(91)90053-T.
- Horvath H., Matyas K., Suele G., Presing M. (2013): Contribution of nitrogen fixation to the external nitrogen load of a water quality control reservoir (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary). *Hydrobiologia*, vol. 702: p. 255–265. doi:10.1007/s10750-012-1329-0.
- Houhou J., Lartiges B.S., Hofmann A., Frappier G., Ghanbaja J., Temgoua A. (2009). Phosphate dynamics in an urban sewer: A case study of Nancy, France, *Water Research*, vol. 43(4): p.1088–1100.
- Howard A., Easthope M. P. (2002). Application of a model to predict cyanobacterial growth patterns in response to climatic change at Farmoor Reservoir, Oxfordshire, UK. *Science of the Total Environment*, vol. 282: p.459–469. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00929-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00929-9).
- Howard A., Irish A. E., Reynolds C.S. (1996). A new simulation of cyanobacterial underwater movement (SCUM'96). *Journal of Plankton Research*, vol. 18 (8): p. 1375-1385.
- Hrudey S., Burch M., Drikas M., Gregory R. (1999). Remedial measures. In: Chorus I, Bartram J, editors. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, UK: E & FN Spon; p. 275–312.
- Huang J., Gao J., Hoermann G. (2012). Hydrodynamic-phytoplankton model for short-term forecasts of phytoplankton in Lake Taihu, China. *Limnologia*, vol. 42(1): p. 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2011.06.003>
- Huang P., Zheng Q., Xu L.H. (2011). The apoptotic effect of oral administration of microcystin-RR on mice liver. *Environmental Toxicology*, vol. 26(5): p.443-452. doi: 10.1002/tox.20570.
- Huang P., Xu A. (2009). Genotoxic effects of microcystin-LR in mammalian cells. 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, iCBBE 2009, Beijing.
- Huang W.M., Xing W., Li D.H., Liu Y.D. (2008a). The Role of Glutathione Metabolism in Tolerance of Tobacco BY-2 Suspension Cells to Microcystin-RR. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 80: p.215. doi: 10.1007/s00128-007-9348-7
- Huang W.J., Cheng Y.L., Cheng B.L. (2008b). Ozonation by products and determination of extracellular release in freshwater algae and cyanobacteria. *Environmental Engineering Science*, vol. 25(2): p.139-151. doi : 10.1089/ees.2006.0113. (cité dans Westrick *et al.*, 2010).
- Huang W.J., Cheng B.L., Cheng Y.L. (2007). Adsorption of microcystin-LR by three types of activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 141: p.115-122. doi : 10.1016/j.jhazmat.2006.06.122. (Cité dans Merel *et al.*, 2010 et 2013).
- Hugenard L. (2016). 10 ans de suivi et de gestion des cyanobactéries. L'exemple de la base de loisirs de Champs-sur-Marne, CD93/ODBU, Colloque GIS Cyano, Cyanobactéries et zones récréatives, 9 mars 2016, Biscarosse.
- Humbert J.F., Quiblier C. (2019). The suitability of chemical products and other short-term remedial methods for the control of cyanobacterial blooms in freshwater ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, vol. 7 (176): p. 1-4.
- Humbert J.F., Quiblier C., Echenique I., Zancarini A. (2016). Rapport de fin d'étude du projet CYBERI pour Agences de l'eau AG et RMC- Biofilms à Cyanobactéries Benthiques toxiques en Rivière : caractérisation, conditions de développement et stratégies d'échantillonnage. p.162.

Humbert J.F., Quiblier C., Gugger M. (2010). Molecular approaches for monitoring potentially toxic marine and freshwater phytoplankton species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 397: p.1723–1732. doi:10.1007/s00216-010-3642-7.

Humbert J.F. (2009). Toxins of cyanobacteria. In *Handbook of toxicology of chemical warfare agents*. section 2, chap. 27, 371-379.

Humbert J.F., Paolini G., Le Berre B. (2001). Monitoring a cyanobacterial bloom and its consequences for water quality. In *Harmful Algal Bloom 2000*. Hallegraeff G. & *et al.* (eds), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO 2001, 496-499.

Humpage A.R., Magalhaes V.F., Froscio S.M. (2010). Comparison of analytical tools and biological assays for detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 397: p. 1655-1671, doi: 10.1007/s00216-010-3459-4.

Humpage A.R., Fontaine F., Froscio S., Burcham P., Falconer I.R. (2005). Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity: Role of cytochrome P450 and oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol. 68: p.739-753.

Humpage A.R., Falconer I.R. (2003). Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss Albino mice: Determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology*, vol. 18: p.94-103.

Humpage A.R., Falconer I.R. (2002). Oral Toxicity of Cylindrospermopsin: No Observed Adverse Effect Level Determination in Male Swiss Albino Mice. The Cooperative Research Centre for Water Quality and Treatment, Salisbury, South Australia. Research Report No. 13.(93 pages).

Hunter P.D., Matthews M.W., Kutser T., Tyler A.N. (2017). Remote Sensing of Cyanobacterial Blooms in Inland, Coastal and Ocean Waters. In: *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis* (Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A. eds.), John Wiley & Sons, Chichester, GBR, pp. 89-99.

Hupfer M., Lewandowski J. (2008). Oxygen Controls the Phosphorus Release from Lake Sediments - a Long-Lasting Paradigm in Limnology. *International Review of Hydrobiology*, vol. 93 (4–5): p.415–32. <https://doi.org/10.1002/iroh.200711054>.

Hutorowicz A. (2005). Opracowanie standardowych objętości komórek do szacowania biomasy wybranych taksonów glonów planktonowych wraz z określeniem sposobu pomiarów i szacowania. *Instytutu Rybactwa Śródlądowego*, 42 p.

Hyde E.G., Carmichael W.W. (1991). Anatoxin-A(S), a naturally occurring organophosphate, is an irreversible active site-directed inhibitor of acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7). *Journal of Biochemical Toxicology*, vol. 6: p.195-201. doi: 10.1002/jbt.2570060305.

Hyenstrand P., Metcalf J.S., Beattie K.A., Codd G.A., (2001a). Effects of adsorption to plastics and solvent conditions in the analysis of the cyanobacterial toxin microcystin-LR by high performance liquid chromatography. *Water Research*, vol. 35 (14): p.3508-3511.

Hyenstrand P., Metcalf J.S., Beattie K.A., Codd G.A. (2001b). Losses of the cyanobacterial toxin microcystin-LR from aqueous solution by adsorption during laboratory manipulations. *Toxicon*, vol.39 (4) : p. 589-594.

Ianora A., Bentley M. G., Caldwell G. S., Casotti R., Cembella A. D., Engström-Öst J., Halsband C., Sonnenschein E., Legrand C., Llewellyn C. A., Paldavičienė A., Pilkaityte R., Pohnert G., Razinkovas A., Romano G., Tillmann U., Vaiciute D. (2011). The relevance of marine chemical ecology to plankton and ecosystem function: An emerging field. *Marine Drugs*, vol.9 (9): p.1625-1648. doi: 10.3390/md9091625.

Igbinosa E.O., Okoh A.I. (2009). Impact of discharge wastewater effluents on the physico-chemical qualities of a receiving watershed in a typical rural community. *International Journal of Environmental Science & Technology*, vol. 6 (2): p. 175-182.

Immers A.K., Masha T., Van der Sande R., Van der Zande M., Geurts J.J.M., Van Donk E., Bakker E.S. (2013). Iron Addition as a Shallow Lake Restoration Measure: Impacts on Charophyte Growth. *Hydrobiologia*, vol. 710 (1): p.241–251. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0995-7>.



- Isobe M., Sugiyama Y., Ito T., Ohtani I.I., Nishigohri Y., Toya Y., Takai A. (1995). New Analysis Method for Protein Phosphatase Type 2a Inhibitors Using the Firefly Bioluminescence System. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 59: p. 2235-2238. doi: 10.1271/bbb.59.2235.
- Ito E., Takai A., Kondo F., Masui H., Imanishi S., Harada K. (2002). Comparison of protein phosphatase inhibitory activity and apparent toxicity of microcystins and related compounds. *Toxicon*, vol. 40(7): p.1017–1025. doi: 10.1016/S0041-0101(02)00099-5.
- Ito E., Kondo F., Harada K. (2001). Intratracheal administration of microcystin-LR, and its distribution. *Toxicon*, vol. 39(2-3): p.265-271.
- Ito E., Nagai H. (2000). Bleeding from the small intestine caused by aplysiatoxin, the causative agent of the red alga *Gracilaria coronopifolia* poisoning. *Toxicon*, vol. 38(1): p.123-132.
- Ito E., Kondo F., Terao K., Harada K. (1997a). Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicon*; vol. 35(9): p.1453-1457.
- Ito E., Kondo F., Harada K. (1997b). Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin-LR. *Toxicon*, vol. 35 (2) : p.231-239.
- Izaguirre G. A (1992). Copper-tolerant phormidium species from lake mathews, california, that produces 2-methylisoborneol and geosmin. *Water Science Technology*, vol. 25: p. 217–223.
- Izydorczyk K., Carpentier C., Mrówczyński J., Wagenvoort A., Jurczak T., Tarczyńska M. (2009). Establishment of an Alert Level Framework for cyanobacteria in drinking water resources by using the Algae Online Analyser for monitoring cyanobacterial chlorophyll a. *Water Research*, vol. 43(4): p.989-996.
- Jacoby J.M., Collier D.C., Welch E.B., Hardy F.J., Crayton M. (2000). Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 57 (1): p. 231-240.
- Jacquet S., Kerimoglu O., Rimet F., Paolini G., Anneville O. (2014). Cyanobacterial Bloom Termination: The Disappearance of *Planktothrix Rubescens* from Lake Bourget (France) after Restoration. *Freshwater Biology*, vol. 59 (12): p.2472–87. <https://doi.org/10.1111/fwb.12444>.
- Jacquet S., Briand J. F., Leboulanger C., Avois-Jacquet C., Oberhaus L., Tassin B., Vincon-Leite B., (2005). The Proliferation of the Toxic Cyanobacterium *Planktothrix Rubescens* Following Restoration of the Largest Natural French Lake (Lac Du Bourget). *Harmful Algae*, vol. 4 (4): p.651–72. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2003.12.006>.
- Jakubowska N.; Szelaż-Wasielewska E. (2015). Toxic Picoplanktonic Cyanobacteria—Review. *Marine Drugs*, vol. 13: p.1497-1518.
- Jaeg J.P. (2007). Microcystines : intoxication des animaux domestiques et sécurité des aliments d'origine animale. *Revue de Médecine Vétérinaire*, vol. 158 (2): p.46-58.
- James K.J., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., Skulberg O., Furey A. (2005). Anatoxins and degradation products, determined using hybrid quadrupole time-of-flight and quadrupole ion-trap mass spectrometry: forensic investigations of cyanobacterial neurotoxin poisoning. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 19: p.1167-1175
- James K.J., Furey A., Sherlock I.R., Stack M.A., Twohig M., Caudwell F.B., Skulberg O.M. (1998). Sensitive determination of anatoxin-a, homoanatoxin-a and their degradation products by liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, vol. 798: p.147–157.
- Jancula D., Marsalek B. (2011). Critical review of actually available chemical compounds for prevention and management of cyanobacterial blooms. *Chemosphere*, vol. 85: p. 1415–1422. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.08.036.
- Jang M.-H., Ha K., Joo G.-J., Takamura N. (2003). Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biology*, vol. 48: p. 1540–1550.

Jasionek G., Zhdanov A., Davenport J., Bláha L., Papkovsky D.B. (2010). Mitochondrial toxicity of microcystin-LR on cultured cells: Application to the analysis of contaminated water samples. *Environmental Science and Technology*, vol.44, p. 2535-2541, doi: 10.1021/es903157h.

Jaouen A. (2015). Gestion des risques sanitaires liés aux cyanobactéries dans les plans d'eau morbihannais : modalités, acteurs, enjeux, perspectives, Rapport d'étude, conseil départemental du Morbihan, novembre.

Jellett J.F., Marks L.J., Stewart J.E., Dorey M.L., Watson-Wright W., Lawrence J.F. (1992). Paralytic shellfish poison (saxitoxin family) bioassays: Automated endpoint determination and standardization of the in vitro tissue culture bioassay, and comparison with the standard mouse bioassay. *Toxicon*, vol. 30: p. 1143-1156. doi: 10.1016/0041-0101(92)90430-D.

Jeppesen E., Søndergaard M., Zhengwen L. (2017). Lake Restoration and Management in a Climate Change Perspective: An Introduction. *Water*, vol. 9 (2): p.122. <https://doi.org/10.3390/w9020122>.

Jeppesen E., Søndergaard M., Lauridsen T.L., Davidson T.A., Liu Z., Mazzeo N., Trochine C., Ozkan K., Jensen H.S., Trolle D., Starling F., Lazzaro X., Johansson L.S., Bjerring R., Liboriussen L., Larsen S.E., Landkildehus F., Egemose S., Meerhoff M. (2012). Biomanipulation as a Restoration Tool to Combat Eutrophication: Recent Advances and Future Challenges In: Woodward, G, Jacob, U, OGorman, EJ (ed): *Advances in Ecological Research*, Vol 47: Global Change in Multispecies Systems, Pt 2. pp. 411–488.

Jeppesen E., Søndergaard M., Meerhoff M., Lauridsen T. L., Jensen. J. P. (2007). Shallow Lake Restoration by Nutrient Loading Reduction—some Recent Findings and Challenges Ahead. *Hydrobiologia*, vol. 584: p. 239–252.

Jeppesen E., Søndergaard M., Jensen J.P., Havens K.E., Anneville O., Carvahlo L., Coveney M.F., Deneke R., Dokulil M.T., Foy B., Gerdeaux D., Hampton S.E., Hilt S., Kangur K., Köhler J., Lammens E., Lauridsen T.L., Manca M., Miracle M.R., Moss B., Noges P., Persson G., Phillips G., Portielje R., Romo S., Schelske C.L., Straile D., Tatrai I., Willén E., Winder M. (2005a). Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology*, vol.50 : p.1747–1771. doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01415.x.

Jeppesen E., Jensen J. P., Søndergaard M., Lauridsen T. L. (2005b). Response of Fish and Plankton to Nutrient Loading Reduction in Eight Shallow Danish Lakes with Special Emphasis on Seasonal Dynamics. *Freshwater Biology*, vol. 50 (10): p.1616–1627. doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01413.x.

Ji Y., Huang J-L, Fu J., Wu M-S, Cui C-W. (2008). Degradation of microcystin-RR in water by chlorine dioxide. *Journal of China University of Mining and Technology*, vol. 18(4): p.0623–0628.

Jia J., Chen Q., Lauridsen T.L. (2016). A Systematic investigation into the environmental fate of microcystins and the potential risk: study in Lake Taihu. *Toxins (Basel)*, vol. 8(6): p.170. doi: [10.3390/toxins8060170](https://doi.org/10.3390/toxins8060170)

Jiang Y., Yang Y., Wu Y., Tao J., Cheng B.(2017). Microcystin Bioaccumulation in Freshwater Fish at Different Trophic Levels from the Eutrophic Lake Chaohu, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 99(1): p.69-74.

Jiang H., Zhao D., Zhao H., Cai Y., Xu D., Zhou C., Leng X., Xie D. (2015). Density-Dependent Interactions Between *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle and Phytoplankton: A Mesocosm Experiment: *Water. CLEAN - Soil, Air, Water*, vol. 43: p. 1623–1632. doi:10.1002/clen.201300862.

Jing L., Liu X., Bai S., Wu C., Ao H., Liu J.(2015). Effects of Sediment Dredging on Internal Phosphorus: A Comparative Field Study Focused on Iron and Phosphorus Forms in Sediments. *Ecological Engineering*, vol 82 (September): p.267–271. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.099>.

Jing L., Sun Y. (2015). The role of PP2A-associated proteins and signal pathways in microcystin-LR toxicity. *Toxicology Letters*, vol. 236: p. 1–7.

Jochimsen E.M., Carmichael W.W., An J.S., Cardo D.M., Cookson S.T., Holmes C.E., Antunes M.B., de Melo Filho D.A., Lyra T.M., Barreto V.S., Azevedo S.M., Jarvis W.R. (1998). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine*, vol. 338: p. 873-878.

- Johnston B.R., Jacoby J.M. (2003). Cyanobacterial toxicity and migration in a mesotrophic lake in western Washington, USA. *Hydrobiologia*, vol. 495: p.79-91.
- Jones S.W., Marks T. N. (1989). Calcium currents in bullfrog sympathetic neurons. I. Activation kinetics and pharmacology, *Journal of General Physiology*, vol. 94 (1): p.151-67. doi: 10.1085/jgp.94.1.151.
- Jones G.J., Orr P.T. (1994). Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Water research*, vol. 28(4): p.871-876.
- Jöhnk K.D., Huisman J., Sharples J., Sommeijer B., Visser P.M., Stroom J.M. (2018). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*, vol. 14: p: 495–512.
- Joyce E.M., Wu X., Mason T.J. (2010): Effect of ultrasonic frequency and power on algae suspensions. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, vol. 45: p. 863–866. doi:10.1080/10934521003709065.
- Kachel V., Wietzorrek J. (2000). Flow cytometry and integrated imaging. *Scientia marina*, vol. 64 (2): p. 247-254.
- Kaczynska A., Los M., Wegrzyn G. (2013). An improved method for efficient isolation and purification of genomic DNA from filamentous cyanobacteria belonging to genera *Anabaena*, *Nodularia* and *Nostoc*. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, vol. 42: p. 8-13. DOI: 10.2478/s13545-013-0058-y
- Kansole M., Lin T-F (2017). Impacts of Hydrogen Peroxide and Copper Sulfate on the Control of *Microcystis aeruginosa* and MC-LR and the Inhibition of MC-LR Degrading *Bacterium Bacillus* sp., *Water*, vol.9 : p. 255. doi:10.3390/w9040255.
- Kao C.Y. (1993). Paralytic shellfish poisoning. Algal toxins in seafood and drinking water. London Academic Press: p.75-86.
- Kao P. N., James-Kracke M. R., Kao C. Y. (1983a). The active guanidinium group of saxitoxin and neosaxitoxin identified by the effects of pH on their activities on squid axon. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 398 (3): p.199-203.
- Kao C.Y. (1983b). New perspectives on the interactions of tetrodotoxin and saxitoxin with excitable membranes. *Toxicon*, vol. 21 S3 : p.211-219.
- Kaplan-Levy R.N., Hadas O., Summers M. L., Rücker J., Sukenik A. (2010). Akinetes: dormant cells of cyanobacteria. In *Dormancy and resistance in harsh environments* (pp. 5-27). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Karlsson K.M., Spoo L.E.M., Meriluoto J.A.O. (2005). Quantitative LC-ESI-MS analyses of microcystins and nodularin-R in animal tissue -Matrix effects and method validation. *Environmental Toxicology*, vol. 20 (3): p.381-389.
- Karlsson K., Sipiä V., Kankaanpää H., Meriluoto J. (2003a). Mass spectrometric detection of nodularin and desmethylnodularin in mussels and flounders. *Journal of Chromatography B*, vol. 784(2): p. 243-253.
- Karlsson, K., Sipiä V., Krause E., Meriluoto J., Pflugmacher S. (2003b). Mass spectrometric detection and quantification of nodularin-R in flounder livers. *Environmental Toxicology*, vol. 18 (5): p.284-288.
- Kempton W., Falk J. (2000), *Cultural Models of Pfiesteria: Toward Cultivating More Appropriate Risk Perceptions*, *Coastal Management*, vol. 28 (4): p. 273-285.
- Kim H-S., Hwang S-J., Shin J-K., An K-G., Yoon C.G. (2007). Effects of limiting nutrients and N: P ratios on the phytoplankton growth in a shallow hypertrophic reservoir. *Hydrobiologia*; vol. 581: p.255–267.
- Kittler K., Hurtaud-Pessel D., Maul R., Kolrep F., Fessard V. (2016). *In vitro* metabolism of the cyanotoxin cylindrospermopsin in HepaRG cells and liver tissue fractions. *Toxicon*, vol. 110 : p.47-50.

- Kittler K., Hoffmann H., Lindemann F., Koch M., Rohn S., Maul R. (2014). Biosynthesis of <sup>15</sup>N-labeled cylindrospermopsin and its application as internal standard in stable isotope dilution analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 406 (24): p.5765-5774.
- Kiviranta J., Abdel-Hameed A., Sivonen K., Niemelä S.I., Carlberg G. (1993). Toxicity of cyanobacteria to mosquito larvae—screening of active compounds. *Environmental Toxicology and Water Quality*, vol. 8: p. 63-71, doi: 10.1002/tox.2530080107.
- Klaassen C.D., Aleksunes L.M. (2010). Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacological Reviews*, vol. 62(1): p.1-96. doi: 10.1124/pr.109.002014.
- Kohane D. S., Lu N. T., Gökgöl-Kline A. C. G., Berde C. B., Shubina M., Kuang Y., Hall S., Strichartz G. R. (2000). The local anesthetic properties and toxicity of saxitoxin homologues for rat sciatic nerve block in vivo. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, vol. 25 (1): p.52-59. doi: 10.1016/S1098-7339(00)80011-5.
- Kogure K., Tamplin M.L., Simidu U., Colwell R.R. (1988). A tissue culture assay for tetrodotoxin, saxitoxin and related toxins. *Toxicon*, vol. 26: p.191-197. doi: 10.1016/0041-0101(88)90171-7.
- Kondo F., Ikai Y., Oka H., Okumura M., Ishikawa N., Harada K.I., Matsuura K., Murata H., Suzuki M. (1992). Formation, Characterization, and Toxicity of the Glutathione and Cysteine Conjugates of Toxic Heptapeptide Microcystins. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 5(5): p.591-596. doi: 10.1021/tx00029a002.
- Kondo F., Matsumoto H., Yamada S., Ishikawa N., Ito E., Nagatas S., Ueno Y., Suzuki M., Harada K.I. (1996). Detection and identification of metabolites of microcystins formed in vivo in mouse and rat livers. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 9(8): p.1355-1359. doi: 10.1021/tx960085a.
- Kohoutek J., Adamovský O., Oravec M., Šimek Z., Palíková M., Kopp R., Bláha L. (2010). LC-MS analyses of microcystins in fish tissues overestimate toxin levels-critical comparison with LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 398(3): p.1231-1237.
- Kozdęba M., Borowczyk J., Zimoląg E., Wasylewski M., Dziga D., Madeja Z., Drukala, J. (2014). Microcystin-LR affects properties of human epidermal skin cells crucial for regenerative processes. *Toxicon*, vol. 80: p. 38-46, doi: 10.1016/j.toxicon.2014.01.003.
- Kubickova B., Babica P., Hilscherová K., Šindlerová L. (2019). Effects of cyanobacterial toxins on the human gastrointestinal tract and the mucosal innate immune system. *Environment Science Europe*, vol. 31: 31.
- Kuhard S.E., Nierenberg K., Kirkpatrick B., Graham A.T. (2009). Public Perceptions of Florida Red Tide Risks, *Risk Analysis*, vol. 29(7): p.963-969.
- Kuiper-Goodman T., Falconer I., Fitzgerald J. (1999). Human health aspects. In, I. Chorus & J. Bartram (eds) *Toxic Cyanobacteria in Water*. E & F.N. Spon, London: p.113-153.
- Kull T.P.J., Backlund P.H., Karlsson K.M., Meriluoto Meriluoto A.O. (2004). Oxidation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR by chlorine dioxide: reaction kinetics, characterization, and toxicity of reaction products. *Environmental Science and Technology*, vol. 38(22): p.6025–6031. doi:10.1021/es0400032. (cité dans Westrick *et al.*, 2010).
- Kurmayer R., Sivonen K., Willmote A., Salmaso N. (2017). *Molecular Tools for the Detection and Quantification of Toxigenic Cyanobacteria* - 440p. ISBN: 978-1-119-33214-5, Wiley Ed.
- Kurmayer R., Kutzenberger T. (2003). Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69 (11): p. 6723-6730.
- Kvitek R., Bretz C. (2004). Harmful algal bloom toxins protect bivalve populations from sea otter predation. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 271: p.233-243. doi: 10.3354/meps271233.
- Labine M., Minuk G.Y. (2015). Long-term, low-dose exposure to microcystin toxin does not increase the risk of liver tumor development or growth in mice. *Hepatology Research*, vol. 45(6) : p.683-692. doi: 10.1111/hepr.12394.

- Lagroye J., François B., Sawicki F. (2012), *Sociologie politique*, Paris, Presses de Sciences po/Dalloz.
- Lajeunesse A., Segura P. A., Gelinat M., Hudon C., Thomas K., Quilliam M. A., Gagnon C. (2012). Detection and confirmation of saxitoxin analogues in freshwater benthic *Lyngbya wollei* algae collected in the St. Lawrence River (Canada) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol. 1219: p.93-103.
- Lambert T.W., Boland M.P., Holmes C.F.B., Hrudevy S.E. (1994). Communications: Quantitation of the Microcystin Hepatotoxins in Water at Environmentally Relevant Concentrations with the Protein Phosphatase Bioassay. *Environmental Science and Technology*, vol. 28: p.753-755. doi: 10.1021/es00053a032.
- Lampert L. (2001). *Dynamique saisonnière et variabilité pigmentaire des populations phytoplanctoniques dans l'Atlantique Nord (golfe de Gascogne)* (Theses). Université de Bretagne Occidentale.
- Lance E., Neffling M. R., Gérard C., Meriluoto J., Bormans M. (2010). Accumulation of free and covalently bound microcystins in tissues of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) following toxic cyanobacteria or dissolved microcystin-LR exposure. *Environmental Pollution*, vol. 158 (3): p.674-680.
- Lankoff A., Wojcik A., Lisowska H., Bialczyk J., Dziga D., Carmichael W.W. (2007). No induction of structural chromosomal aberrations in cylindrospermopsin-treated CHO-K1 cells without and with metabolic activation. *Toxicol*, vol. 50(8): p.1105-1115.
- Lankoff A., Wojcik A., Fessard V., Meriluoto J. (2006). Nodularin-induced genotoxicity following oxidative DNA damage and aneuploidy in HepG2 cells. *Toxicology Letters*, vol. 164(3): p.239-248.
- Lankoff A., Banasik A., Obe G., Deperas M., Kuzminski K., Tarczynska M., Jurczak T., Wojcik A. (2003). Effect of microcystin-LR and cyanobacterial extract from Polish reservoir drinking water on cell cycle progression, mitotic spindle, and apoptosis in CHO-K1 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 189 (3): p.204–213. doi : 10.1016/S0041-008X(03)00094-2.
- Laplace-Treytore C., Moreira S., Gogin S., Pickhahn L., Eo, M., Jamoneau A. (2017a). Un système opérationnel de surveillance et d'alerte des proliférations de cyanobactéries : application aux plans d'eau landais. *Sciences Eaux & Territoires Hors-série n°37*, 6.
- Laplace-Treytore C., Hadoux E., Plaire M., Dubertrand A., Esmieu P. (2017b). PHYTOBS v3.0 : Outil de comptage du phytoplancton en laboratoire et de calcul de l'IPLAC. Version 3.0. Application JAVA.
- Laplace-Treytore C. (2016), *Les cyanobactéries d'eau douce, une nuisance ?*, Colloque GIS Cyano, Cyanobactéries et zones récréatives, 9 mars, Biscarosse.
- Laplace-Treytore C., Barbe J., Dutartre A., Druart J.C., Rimet F., Anneville O. (2009). Protocole standardisé d'échantillonnage, de conservation, d'observation et de dénombrement du phytoplancton en plan d'eau pour la mise en œuvre de la DCE : version 3.3.1.44p.
- LaRue A., Grondin J., Lévesque B., LaRue R., Boudreault D. (1996). *La baignade dans le secteur d'eau douce du Saint-Laurent: Discours et pratiques à propos des risques à la santé*. Beauport, Québec, Canada : Unité de recherche en santé publique, Université Laval.
- Larsen T.A., Gujer W. (2013). Implementation of source separation and decentralization in cities. In T. A. Larsen, K. M. Udert, & J. Lienert (Eds.), *Source Separation and Decentralization for Wastewater Management* (pp. 135-150). London: IWA Publishing
- Larsen T., Broch K., Andersen M.R. (1998). First flush effects in an urban catchment area in Aalborg. *Water Science and Technology*, vol. 37 (1): p.251–257.
- Lascoumes P. (2012), *Action publique et environnement*, Paris, PUF, Que sais-je.
- Lauqué J. (2016). *Mise en œuvre de la surveillance des cyanobactéries, zones de baignade landaises*, Syndicat mixte de gestion des baignades landaises, Colloque GIS Cyano, Cyanobactéries et zones récréatives, 9 mars, Biscarosse.
- Lavoux T., Rechatin C. (1998). *L'environnement en France*. Paris et Orléans, La Découverte. 472 p.

- Lavoux T., Rechatin C. (1997). Indicateurs de performance environnementale de la France, Institut français de l'environnement (IFEN), Edition: paris Ifen.
- Lawrence J.F., Niedzwiadek B., Menard C. (2005). Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, vol. 88 (6): p.1714-1732.
- Lawrence J.F., Menard C. (2001). Determination of microcystins in blue-green algae, fish and water using liquid chromatography with ultraviolet detection after sample clean-up employing immunoaffinity chromatography. *Journal of Chromatography A*, vol. 922 (1-2): p.111-117.
- Lawton L.A., Edwards C., Codd G.A. (1994). Extraction and high-performance liquid-chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated water. *Analyst*, vol. 119 (7): p.1525-1530.
- Lawton L.A., Codd G.A. (1991). Cyanobacterial (blue-green algal) toxins and their significance in UK and European waters. *Journal of the Institution of Water and Environment Management*, vol. 5: p.460-465.
- Lawton L.A., Edwards C., Beattie K.A., Pleasance S., Dear G.J., Codd G.A. (1995). Isolation and characterization of microcystins from laboratory cultures and environmental samples of *Microcystis aeruginosa* and from an associated animal toxicosis. *Natural Toxins*, vol. 3 (1): p. 50-57.
- Leboulanger C., Dorigo U., Jacquet S., Le Berre B., Paolini G., Humbert J.F. (2002). Application of a submersible spectrofluorometer for raid monitoring of freshwater cyanobacterial blooms: a case study. *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 30: p. 83-89.
- Lewandowska A.U., Sliwinska-Wilczewska S., Wozniczkaa D. (2017). Identification of cyanobacteria and microalgae in aerosols of various sizes in the air over the Southern Baltic Sea. *Marine pollution bulletin*, vol. 125 (1-2): p.30-38. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.064
- Ledreux A. (2010). Contribution à l'évaluation du risque pour l'homme lors de l'apparition de neurotoxines émergentes : analyse de réponses cellulaires et sélection de modèles expérimentaux de criblage. PhD Thesis, AgroParisTech, 249 pages.
- Lee J., Walker H. W. (2008). Mechanisms and factors influencing the removal of microcystin-LR by ultrafiltration membranes *Journal of Membrane Science*, vol. 320: p. 240–247 doi : 10.1016/j.memsci.2008.04.007.
- Lefebvre K. A., Trainer V. L., Scholz N. L. (2004). Morphological abnormalities and sensorimotor deficits in larval fish exposed to dissolved saxitoxin. *Aquatic Toxicology*, vol. 66 (2): p.159-70. doi: 10.1016/j.aquatox.2003.08.006.
- Lefeuvre J.L., Brient L., Marion L. (2004). Dégradation de la qualité des eaux douces et marines : des risques pour la santé et la biodiversité. 2ème journée de l'institut français de la biodiversité. Session III, p.54-62.
- Legrand B., Lamarque A., Sabart M., Latour D. (2017). Benthic Archives Reveal Recurrence and Dominance of Toxicogenic Cyanobacteria in a Eutrophic Lake over the Last 220 Years. *Toxins*, vol. 9(9): p. 271.
- Lehman E.M., McDonald K. E., Lehman J.T. (2009). Whole Lake Selective Withdrawal Experiment to Control Harmful Cyanobacteria in an Urban Impoundment. *Water Research*, vol. 43 (5): p.1187–98. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.12.007.
- Leitão M., Couté A. eds. (2005). Guide pratique des cyanobactéries du Grand Ouest de la France. Agence de l'Eau Seine Normandie, Nanterre, 63 p.
- Llewellyn L.E., Doyle J. (2001). Microtitre plate assay for paralytic shellfish toxins using saxiphilin: Gauging the effects of shellfish extract matrices, salts and pH upon assay performance. *Toxicon*, vol. 39: p. 217-224. doi: 10.1016/S0041-0101(00)00118-5.
- Lepesteur M., Weggner A., Moore S.A., McComb A. (2008). Importance of Public Information and Perception for Managing Recreational Activities in the Peel-Harvey Estuary, Western Australia, *Journal of Environmental Management*, vol. 87(3): p.389-395.

- Lévesque B., Gervais M.-C., Chevalier P., Gauvin D., Anassour-Laouan-Sidi E., Gingras S., Fortin N., Brisson G., Greer C., Bird D., (2016). Exposure to cyanobacteria: acute health effects associated with endotoxins. *Public Health*, vol. 134: p.98-101.
- Lévesque B., Gervais M.-C., Chevalier P., Gauvin D., Anassour-Laouan-Sidi, E. Gingras, S., Fortin N., Brisson G., Greer C., Bird D. (2014). Prospective study of acute health effects in relation to exposure to cyanobacteria. *Science of Total Environment*, vol. 466–467: p. 397–403.
- Li W., He J., Chen J., Xie P. (2018). Excretion pattern and dynamics of glutathione detoxification of microcystins in Sprague Dawley rat. *Chemosphere*, vol.191 : p.357-364. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.09.083.
- Li X., Xu L., Zhou W., Zhao Q., Wang Y. (2016a). Chronic exposure to microcystin-LR affected mitochondrial DNA maintenance and caused pathological changes of lung tissue in mice. *Environmental Pollution*, vol. 210: p.48-56. doi: 10.1016/j.envpol.2015.12.001.
- Li S., Chen J., Xie P., Guo X., Fan H., Yu D., Zeng C., Chen L. (2015a). The role of glutathione detoxification pathway in MCLR-induced hepatotoxicity in SD rats. *Environmental Toxicology*, vol. 30(12) : p.1470-1480. doi: 10.1002/tox.22017.
- Li, X., Zhao Q., Zhou W., Xu L., Wang Y. (2015b). Effects of chronic exposure to microcystin-LR on hepatocyte mitochondrial DNA replication in mice. *Environmental Science and Technology*, vol. 49(7) : p.4665-4672. doi: 10.1021/es5059132.
- Li X., Zhang X., Ju J., i Y., Yin L., Pu Y. (2015c). Maternal repeated oral exposure to microcystin-LR affects neurobehaviors in developing rats. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 34(1): p.64-69. doi: 10.1002/etc.2765.
- Li G., Yan W., Dang Y., Li J., Liu C., Wang J. (2015d). The role of calcineurin signaling in microcystin-LR triggered neuronal toxicity. *Scientific Reports*, vol.5 : p.11271.
- Li W., Qin B., Zhu G. (2014a). Forecasting short- term cyanobacterial blooms in Lake Taihu, China, using a coupled hydrodynamic- algal biomass model. *Ecohydrology*, vol. 7(2): p.794–802. <https://doi.org/10.1002/eco.1402>
- Li X.B., Zhang X., Ju J., Li Y., Yin L., Pu Y. (2014b). Alterations in neurobehaviors and inflammation in hippocampus of rats induced by oral administration of microcystin-LR. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 21(21): p.12419-12425. doi: 10.1007/s11356-014-3151-x.
- Li G., Yan W., Cai F., Li C., Chen N., Wang J. (2014c). Spatial learning and memory impairment and pathological change in rats induced by acute exposure to microcystin-LR. *Environmental Toxicology*, vol. 29: p.261-268.
- Li W., Xie P., Chen J., He J., Guo X., Yu D., Chen L. (2014d). Quantitative liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determination of microcystin-RR and its glutathione and cysteine conjugates in fish plasma and bile. *Journal of Chromatography B*, vol. 963 (0): p.113-118.
- Li Z.Y., Chen J.H., Li X., Zhang R.T., Chen C., Shi Q., Wang S., Zheng L., Wang X.R. (2013a). Rapid Screening and Identification of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Red Tide Algae Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry with an Accurate-Mass Database. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 41 (7): p. 979-984.
- Li H., Liu L., Li M., Zhang X. (2013b). Effects of pH, Temperature, Dissolved Oxygen, and Flow Rate on Phosphorus Release Processes at the Sediment and Water Interface in Storm Sewer. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, vol. 2013: ID 104316, 7p. doi.org/10.1155/2013/104316
- Li G.Y., Xie P., Li H.Y., Hao L., Xiong Q., Qiu T. (2011a). Involvement of p53, Bax, and Bcl-2 pathway in microcystins-induced apoptosis in rat testis. *Environmental Toxicology*, vol. 26(2): p.111-117. doi: 10.1002/tox.20532.
- Li Y., Chen J.A., Zhao Q., Pu C., Qiu Z., Zhang R., Shu W. (2011b). A cross-sectional investigation of chronic exposure to microcystin in relationship to childhood liver damage in the three Gorges reservoir region, China. *Environmental Health Perspectives*, vol. 119: p.1483–1488.

- Li Y., Sheng J., Sha J., Han X. (2008). The toxic effects of microcystin-LR on the reproductive system of male rats in vivo and in vitro. *Reproductive Toxicology*, vol. 26(3-4): p.239-245. doi: 10.1016/j.reprotox.2008.09.004.
- Lin H., Liu W., Zeng H., Pu C., Zhang R. (2016). Determination of environmental exposure to microcystin and aflatoxin as a risk for renal function based on 5493 rural people in southwest China. *Environmental Science and Technology*, vol. 50: p.5346-5356 .
- Lin J.R., Chu F.S. (1994). Kinetics of distribution of microcystin-LR in serum and liver cytosol of mice: an immunochemical analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 42(4): p.1035–1040.
- Lindim C., Becker A., Grueneberg B., Fischer H. (2015): Modelling the effects of nutrient loads reduction and testing the N and P control paradigm in a German shallow lake. *Ecological Engineering*, vol. 82: p. 415–427. doi:10.1016/j.ecoleng.2015.05.009.
- Lippy E.C., Erb J. (1976). Gastrointestinal illness at Sewicley, PA. *J. Am. Water Works Association*, vol. 68: p.606-610.
- Liu J., Hernandez S.E., Swift S., Singhal N. (2018). Estrogenic activity of cylindrospermopsin and anatoxin-a and their oxidative products by FeIII-B\*/H2O2. *Water Research*, vol. 132: p.309-319.
- Liu M., Shi X., Chen C., Yu L., Sun C. (2017). Responses of Microcystis Colonies of Different Sizes to Hydrogen Peroxide Stress. *Toxins*, vol. 9 (10): p.306. <https://doi.org/10.3390/toxins9100306>.
- Liu J., Sun Y. (2015). The role of PP2A-associated proteins and signal pathways in microcystin-LR toxicity. *Toxicology Letters*, vol. 236(1): p.1-7. doi: 10.1016/j.toxlet.2015.04.010.
- Liu Y., Xie P., Qiu T., Li H.Y., Li G.Y., Hao L., Xiong Q. (2010). Microcystin extracts induce ultrastructural damage and biochemical disturbance in male rabbit testis. *Environmental Toxicology*, vol. 25(1): p.9-17. doi: 10.1002/tox.20467.
- Liu I., Lawton L.A., Bahnemann D.W., Robertson P.K.J. (2005). The photocatalytic destruction of the cyanotoxin, nodularin using TiO2. *Applied Catalysis Environmental*, vol. 60 : p.245–252. doi : 10.1016/j.apcatb.2005.03.006.
- Llewellyn L.E. (2006). Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Natural Product Report*, vol. 23 (2): p.200-222. doi: 10.1039/b501296c.
- Llewellyn L.E., Dodd M.J., Robertson A., Ericson G., De Koning C., Negri A.P. (2002). Post-mortem analysis of samples from a human victim of a fatal poisoning caused by the xanthid crab, *Zosimus aeneus*. *Toxicon*, vol. 40 (10): p.1463-1469. doi: 10.1016/S0041-0101(02)00164-2.
- Llewellyn L.E., Bell P.M., Moczydlowski E.G. (1997). Phylogenetic survey of soluble saxitoxin-binding activity in pursuit of the function and molecular evolution of saxiphilin, a relative of transferrin. *Proceeding of the royal society B: Biology Science*, vol. 264 (1383): p.891-902. doi: 10.1098/rspb.1997.0124.
- Loftin K.A., Graham J.L., Hilborn E.D., Lehmann S.C., Meyer M.T., Dietze J.E., Griffith C.B. (2016). Cyanotoxins in inland lakes of the United States: Occurrence and potential recreational health risks in the EPA National Lakes Assessment 2007. *Harmful Algae*, vol. 56: p.77-90.
- López-Alonso H., Rubiolo J.A., Vega F., Vieytes M.R., Botana L.M. (2013). Protein synthesis inhibition and oxidative stress induced by cylindrospermopsin elicit apoptosis in primary rat hepatocytes. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 26: p.203–212.
- Louzao M.C., Rodriguez Vieytes M., Garcia Cabado A., Vieites Baptista de Sousa J.M., Botana L.M. (2003). A fluorimetric microplate assay for detection and quantitation of toxins causing paralytic shellfish poisoning. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 16: p. 433-438. doi: 10.1021/tx025574r.
- Lovell R.A., Schaeffer D.J., Hooser S.B., Haschek W.M., Dahlem A.M., Carmichael W.W., Beasley V.R. (1989). Toxicity of intraperitoneal doses of microcystin-LR in two strains of male mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, vol. 9(3): p.221-238.
- Lu H., Choudhuri S., Ogura K., Csanaky I.L., Lei X., Cheng X., Song P.Z., Klaassen C.D. (2008). Characterization of organic anion transporting polypeptide 1b2-null Mice: Essential role in hepatic



- uptake/toxicity of phalloidin and microcystin-Lr. *Toxicological Sciences*, vol. 103(1): p.35-45. doi: 10.1093/toxsci/kfn038.
- Lund J.W.G., Kipling C., Le Creen E.D. (1958). The inverted microscope method of estimating algal numbers by counting and the statistical basis of enumeration by counting. *Hydrobiologia*, vol. 11: p. 143-170.
- Lund J.W.G., Talling J.F. (1957). Botanical limnological methods with special reference to the algae. *Botanical Review*, vol. 23 (8-9), p.489-583.
- Lurling M., Waajen G., de Senerpont Domis L.N. (2016). Evaluation of Several End-of-Pipe Measures Proposed to Control Cyanobacteria. *Aquatic Ecology*, vol. 50 (3): p.499-519. <https://doi.org/10.1007/s10452-015-9563-y>.
- Lurling M., Meng D., Faassen E.J. (2014). Effects of Hydrogen Peroxide and Ultrasound on Biomass Reduction and Toxin Release in the Cyanobacterium, *Microcystis Aeruginosa*. *Toxins*, vol. 6 (12): p. 3260-3280. <https://doi.org/10.3390/toxins6123260>.
- Lurling M., van Oosterhout F. (2013). Case Study on the Efficacy of a Lanthanum-Enriched Clay (Phoslock (R)) in Controlling Eutrophication in Lake Het Groene Eiland (The Netherlands). *Hydrobiologia*, vol. 710 (1): p.253-263. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1141-x>.
- Lurling M., Faassen E.J. (2012). Controlling Toxic Cyanobacteria: Effects of Dredging and Phosphorus-Binding Clay on Cyanobacteria and Microcystins. *Water Research*; vol. 46 (5): p.1447-1459. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.008>.
- Ma J., Li Y., Wu M., Li X. (2018a). Oxidative stress-mediated p53/p21/WAF1/CIP1 pathway may be involved in microcystin-LR-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Chemosphere*, vol. 194 : p.773-783. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.051.
- Ma J., Li X. (2018b). High-throughput sequencing provides an insight into the hepatotoxicity mechanism of MC-LR in HepG2 cells. *Toxin Reviews*, vol. 37 : p.1-10. doi: 10.1080/15569543.2017.1318403
- Macphail R.C., Farmer J.D., Jarema K.A., Chernoff N. (2005). Nicotine effects on the activity of mice exposed prenatally to the nicotinic agonist anatoxin-a. *Neurotoxicology and Teratology*, vol. 27: p.593-598.
- Mahmood N.A., Carmichael W.W., Pfahler D. (1988). Anticholinesterase poisonings in dogs from a cyanobacterial (blue-green algae) bloom dominated by *Anabaena flos-aquae*. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 49(4): p.500-503. PMID: 3132068.
- Mahmood N.A., Carmichael W.W. (1986). The pharmacology of anatoxin-a(s), a neurotoxin produced by the freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17. *Toxicon*, vol. 24: p.425-434.
- Maire M.A., Bazin E., Fessard V., Rast C., Humpage A.R., Vasseur P. (2010). Morphological cell transformation of Syrian hamster embryo (SHE) cells by the cyanotoxin, cylindrospermopsin. *Toxicon*, vol. 55(7): p.1317-1322.
- Maisanaba S., Saladino F., Font G., Jos Á., Cameán A.M., Meca G. (2017). Bioaccessibility of cylindrospermopsin from cooked fish muscle after the application of an in vitro digestion model and its bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 110: p.360-370.
- Man B. K. W., Lam M. H. W., Lam P. K. S., Wu R. S. S., Shaw G. (2002). Cloud-point extraction and preconcentration of cyanobacterial toxins (microcystins) from natural waters using a cationic surfactant. *Environmental Science & Technology*, vol. 36 (18): p.3985-3990.
- Manger R.L., Leja L.S., Lee S.Y., Hungerford J.M., Wekell M.M. (1993). Tetrazolium-based cell bioassay for neurotoxins active on voltage-sensitive sodium channels: Semiautomated assay for saxitoxins, brevetoxins, and ciguatoxins. *Analytical Biochemistry*, vol. 214: p. 190-194, doi: 10.1006/abio.1993.1476.
- Mantzouki E., Visser P.M., Bormans M., Ibelings B.W. (2016). Understanding the key ecological traits of cyanobacteria as a basis for their management and control in changing lakes. *Aquatic Ecology*, vol. 50: p.333-350. DOI 10.1007/s10452-015-9526-3

- Manubolu M., Madawala S.R.P., Dutta P.C., Malmjöf K. (2014). In vitro biodegradation of cyanotoxins in the rumen fluid of cattle. *BMC Veterinary Research*, vol. 10: p.110
- Marie D., Rigaut-Jalabert F., Vaultot D., (2014). An improved protocol for flow cytometry analysis of phytoplankton cultures and natural samples. *Cytometry part A*, vol. 85 (11): p. 962-968.
- Martin N., Pendleton L.H. (2008). Perceptions of Environmental Quality and Risk in Beach Recreation. Los Angeles. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 42(11): p.1155-1160. DOI: 10.1016/S0025-326X(01)00131-X
- Martin J. (2006). Proposition de stratégie d'intervention pour lutter contre les cyanobactéries dans les eaux de surface, mémoire de Master professionnel Gestion de l'environnement et traitement des eaux, Agence de l'eau Adour-Garonne/Université de Limoges.
- Martins A., Vasconcelos V.M. (2011). Use of qPCR for the study of hepatotoxic cyanobacteria population dynamics. *Archives of Microbiology*, vol. 193: p. 615-627.
- Masango M.G., Myburgh J.G., Labuschagne L., Govender D., Bengis R.G., Naicker D. (2010). Assessment of Microcystis bloom toxicity associated with wildlife mortality in the Kruger national park, South Africa. *Journal of Wildlife Diseases*, vol. 46: p.95-102.
- Matthijs H.C.P., Visser P.M., Reeze B., Meeuse J., Slot P.C., Wijn G., Talens R., Huisman J. (2012): Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Research*, vol. 46: p. 1460–1472. doi:10.1016/j.watres.2011.11.016.
- Matuszewski B.K., Constanzer M.L., Chavez-Eng C.M. (2003). Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC–MS/MS. *Analytical Chemistry*, vol. 75 (13): p. 3019-3030.
- May N.W., Olson N.E., Panas M., Axson J.L., Tirella P.S., Kirpes R.M., Craig R.L., Gunsch M.J., China S., Laskin A., Ault A.P., Pratt K.A. (2018). Aerosol emissions from great lakes harmful algal blooms *Environmental Science Technology*, vol. 52: p. 397-405.
- Maynes J.T., Luu H.A., Cherney M.M., Andersen R.J., Williams D., Holmes C.F., James M.N. (2006). Crystal structures of protein phosphatase-1 bound to motuporin and dihydromicrocystin-LA: elucidation of the mechanism of enzyme inhibition by cyanobacterial toxins. *Journal of Molecular Biology*, vol. 356(1): p.111-120. doi: 10.1016/j.jmb.2005.11.019.
- Maynes J.T., Perreault K.R., Cherney M.M., Aluu H.A., James M.N., Holmes C.F. (2004). Crystal structure and mutagenesis of a protein phosphatase-1: calcineurin hybrid elucidate the role of the beta12-beta13 loop in inhibitor binding. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279(41): p.43198-43206. doi: 10.1074/jbc.M407184200.
- Mazmouz R., Chapuis-Hugon F., Mann S., Pichon V., Méjean A., Ploux O. (2010). Biosynthesis of Cylindrospermopsin and 7-Epicylindrospermopsin in *Oscillatoria* sp. Strain PCC 6506: Identification of the *cyr* Gene Cluster and Toxin Analysis. *Applied and environmental microbiology*, vol. 76(15): p.4943-4949. doi:10.1128/AEM.00717-10.
- McAllister T.G., Wood S.A., Hawes I. (2016). The rise of toxic benthic Phormidium proliferations: A review of their taxonomy, distribution, toxin content and factors regulating prevalence and increased severity. *Harmful algae*, vol. 55: p. 282-294. DOI:10.1016/j.hal.2016.04.002
- Mc Barron E.J., Walker R.I., Gardner I., Walker K.H. (1975). Toxicity to livestock of the blue-Green alga *Anabaena circinalis*. *Australian Veterinary Journal*, vol. 51: p.587-588.
- McCarty C.L., Nelson L., Eitniear S., Zgodzinski E., Zabala A., Billing L., DiOrio M. (201). Community needs assessment after microcystin toxin contamination of a municipal water supply - Lucas County, Ohio, September 2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, vol. 65: p.925-929.
- Mc Elhiney J., Lawton L.A. (2005). Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203 (3), 219-230.
- McElhiney J., Lawton L.A., Edwards C., Susan, G. (1998). Development of a bioassay employing the desert locust (*Schistocerca gregaria*) for the detection of saxitoxin and related compounds in cyanobacteria and shellfish. *Toxicon*, vol. 36: p. 417-420, doi: 10.1016/S0041-0101(97)00077-9.

- McNeill J., Barrie F.R., Buck W.R., Demoulin V., Greuter D.L. (2012). International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants (Melbourne Code) adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011. *Regnum Vegetabile* 154, Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- McQuaid N., Zamyadi A., Prévost M., Bird D.F., Dorner S. (2011). Use of *in vivo* phycocyanin fluorescence to monitor potential microcystin-producing cyanobacterial biovolume in a drinking water source. *Journal of Environmental Monitoring*, vol. 13 (2): p.455-463.
- Meili N., Christen V., Fent K. (2016). Nodularin induces tumor necrosis factor-alpha and mitogen-activated protein kinases (MAPK) and leads to induction of endoplasmic reticulum stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 300: p.25-33
- Méjean A., Mann S., Maldiney T., Vassiliadis G., Lequin O., Ploux O. (2009). Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131(22): p.7512-7513. doi: 10.1021/ja9024353.
- Melegari S.P., de Carvalho Pinto C.R., Moukha S., Creppy E.E., Matias W.G. (2015). Evaluation of Cytotoxicity and Cell Death Induced *In Vitro* by Saxitoxin in Mammalian Cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, vol. 78 (19): p.1189-200. doi: 10.1080/15287394.2015.1072069.
- Mekebri A., Blondina G.J., Crane D.B. (2009). Method validation of microcystins in water and tissue by enhanced liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol. 1216 (15): p.3147-3155.
- Merel S., Walker D., Chicana R., Snyder S., Baurès E., Thomas O. (2013): State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*, vol. 59: p. 303–327. doi:10.1016/j.envint.2013.06.013.
- Merel S., Clément M., Thomas O. (2010). State of the art on cyanotoxins in water and their behaviour towards chlorine. *Toxicon*, vol. 55 : p.677–691. doi : 10.1016/j.toxicon.2009.10.028.
- Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A. (2017). Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. John Wiley & Sons, Chichester, GBR, 548 p.
- Meriluoto J., Codd G.A. (2005). TOXIC: cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis Åbo: Åbo Akademi University Press. *Acta Academiae Aboensis, Serie B., Mathematica et physica*, vol. 65 (1).
- Meriluoto J. (1997). Chromatography of microcystins. *Analytica Chimica Acta*, vol. 352: p.277–298.
- Meriluoto J.A.O., Nygard S.E., Dahlem A.M., Eriksson J.E. (1990). Synthesis, organotropism and hepatocellular uptake of two tritium-labeled epimers of dihydromicrocystin-LR, a cyanobacterial peptide toxin analog. *Toxicon*, vol. 28(12): p.1439-1446. doi: 10.1016/0041-0101(90)90157-3.
- Messineo V., Melchiorre S., Di Corcia A., Gallo P., Bruno M. (2010). Seasonal succession of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon ovalisporum* blooms with cylindrospermopsin occurrence in the volcanic Lake Albano, Central Italy. *Environmental Toxicology*, vol. 25(1): p.18-27.
- Metcalfe J.S., Codd G.A. (2014). Cyanobacterial toxins (Cyanotoxins) in water. Review of Current Knowledge. Foundation for Water Research. 43 pages.
- Metcalfe J., Codd G. (2012). Cyanotoxins, dans Whitton, Brian A. (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II, Their diversity in space and time*, Netherlands, Springer, p.651-657.
- Metcalfe J. S., Bell S. G., Codd G. A. (2001). Colorimetric immune-protein phosphatase inhibition assay for specific detection of microcystins and nodularins of cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67 (2): p.904-909.
- Metcalfe J.S., Beattie K.A., Pflugmacher S., Codd G.A. (2000). Immuno-crossreactivity and toxicity assessment of conjugation products of the cyanobacterial toxin, microcystin-LR. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 189(2): p.155–158. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09222.x.

- Miao H-F, Qin F., Tao G-J, Tao W-Y, Ruan W-Q. (2010). Detoxification and degradation of microcystin-LR and -RR by ozonation. *Chemosphere*, vol. 79: p.355–361. doi : 10.1016/j.chemosphere.2010.02.024. <sup>[11]</sup> (cité dans Merel et al., 2013).
- Ming X.; Jianbo Y.; Yuzuo L.; Lei H.; Yan C.; Zuo S.; Shunzhang Y. (2003) Microcystins in drinking water and mortality of major cancer in a city along Taihu lake. *Chinese Journal of Prevention and Control chronic Diseases*, vol. 11: p. 112–113.
- Mischke U., Thackeray S., Dunbar M., McDonald C., Carvalho L., de Hoyos C., Jarvinen M., Laplace-Treytore C., Morabito G., Skjelbred B., Lyche Solheim A., Brierley B., Dudley B. (2012). Deliverable D3.1-4: Guidance document on sampling, analysis and counting standards for phytoplankton in lakes. WISER Project, 51
- Mischke U., Riedmüller U., Hoehn E., Schönfelder I., Nixdorf B. (2008). Description of the German system for phytoplankton-based assessment of lakes for implementation of the EU Water Framework Directive (WFD). Univ. Cottbus, Berlin, 31 p.
- Misson B., Latour D. (2012). Influence of light, sediment mixing, temperature and duration of the benthic life phase on the benthic recruitment of *Microcystis*. *Journal of Plankton Research*, vol. 34 (2): p. 113–119.
- Miura G.A., Robinson N.A., Lawrence W.B., Pace J.G. (1991). Hepatotoxicity of microcystin-LR in fed and fasted rats. *Toxicol*, vol. 29(3): p.337-346. doi: 10.1016/0041-0101(91)90287-2.
- Moe S.J., Haande S., Couture R.M. (2016). Climate change, cyanobacteria blooms and ecological status of lakes: A Bayesian network approach. *Ecological Modelling*, vol. 337: p.330–347.
- Moisset S. (2011). Apports méthodologiques à l'utilisation d'une sonde fluorimétrique pour étudier les communautés phytoplanctoniques de deux lacs aquitains. Master 1 Science et Technologie. Mention Science de la terre et environnement, écologie. Spécialité Ecologie, Université Bordeaux 1 UFR des Sciences Biologique, Cestas, 18 p.
- Molica R.J.R., Oliveira E.J.A., Carvalho P.V.V.C., Costa A.N.S.F., Cunha M.C.C., Melo G.L., Azevedo, S.M.F.O. (2005). Occurrence of saxitoxins and an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply. *Harmful Algae*, vol. 4: p.743-753, doi: 10.1016/j.hal.2004.11.001.
- Monks N.R., Liu S., Xu Y., Yu H., Bendelow A.S., Moscow J.A. (2007). Potent cytotoxicity of the phosphatase inhibitor microcystin LR and microcystin analogues in OATP1B1- and OATP1B3-expressing HeLa cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, vol. 6(2): p.587-598. doi : 10.1158/1535-7163.
- Montserrat J.M., Yunes J.S., Bianchini A. (2001). Effects of *Anabaena spiroides* (cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry*; vol. 20: p.1228-1235.
- Moore C.E., Juan J., Lin Y., Gaskill C.L., Puschner B. (2016). Comparison of Protein Phosphatase Inhibition Assay with LC-MS/MS for Diagnosis of Microcystin Toxicosis in Veterinary Cases. *Marine Drugs*, vol. 4(3): E54. doi: 10.3390/md14030054.
- Moraes A.C.N., Magalhães V.F. (2018). Renal tubular damage caused by cylindrospermopsin (cyanotoxin) in mice. *Toxicology Letters*, vol. 286: p.89-95.
- Mouchet P., Bonnelye V. (1998). Solving algae problems: French expertise and world-wide applications. *Journal of water supply: Research and Technology – Aqua*, vol. 47(3): p.125–141. doi : 10.1046/j.1365-2087.1998.00091.x.
- Mulcahy J.V., Walker J.R., Merit J.E., Whitehead A., Du bois J. (2016). Synthesis of the paralytic shellfish poisons (+)-gonyautoxin 2, (+)-gonyautoxin 3, and (+)-11,11-dihydroxysaxitoxin. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 138: p.5994-6001.
- Mulvenna V., Dale K., Priestly B., Mueller U., Humpage A., Shaw G., Allinso, G., Falconer I. (2012). Health risk assessment for cyanobacterial toxins in seafood. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 9: p. 807-820.

- Munday R., Thomas K., Gibbs R., Murphy C., Quilliam M. A. (2013). Acute toxicities of saxitoxin, neosaxitoxin, decarbamoyl saxitoxin and gonyautoxins 1&4 and 2&3 to mice by various routes of administration. *Toxicol*, vol. 76: p.77-83. doi: 10.1016/j.toxicol.2013.09.013.
- Mur R.L., Skulberg M.O., Utkilen H. (1999). Cyanobacteria in the environment. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and managements. I. Chorus and J. Bartram, eds. London, E and FN Spon (on behalf of WHO); 15–40
- Narahashi T. (1972). Mechanism of action of tetrodotoxin and saxitoxin on excitable membranes. *Federation Proceedings*, vol. 31 (3): p.1124-1132.
- Natarajan S., Shanthana Lakshmi D., Bhuvaneshwari M., Iswarya V., Mrudula P., Chandrasekaran N., Mukherjee A. (2017). Antifouling activities of pristine and nanocomposite chitosan/TiO<sub>2</sub>/Ag films against freshwater algae. *RSC Advances*, vol. 7: p. 27645–27655.
- National Rivers Authority: Toxic blue-green algae. Water Quality Series No.2. London: National Rivers Authority; 1990.
- Neal C., Davies H., Neal M. (2008). Water quality, nutrients and the water framework directive in agricultural region: the lower Humber Rivers, northern England. *Journal of Hydrobiology*, vol. 350:p.232–245.
- Nedelcu M., Hainard F. (2006). Pour une écologie citoyenne : risques environnementaux, médiations et politiques publiques. Paris, L'Harmattan.
- Neffling M. R., Lance E., Meriluoto J. (2010). Detection of free and covalently bound microcystins in animal tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, vol. 158 (3): p.948-952.
- Neffling M. R., Spoo L., Meriluoto J. (2009). Rapid LC-MS detection of cyanobacterial hepatotoxins microcystins and nodularins-Comparison of columns. *Analytica Chimica Acta*, vol. 653 (2): p.234-241.
- Negri A.P., Jones G.J., Hindmarsh M. (1995). Sheep mortality associated with paralytic shellfish poisons from the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Toxicol*, vol. 33 : p.1321-1329.
- Newcombe G., Dreyfus J., Monrolin Y., Pestana C., Reeve P., Sawade E., Ho L., Chow C., Krasner S.W., Yates R.S. (2015). Optimizing conventional treatment for the removal of cyanobacteria and toxins. Water Research Foundation, Denver, Colorado.
- Newcombe G. (2002). Removal of algal toxins from drinking water using ozone and GAC. AWWA Research Foundation and American Water Works Association, 135 pp, Denver and Adelaide.
- Ngwa F.F., Madramootoo C.A. (2014). Development and application of a multiplex qPCR technique to detect multiple microcystin-producing cyanobacterial genera in a Canadian freshwater lake. *Journal of Applied Phycology*, vol. 26: p. 1675-1687.
- Ni W., Zhang J., Luo Y. (2017). Microcystin accumulation in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during a *Microcystis*-dominated bloom and risk assessment of the dietary intake in a fish pond in China. *Environmental Science and Pollution Research International*, vol. 24(10): p.8894-8902.
- Nicholson B.C., Shaw G.R., Morrall J., Senogles P-J, Woods T.A., Papageorgiou J. (2003). Chlorination for degrading saxitoxins (paralytic shellfish poisons) in water. *Environmental Technology*, vol.24(11) : p.1341–1348. doi : 10.1080/09593330309385678.
- Nicholson B.C., Burch M.D. (2001). Evaluation of Analytical Methods for Detection and Quantification of Cyanotoxins in Relation to Australian Drinking Water Guidelines. A report prepared for the National Health and Medical Research Council of Australia, the Water Services Association of Australia, and the Cooperative Research Centre for Water Quality and Treatment.
- Nicolas J., Bovee T.F.H., Kamelia L., Rietjens I.M.C.M., Hendriksen P.J.M. (2015). Exploration of new functional endpoints in neuro-2a cells for the detection of the marine biotoxins saxitoxin, palytoxin and tetrodotoxin. *Toxicology in Vitro* , vol. 30: p. 341-347, doi: 10.1016/j.tiv.2015.10.001.

- Niedermeyer T.H.J., Daily A., Swiatecka-Hagenbruch M., Moscow J.A. (2014). Selectivity and potency of microcystin congeners against OATP1B1 and OATP1B3 expressing cancer cells. *PLoS ONE*, vol. 9. doi: 10.1371/journal.pone.0091476.
- Nishiwaki R., Ohta T., Sueoka E., Suganuma M., Harada K., Watanabe M.F., Fujiki H. (1994). Two significant aspects of microcystin-LR: specific binding and liver specificity. *Cancer Letters*, vol.83(1-2) : p.283-289.
- Nishiwaki-Matsushima R., Ohta T., Nishiwaki S., Suganuma M., Kohyama K., Ishikawa T., Carmichael W.W., Fujiki H. (1992). Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, vol. 118(6): p.420-424.
- Noda M., Suzuki H., Numa S., Stuhmer W. (1989). A single point mutation confers tetrodotoxin and saxitoxin insensitivity on the sodium channel II. *FEBS Letters*, vol. 259 (1): p.213-216.
- Norris R.L., Seawright A.A., Shaw G.R., Smith M.J., Chiswell R.K., Moore M.R. (2001). Distribution of <sup>14</sup>C cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Environmental Toxicology*, vol. 16: p.498-505.
- Nogaro G., Harris A.M., Steinman A.D. (2016). Alum application, invertebrate bioturbation, and sediment characteristics interact to affect phosphorus exchange in eutrophic ecosystems. *Freshwater Science*, vol. 35: p.597–610. doi:10.1086/685377.
- Nogaro G., Burgin A.J., Schoepfer V.A., Konkler M.J., Bowman K.L., Hammerschmidt C.R. (2013): Aluminum sulfate (alum) application interactions with coupled metal and nutrient cycling in a hypereutrophic lake ecosystem. *Environmental Pollution*, vol. 176: p. 267–274. doi:10.1016/j.envpol.2013.01.048.
- Norris R. L. G., Seawright A. A., Shaw G. R., Senogles P., Eaglesham G.K., Smith M.J., Chiswell R.K., Moore M.R. (2002). Hepatic xenobiotic metabolism of cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Toxicon*, vol. 40(4): p. 471-476.
- Noyma N.P., de Magalhaes L., Furtado L.L., Mucci M., van Oosterhout F., Huszar V.L.M., Marinho M.M., Lurling M. (2016). Controlling cyanobacterial blooms through effective flocculation and sedimentation with combined use of flocculants and phosphorus adsorbing natural soil and modified clay. *Water Research*, vol. 9: p. 26–38. doi:10.1016/j.watres.2015.11.057.
- Nürnberg G. K. (2007). Lake Responses to Long-Term Hypolimnetic Withdrawal Treatments. *Lake and Reservoir Management*, vol. 23 (4): p.388–409. <https://doi.org/10.1080/07438140709354026>.
- Oberemm A., Becker J., Codd G. A., Steinberg C. (1999). Effects of cyanobacterial toxins and aqueous crude extracts of cyanobacteria on the development of fish and amphibians. *Environmental Toxicology* vol. 14 (1): p.77-88. doi: 10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1<77::AID-TOX11>3.0.CO;2-F.
- Oehrle S. A., Southwell B., Westrick J. (2010). Detection of various freshwater cyanobacterial toxins using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Toxicon*, vol. 55 (5): p.965-972.
- Ohtani I., Moore R.E., Runnegar M.T.C. (1992). Cylindrospermopsin-A potent hepatotoxin from the bluegreen alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 114: p.7941-7942.
- Ohta T., Sueoka E., Iida N., Komori A., Suganuma M., Nishiwari R., Tatematsu M., Kim S.J., Carmichael W.W., Fujiki H. (1994). Nodularin, a potent inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A, is a new environmental carcinogen in male F344 rat liver. *Cancer Research*, vol. 54(24): p.6402-6406.
- Okumura M., Tsuzuki H., Tomita B.I. (2005). A rapid detection method for paralytic shellfish poisoning toxins by cell bioassay. *Toxicon*, vol. 46: p. 93-98. doi: 10.1016/j.toxicon.2005.03.018.
- Olenina I., Hajdu S., Edler L., Andersson A., Wasmund N., Busch S., Göbel J., Gromisz S., 2006. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. *Rap. n° 106*, Baltic Marine Environment Protection Commission, Helsinki, 144 p.
- Oliver R.L., Hamilton D.P., Brookes J.D., Ganf G.G. (2012). Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria. In: Whitton, B.A. (Éd.), *Ecology of Cyanobacteria II. Their Diversity in*

Space and Time. Springer, p. 155-194.

Oliver R.L., Gant G.G. (2000). Freshwater blooms. In The ecology of cyanobacteria. Whitton B.A. & Potts M. (eds). Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers. p. 149-194.

Oliveira V.R., Mancin V.G.L., Pinto E.F., Soares R.M., Azevedo S.M.F.O., Macchione M., Carvalho A.R., Zin W.A. (2015). Repeated intranasal exposure to microcystin-LR affects lungs but not nasal epithelium in mice. *Toxicon*, vol. 104: p.14-18. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.07.331

Oliveira V.R., Carvalho G.M.C., Avila M.B., Soares R.M., Azevedo S.M.F.O., Ferreira T.S., Valença S.S., Faffe D.S., Araujo Zin W. (2012). Time-dependence of lung injury in mice acutely exposed to cylindrospermopsin. *Toxicon*, vol. 60: p. 764–772.

O'Neill K., Ian F. (2017). Musgrave and Andrew Humpage Extended Low-Dose Exposure to Saxitoxin Inhibits Neurite Outgrowth in Model Neuronal Cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, vol. 120: p. 390–397.

O'Neill K., Musgrave I.F., Humpage A. (2016). Low dose extended exposure to saxitoxin and its potential neurodevelopmental effects: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 48: p.7-16.

O'Neil J.M., Davis T.W., Burford M.A., Gobler C.J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, vol. 14: p. 313–334.

Onodera H., Oshima Y., Henriksen P., Yasumoto T. (1997). Confirmation of anatoxin-a(s), in the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*, as the cause of bird kills in Danish lakes. *Toxicon*, vol. 35: p.1645-1648.

Onstad G.D., Strauch S., Meriluoto J., Codd G.A., Von Gunten U. (2007). Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation. *Environmental Science Technology*, vol. 41(12): p.4397–4404.

Oren A., Garrity G.M. (2014). Proposal to change general consideration 5 and principle 2 of the international code of nomenclature of prokaryotes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, vol. 64(1): p. 309-310.

Oren A., Garrity G.M. (2014). Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 64: p.2191–2192.

Ortea P.M., Allis O., Healy B.M., Lehane M., Shuilleabháin A.N., Furey A., James K.J. (2004). Determination of toxic cyclic heptapeptides by liquid chromatography with detection using ultra-violet, protein phosphatase assay and tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, vol. 55: p. 1395-1402. doi: 10.1016/j.chemosphere.2003.11.025.

Oshima Y. (1995). Postcolumn derivatization liquid-chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal of Aoac International*, vol. 78 (2): p.528-532.

Osmera S. (1966). Zur methode der Festsetzung der Biomasse einiger Plankton krebstiere. *Zoll. Listy*, vol. 15: p. 79-83.

Osswald, J., S. Rellàn, A. Gago-Martinez, Vasconcelos V. (2009). Production of anatoxin-a by cyanobacterial strains isolated from Portuguese fresh water systems. *Ecotoxicology*, vol. 18 (8): p.1110-1115.

Osswald J., Rellàn S., Gago A., VASCONCELOS V. (2007). Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a. *Environment International*, vol. 33: p.1070-1089.

Owen B.M., Sunger N. (2018). Exploratory Assessment of Risks from Drinking and Recreational Water Exposure to Children in the State of New Jersey. *Water*, vol. 10: p. 276.

Padisak J., Adrian R., (1999). Biovolumen und biomasse. In: Methoden der biologischen wasseruntersuchung 2. Biologische gewässeruntersuchung (Friedrich W.u.G. ed.), Gustav Fischer Verlag, Jena, pp. 334-367.

- Paerl H.W., Huisman J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, vol. 1(1): p. 27–37. doi:10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x.
- Panrace C., Barny M-A., Ueoka R., Calteau A., Scalvenzi T., Pedron J., Barbe V., Piel J., Humbert J-F., Gugger M. (2017). Insights into the Planktothrix genus: Genomic and metabolic comparison of benthic and planktic strains. *Scientific Reports* vol. 7: p.41181. doi: 10.1038/srep41181
- Paolisso M. , Chambers E. (2001). Culture, Politics, and Toxic Dinoflagellate Blooms: The Anthropology of Pfiesteria, *Human Organization*, vol. 60: p.1-12.
- Papadimitriou T., Kagalou I., Stalikas C., Pilidis G., Leonardos I.D. (2012). Assessment of microcystin distribution and biomagnification in tissues of aquatic food web compartments from a shallow lake and evaluation of potential risks to public health. *Ecotoxicology*, vol. 21(4): p.1155-1166.
- Park C.-B., Baik S., Kim S., Choi J.-W., Lee S.-H., Kim Y.J. (2017a): The use of ultrasonic frequencies to control the bloom formation, regrowth, and eco-toxicity in *Microcystis aeruginosa*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 14: p. 923–932. doi:10.1007/s13762-016-1224-8.
- Park J., Church J., Son Y., Kim K.-T., Lee W.H. (2017b): Recent advances in ultrasonic treatment: Challenges and field applications for controlling harmful algal blooms (HABs). *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 38:p. 326–334. doi:10.1016/j.ultsonch.2017.03.003.
- Park T.J., Song K.Y., Sohn S.H., Lim I.K. (2002). Marked inhibition of testosterone biosynthesis by the hepatotoxin nodularin due to apoptosis of Leydig cells. *Molecular Carcinogenesis*, vol. 34(3): p.151-163.
- Paerl H.W. (2002). Connecting atmospheric nitrogen deposition to coastal eutrophication. *Environmental science and technology*, vol. 1: p. 324-326.
- Pearson M.J., Ferguson A.J.D., Codd G.A., Reynold, C.S., Fawell J.K., Hamilton R.M., Howards S.R., Attwood M.R. (1990). *Toxic Blue-Green Algae: A Report by the National Rivers Authority, Water Quality Series No. 2*, London.
- Pekar H., Westerberg E., Bruno O., Laane A., Persson K. M., Sundstrom L. F., Thim A. M. (2016). Fast, rugged and sensitive ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for analysis of cyanotoxins in raw water and drinking water--First findings of anatoxins, cylindrospermopsins and microcystin variants in Swedish source waters and infiltration ponds. *Journal of Chromatography A*, vol. 1429: p. 265-2756. (tab méthode, à rajouter )
- Pendleton P., Schumann R., Wong S.H. (2001). Microcystin-LR adsorption by activated carbon. *Journal of Colloid Interface Science*, vol. 240(1) : p.1-8. doi : 10.1006/jcis.2001.7616.
- Peng L., Liu Y., Chen W., Liu L., Kent M., Song L. (2010). Health Risks Associated with Consumption of Microcystin-Contaminated Fish and Shellfish in Three Chinese Lakes: Significance for Freshwater Aquacultures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 73 (7): p.1804-1811. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.07.043.
- Persaud A.D., Paterson A.M., Dillon P.J., Winter J.G., Palmer M., Somers K.M. (2015). Forecasting cyanobacteria dominance in Canadian temperate lakes. *Journal of Environmental Management*, vol. 151: p. 343-352
- Pestana C.J., Reeve P.J., Newcombe G. (2014). Extraction method for total microcystins in cyanobacteria-laden sludge. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, vol. 965: p.61-64.
- Pflugmacher S., Wiegand C., Beattie K.A., Krause E., Steinberg C.E., Codd G.A. (2001). Uptake, effects, and metabolism of cyanobacterial toxins in the emergent reed plant *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20: p.846-852. doi:10.1002/etc.5620200421.
- Pham T.L., Shimizu K., Dao T.S., Motoo U. (2017). First report on free and covalently bound microcystins in fish and bivalves from Vietnam: Assessment of risks to humans. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 36(11): p.2953-2957.



- Phan L.T., Bui T.M., Nguyen T.T.T., Gooley G. J., Ingram B. A., Nguyen H. V., Nguyen P.T., De Silva S. S. (2009). Current status of farming practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture*, vol. 296: p. 227–236.
- Pichardo S., Devesa V., Puerto M., Vélez D., Cameán A.M. (2017). Intestinal transport of Cylindrospermopsin using the Caco-2 cell line. *Toxicology in Vitro*, vol. 38: p.142-149.
- Pietsch J., Bornmann K., Schmidt W. (2002). Relevance of intra- and extracellular cyanotoxins for drinking water treatment. *Acta Hydrochimica and Hydrobiologica*, vol. 30 (1): p.7-15. doi.org : 10.1002/1521-401x(200207)30:1<7::aid-aheh7>3.0.co;2-w.
- Pilotto L., Hobson P., Burch M. D., Ranmuthugala G., Attewell R., Weightman W. (2004). Acute skin irritant effects of cyanobacteria (blue-green algae) in healthy volunteers. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, vol. 28 (3): p.220-224.
- Pilotto L.S., Burch M.D., Douglas R.M., Cameron S., Beers M., Rouch G.J., Robinson P., Kirk M., Cowie C.T., Hardiman S., Moore C., Attewell R.G. (1997). Health effects of exposure to cyanobacteria (blue green algae) during recreational water-related activities. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, vol. 21(6): p.562–566.
- Pinay G., Gascuel C., Ménesguen A., Souchon Y., Le Moal M., Levain A., Etrillard C., Moatar F., Pannard A., Souchu P. (2017). L'eutrophisation : manifestations, causes, conséquences et prédictibilité. Synthèse de l'Expertise scientifique collective CNRS - Ifremer - INRA - Irstea (France), 148 pages.
- Pinho L. X., Azevedo J., Brito Â., Santos A., Tamagnini P., Vilar V. J.P., Vasconcelos V.M., Boaventura R. A.R. (2015). Effect of TiO<sub>2</sub> Photocatalysis on the Destruction of *Microcystis Aeruginosa* Cells and Degradation of Cyanotoxins Microcystin-LR and Cylindrospermopsin. *Chemical Engineering Journal* vol. 268: p.144–152;
- Pitois F., Vezie C., Thoraval I., Baurès E. (2016). Improving Microcystins monitoring relevance: a regional case-study (Brittany, Western France, Europe), *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 219: p. 288-293.
- Pita R., Anadón A., Martínez-Larrañaga M.R. (2003). Neurotoxins with anticholinesterase activity and their possible use as warfare agents. *Medicina Clinica (Barcelone)*. vol. 121(13): p.511-517.
- Pizzolon L., Tracanna B., Prósperi C., Guerrero J.M. (1999). Cyanobacterial blooms in Argentinean inland waters. *Lakes and Reservoirs Research and Management*, vol. 4 (3–4): p.101–105.
- Pokorny J., Hauser V. (2002). The restoration of fish ponds in agricultural landscapes. *Ecological Engineering*, vol. 18(5): p.555–574
- Poniedziałek B., Rzymiski P., Karczewski J. (2015). The role of the enzymatic antioxidant system in cylindrospermopsin-induced toxicity in human lymphocytes. *Toxicology In Vitro*, vol. 29: p. 926–932.
- Poniedziałek B., Rzymiski P., Karczewski J. (2014a). Cylindrospermopsin decreases the oxidative burst capacity of human neutrophils. *Toxicol*, vol. 87: p.113-119.
- Poniedziałek B., Rzymiski P., Wiktorowicz K. (2014b). Toxicity of cylindrospermopsin in human lymphocytes: Proliferation, viability and cell cycle studies. *Toxicology in Vitro*, vol. 28: p.968–974.
- Pouria S., de Andrade A., Barbosa J., Cavalcanti R.L., Barreto V.T.S., Ward C.J., Preiser W., Poon G.K., Neild G.H., Cood G.A. (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, vol. 352(9121): p. 21–26.
- Poyer S., Loutelier-Bourhis C., Coadou G., Mondeguer F., Enche J., Bossee A., Hess P., Afonso C. (2015). Identification and separation of saxitoxins using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to traveling wave ion mobility-mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, vol. 50(1): p. 175-181.
- Powell C. L., Doucette G. J. (1999). A receptor binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins: recent advances and applications. *Natural Toxins*, vol. 7(6): p. 393-400.

- Preece E.P., Moore B.C., Swanson M.E., Hardy F.J. (2015). Identifying best methods for routine ELISA detection of microcystin in seafood. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 187(2): 12 doi: 10.1007/s10661-014-4255-y.
- Prepas E.E., Pinel-Alloul B., Chambers P.A., Murphy T.P., Reedyk S., Sandland G., Serediak M. (2001): Lime treatment and its effects on the chemistry and biota of hardwater eutrophic lakes. *Freshwater Biology*, vol. 46: p. 1049–1060.
- Pretty J.N., Mason C.F., Nedwell D.B., Hine R.E., Leaf S., Dils R. (2003). Environmental Costs of Freshwater Eutrophication in England and Wales. *Environmental Science and Technology*, vol. 37: p.201-208.
- Prieto A.I., Guzmán-Guillén R., Valderrama-Fernández R., Jos Á., Cameán A.M. (2017). Influence of Cooking (Microwaving and Broiling) on Cylindrospermopsin Concentration in Muscle of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Characterization of Decomposition Products. *Toxins (Basel)*, vol. 9(6): 177 DOI: 10.3390/toxins9060177.
- Pyo D., Yoo J. (2007). Determination of microcystins in cyanobacteria by supercritical fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Letters*, vol. 40(16-18): p.3208-3218.
- Pyo D., Lim C. (2006). Supercritical fluid extraction of microcystin LR from cyanobacteria using aqueous acetonitrile modifier. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 29(18): p.2691-2700.
- Pyo D., Shin H. (2002). Extraction and analysis of microcystins RR and LR in cyanobacteria using a cyano cartridge. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 51 (2): p.103-109.
- Pyo D., Park K., Shin H. D., Moon M. (1999a). Extraction of microcystins from cyanobacteria by acetic-acid modified supercritical CO<sub>2</sub>. *Chromatographia*, vol. 49(9-10): p.539-542.
- Pyo, D., Shin H. (1999b). Supercritical fluid extraction of microcystins from cyanobacteria. *Analytical Chemistry*, vol. 71(20): p.4772-4775.
- Qian F., Dixon D.R., Newcombe G., Ho L., Dreyfus J., Scale P.J. (2014). The effect of pH on the release of metabolites by cyanobacteria in conventional water treatment processes. *Harmful Algae*, vol. 39 : p.253-258. doi : 10.1016/j.hal.2014.08.006.
- Qiao R-P, Li N., Qi X-H, Wang Q-S, Zhuang Y-Y. (2005). Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. *Toxicon*, vol.45 :p. 745–752. doi : 10.1016/j.toxicon.2005.01.012.
- Qu F., Liang H., Wang Z., Wang H., Yu H., Li G. ( 2012). Ultrafiltration membrane fouling by extracellular organic matters (EOMs) of *Microcystis aeruginosa* in stationary phase: influences of interfacial characteristics of foulants and fouling mechanisms. *Water Research*, vol.46 : p.1490–1500. doi : 10.1016/j.watres.2011.11.051.
- Quiblier C., Wood S., Echenique-Subiabre I., Heath M.W., Villeneuve A., Humbert J.-F. (2013). A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria- Ecology, toxin production and risk management. *Water Research*, vol. 47: p. 5464-79. doi:10.1016/j.watres.2013.06.042
- Quiblier C., Leboulanger C., Seyni S., Dufour P. (2008) Phytoplankton growth control and risk of cyanobacterial blooms in the lower Senegal River delta region. *Water Research*, vol. 42: p.1023-1034.
- Quilliam M. (2001). Analytical chemistry of phycotoxins in seafood and drinking water. *Journal of AOAC International*, vol. 84(5): p. 1615-1615.
- Rai A.K., Chaturvedi R., Kumar A. (2018). Proteomic evidences for microcystin-RR-induced toxicological alterations in mice liver. *Scientific Reports*, vol. 8: p.1310 doi: 10.1038/s41598-018-19299-w.
- Rajasekhar P., Fan L., Nguyen T., Roddick F.A. (2012a) : A review of the use of sonication to control cyanobacterial blooms. *Water Research*, vol. 46: p.4319–4329. doi:10.1016/j.watres.2012.05.054.
- Rajasekhar P., Fan L., Nguyen T., Roddick F.A. (2012b) : Impact of sonication at 20 kHz on

- Microcystis aeruginosa, Anabaena circinalis and Chlorella sp. Water Research, vol. 46: p.1473–1481. doi:10.1016/j.watres.2011.11.017.
- Ramos P. B., Diehl F., dos Santos J. M., Monserrat J. M., Yunes J. S. (2014). Oxidative stress in rats induced by consumption of saxitoxin contaminated drink water. Harmful Algae, vol. 37: p.68-74. doi: 10.1016/j.hal.2014.04.002.
- Rao P.V., Gupta N., Jayaraj R., Bhaskar A.S., Jatav P.C. (2005). Age-dependent effects on biochemical variables and toxicity induced by cyclic peptide toxin microcystin-LR in mice. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology Pharmacology, vol. 140(1): p.11-19. doi: 10.1016/j.cca.2004.11.008.
- Rapala J., Robertson A., Negri A. P., Berg K. A., Tuomi P., Lyra C., Erkoma K., Lahti K., Hoppu K., Lepisto L. (2005). First report of saxitoxin in Finnish lakes and possible associated effects on human health. Environmental Toxicology, vol. 20 (3): p.331-340. doi: 10.1002/tox.20109.
- Rapala J., Erkoma K., Kukkonen J., Sivonen K., Lahti K. (2002). Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography–UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay: Comparison of methods. Analytica Chimica Acta, vol. 466 (2): p.213-231.
- Reay W.G. (2004). Septic Tank Impacts on Ground Water Quality and Nearshore Sediment Nutrient Flux. Ground Water, Oceans Issue, vol. 42(7): p. 1079–1089.
- Reichwaldt E.S., Zheng L., Barrington D.J., Ghadouani A. (2012): Acute Toxicological Response of Daphnia and Moina to Hydrogen Peroxide. Journal of Environmental Engineering-Asce, vol. 138: p. 607–611. doi:10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000508.
- Reisner M., Carmeli S., Werman M., Sukenik A. (2004). The cyanobacterial toxin cylindrospermopsin inhibits pyrimidine nucleotide synthesis and alters cholesterol distribution in mice. Toxicological Sciences, vol. 82(2): p.620-627.
- Réveillon D. (2015). BMAA et cyanotoxines : microalgues productrices et niveaux d'accumulation dans les organismes marins. Thèse de Doctorat de l'Université de Nantes, 334 pages.
- Reverté L., Garibo D., Flores C., Diogène, J., Caixach, J., Campàs M. (2013). Magnetic particle-based enzyme assays and immunoassays for microcystins: From colorimetric to electrochemical detection. Environmental Science and Technology, vol. 47: p. 471-478, doi: 10.1021/es304234n.
- Reyero M., Cacho E., Martinez A., Vázquez J., Marina A., Fraga S., Franco J.M. (1999). Evidence of saxitoxin derivatives as causative agents in the 1997 mass mortality of monk seals in the Cape Blanc Peninsula. Natural Toxins, vol. 7: p.311-315.
- Rezaitabar S., Esmaili Sari A., Bahramifar N., Ramezanzpour Z., (2017). Transfer, tissue distribution and bioaccumulation of microcystin LR in the phytoplanktivorous and carnivorous fish in Anzali wetland, with potential health risks to humans. Science Total Environment, vol. 575: p.1130-1138.
- Rigosi A., Carey C. C., Ibelings B. W., Brookes J. D. (2014). The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. Limnology and Oceanography, vol. 59(1): p.99-114.
- Ríos V., Moreno I., Prieto A.I., Soria-Díaz M.E., Frías J.E., Cameán A.M. (2014). Comparison of Microcystis aeruginosa (PCC7820 and PCC7806) growth and intracellular microcystins content determined by liquid chromatography-mass spectrometry, enzyme-linked immunosorbent assay anti-Adda and phosphatase bioassay. Journal of Water and Health, vol. 12: p.69-80, doi: 10.2166/wh.2013.088.
- Ritchie J. M., Rogart R. B. (1977). The binding of saxitoxin and tetrodotoxin to excitable tissue. Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology, vol. 79: p.1-50.
- Rivetti C., Gómez-Canela C., Lacorte S., Barata C. (2015). Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry to characterise trace levels of cyanobacteria and dinoflagellate toxins in suspended solids and sediments. Analytical and Bioanalytical Chemistry, vol. 407(5): p. 1451-1462.

- Robillot C., Hennion M.C. (2004). Issues arising when interpreting the results of the protein phosphatase 2A inhibition assay for the monitoring of microcystins. *Analytica Chimica Acta*, vol. 512: p. 339-346, doi: 10.1016/j.aca.2004.03.004.
- Robillot C., Hennion M.-C. (2001). Les principales classes de cyanotoxines et leur détermination. In *Toxines d'algues dans l'alimentation*, édité par Ifremer. Plouzané: Ifremer-AFSSA, 39-85.
- Robinson N.A., Pace J.G., Matson C.F., Miura G.A., Lawrence W.B. (1991a). Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 256(1): p.176-182. (chapitre 82111).
- Robinson N. A., Matson C. F., Pace J. G. (1991b). Association of microcystin-LR and its biotransformation product with a hepatic-cytosolic protein. *Journal of Biochemical Toxicology*, vol. 6(3): p.171-180.
- Robinson N.A., Miura G.A., Matson C.F., Dinterman R.E., Pace J.G. (1989). Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. *Toxicon*, vol. 27(9): p.1035-41042.
- Rochefort D.A., Cobb R.W. (1994) (eds). *The Politics of Problem Definition : Shaping the Policy Agenda*. Lawrence. University Press of Kansas.
- Rodrigue D. C., Etzel R. A., Hall S., De Porras E., Velasquez O. H., Tauxe R. V., Kilbourne E. M., Blake P. A. (1990). Lethal paralytic shellfish poisoning in Guatemala. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 42 (3): p.267-271. doi: 10.4269/ajtmh.1990.42.267.
- Rodríguez E.M., Acero J.L., Spoo L., Meriluoto J. (2008). Oxidation of MC-LR and -RR with chlorine and potassium permanganate: Toxicity of the reaction products. *Water Research*, vol.42: p. 1744-1752, doi: 10.1016/j.watres.2007.10.039.
- Rodríguez E., Majado M.E., Meriluoto J., Acero J.L. (2007). Oxidation of microcystins by permanganate: reaction kinetics and implications for water treatment. *Water Research*, vol. 41: p.102–110. doi : 10.1016/j.watres.2006.10.004.
- Rogart R. (1981). Sodium Channels in Nerve and Muscle Membrane. *Annual Review of Physiology*, vol. 43 (1): p.711-725. doi: 10.1146/annurev.ph.43.030181.003431.
- Rogers E.H., Zehr R.D., Gage M.I., Humpage A.R., Falconer I.R., Marr M., Chernoff N. (2007). The cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin, induces fetal toxicity in the mouse after exposure late in gestation. *Toxicon*, vol. 49(6): p.855-864
- Rogers E.H., Hunter E.S., Moser V.C., Phillips P.M., Herkovitz J., Muñoz L., Hall L.L., Chernoff N. (2005). Potential developmental toxicity of anatoxin-a, a cyanobacterial toxin. *Journal of Applied Toxicology*, vol. 25: p.527-534.
- Rohrlack T., Dittmann E., Bo T., Christoffersen K. (2001). Effects of Cell-Bound Microcystins on Survival and Feeding of *Daphnia* spp . *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67(8): p. 3523–3529. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3523>.
- Rositano J., Nicholson B.C. (1998). Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. *Ozone : Science and Engineering*, vol.20(3): p.223–238. doi : 10.1080/01919519808547273.
- Ross M.R., Siger A., Abbott C. (1985). The house fly: An acceptable subject for paralytic shellfish toxin bioassay. In: D.M. Anderson, J.A.W. White and D.G. Baden [Eds] *Toxic Dinoflagellates: Proceedings of the Third International Conference on Toxic Dinoflagellates*. Elsevier, Amsterdam, 433-438.
- Rott H.E. (1981). Some results from phytoplankton counting intercalibrations. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, vol. 43 (1) : p.34-62.
- Roussille J. (2009). Comparaison de trois méthodes analytiques (sonde fluorimétrique, spectroscopie UV-visible et HPLC) pour le dosage de la chlorophylle a dans les eaux de trois lacs. mémoire stage, Cemagref de Bordeaux, Cestas, 44 p.
- Rowell R.R., Wonnacott S. (1990). Evidence for functional activity of up-regulated nicotine binding sites in rat striatal synaptosomes. *Journal of Neurochemistry*, vol. 55: p.2105-2110.

Roy-Lachapelle A., Sollic M., Sinotte M., Deblois C., Sauvé S. (2015). High resolution/accurate mass (HRMS) detection of anatoxin-a in lake water using LDTD-APCI coupled to a Q-Exactive mass spectrometer. *Talanta*, vol. 132 (0): p.836-844.

Roy-Lachapelle A., Fayad P. B., Sinotte M., Deblois C., Sauve S. (2014). Total microcystins analysis in water using laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, vol. 820 : p.76-83.

Rubio F., Kamp L., Carpino J., Faltin E., Loftin K., Molgo J., Araoz R. (2014). Colorimetric microtiter plate receptor-binding assay for the detection of freshwater and marine neurotoxins targeting the nicotinic acetylcholine receptors. *Toxicon*, vol. 91: p.45-56.

Ruberu S.R., Langlois G.W., Masuda M., Kittredge, C., Perera S.K., Kudela R.M. (2018). Receptor binding assay for the detection of paralytic shellfish poisoning toxins: comparison to the mouse bioassay and applicability under regulatory use. *Food Additives & Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, vol. 35: p. 144-158, doi: 10.1080/19440049.2017.1369584.

Ruberu S. R., Liu Y. G., Wong C. T., Perera S. K., Langlois G. W., Doucette G. J., Powell C. L. (2003). Receptor binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins: optimization and interlaboratory comparison. *Journal of AOAC International*, vol. 86(4): p.737-745.

Runnegar M.T., Xie C., Snider B.B., Wallace G.A., Weinreb S.M., Kuhlenkamp J. (2002). In vitro hepatotoxicity of the cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin and related synthetic analogues. *Toxicological Sciences*, vol. 67: p.81-87.

Runnegar M.T., Kong S.M., Zhong Y.Z., Lu S.C. (1995). Inhibition of reduced glutathione synthesis by cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, vol. 49: p.219-225.

Runnegar M.T., Kong S.M., Zhong Y.Z., Ge J.L., Lu S.C. (1994). The role of glutathione in the toxicity of a novel cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 201: p.235-241.

Runnegar M.T., Falconer I.R., Buckley T., Jackson A.R. (1986). Lethal potency and tissue distribution of 125I-labelled toxic peptides from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, vol. 24(5): p.506-509.

Runnegar M.T.C., Falconer I.R. (1982). The in vivo and in vitro biological effects of the peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *South African Journal of Science*, vol. 78(9): p.363-366.

Rydin E. (2014): Inactivated phosphorus by added aluminum in Baltic Sea sediment. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, vol. 151: p. 181–185. doi:10.1016/j.ecss.2014.10.008.

Salmaso N., Bernard C., Humbert J-F., Akçaalan R., Albay M., Ballot A., Catherine A., Fastner J., Häggqvist K., Horecká M., Izydorczyk K., Köker L., Komárek J., Maloufi S., Mankiewicz-Boczek J., Metcalf J.S., Quesada A., Quiblier C., Yéprémian C. (2017a). Basic guide to detection and monitoring of potentially toxic cyanobacteria" dans Meriluoto J., L. Spoof, G.A. Codd (Editor), *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Cost European cooperation in science and technology, p. 49-69. <https://doi.org/10.1002/9781119068761.ch6>

Salmaso N., Akçaalan R., Bernard C., Elersek T., Krstić S., Pilkaityte R., Quesada A., Santos R., Törökné A., Vasas G., Codd G.A. (2017b). Appendix 1 Cyanobacterial species and recent synonyms" dans Meriluoto J., L. Spoof, G.A. Codd (Editor), *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Cost European cooperation in science and technology, p. 489-500.

Salmi P., Malin I., Salonen K. (2014). Pumping of epilimnetic water into hypolimnion improves oxygen but not necessarily nutrient conditions in a lake recovering from eutrophication. *Journal Inland Waters*, vol. 4(4): p.425-434.

Sanchez J.A., Otero P., Alfonso A., Ramos V., Vasconcelos V., Aráoz R., Molgó J., Vieytes M.R., Botana L.M. (2014). Detection of anatoxin-a and three analogs in *Anabaena* spp. cultures: new fluorescence polarization assay and toxin profile by LC-MS/MS. *Toxins*, vol. 6(2):p. 402-15.

- Sano T., Takagi H., Nagano K., Nishikawa M., Kaya K (2011). Accurate LC-MS analyses for microcystins using per-<sup>15</sup>N-labeled microcystins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399 (7): p. 2511-2516.
- Sano T., Nohara K., Shiraishi F., Kaya K. (1992). A method for microdetermination of total microcystin content in waterblooms of cyanobacteria (blue-green-algae). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, vol. 49 (3): p.163-170.
- Sanseverino I., Conduto antônio D., Loos R., Lettieri T. (2017). Cyanotoxins: methods and approaches for their analysis and detection. *Journal Citation Reports*. EUR 28624; doi:10.2760/36186
- Sasaki Y. F., Tsuda S., Izumiyama F., Nishidate E. (1997). Detection of chemically induced DNA lesions in multiple mouse organs (liver, lung, spleen, kidney, and bone marrow) using the alkaline single cell gel electrophoresis (Comet) assay. *Mutation Research*, vol. 388(1): p.33-44.
- Sassolas A., Catanante G., Fournier D., Marty J.L. (2011). Development of a colorimetric inhibition assay for microcystin-LR detection: Comparison of the sensitivity of different protein phosphatases. *Talanta*, vol. 85: p.2498-2503, doi: 10.1016/j.talanta.2011.07.101.
- Scavia D., Kalcic M., Muenich R.L., Read J., Aloysius N., Bertani I., Boles C., Confesor R, DePinto J, Gildow M., Martin J., Redder T., Robertson D., Sowa S., Wang Y-C., Yen H. (2017): Multiple models guide strategies for agricultural nutrient reductions. *Frontiers in Ecology and the Environment*, vol. 15: p.126–132. doi:10.1002/fee.1472.
- Schaeffer D.J., Malpas P.B., Barton L.L. (1999). Risk assessment of microcystin in dietary *Aphanizomenon flos-aquae*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; vol. 44(1): p.73-80. doi: 10.1006/eesa.1999.1816.
- Schantz E. J., Mold J.D., Stanger D. W., Shavel J., Riel F.J., Bowden J. P., Lynch J. M., Wyler R. S., Riegel B., Sommer H. (1957). *Journal of the American Chemical Society*, vol. 79 (19): p.5230-5235. doi: 10.1021/ja01576a044.
- Schijven J., de Roda Husman A.M. (2006). A survey of diving behaviour and accidental water ingestion among Dutch occupational and sport divers to assess the risk of infection with waterborne pathogenic microorganisms, *Environmental health perspectives*, vol. 114 (5): p.712-717. DOI: 10.1289/ehp.8523.
- Schindler D.W., Carpenter S.R., Chapra S.C., Hecky R.E., Orihel D.M. (2016): Reducing Phosphorus to Curb Lake Eutrophication is a Success. *Environmental Science & Technology*, vol. 50: p. 8923–8929. doi:10.1021/acs.est.6b02204.
- Schirrmeister B. E., Dalquen D. A., Anisimova M., Bagheri H. C. (2012). Gene copy number variation and its significance in cyanobacterial phylogeny. *BMC microbiology*, vol. 12(1): p.177. doi.org/10.1186/1471-2180-12-177
- Schönhuber W., Zarda B., Eix S., Rippka R., Herdman M., Ludwig W., Amann R. (1999). In situ identification of cyanobacteria with horseradish peroxidase-labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 65 (3): p.1259-1267.
- Schymanski E.L., Singer H.P., Slobodnik J., Ipolyi I.M., Oswald P., Krauss M., Schulze T., Haglund P., Letzel T., Grosse S., Thomaidis N.S., Bletsou A., Zwiener C., Ibanez M., Portoles T., de Boer R., Reid M.J., Onghena M., Kunkel U., Schulz W., Guillo A., Noyon N., Leroy G., Bado, P., Bogiall S., Stipanicev D., Rostkowski P., Hollender J. (2015). Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 407: p.6237-6255
- Scott L.L., Downing S., Downing T. (2018). Potential for dietary exposure to β-N-methylamino-L-alanine and microcystin from a freshwater system. *Toxicon*, vol. 150: p.261–266.
- Seawright A.A., Nolan C.C., Shaw G.R., Chiswell R.K., Norris R.L., Moore M.R., Smith M.J. (1999). The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology*, vol.1 4: p.135-142.

Sedan D., Laguens M., Copparoni G., Aranda J.O., Giannuzzi L., Marra C.A., Andrinolo D. (2015). Hepatic and intestine alterations in mice after prolonged exposure to low oral doses of Microcystin-LR. *Toxicol*, vol. 104: p.26-33. doi: 10.1016/j.toxicol.2015.07.011.

Sekijima M., Tsutsumi T., Yoshida T., Harada T., Tashiro F., Chen G., Yu S.Z., Ueno Y. (1999). Enhancement of glutathione S-transferase placental-form positive liver cell foci development by microcystin-LR in aflatoxin B1-initiated rats. *Carcinogenesis*, vol. 20(1): p.161-165.

Selwood A. I., Waugh C., Harwood D. T., Rhodes L. L., Reeve J., Sim J., Munday R. (2017). Acute toxicities of the saxitoxin congeners gonyautoxin 5, gonyautoxin 6, decarbamoyl gonyautoxin 2&3, decarbamoyl neosaxitoxin, C-1&2 and C-3&4 to mice by various routes of administration. *Toxins*, vol. 9 (2): p.73. doi: 10.3390/toxins9020073.

Senogles P., Shaw G., Smith M., Norris R., Chiswell R., Mueller J., Sadler R., Eaglesham G. (2000). Degradation of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin, from *Cylindrospermopsis raciborskii*, by chlorination. *Toxicol*, vol. 38: p.1203–1213.

Seppälä J., Ylöstalo P., Kaitala S., Hällfors S., Raateoja M., Maunula P. (2007). Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 73(3-4): p. 489-500.

Sérandour A.L., Ledreux A., Morin B., Derick S., Augier E., Lancelleur R., Hamlaoui S., Moukha S., Furger C., Biré R., Krys S., Fessard V., Troussellier M., Bernard C. (2012). Collaborative study for the detection of toxic compounds in shellfish extracts using cell-based assays. Part I: Screening strategy and pre-validation study with lipophilic marine toxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 403: p. 1983-1993. doi: 10.1007/s00216-012-6028-1.

Serive B., Kaas R., Berard J.-B., Pasquet V., Picot L., Cadoret J.-P. (2012). Selection and optimisation of a method for efficient metabolites extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, vol. 124: p.311-320.

Setliková I., Wiegand C. (2009). Hepatic and branchial glutathione S-transferases of two fish species: substrate specificity and biotransformation of microcystin-LR. *Comparative biochemistry and physiology*. *Toxicology and Pharmacology*, vol. 149(4): p.515-523. doi : 10.1016/j.cbpc.2008.11.008.

Sharma V.K., Triantis T.M., Antoniou M.G., He X., Pelaez M., Han C., Song W., O'Shea K.E., de la Cruz A.A., Kaloudis T., Hiskia A., Dionysiou D.D. (2012). Destruction of microcystins by conventional and advanced oxidation processes: A review. *Separation and Purification Technology*, vol. 91: p.3-17. doi : 10.1016/j.seppur.2012.02.018.

Shaw G.R., Seawright A.A., Moore M.R. (2001). Toxicology and human health implications of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the turn of the Millennium*. Eds, De Koe W.J., Samson R.A., van Egmond H.P., Gilbert J, and Sabino M. IUPAC & AOAC International Brazil, pp.435-443.

Shaw G.R., Seawright A.A., Moore M.R., Lam P.K. (2000). Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid: Evaluation of its toxicologic activity. *Therapeutic Drug Monitoring*, vol. 22(1): p.89-92.

Shen H., Li Z., Jiang Y., Pan X., Wu J., Cristofori-Armstrong B., Smith J. J., Chin Y. K. Y., Lei J., Zhou Q., King G. F., Yan N. (2018). Structural basis for the modulation of voltage-gated sodium channels by animal toxins. *Science*, vol. 362 (6412): p.1-8. doi: 10.1126/science.aau2596.

Shen P. P., Shi Q., Hua Z. C., Kong F. X., Wang Z. G., Zhuang S. X., Chen D. C (2003). Analysis of microcystins in cyanobacteria blooms and surface water samples from Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Environment International*, vol. 29 (5): p.641-647.

Sheriff G. (2005). Efficient Waste? Why Farmers Over-Apply Nutrients and the Implications for Policy Design. *Applied Economic Perspectives and Policy*, vol. 27(4): p. 542–557.

Shindelman J., Mosher H.S., Fuhrman F.A. (1969). Atelopidtoxin from the Panamanian frog, *Atelopus zeteki*. *Toxicol*, vol.7: p.315-319.

Sibaldo de Almeida C., Costa De Arruda A.C., Caldas de Queiroz E., Matias de Lima Costa H.T., Barbosa P.F., Araujo Moura Lemos T.M., Oliveira C.N., Pinto E., Schwarz A., Kujbida P. (2013). Oral

exposure to cylindrospermopsin in pregnant rats: reproduction and foetal toxicity studies. *Toxicol*, vol. 74: p.127-129.

Sieracki C.K., Sieracki M.E., Yentsch C.S. (1998). An imaging-in-flow system for automated analysis of marine microplankton *Marine ecology progress series*, vol. 168: p.285-296.

Sieroslawska A. (2013). Assessment of the mutagenic potential of cyanobacterial extracts and pure cyanotoxins. *Toxicol*, vol. 74: p.76-82. doi: 10.1016/j.toxicol.2013.07.029.

Silva T., Vinçon-Leite B., Lemaire B., J., Tassin B., Seidl M., Nascimento N. (2011). Continuous monitoring and modelling of cyanobacteria dynamics in urban lakes. In: 2nd IWA Symposium on Lake and Reservoir Management, June 16th 2011, Grenade, Spain.

Simiyu B. M., Oduor S.O., Rohrlack T., Sitoki L., Kurmayer R. (2018). Microcystin Content in Phytoplankton and in Small Fish from Eutrophic Nyanza Gulf, Lake Victoria, Kenya. *Toxins (Basel)* vol. 10(7): p.275.

Simola O., Wiberg M., Jokela J., Wahlsten M., Sivonen K., Syrjä P. (2012). Pathologic findings and toxin identification in cyanobacterial (*Nodularia spumigena*) intoxication in a dog. *Veterinary Pathology*, vol. 49: p.755-759.

Sindilariu P. D., Brinker A., Reiter R. (2009). Factors influencing the efficiency of constructed wetlands used for the treatment of intensive trout farm effluent. *Ecological Engineering*, vol. 35(5): p. 711-722.

Singh S., Rastogi R., Häder D., Sinha R.P., (2011). An improved method for genomic DNA extraction from cyanobacteria *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 27: p.1225-1230.

Sipia V., Kankaanpää H., Peltonen H., Vinni M., Meriluoto J. (2007). Transfer of nodularin to three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.), herring (*Clupea harengus* L.), and salmon (*Salmo salar* L.) in the northern Baltic Sea. *Ecotoxicology Environmental Safety*, vol. 66 (3): p.421-425.

Sipia V., Kankaanpää H., Lahti K., Carmichael W. W., Meriluoto J. (2001). Detection of Nodularin in flounders and cod from the Baltic Sea. *Environmental Toxicology*, vol. 16 (2): p.121-126.

Sivonen K., Jones G. (1999). Cyanobacteria Toxin Reference. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences. Monitoring and Management* : p.55-124.

Smith V.H., Wood S.A., McBride C.G., Atalah J., Hamilton D.P., Abell J. (2016). Phosphorus and nitrogen loading restraints are essential for successful eutrophication control of Lake Rotorua, New Zealand. *Inland Waters*, vol. 6: p. 273–283. doi:10.5268/IW-6.2.998.

Soares R.M., Yuan M., Servaites J.C., Delgado A., Magalhães V.F., Hilborn E.D., Carmichael W.W., Azevedo S.M. (2006). Sublethal exposure from microcystins to renal insufficiency patients in Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Toxicology*, vol. 21(2): p.95-103. doi: 10.1002/tox.20160.

Solheim A.L. (2002). Two Norwegian case studies - The lake Mjosa and the lake Gjersjoen. Workshop on eutrophication criteria - 28-30 may. Brussels.

Song J., Wang X., Ma J., X. Wang, J. Wang, Zhao J. (2018). Visible-light-driven in situ inactivation of *Microcystis aeruginosa* with the use of floating g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> heterojunction photocatalyst: Performance, mechanisms and implications. *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 226: p 83-92.

Song K.Y., Lim I.K., Park S.C., Lee S.O., Park H.S., Choi Y.K., Hyun B.H. (1999). Effect of nodularin on the expression of glutathione S-transferase placental form and proliferating cell nuclear antigen in N-nitrosodiethylamine initiated hepatocarcinogenesis in the male Fischer 344 rat. *Carcinogenesis*, vol. 20(8): p.1541-1548.

Soong F.S., Maynard E., Kirke K., Luke C. (1992). Illness associated with blue-green algae. *The Medical Journal of Australia*, vol. 156 (1): 67.

Sorlini S., Gialdini F., Collivignarelli C. (2013). Removal of cyanobacterial cells and Microcystin-LR from drinking water using a hollow fiber microfiltration pilot plant. *Desalination*, vol. 309: p.106–112.

Sosik H.M., Olson R.J. (2007). Automated taxonomic classification of phytoplankton sampled with imaging-in-flow cytometry. *Limnology and Oceanography: Methods*, vol. 5(6): p. 204-216.



- Sosik H.M., Olson R.J., Neubert M.G., Shalapyonok A., Solow A.R. (2003). Growth rates of coastal phytoplankton from time-series measurements with a submersible flow cytometer. *Limnology and Oceanography*, vol. 48 (5): p. 1756-1765.
- Spector M., Itsuse J.L. (2000). *Constructing Social Problems*. New York. Aldine de Gruyter.
- Spivak C.E., Witkopf B., Albuquerque E.X. (1980). Anatoxin-a: a novel, potent agonist at the nicotinic receptor. *Molecular Pharmacology*, vol. 18: p. 384-394.
- Spoof L., Catherine A. (2017). Microcystins and nodularins. In *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Book Editor(s) J. Meriluoto, L. Spoof, G.A. Codd, 2017 - Wiley Online Library
- Spoof L., Vesterkvist P., Lindholm T., Meriluoto J. (2003). Screening for cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularin in environmental water samples by reversed-phase liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, vol.1020: p.101–115.
- Stafford R.G., Hines H.B. (1995). Urinary elimination of saxitoxin after intravenous injection. *Toxicol*, vol. 33(11): p.1501-1510.
- Stal L.J. (2012). Cyanobacterial mats and stromatolites. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 65-125). Springer, Dordrecht.
- Stanier R.Y., Sistrom W.R., Hansen T.A., Whitton B.A., Castenholz R.W., Pfennig N., Gorlenko V.N., Kondratieva E.N., Eimhjellen K.E., Whittenbury R., Gherna R.L., Truper H.G. (1978). Proposal to Place the Nomenclature of the Cyanobacteria (Blue-Green Algae) Under the Rules of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 28 (2): p.335-336.
- Steffensen D.A. (2008). Economic costs of Cyanobacterial Blooms. Hudnell, H.K. (ed.) *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms : State of the Science and Research Needs*. New York. Springer: p.855-866.
- Steiner K., Zimmermann L., Hagenbuch B., Dietrich D. (2016). Zebrafish Oatp-mediated transport of microcystin congeners. *Archives of Toxicology*, vol. 90: p.1129-1139, doi: 10.1007/s00204-015-1544-3.
- Stepanova N., Nikitin O., Latypova V., Kondratyeva T. (2018). Cyanotoxins as a possible cause of fish and waterfowl death in the kazanka river (Russia). *International Multidisciplinary Scientific Geoconference*, vol. 18: p.229-236.
- Stevens D.K., Krieger R.I. (1991). Effect of route of exposure and repeated doses on the acute toxicity in mice of the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-a. *Toxicol*, vol. 29(1): p. 134-138. DOI: 10.1016/0041-0101(91)90047-U.
- Stewart I., Eaglesham G. K., McGregor G. B., Chong R., Seawright A. A., Wickramasinghe W. A., Sadler R., Hunt L., Graham G. (2012). First Report of a Toxic *Nodularia spumigena* (Nostocales/Cyanobacteria) Bloom in Sub-Tropical Australia. II. Bioaccumulation of Nodularin in Isolated Populations of Mullet (Mugilidae). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 9 (7): p.2412-2443.
- Stewart I., Schluter P.J., Shaw G.R., (2006a). Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health – a review. *Environmental Health*, vol. 5: p.7. doi: 10.1186/1476-069X-5-7 (chap 3)
- Stewart I., Webb P.M., Schluter P.J., Fleming L.E., Burns J.W., Gantar M., Backer L.C., Shaw G.R. (2006b). Epidemiology of recreational exposure to freshwater cyanobacteria – an international prospective cohort study. *BMC Public Health* 6.
- Stewart I., Robertson I. M., Webb P. M., Schluter P. J., Shaw G. R. (2006c). Cutaneous hypersensitivity reactions to freshwater cyanobacteria – human volunteer studies. *BMC Dermatology*, vol. 6:6.
- Stewart I., Seawright A. A., Schluter P. J., Shaw G. R. (2006d) Primary irritant and delayed-contact hypersensitivity reactions to the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and its associated toxin cylindrospermopsin. *BMC Dermatology*, vol.6:5 (Chap 4 2 2 1)

- Stolerman I.P., Albuquerque E.X., Garcha H.S. (1992). Behavioural effects of anatoxin, a potent nicotinic agonist, in rats. *Neuropharmacology*, vol. 31: p.311-314.
- Stotts R.R., Twardock A.R., Haschek W.M., Choi B.W., Rinehart K.L., Beasley V.R. (1997). Distribution of tritiated dihydromicrocystin in swine. *Toxicon*, vol. 35(6): p.937-953.
- Stotts R.R., Twardock A.R., Koritz G.D., Haschek W.M., Manuel R.K., Hollis W.B., Beasley V.R. (1997a). Toxicokinetics of tritiated dihydromicrocystin-LR in swine. *Toxicon*, vol. 35(3): p.455-65. (chapitre 4 1 1 1)
- Strassburg C.P., Strassburg A., Kneip S., Barut A., Tukey R.H., Rodeck B., Manns M.P. (2002). Developmental aspects of human hepatic drug glucuronidation in young children and adults. *Gut*, vol. 50: p.259-265.
- Stricker A. E., Héduit A., Takács I., Comeau Y. (2010). Quantifying nutrient assimilation in activated sludge. *Proceedings of the Water Environment Federation*, vol. 2010 (9): p.7135-7164. DOI: 10.2175/193864710798207305.
- Su Z., Sheets M., Ishida H., Li F., Barry W.H. (2004). Saxitoxin blocks L-type ICa. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 308: p.324-329. doi: 10.1124/jpet.103.056564.
- Suchy P., Berry J. (2012). Detection of total microcystin in fish tissues based on lemieux oxidation and recovery of 2-methyl-3-methoxy-4-phenylbutanoic acid (MMPB) by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC/MS). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, vol. 92(12): p.1443-1456.
- Sukenik A., Reisner M., Carmeli S., Werman M. (2006). Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in mice: long-term exposure to low doses. *Environmental Toxicology*, vol. 21(6): p.575-82.
- Sun Y., Zheng Q., Sun Y.T., Huang P., Guo Z.L., Xu L.H. (2014). Microcystin-LR induces protein phosphatase 2A alteration in a human liver cell line. *Environmental Toxicology*, vol.29(11) : p.1236-1244. doi: 10.1002/tox.21854.
- Sun F., Pei H-Y, Hu W-R, Li X-Q, Ma C-X, Pei R-T. (2013). The cell damage of *Microcystis aeruginosa* in PACl coagulation and floc storage processes *Separation and Purification Technology*, vol. 115 : p.123–128. doi : 10.1016/j.seppur.2013.05.004.
- Sun F., Pei H-Y., Hu W-R., Ma C-X. (2012). The lysis of *Microcystis aeruginosa* in AlCl<sub>3</sub> coagulation and sedimentation processes. *Chemical Engineering Journal*, vol. 193-194: p.196-202. doi : 10.1016/j.cej.2012.04.043.
- Svirčev, Z., Lalić D., Savić G.B., Tokodi N., Backović D.D., Chen L., Meriluoto J., Codd G.A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of Toxicology*, vol. 93: p.2429-2481.
- Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Mijović B., Codd G. A., Meriluoto J. (2017a). Toxicology of Microcystins with Reference to Cases of Human Intoxications and Epidemiological Investigations of Exposures to Cyanobacteria and Cyanotoxins. *Archives of Toxicology*, vol. 91(2): p.621-650. doi:10.1007/s00204-016-1921-6.
- Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Đenić D., Simeunović J., Hiskia A., Kaloudis T., Mijović B., Šušak S., Protić M., Vidović M., Onjia A., Nybom S., Vazić T., Palanački Malešević T., Dulić T., Pantelić D., Vukašinović M., Meriluoto J. (2017b). Lessons from the Užice Case. In *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK. p.298-308.
- Svirčev, Z.; Drobac, D.; Tokodi, N.; Lužanin, Z.; Munjas, A.M.; Nikolin, B.; Vuleta, D.; Meriluoto J., (2014). Epidemiology of cancers in Serbia and possible connection with cyanobacterial blooms. *Journal of Environmental Science and Health- Part C*, vol. 32: p.319-337.
- Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Vidović M., Simeunović J., Miladinov-Mikov M., Baltić V. (2013). Epidemiology of primary liver cancer in Serbia and possible connection with cyanobacterial blooms. *Journal of Environmental Science and Health- Part C- Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology reviews*, vol. 31: p.181-200

- Svirčev Z., Baltič V., Gantar M., Jukovič M., Stojanovič D., Baltič M. (2010). Molecular Aspects of Microcystin-induced Hepatotoxicity and Hepatocarcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health - Part C*, vol. 28(1): p.39-59, doi: 10.1080/10590500903585382.
- Svirčev Z., Krstić S., Miladinov-Mikov M., Baltić V., Vidović M. (2009). Freshwater cyanobacterial blooms and primary liver cancer epidemiological studies in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health - Part C - Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology reviews*, vol. 27(1): p.36-55.
- Švoboda M., Riha J., Wice K., Jaeger W., Thalhammer T. (2011). Organic anion transporting polypeptides (OATPs): Regulation of expression and function. *Current Drug Metabolism*, vol. 12(2): p.139-153. doi: 10.2174/138920011795016863.
- Swanson K.L., Allen C.N., Aronstam R.S., Rapoport H., Albuquerque E.X. (1986). Molecular mechanisms of the potent and stereospecific nicotinic receptor agonist (+)-anatoxin-a. *Molecular Pharmacology*, vol.29: p.250-257.
- Švoboda U.K., Dow C.S., Chaivimol J., Smith N., Pound B.P. (1994). Alternatives to the mouse bioassay for cyanobacterial toxicity assessment. In: G.A. Co to the mouse bioassay for cyanobacterial toxicity assessment. In: G.A. Codd, T.M. Jefferies, C.W. Keevil and E. Potter [Eds] *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*, Special Publication No. 149, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 106-110.
- Takaara T., Sano D., Masago Y., Omura T. (2010). Surface-retained organic matter of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride in drinking water treatment. *Water research*, vol. 44: p. 3781 – 3786. doi : 10.1016/j.watres.2010.04.030.
- Takenaka S. (2001). Covalent glutathione conjugation to cyanobacterial hepatotoxin microcystin LR by F344 rat cytosolic and microsomal glutathione S-transferases. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 9(4): p.135-139. doi: 10.1016/S1382-6689(00)00049-1.
- Tandyrak R., Gołaś I., Parszuto K., Bowszys M., Szymański D., Harnisz M., Brudniak A., Wysocka I. (2016). The Effect of Lake Restoration by the Hypolimnetic Withdrawal Method on the Intensity of Ambient Odour. *Journal of Limnology*, vol. 75(3). <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2016.1400>.
- Taranu Z.E., Gregory-Eaves I., Leavitt P.R., Bunting L., Buchaca T., Catalan J., Domaizon I., Guilizzoni P., Lami A., McGowan S., Moorhouse H., Morabito G., Pick F.R., Stevenson M.A., Thompson P.L., Vinebrooke R.D. (2015). Acceleration of cyanobacterial dominance in north temperate-subarctic lakes during the Anthropocene. *Ecology Letters*, vol. 18(4): p.375–384. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/ele.12420>.
- Teixeira M.R, Rosa M.J. (2006a). Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa* Part I: The key operating conditions. *Separation and Purification Technology*, vol. 52(1): p.84-94. doi : 10.1016/j.seppur.2006.03.017.
- Teixeira M.R., Rosa M.J. (2006b). Neurotoxic and hepatotoxic cyanotoxins removal by nanofiltration. *Water Research*, vol. 40: p.2837–2846. doi : 10.1016/j.watres.2006.05.035.
- Teixeira M., Costa M., De Carvalho V.L., Pereira M., Hage E. (1993). Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bulletin of the Pan American Health Organization*. vol. 27: p .244-253.
- Terao K., Ohmori S., Igarashi K., Ohtani I., Watanabe M.F., Harada K.I., Ito E., Watanabe M. (1994). Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, vol. 32(7): p.833-843.
- Testai E., Scardala S., Vichi S., Buratti F. M., Funari E. (2016a). Risk to human health associated with the environmental occurrence of cyanobacterial neurotoxic alkaloids anatoxins and saxitoxins. *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 46(5): p.385-419. doi: 10.3109/10408444.2015.1137865.
- Testai E., Buratti F.M., Funari E., Manganelli M., Vichi S., Arnich N., Biré R., Fessard V., Sialehaamoa A. (2016b). Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA supporting publication 2016: EN-998. 309 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2016.EN-998. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>

- Tilley E., Ulrich L., Lüthi C., Reymond Ph., Zurbrügg C. (2014). *Compendium of Sanitation Systems and Technologies*. 2nd Revised Edition. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (Eawag), Dübendorf, Switzerland. 181p
- Thomas A.D., Saker M.L., Norton J.H., Olsen R.D. (1998). *Cyanobacterium Cylandrospermopsis raciborskii* as a probable cause of death in cattle in northern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, vol. 76: p.592-594.
- Thompson R.B., Martinez-Gaitan C., Gallardo M., Gimenez C., Fernandez M.D. (2007). Identification of irrigation and N management practices that contribute to nitrate leaching loss from an intensive vegetable production system by use of a comprehensive survey. *agricultural water management*, vol. 89: p.261–274.
- Thottumkara A.P., Parsons W.H., Du Bois J. (2014). Saxitoxin. *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 53: p.5760-5784. doi: 10.1002/anie.201308235
- Tisdale E.S. (1931). Epidemic of intestinal disorders in Charleston, W. Va., occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. *American Public Health association*, vol. 21: p.198-200.
- Tokodi N., Drobac D., Meriluoto J., Lujčić J., Marinović Z., Važić T., Nybom S., Simeunović J., Dulić T., Lazić G., Petrović T., Vuković-Gačić B., Sunjog K., Kolarević S., Kračun-Kolarević M., Subakov-Simić G., Miljanović B., Codd G.A., Svirčev Z., 2018. Cyanobacterial effects in Lake Ludoš, Serbia - Is preservation of a degraded aquatic ecosystem justified? *Science of the Total Environment*, vol. 635: p. 1047-1062.
- Tomitani A., Knoll A. H., Cavanaugh C. M., Ohno T. (2006). The evolutionary diversification of cyanobacteria: molecular–phylogenetic and paleontological perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103(14): p. 5442-5447.
- Törökné A., Asztalos M., Bánkiné M., Bickel H., Borbély G., Carmeli S., Codd G.A., Fastner J., Huang Q., Humpage A., Metcal J.S., Rabai E., Sukenik A., Suranyi G., Vasas G., Weiszfeiler V. (2004). Interlaboratory comparison trial on cylandrospermopsin measurement. *Analytical biochemistry*, vol. 332(2): p. 280-284.
- Torres R., Pizarro L., Csendes A., Garcia C., Lagos N. (2007). GTX 2/3 epimers permeate the intestine through a paracellular pathway. *The Journal of Toxicological Science*, vol. 32 (3): p.241-248.
- Trainer V.L., Hardy F.J. (2015). Integrative monitoring of marine and freshwater harmful algae in washington state for public health protection. *Toxins*, vol. 7: p.1206-1234.
- Tran Khac V., Hong Y., Plec D., Lemaire B., Dubois P., Saad M., Vinçon-Leite B. (2018). An Automatic Monitoring System for High-Frequency Measuring and Real-Time Management of Cyanobacterial Blooms in Urban Water Bodies. *Processes* 6, 11. <https://doi.org/10.3390/pr6020011>
- Trevino-Garrison I., DeMent J., Ahmed F.S., Haines-Lieber P., Langer T., Ménager H., Neff J., van der Merwe D., Carney E. (2015). Human illnesses and animal deaths associated with freshwater harmful algal blooms — Kansas. *Toxins*, vol. 7 (2): p. 353–366.
- Triest L, Stiers I., Van Onsem S. (2016). Biomanipulation as a nature-based solution to reduce cyanobacterial blooms. *Aquatic Ecology*, vol. 50: p. 461–483. doi:10.1007/s10452-015-9548-x.
- Trung B., Dao T.S., Faassen E., Lürling M. (2018). Cyanobacterial Blooms and Microcystins in Southern Vietnam. *Toxins*, vol. 10: p.471.
- Tsuji K., Watanuki T., Kondo F., Watanabe M.F., Nakazawa H., Suzuki M., Uchida H., Harada K-I. (1997). Stability of microcystins from cyanobacteria—iv. Effect of chlorination on decomposition. *Toxicon*, vol. 35(7): p.1033–1041.
- Turbow D., Lin T.H., Jiang S. (2004). Impacts of Beach Closures on Perceptions of Swimming related Health Risks in Orange County, California, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 48: p.132-36.
- Turell M.J., Middlebrook J.L. (1988). Mosquito inoculation: An alternative bioassay for toxins. *Toxicon*, vol. 26: p. 1089-1094, doi: 10.1016/0041-0101(88)90208-5.

- Turner A.D., Broadwater M., Van Dolah, F. (2018). Use of the receptor binding assay for determination of paralytic shellfish poisoning toxins in bivalve molluscs from Great Britain and the assessment of method performance in oysters. *Toxicon*, vol. 148: p.155-164. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.04.025.
- Turner A.D., Dhanji-Rapkova M., Algoet M., Suarez-Isla B.A., Cordova M., Caceres C., Murphy C.J., Casey M., Lees D.N. (2012). Investigations into matrix components affecting the performance of the official bioassay reference method for quantitation of paralytic shellfish poisoning toxins in oysters. *Toxicon*, vol. 59: p. 215-230. doi: 10.1016/j.toxicon.2011.11.013.
- Turner P.C., Gammie A.J., Hollinrake K., Codd G.A. (1990). Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *British Medical Journal*, vol. 300 (6737): p. 1440–1441.
- Ueno Y., Makita Y., Nagata S., Tsutsumi T., Yoshida F., Tamura S.I., Sekijima M., Tashiro F., Harada T., Yoshida T. (1999). No chronic oral toxicity of a low dose of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in female BALB/c mice. *Environmental Toxicology*, vol. 14(1): p.45-55. doi: 10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1<45::AID-TOX8>3.0.CO;2-T.
- Ueno Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hasegawa A., Watanabe M.F., Park H.D., Chen G.C., Yu S.H. (1996). Detection of microcystins, a bluegreen algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, vol. 17: p.1317-1321.
- Ufelmann H., Schrenk D. (2015). Nodularin-triggered apoptosis and hyperphosphorylation of signaling proteins in cultured rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, vol. 29(1): p.16-26.
- Ufelmann H., Krüger T., Luckas B., Schrenk D. (2012). Human and rat hepatocyte toxicity and protein phosphatase 1 and 2A inhibitory activity of naturally occurring desmethyl-microcystins and nodularins. *Toxicology*, vol. 293: p.59-67. doi: 10.1016/j.tox.2011.12.011.
- Utermöhl H., (1958). Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilung Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, vol. 9: p.1-38.
- Vadrucci M.R., Cabrini M., Basset A., (2007). Biovolume determination of phytoplankton guilds in transitional water ecosystems of Mediterranean Ecoregion. *Transitional Waters Bulletin*, vol. 2: p. 83-102.
- Vaitomaa J., Rantala A., Halinen K., Rouhiainen L., Tallberg P., Mokolke L., Sivonen K. (2003). Quantitative real-time PCR for determination of microcystin synthetase E copy numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69(12): p.7289-7297.
- Vale C., Alfonso A., Vieytes M.R., Romaris X.M., Arévalo F., Botana A.M., Botana L.M. (2008). In vitro and in vivo evaluation of paralytic shellfish poisoning toxin potency and the influence of the pH of extraction. *Analytical Chemistry*, vol. 80: p.1770-1776, doi: 10.1021/ac7022266.
- Valentine W.M., Schaeffer D.J., Beasley V.R. (1991). Electromyographic assessment of the neuromuscular blockade produced in vivo by anatoxin-a in the rat. *Toxicon*, vol. 29: p.347-357. doi: 10.1016/0041-0101(91)90288-3.
- Van Apeldoorn M.E., van Egmond H.P., Speijers G.J.A., Bakker G.J.I. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 51(1): p.7-60.
- Van de Riet J. M., Gibbs R. S., Chou F. W., Muggah P. M., Rourke W. A., Burns G., Thomas K. M., Quilliam M. A. (2009). Liquid Chromatographic Post-Column Oxidation Method for Analysis of Paralytic Shellfish Toxins in Mussels, Clams, Scallops, and Oysters: Single-Laboratory Validation. *Journal of Aoac International*, vol. 92(6): p.1690-1704.
- Van De Steene J. C., Mortier K. A., Lambert W. E. (2006). Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic-electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Journal of Chromatography A*, vol. 1123(1): p.71-81.
- van der Veer B., Koedood J., Visser P.M. (1995). Artificial mixing: A therapy measure combating cyanobacteria in Lake Nieuwe Meer. *Water Science Technology*, vol. 31: p.245–248.

- Van Dolah F.M., Fire S.E., Leighfield T.A., Mikulski C.M., Doucette G.J. (2012). Determination of paralytic shellfish toxins in shellfish by receptor binding assay: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, vol. 95: p.795-812, doi: 10.5740/jaoacint.CS2011\_27.
- Van Dolah F.M., Field T.A.L., Doucette G.J., Bean L., Niedzwiadek B., Rawn D.F.K. (2009). Single-laboratory validation of the microplate receptor binding assay for paralytic shellfish toxins in shellfish. *Journal of AOAC International*, vol. 92: p. 1705-1713.
- Van Drecht G., Bouwman A. F., Harrison J., Knoop J. M. (2009). Global Nitrogen and Phosphate in Urban Wastewater for the Period 1970 to 2050. *Global Biogeochemical Cycles* 23 (September): GB0A03. <https://doi.org/10.1029/2009GB003458>.
- van Hoof F. (1994). The occurrence of toxic cyanobacteria in Europe (excluding the UK and Scandinavia). In *Toxic cyanobacteria: current status of research and management* Edited by: Steffensen DA, Nicholson BC. Salisbury: Australian Centre for Water Quality Research. p.29-33.
- Vasconcelos V. M., Pereira E. (2001). Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant (Portugal). *Water Research*, vol. 35(5): p.1354-1357.
- Vesterkvist P.S.M., Misiore J.O., Spoof L.E., Toivola D.M., Meriluoto J.A. (2012). Comparative cellular toxicity of hydrophilic and hydrophobic microcystins on Caco-2 cells. *Toxins*, vol. 4: p.1008-1023. doi: 10.3390/toxins4111008.
- Vial V. (2004). Approche pour caractériser l'exposition aux cyanobactéries sur des plans d'eau à usages récréatifs. Mémoire de l'École Nationale de la Santé Publique. p. 72
- Vichi S., Buratti F. M., Testai E. (2016). Microcystins: Toxicological Profile. In: Gopalakrishnakone P., Haddad Jr. V., Tubaro A., Kim E., Kem W. (eds) *Marine and Freshwater Toxins*. Toxinology. Springer, Dordrecht, p.219-238. DOI 10.1007/978-94-007-6419-4\_2.
- Vidal F., Sedan D., D'Agostino D., Cavaliere M.L., Mullen E., Parot Varela M.M., Flores C., Caixach J., Andrinol D., (2017). Recreational exposure during algal bloom in Carrasco Beach, Uruguay: a liver failure case report. *Toxins (Basel)* 9.
- Villatte F., Schulze H., Schmid R.D., Bachmann T.T. (2002). A disposable acetylcholinesterase-based electrode biosensor to detect anatoxin-a(s) in water. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 372: p.322-326.
- Visser P. M., Ibelings B. W., Bormans M., Huisman J. (2016). Artificial Mixing to Control Cyanobacterial Blooms: A Review. *Aquatic Ecology*, vol. 50(3): p.423-441. <https://doi.org/10.1007/s10452-015-9537-0>.
- Visser P. M., Ketelaars H. A.M., van Breemen L. W.C.A., and Mur L. R. (1996). Diurnal Buoyancy Changes of *Microcystis* in an Artificially Mixed Storage Reservoir. *Hydrobiologia*, vol. 331(1-3): p.131-141.
- Waajen G., van Oosterhout F., Douglas G., Lurling M. (2016). Management of eutrophication in Lake De Kuil (The Netherlands) using combined flocculant-Lanthanum Modified Bentonite Treatment. *Water Research*, vol. 97: p.83-95. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.034>.
- Walker S.R., Lund J.C., Schumacher, D.G., Brakhage, P.A., McManus, B.C., Miller, J.D., Augustine, M.M., Carney, J.J., Holland, R.S., Hoagland, K.D., Holz, J.C., Barrow, T.M., Rundquist, D.C., Gitelson, A.A. (2008). Nebraska experience. *Advances in experimental medicine and biology*, vol. 619: p.139-152.
- Wang C., Gu S., Yin X., Yuan M., Xiang Z., Li Z., Cao H., Meng X., Hu K., Han X. (2016). The toxic effects of microcystin-LR on mouse lungs and alveolar type II epithelial cells. *Toxicon*, vol. 115: p.81-88. doi: 10.1016/j.toxicon.2016.03.007.
- Wang X., Huang P., Liu Y., Du H., Wang X., Wang M., Wang Y., Hei T.K., Wu L., Xu A. (2015). Role of nitric oxide in the genotoxic response to chronic microcystin-LR exposure in human-hamster hybrid cells. *Journal of Environmental Sciences*, vol. 29: p.210-218. doi: 10.1016/j.jes.2014.07.036.

- Wang X., Ying F., Chen Y., Han X. (2012). Microcystin (-LR) affects hormones level of male mice by damaging hypothalamic-pituitary system. *Toxicon*, vol. 59(2): p.205-214. doi: 10.1016/j.toxicon.2011.12.001.
- Wang H., Ho L., Lewis D.M., Brookes J.D., Newcombe G. (2007). Discriminating and assessing adsorption and biodegradation removal mechanisms during granular activated carbon filtration of microcystin toxins. *Water Research*, vol. 41: p.4262–4270. doi : 10.1016/j.watres.2007.05.057.
- Wang J., Salata J.J., Bennet P.B. (2003). Saxitoxin is a gating modifier of HERG K<sup>+</sup> channels. *The Journal of General Physiology*, vol. 121: p.583-598.
- Wang C. H., Wang Y.Y., Sun Y.Y., Xie X.T. (2003). Effect of antibiotic treatment on toxin production by *Alexandrium tamarense*. *Biomedical and Environmental Science*, vol. 16(4): p.340-347.
- Ward C.J., Beattie K.A., Lee E.Y., Codd G.A. (1997). Colorimetric protein phosphatase inhibition assay of laboratory strains and natural blooms of cyanobacteria: comparisons with high-performance liquid chromatographic analysis for microcystins. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 153(2): p. 465-473.
- Webb D.J., Robarts R.D., Prepas E.E. (1997). Influence of extended water column mixing during the first 2 years of hypolimnetic oxygenation on the phytoplankton community of Amisk Lake, Alberta. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 54: p.2133–2145. doi:10.1139/cjfas-54-9-2133.
- Wei Y., Weng D., Li F., Zou X., Young D.O., Ji J., Shen P. (2008). Involvement of JNK regulation in oxidative stress-mediated murine liver injury by microcystin-LR. *Apoptosis*, vol. 13(8): p.1031-1042. doi: 10.1007/s10495-008-0237-2.
- Weirich C.A., Miller T.R. (2014). Freshwater harmful algal blooms: toxins and children's health. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, vol. 44(1): p. 2-24.
- Weller G. M. (2013). Immunoassays and Biosensors for the Detection of Cyanobacterial Toxins in Water. *Sensors*, vol. 13: p.15085-15112.
- Welker M., Bickel H., Fastner J. (2002). HPLC-PDA detection of cylindrospermopsin - opportunities and limits. *Water Research*, vol. 36(18): p.4659-4663.
- Wert C.E. (2014). Release of intracellular metabolites from cyanobacteria during oxidation process. Water research foundation Denver Colorado.
- Wert E.C., Rosario-Ortiz F.L. (2013). Intracellular Organic Matter from Cyanobacteria as a Precursor for Carbonaceous and Nitrogenous Disinfection Byproducts. *Environment Science Technology*, vol. 47: p.6332–6340. doi : 10.1021/es400834k.
- Westrick J.A., Szlag D.C, Southwell B.J., Sinclair J. (2010). A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/ inactivation in drinking water treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 397: p.1705–1714.
- Wiberg G.S., Stephenson N.R. (1960). Toxicologic studies on paralytic shellfish poison. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 2(6): p.607-615. doi: [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(60\)90078-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(60)90078-8).
- Wiegand C., Pflugmacher S. (2005). Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203(3): p.201-218.
- Wiese M., D'Agostino P.M., Mihali T.K., Moffitt M.C., Neilan B.A. (2010). Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. *Marine Drugs*, vol. 8(7): p.2185-2211. doi: 10.3390/md8072185.
- Williams D.E., Dawe S.C., Kent M.L., Andersen R.J., Craig M., Holmes C.F.B. (1997). Bioaccumulation and clearance of microcystins from salt water mussels, *mytilus edulis*, and in vivo evidence for covalently bound microcystins in mussel tissues. *Toxicon*, vol. 35(11): p.1617-1625.
- Williamson M., Corbett S. (1993). Investigating health risks from riverine blooms of blue green algae. *New South Wales Public Health Bulletin*, vol. 4(3): p. 27–29.
- Withers P.J.A., Jarvie H.P. (2008). Delivery and cycling of phosphorus in rivers: a review. *Science of the total environment*, vol. 400(1-3): p.379-395.

- Wituszynski D.M., Hu C., Zhang F., Chaffin J.D., Lee J., Ludsin S.A., Martin J.F. (2017). Microcystin in Lake Erie fish: Risk to human health and relationship to cyanobacterial blooms. *Journal of Great Lakes Research*, vol. 43(6): p.1084-1090.
- Wolf D., Klaiber H.A. (2017). Bloom and bust; Toxic algae's impact on nearby property values. *Ecological Economics*, vol. 135: p.209-221.
- Wolf H.U., Franck C. (2002). Toxicity assessment of cyanobacterial toxin mixtures. *Environmental Toxicology*, vol. 17: p.395-399.
- Wolfram G., Buzzi F., Dokulil M., Friedl M., Hoehn E., Laplace-Treytore C., Menay M., Marchetto A., Morabito G., Reichmann M., Remec-Rekar Š., Riedmüller U., Urbanič G. (2014). Alpine Lake Phytoplankton ecological assessment methods. Join Research Center, 76 p.
- Wonnacott S., Swanson K.L., Albuquerque E.X., Huby N.J., Thompson P., Gallagher T. (1992). Homoanatoxin: a potent analogue of anatoxin-A. *Biochemical Pharmacology*, vol. 43: p.419-423.
- Wonnacott S., Gallagher T. (2006). The chemistry and pharmacology of anatoxin-a and related homotropans with respect to nicotinic acetylcholine receptors. *Marine Drugs*, vol. 4: p.228-254.
- Wong S. H., Hindin E. (1982). Detecting an algal toxin by high-pressure liquid chromatography. *Journal-American Water Works Association*, vol. 74(10): p. 528-529.
- Wood R. (2016). Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure — A review of the literature. *Environment International*, vol. 91: p. 276–282.
- Wood S.A., Depree C., Brown L., McAllister T., Hawes I. (2015). Entrapped sediments as a source of phosphorus in epilithic cyanobacterial proliferations in low nutrient rivers. *PLoS One* 10, e0141063.
- Wood S. A., Phillips N. R., de Winton M., Gibbs M. (2012). Consumption of benthic cyanobacterial mats and nodularin-R accumulation in freshwater crayfish (*Paranephrops planifrons*) in Lake Tikitapu (Rotorua, New Zealand). *Harmful Algae*, vol. 20: p.175-179.
- Wood S.A., Dietrich D.R. (2011). Quantitative assessment of aerosolized cyanobacterial toxins at two New Zealand lakes, *Journal of Environmental Monitoring*, vol. 13(6): p.1617-1624. doi: 10.1039/c1em10102a.
- Wood S.A., Heath M.W., Kuhajek J., Ryan K.G. (2010). Fine-scale spatial variability in anatoxin-a and homoanatoxin-a concentrations in benthic cyanobacteria mats: implication for monitoring and management. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 109: p. 2011-2018.
- Wood S.A., Hamilton D.P., Paul W.J., Safi K.A., Williamson W.M. (2009). *New Zealand Guidelines for Cyanobacteria in Recreational Fresh Waters*. Ministry for the Environment and Ministry of Health, Wellington, 88 p.
- Wood S.A., Mountfort D., Selwood A.I., Holland P.T., Puddick J., Cary S.C. (2008). Widespread distribution and identification of eight novel microcystins in antarctic cyanobacterial mats. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74: p.7243-7251. doi: 10.1128/AEM.01243-08.
- Xiong Q., Xie P., Li H., Hao L., Li G., Qiu T., Liu Y. (2009). Involvement of Fas/FasL system in apoptotic signaling in testicular germ cells of male Wistar rats injected i.v. with microcystins. *Toxicol*, vol. 54: p.1–7. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2009.01.035>.
- Xu L., Li T., Ding W., Cao Y., Ge X., Wang Y. (2018). Combined seven miRNAs for early hepatocellular carcinoma detection with chronic low-dose exposure to microcystin-LR in mice. *Science of the Total Environment*, vol. 628-629: p.271-281. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.021.
- Xu H., Pei H., Xiao H., Jin Y., Li X., Hu W., Ma C., Sun J., Li H. (2016). Behaviors of *Microcystis aeruginosa* cells during floc storage in drinking water treatment process. *Scientific reports*, vol. 6: p.34943, doi: 10.1038/srep34943.
- Wei Z.X., Liang Y.L., Inoue M., Zhou M.J., Huang M.L., Gu J.F., Wu Y. (2009). Effects of different water. *The journal of applied ecology*, vol. 20(7): p. 1678-1684.



- Wu J., Yuan M., Song Y., Sun F., Han X. (2015). MC-LR Exposure Leads to Subfertility of Female Mice and Induces Oxidative Stress in Granulosa Cells. *Toxins*, vol. 7(12): p.5212-5223. doi: 10.3390/toxins7124872.
- Wu X., Joyce E.M., Mason T.J. (2011). The effects of ultrasound on cyanobacteria. *Harmful Algae*, vol. 10: p.738–743. doi:10.1016/j.hal.2011.06.005.
- Wu Y. H., He J. Z., Yang L. Z. (2010). Evaluating Adsorption and Biodegradation Mechanisms during the Removal of Microcystin-RR by Periphyton. *Environmental Science and Technology*, vol. 44(16): p.6319-6324.
- Wu Z.B., Gao Y.N., Wang J., Liu B.Y. Zhou Q.H., Zhang Y.Y. (2009). Allelopathic effects of phenolic compounds present in submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. *Allelopathy Journal*, vol. 23(2): p. 403-410.
- Yang S., Chen L., Wen C., Zhang X., Feng X., Yang F. (2018). MicroRNA expression profiling involved in MC-LR-induced hepatotoxicity using high-throughput sequencing analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*, vol. 81(5): p89-97. doi: 10.1080/15287394.2017.1415580.
- Yavasoglu A., Karaaslan M.A., Uyanikgil Y., Sayim F., Ates U., Yavasoglu N.U. (2008). Toxic effects of anatoxin-a on testes and sperm counts of male mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, vol. 60(4-5): p.391-396. doi: 10.1016/j.etp.2008.04.001. Epub 2008 Jun 2.
- Ye C., Li C-H, Yu H-C, Song X-F, Zou G-Y, Liu J. (2011). Study on ecological restoration in near-shore zone of a eutrophic lake, Wuli Bay, Taihu Lake. *Ecological Engineering*, vol. 37: p.1434–1437. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.03.028.
- Yen H.K., Lin T.F., Liao P.C. (2011). Simultaneous detection of nine cyanotoxins in drinking water using dual solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon*, vol. 58(2): p.209-218.
- Yéprémian C., Catherine A., Congestri R., Bernard C., Elersek T., Pilkaityte R., (2017). Chlorophyll a extraction and determination. In: *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis* (Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A. eds.), John Wiley & Sons, Chichester, GBR, pp. 331-334.
- Yéprémian C., Gugger M., Briand E., Catherine A., Berger C., Quiblier C., Bernard C. (2007). Microcystin ecotypes in a *Planktothrix agardhii* perennial bloom. *Water Research*, vol. 41: p.4446-4456.
- Yoshida T., Makita Y., Nagata S., Tsutsumi T., Yoshida F., Sekijima M., Tamura S., Ueno Y. (1997). Acute oral toxicity of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in mice. *Natural Toxins*, vol. 5(3): p.91-95. doi: 10.1002/1522-7189(1997)5:3<91::Aid-nt1>3.0.Co;2-h.
- Yotsu-Yamashita M., Sugimoto A., Terakawa T., Shoji Y., Miyazawa T., Yasumoto T. (2001). Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel soluble saxitoxin and tetrodotoxin binding protein from plasma of the puffer fish, *Fugu pardalis*. *European Journal of Biochemistry*, vol. 268: p.5937-5946.
- Young F.M., Micklem J., Humpage A.R. (2008). Effects of blue-green algal toxin cylindrospermopsin on human granulosa cells in vitro. *Reproductive Toxicology*, vol. 25: p.374-380.
- Yu F. H., Yarov-Yarovoy V., Gutman G. A., Catterall W. A. (2005). Overview of molecular relationships in the voltage-gated ion channel superfamily. *Pharmacological Reviews*, vol. 57(4): p.387-395. doi: 10.1124/pr.57.4.13.
- Yu H. X., Man B.K.W., Chan L.L.N., Lam L.H.W., Lam P.K.S., Wang L., Jin H., Wu R.S.S. (2004). Cloud-point extraction of nodularin-R from natural waters. *Analytica Chimica Acta*, vol. 509(1): p.63-70.
- Yu S.Z. (1995). Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 10: p.674-682.
- Zamyadi A., Choo F., Newcombe G., Stuetz R., Henderson R.K. (2016). A review of monitoring technologies for real-time management of cyanobacteria: Recent advances and future direction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 85 (Part A): p. 83-96.

- Zamyadi A., Coral L.A., Barbeau B., Dorner S., Lapolli F.R., Prévost M. (2015): Fate of toxic cyanobacterial genera from natural bloom events during ozonation. *Water research*, vol. 73: p.204 - 215.
- Zamyadi A., Fan Y., Daly R. I., Prévost M. (2013a): Chlorination of *Microcystis aeruginosa*: Toxin release and oxidation, cellular chlorine demand and disinfection by-products formation. *Water research*, vol. 47: p.1080 -1090.
- Zamyadi A., Dorner S., Ndong M., Ellis D., Bolduc A., Bastien C., Prévost M. (2013b). Low-risk cyanobacterial bloom sources : cell accumulation within full-scale treatment plants. *Journal American Water Works Association*, vol. 105(11): p.651–663.
- Zamyadi A., Dorner S., Sauve S., Ellis D., Bolduc A., Christian Bastien C., Prévost M. (2013c). Species-dependence of cyanobacteria removal efficiency by different drinking water treatment processes, *Water research*, vol. 47: p.2689 - 2700
- Zamyadi A, MacLeod S.L., Fan Y., McQuaid N., Dorner S., Sauvé S., Prévost M. (2012). Toxic cyanobacterial breakthrough and accumulation in a drinking water plant: A monitoring and treatment challenge. *Water research*, vol. 46: p.1511-1523. doi : 10.1016/j.watres.2011.11.012.
- Zegura B., Straser A., Filipic M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins - a review. *Mutation Research*, vol. 727(1-2): p.16-41. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.01.002.
- Žegura B., Lah T.T., Filipic M. (2004). The role of reactive oxygen species in microcystin-LR-induced DNA damage. *Toxicology*, vol. 200(1): p.59-68. doi: 10.1016/j.tox.2004.03.006.
- Zelík P., Lukešová A., Voloshko L.N., Štys D., Kopecký J. (2009). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in cyanobacteria of the genus *Nostoc*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 24: p. 531-536, doi: 10.1080/14756360802234836.
- Zeng L., He F., Zhang Y., Liu B., Dai Z., Zhou Q., Wu Z. (2017). How Submerged Macrophyte Restoration Promotes a Shift of Phytoplankton Community in a Shallow Subtropical Lake. *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 26: p.1363–1373. doi:10.15244/pjoes/68228.
- Zepeda R.J., Candiracci M., Lobos N., Lux S., Miranda H.F. (2014). Chronic toxicity study of neosaxitoxin in rats. *Marine Drugs*, vol. 12: p. 5055-5071.
- Zewde T.W., Johansen J.A., Kifle D., Demissie T.B., Hansen J.H., Tadesse Z. (2018). Concentrations of microcystins in the muscle and liver tissues of fish species from Koka reservoir, Ethiopia: A potential threat to public health. *Toxicon*, vol. 153: p.85-95.
- Zhang H., Wang L., Shen S., Wang C., Xiang Z., Han X., Li D. (2017a). Toxic effects of microcystin-LR on the development of prostate in mice. *Toxicology*, vol. 380: p.50-61. doi: 10.1016/j.tox.2017.02.004.
- Zhang L., Zhang H., Zhang H., Benson M., Han X., Li D. (2017b). Roles of piRNAs in microcystin-leucine-arginine (MC-LR) induced reproductive toxicity in testis on male offspring. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 105: p.177-185. doi: 10.1016/j.fct.2017.04.014
- Zhang Y., Yao X., Qin B. (2016a). A critical review of the development, current hotspots, and future directions of Lake Taihu research from the bibliometrics perspective. *Environmental Science and Pollution research*, vol. 23: p.12811–12821. DOI 10.1007/s11356-016-6856-1
- Zhang Z., Zhang X.X, Wu B., Yin J., Yu Y., Yang L. (2016b). Comprehensive insights into microcystin-LR effects on hepatic lipid metabolism using cross-omics technologies. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 315: p.126-134. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.05.011.
- Zhang H., Hu W., Gu K., Li Q., Zheng D., Zhai S. (2013a). An improved ecological model and software for short-term algal bloom forecasting. *Environmental Modelling & Software*, vol. 48: p. 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2013.07.001>
- Zhang J., Chen J., Xia Z. (2013b). Microcystin-LR exhibits immunomodulatory role in mouse primary hepatocytes through activation of the NF-kappaB and MAPK signaling pathways. *Toxicological Sciences*, vol. 136(1): p.86-96. doi: 10.1093/toxsci/kft180.

- Zhang X., Xie P., Li D., Shi Z., Wang J., Yuan G., Zhao Y., Tang R. (2011). Anemia induced by repeated exposure to cyanobacterial extracts with explorations of underlying mechanisms. *Environmental Toxicology*, vol. 26(5): p.472-479. doi: 10.1002/tox.20583.
- Zhang X.X., Zhang Z., Fu Z., Wang T., Qin W., Xu L., Cheng S., Yang L. (2010). Stimulation effect of microcystin-LR on matrix metalloproteinase-2/-9 expression in mouse liver. *Toxicology Letters*, vol. 199(3): p.377-82. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.10.001.
- Zhang D., Xie P., Chen J., Dai M., Qiu T., Liu Y., Liang G. (2009). Determination of microcystin-LR and its metabolites in snail (*Bellamya aeruginosa*), shrimp (*Macrobrachium nipponensis*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) from Lake Taihu, China. *Chemosphere*, vol. 76(7): p.974-981.
- Zhang Y., Ghadouani A., Prepas E.E., Pinel-Alloul B., Reedyk S., Chambers P.A., Robarts R.D., Méthot G., Raik A., Holst M. (2001): Response of plankton communities to whole-lake Ca (OH)<sub>2</sub> and CaCO<sub>3</sub> additions in eutrophic hardwater lakes. *Freshwater Biology*, vol. 46: p. 1105–1119.
- Zou L., Wu C., Wang Q., Zhou J., Su K., Li H., Hu N., Wang P. (2015). An improved sensitive assay for the detection of PSP toxins with neuroblastoma cell-based impedance biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 67: p.458–464.
- Zhou M., Tu W.W., Xu J. (2015). Mechanisms of microcystin-LR-induced cytoskeletal disruption in animal cells. *Toxicol*, vol. 101: p.92-100. doi: 10.1016/j.toxicol.2015.05.005.
- Zhou S., Shao Y., Gao N., Li L., Deng J., Zhu M., Zhu S. (2014). Effect of chlorine dioxide on cyanobacterial integrity, toxin degradation and disinfection by-product formation. *Science of the Total Environment*, vol. 482–483: p.208–213. doi : 10.1016/j.scitotenv.2014.03.007.
- Zhou S., Shao Y., Gao N., Deng Y., Qiao J., Ou H., Deng J. (2013). Effects of Different Algaecides on the Photosynthetic Capacity, Cell Integrity and Microcystin-LR Release of *Microcystis Aeruginosa*. *Science of The Total Environment*, vol. 463–464 (October): p.111–119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.064>.
- Zhou Y., Yuan J., Wu J., Han X. (2012). The toxic effects of microcystin-LR on rat spermatogonia in vitro. *Toxicology Letters*, vol. 212(1): p.48-56. Doi :10.1016/j.toxlet.2012.05.001.
- Zhou L., Yu H., Chen K. (2002). Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomedical and Environmental Science*, vol. 15: p.166-117.
- Zilberg B. (1966). Gastroenteritis in Salisbury. European children--a five-year study. *Central African Journal of Medecine*, vol. 12: p.164-168.
- Zong W., Sun F., Sun X. (2013). Evaluation on the generative mechanism and biological toxicity of microcystin-LR disinfection by-products formed by chlorination. *Journal of Hazardous Material*, vol. 252-253: p. 293-299. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.03.010.
- Zong W., Wang X., Du Y., Zhang S., Zhang Y., Teng Y. (2017). Molecular Mechanism for the Regulation of Microcystin Toxicity to Protein Phosphatase 1 by Glutathione Conjugation Pathway, *Biomed Research International*, vol. 2017: article 9676504.
- Zuo S., Wan K., Ma S. (2015). Combined effect of predatory zooplankton and allelopathic aquatic macrophytes on algal suppression. *Environmental Technology*, vol. 36(15): p. 54-59.
- Zweigenbaum J.A., Henion J.D., Beattie K.A., Codd G.A., Poon G.K. (2000). Direct analysis of microcystins by microbore liquid chromatography electrospray ionization ion-trap tandem mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 23(4): p. 723-733.

## 16.2 Normes

FD T90-521 (2006). Guide technique de prélèvement pour le suivi sanitaire des eaux de piscines et baignades en application du Code de la Santé Publique. *In: Qualité de l'eau*. AFNOR, 18 p.

ISO /CD 22104. Water quality — Determination of microcystins — Method using liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with pre-screening by immunoassay. Under development

ISO/IEC 17025 (2017) General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

ISO 20179:2005(E). Water quality – Determination of microacystins – Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection. International Standard ISO 20179, first edition 2005-10-01, 17p.

NF EN ISO 5667-3, 2013. Échantillonnage - Partie 3 : Conservation et manipulation des échantillons d'eau. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 66 p.

NF EN ISO 7027-1, 2016. Détermination de la turbidité - Partie 1 : méthodes quantitatives. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 21 p.

NF EN ISO 7027-2, 2019. Détermination de la turbidité - Partie 2 : méthodes semi-quantitatives pour l'évaluation de la transparence de l'eau. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 12p.

NF EN ISO 10523, 2012. Détermination du pH. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 26 p.

NF EN ISO 19458, 2006. Échantillonnage pour analyse microbiologique. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 30 p.

NF EN 872, 2005. Dosage des matières en suspension. Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 16 p.

NF EN 15204, 2006. Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl). [Water quality. Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)]. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 39 p.

NF EN 16161, 2012. Lignes directrices sur l'utilisation de techniques d'absorption in vivo pour l'estimation de la concentration de chlorophylle-a dans des échantillons d'eau de mer et d'eau douce. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 30 p.

NF EN 16695, 2015. Lignes directrices pour l'estimation du biovolume des microalgues. [Water quality. Guidance on the estimation of phytoplankton biovolume]. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 106 p.

NF EN 25814, 1993. Dosage de l'oxygène dissous - Méthode électrochimique à la sonde. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 18 p.

NF ISO 10260, 1992. Mesurage des paramètres biochimiques. Dosage spectrométrique de la chlorophylle-a. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 6 p.

NF ISO 17289, 2014. Dosage de l'oxygène dissous - Méthode optique à la sonde. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 22 p.

NF T90-105-2, 1997. Dosage des matières en suspension. Méthode par centrifugation. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 10 p.

NF T90-117, 1999. Dosage de la chlorophylle a et d'un indice phéopigments. Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire [Water quality - Determination of chlorophyll a and of a pheopigments index. Molecular absorption spectrometric method]. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 11 p.

NF T 90-116, 1984. Essai des eaux - Dosage des chlorophylles a et b par chromatographie liquide haute performance (CLHP). Méthode de référence.

NF XP T90-719, 2017. Échantillonnage du phytoplancton dans les eaux intérieures. In: Qualité de l'eau. AFNOR, 32 p.

XP T 90-719, 2017. Qualité de l'eau - Échantillonnage du phytoplancton dans les eaux intérieures.

## 16.3 Législation et réglementation

Alberta health services, <https://www.albertahealthservices.ca/assets/news/advisories/ne-pha-bga-faq.pdf> ; <https://www.albertahealthservices.ca/news/bga.aspx> ; sites consultés le 8 août 2019

Butler N, Carlisle J, Linville R, 2012. Toxicological summary and suggested action levels to reduce potential adverse health effects of six cyanotoxins. Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency, Sacramento. 119 pages. [http://www.waterboards.ca.gov/water\\_issues/programs/peer\\_review/docs/calif\\_cyanotoxins/cyanotoxin\\_s053112.pdf](http://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/peer_review/docs/calif_cyanotoxins/cyanotoxin_s053112.pdf)

Conseil supérieur d'hygiène publique de France. Avis du 6 mai 2003 relatif aux recommandations pour la gestion des situations de contamination d'eaux de baignade et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries.

Government. "Governmental Decree No. 201 of 2001 (X.25.) on quality standards for drinking water and on rules of quality control", Hungary, 2001. En ligne : <http://www.fao.org/faolex/results/details/en/?details=LEX-FAOC097809>

Illinois Environmental Protection Agency, 2012. Algal toxins in fish - Fish consumption guidance memo (Tom Hornshaw). 2 pages. <http://www.epa.state.il.us/water/algal-bloom/docs/fish-toxin-advisory.pdf>, <http://www.epa.illinois.gov/topics/water-quality/surface-water/algal-bloom/resources/index>

Ministère en charge de la santé. "Circulaire DGS/SD 7 A n° 2003-270 du 4 juin 2003 relative aux modalités d'évaluation et de gestion des risques sanitaires face à des situations de prolifération de micro-algues (cyanobactéries) dans des eaux de zones de baignade et de loisirs nautiques". En ligne : <http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2003/03-26/a0261855.htm>

Ministère en charge de la santé. "Circulaire DGS/SD7 A 2004-364 du 28 juillet 2004 relative aux modalités d'évaluation et de gestion des risques sanitaires face à des situations de prolifération de micro-algues (cyanobactéries) dans des eaux de zones de baignades et de loisirs nautiques". En ligne : <http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2004/04-36/a0362536.htm>

Ministère en charge de la santé. "Circulaire DGS/SD7 A no 2005-304 du 5 juillet 2005 relative aux modalités d'évaluation et de gestion des risques sanitaires face à des situations de prolifération de micro-algues (cyanobactéries) dans des eaux de zones de baignades et de loisirs nautiques ". En ligne : <http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2005/05-08/a0080029.htm>

Ministère en charge de la santé. "Instruction N° DGS/EA4/2012/196 du 9 mai 2012 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour la saison balnéaire de l'année 2012". En ligne : [http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2012/05/cir\\_35298.pdf](http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2012/05/cir_35298.pdf)

Ministère en charge de la santé. "Instruction DGS/EA4 n° 2013-247 du 18 juin 2013 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour la saison balnéaire de l'année 2013"; En ligne: [http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2013/13-07/ste\\_20130007\\_0000\\_0090.pdf](http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2013/13-07/ste_20130007_0000_0090.pdf)

Ministère en charge de la santé. " Note d'information DGS/EA4/ no 2014/166 du 23 mai 2014 relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour chaque saison balnéaire à compter de l'année 2014". En ligne: [http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2014/14-07/ste\\_20140007\\_0000\\_0083.pdf](http://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2014/14-07/ste_20140007_0000_0083.pdf)

Ministère en charge de la santé. "note d'information DGS/EA4/2015/181 du 2 juin 2015 relative aux échéances de la saison balnéaire 2015, aux modalités de prévention et de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries ou d'amibes, à l'information du public à proximité des sites de baignades et à la mise à disposition du manuel pour l'utilisation de l'application SISE-Eaux de baignade". En ligne : <http://circulaire.legifrance.gouv.fr/index.php?action=afficherCirculaire&hit=1&r=39771>

Ministeria da saude. "Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011 dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade", Brazil, 2011. En ligne : [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html)

Ministerio de salud publica. "Normativa Decreto agua 375/011", Uruguay, 2011. En ligne : <http://www.msp.gub.uy/marco-normativo/normativa-decreto-agua-375011>

Ministry of agriculture. "Decree 252/2004 laying down potable water and warm water requirements and regulating check frequency", Czech Republic, 2004. En ligne: [http://extwprlegs1.fao.org/cgi-bin/faolex.exe?rec\\_id=058194&database=faolex&search\\_type=link&table=result&lang=eng&format\\_n\\_ame=@ERALL](http://extwprlegs1.fao.org/cgi-bin/faolex.exe?rec_id=058194&database=faolex&search_type=link&table=result&lang=eng&format_n_ame=@ERALL)

Ministry for the environment and water resources. "Environmental public health (quality of piped drinking water) regulations", Singapour, 2008. En ligne : <https://sso.agc.gov.sg/SL/EPHA1987-S35-2008?DocDate=20080129&ProvIds>

Ministerio della salute. "Decreto legislativo n°31 del 2 febbraio 2001", Italy, 2001. En ligne: [https://www.arpal.gov.it/images/stories/testi\\_normative/DLgs\\_31-2001.pdf](https://www.arpal.gov.it/images/stories/testi_normative/DLgs_31-2001.pdf)

Ministry of health. "Drinking water standards for New Zealand". New Zealand, 2008. En ligne: <https://www.health.govt.nz/publication/drinking-water-standards-new-zealand-2005-revised-2008>

Ministry of health. "National decree 79/869/AB and 75/440/AB". Turkey.

Ministry of health of china. "Drinking water standard". GB 5749-2006, Beijing : China Standard Publications, 2007. En ligne : [http://www.iwa-network.org/filemanager/uploads/WQ\\_Compendium/Database/Selected\\_guidelines/016.pdf](http://www.iwa-network.org/filemanager/uploads/WQ_Compendium/Database/Selected_guidelines/016.pdf)

Mulvenna, V., Dale, K., Priestly, B., Mueller, U., Humpage, A., Shaw, G., Allinson, G., Falconer, I., 2012. Health risk assessment for cyanobacterial toxins in seafood. International Journal of Environmental Research and Public Health 9, 807-820.

Ohio, 2010. State Of Ohio, Cooperative Fish Tissue Monitoring Program, Sport Fish Tissue Consumption Advisory Program. 26 pages. <http://www.epa.state.oh.us/portals/35/fishadvisory/FishAdvisoryProcedure.pdf> ; [http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=11&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjdo4S5m\\_XjAhWuxlUKHS3uBocQFjAKegQIAhAB&url=http%3A%2F%2Fwatercraft.ohiodnr.gov%2Feducation-safety%2Fsafety-library%2Fhealth-safety%2Fharmful-algal-blooms&usq=AOvVaw0iley3-J9QNTpaKgWOVWhO](http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=11&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjdo4S5m_XjAhWuxlUKHS3uBocQFjAKegQIAhAB&url=http%3A%2F%2Fwatercraft.ohiodnr.gov%2Feducation-safety%2Fsafety-library%2Fhealth-safety%2Fharmful-algal-blooms&usq=AOvVaw0iley3-J9QNTpaKgWOVWhO) ; site consulté le 8 août 2019

Oregon Health Authority, 2015. Fishing and blue-green algae blooms.

[https://www.oregon.gov/oha/PH/HEALTHYENVIRONMENTS/RECREATION/HARMFULALGAEBLOOMS/Documents/fishermanAlgae\\_factsFINAL.pdf](https://www.oregon.gov/oha/PH/HEALTHYENVIRONMENTS/RECREATION/HARMFULALGAEBLOOMS/Documents/fishermanAlgae_factsFINAL.pdf). Site consulté le 8 août 2019

<https://www.oregon.gov/oha/PH/HEALTHYENVIRONMENTS/RECREATION/HARMFULALGAEBLOOMS/Pages/HarmfulAlgaeBloomsinPrivately-OwnedPondsandLakes.aspx> site consulté le 8 août 2019

Testai, E., Buratti, F. M., Funari, E., Manganelli, M., Vichi, S., Arnich, N., Bire R, Fessard V, Sialehaamo A, 2016. Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA supporting publication 2016:EN-998. 309 pp. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>

## 16.4 Sources

<https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:231226/FULLTEXT01.pdf>

[Cyanobactéries et cyanotoxines](https://planet-vie.ens.fr/content/cyanobacteries-et-cyanotoxines), Planet-Vie, Mardi 7 octobre 2008, <https://planet-vie.ens.fr/content/cyanobacteries-et-cyanotoxines>

<http://www.letelegramme.fr>

<http://www.ouest-france.fr/>

<http://www.letelegramme.fr/cotes-darmor/dinan/qualite-de-l-eau-des-guetteurs-pour-les-cyanobacteries-dans-la-rance-07-07-2015-10695982.php>

[http://www.lamontagne.fr/charbonnieres-les-vieilles/environnement/2016/09/04/on-a-enfin-retrouve-notre-gour\\_12056485.html](http://www.lamontagne.fr/charbonnieres-les-vieilles/environnement/2016/09/04/on-a-enfin-retrouve-notre-gour_12056485.html) =impact économique dév Puy Dome/Auvergne Rhone Alpes

<http://www.macomune.info/article/pollution-de-la-loue-des-associations-de-protection-de-l%E2%80%99environnement-se-reveillent%E2%80%A6>

<http://www.journaldelenvironnement.net/article/l-agence-adour-garonne-s-attaque-aux-cyanobacteries,34430>

<http://www.ladepeche.fr/article/2015/07/21/2147250-c-est-interdit-mais-on-se-baigne-quand-meme.html>

<https://www.espace-prive.eau-seine-normandie.fr/index.php?id=3288>




---

# ANNEXES

---



## Annexe 1 : Lettre de saisine



LIBERTÉ • ÉGALITÉ • FRATERNITÉ  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTÉ**

**DIRECTION GÉNÉRALE DE LA SANTÉ**  
Sous-direction de la prévention des risques  
liés à l'environnement et à l'alimentation  
Bureau Qualité des eaux  
DGS/EA4 n° 284

Béatrice JÉDOR  
☎ : 01.40.56.45.99  
[beatrice.jedor@sante.gouv.fr](mailto:beatrice.jedor@sante.gouv.fr)

Boris GARRO  
☎ : 01.40.56.57.35  
[boris.garro@sante.gouv.fr](mailto:boris.garro@sante.gouv.fr)

Paris, le **19 JUL. 2016**

Le Directeur général de la santé

à

Monsieur le Directeur général  
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire  
de l'alimentation, de l'environnement  
et du travail  
Direction de l'Évaluation des Risques  
(D.E.R.) - UERE  
14 rue Pierre et Marie Curie  
94701 MAISONS ALFORT CEDEX

**OBJET** : Demande d'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives

**REF** : DGS EA4 N° 160008 (*numéro de dossier à rappeler dans toute correspondance*)

En janvier 2001, le ministère chargé de la santé a saisi l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) afin d'effectuer une évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries dans les eaux destinées à la consommation humaine. En mars 2004, les ministères chargés de l'environnement et de la santé ont saisi l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) afin de procéder à l'évaluation des risques sanitaires encourus par les baigneurs et les autres usagers des plans et cours d'eau et de proposer des valeurs limites de qualité relatives à la concentration de cellules et/ou toxines dans les eaux de baignade. En juillet 2006, les deux agences ont publié un rapport commun<sup>1</sup> en réponse à ces deux saisines.

S'agissant de l'eau destinée à la consommation humaine (EDCH), les recommandations de l'Afssa de juillet 2006 sont appliquées par les Agences régionales de santé (ARS) pour gérer les risques sanitaires en cas d'efflorescence de cyanobactéries dans une retenue d'eau utilisée pour produire de l'EDCH. Depuis 2004, les analyses de cyanobactéries et cyanotoxines dans les eaux utilisées pour produire de l'eau potable et dans les EDCH se sont poursuivies en métropole et dans les départements d'Outre-mer. Des cyanobactéries potentiellement toxigènes ont récemment été observées dans des retenues utilisées pour produire de l'EDCH, à Mayotte notamment : *Cylindrospermopsis*, *Planktolyngbya*, *Aphanizomenon*, *Aphanothece*, *Dolichospermum*, *Pseudanabaena*, *Oscillatoria*. Ces cyanobactéries peuvent produire des cyanotoxines (anatoxine-a, saxitoxine, cylindrospermopsine, debormalplysiatoxine, aplysiatoxine, lipopolysaccharides,...) pour lesquelles aucune donnée sur une valeur sanitaire acceptable ne figure dans le rapport précité.

S'agissant des eaux de baignade, les recommandations de l'Afsset ont été mentionnées dans différentes circulaires élaborées par mes services. En février 2015, un groupe de travail composé d'agents d'Agences régionales de santé (ARS) concernées par cette problématique a été réuni par la

---

<sup>1</sup> Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives ; Afssa - Afsset ; Juillet 2006

14 avenue Duquesne – 75350 PARIS 07 SP - Tél. : 01 40 56 60 00 – Télécopie : 01 40 56 50 56 – [www.sante.gouv.fr](http://www.sante.gouv.fr) – [www.sante.fr](http://www.sante.fr)

DGS afin de dresser un état des lieux concernant la gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans les eaux de baignade. Bien qu'il était fait état à cette occasion d'un nombre très limité d'effets sanitaires liés aux cyanobactéries, il apparaît des difficultés de gestion importantes liées notamment aux seuils de cyanobactéries entraînant une interdiction de la baignade. Le constat a également été fait que les ARS disposent désormais de nombreuses données relatives aux cyanobactéries et cyanotoxines dans les eaux de baignade susceptibles d'apporter un éclairage sur les niveaux de contamination en cyanobactéries. Ces données n'étaient pas disponibles lorsque l'Afsset avait réalisé son évaluation des risques en 2006.

Aussi, il apparaît opportun de solliciter l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail afin d'actualiser l'expertise de 2006 à la lumière des nouvelles connaissances scientifiques et des nombreuses données d'exposition accumulées par les ARS depuis une dizaine d'années. Le contexte ultra-marin devra être pris en considération.

En regard de ces nouvelles données, je vous demande donc :

- eu égard au niveau de risque sanitaire et des moyens de gestion existants, d'actualiser les valeurs limites de qualité relatives à la concentration de cyanobactéries (dénombrement cellulaire, biovolume ou tout autre indicateur pertinent) et/ou de toxines dans les eaux destinées à l'alimentation et les eaux de baignade, en particulier pour les cylindrospermopsine et saxitoxine ;
- d'actualiser la liste des espèces de cyanobactéries toxigènes.

Par ailleurs, la disparité observée dans les laboratoires agréés s'agissant des méthodes analytiques utilisées pour le prélèvement, le dénombrement et la détermination des cyanobactéries dans les eaux destinées à la consommation humaine, à la baignade et à autres activités récréatives soulèvent des difficultés importantes en termes d'interprétation et de gestion des risques sanitaires par les ARS. Aussi, l'expertise scientifique et technique du laboratoire d'hydrologie de Nancy a été sollicitée afin de réaliser un recensement et une évaluation des méthodes de prélèvement et d'analyses pour le dénombrement et la détermination des cyanobactéries dans les EDCH, les eaux de baignade et autres eaux récréatives. Cette expertise aboutira à des recommandations à destination des laboratoires et, à terme, permettra la rédaction d'un référentiel en concertation avec les organismes de normalisation, d'accréditation et les associations de laboratoires.


Cette saisine, qui fait partie du programme de travail 2016, est enregistrée à la Direction générale de la santé sous l'intitulé suivant :

**DEMANDE D'ACTUALISATION DE L'EVALUATION DES RISQUES LIES A LA  
PRESENCE DE CYANOBACTERIES ET LEURS TOXINES DANS LES EAUX  
DESTINEES A L'ALIMENTATION, A LA BAIGNADE ET AUTRES ACTIVITES  
RECREATIVES**

et porte le numéro : 160008.

Je vous remercie de bien vouloir me transmettre, dans les meilleurs délais, votre proposition de contrat d'expertise comprenant notamment les modalités de traitement et de restitution des travaux, dont le rendu final est attendu pour la fin du 1<sup>er</sup> semestre 2018 ; des premiers éléments issus de l'expertise, en particulier l'actualisation des valeurs limites, sont attendus d'ici fin 2017.

Le Directeur Général de la Santé,

  
Professeur Benoît VALLET

## Annexe 2 : Protocole de la revue systématique relative à la construction des valeurs toxicologiques de références pour la microcystine, la cylindrospermopsine et la saxitoxine

### Requête pour la microcystine.

Date de la dernière consultation : 31 mai 2018

#### Requête SCOPUS

TITLE-ABS-KEY

(toxicokinetic OR (absorption and ADME) OR (distribution and ADME) OR metabolism OR (excretion and ADME) OR ADME OR OATP OR transporters OR intestinal OR BBB OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR CYP OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic)

AND

(microcystin\* OR "MC-LR" OR "MC-YR" OR "MC-RR" OR "MC-AR" OR "MC-LF" OR "MC-LW" OR "MC-FR" OR "MC-deLR" or "MC-deRR" OR "MC-deLW" OR "MC-deLF" OR "MC-(O)Y" OR "MC-m[Glu(OCH<sub>3</sub>)]-LR")

#### Requête PUBMED

ALL FIELDS

(toxicokinetic OR (absorption and ADME) OR (distribution and ADME) OR metabolism OR (excretion and ADME) OR ADME OR OATP OR transporters OR intestinal OR BBB OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR CYP OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic)

AND

(microcystin\* OR "MC-LR" OR "MC-YR" OR "MC-RR" OR "MC-AR" OR "MC-LF" OR "MC-LW" OR "MC-FR" OR "MC-deLR" or "MC-deRR" OR "MC-deLW" OR "MC-deLF" OR "MC-(O)Y" OR "MC-m[Glu(OCH<sub>3</sub>)]-LR")

### Requête pour la cylindrospermopsine

Date de la recherche bibliographique : 01/03/2018 - 31/05/2018

#### Requête SCOPUS

TITLE-ABS-KEY

(toxicokinetic OR (absorption and ADME) OR (distribution and ADME) OR metabolism OR (excretion and ADME) OR ADME OR OATP OR transporters OR intestinal OR BBB OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR CYP OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic)

AND

(cylindrospermopsin\*)

**Requête PUBMED**

ALL FIELDS

(toxicokinetic OR (absorption and ADME) OR (distribution and ADME) OR metabolism OR (excretion and ADME) OR ADME OR OATP OR transporters OR intestinal OR BBB OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR CYP OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic)

AND

(cylindrospermopsin\*)

**Requête pour la saxitoxine**

Date de la recherche bibliographique : 26/11/2018 au 17/12/2018

**Requête SCOPUS**

TITLE-ABS-KEY ( saxitoxin\* ) AND TITLE-ABS-KEY ( toxicokinetic OR ( absorption AND adme ) OR ( distribution AND adme ) OR metabolism OR ( excretion AND adme ) OR adme OR oatp OR transporters OR intestinal OR bbb OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR cyp OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic )

**Requête PUBMED**

ALL FIELDS

(( ( toxicokinetic OR ( absorption AND adme ) OR ( distribution AND adme ) OR metabolism OR ( excretion AND adme ) OR adme OR oatp OR transporters OR intestinal OR bbb OR "blood brain barrier" OR "placental barrier" OR "glutathione transferases" OR cyp OR "cytochrome P450" OR cytotoxicity OR toxicity OR "adverse effects" OR mortality OR genotoxicity OR carcinogenicity OR "reproductive toxicity" OR neurotoxicity OR immunotoxicity OR vitro OR "in vivo" OR liver OR kidney OR sperm OR ovary OR testicles OR thyroid OR brain OR "mode of action" OR mechanism OR "short-term" OR acute OR "long-term" OR chronic )))

AND

( saxitoxin\* )

### Annexe 3 : Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines

<b>Revue systématique</b>	<b>Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les microcystines</b>
Reference saisine Anses	2015-SA-0207
Thème	Données de contamination par les microcystines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (microcystin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	(22 février) 2016 au 31 décembre 2018
Nombre de références trouvées	130
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	((microcystin[Title/Abstract] OR microcystins[Title/Abstract] OR microcystine[Title/Abstract] OR microcystines[Title/Abstract])) AND (fish[Title/Abstract] OR fishes[Title/Abstract])
Date	(22 février) 2016 au 31 décembre 2018
Nombre de références trouvées	102
<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	232
Nombre de références en double détectées par EndNote	71
Nombre de références sans les références en double détectées par EndNote	153
Références trouvées en double par le rédacteur	17
Nombre final sans les références en double	<b>144</b>
Date	18 janvier 2019
<b>Première étape de sélection</b> (titre et résumé, article en entier dans certains cas)	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	120
Espèce de poisson non d'eau douce	0
Etudes sur Zebrafish, Medaka	37
Pas de concentration en MC dans les poissons	73

Etude en laboratoire	2
Article de revue sans concentration en MC dans les poissons	7
Langue autre que français ou anglais	1 (en chinois)
Nombre de références retenues pour la 2 <sup>nd</sup> étape de sélection	<b>24</b>
Date	18 janvier 2019
<b>Seconde étape de sélection</b> (articles en entier)	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	23
Nombre de références incluses dans l'inventaire	1
Date	6 février 2019

Dans un fichier ENDNOTE comportant l'ensemble des références identifiées, toutes les étapes de sélection ont été tracées dans des dossiers séparés.

Critères d'inclusion lors de l'étape de première sélection des articles :

- Espèces de poissons d'eau douce
- Etude comportant des résultats de concentration en microcystines dans les tissus de poissons
- Etude de terrain (environnement naturel)

Critères d'inclusion lors de l'étape de seconde sélection des articles :

- Méthode analytique jugée suffisamment fiable pour la quantification des microcystines (limites de détection et de quantification, rendement d'extraction)
- Concentration exprimée en masse de matière fraîche (pas en matière sèche)
- Pays européen

Critères d'exclusion :

- Espèce de poisson non d'eau douce
- Etudes sur Zebrafish, Medaka
- Animaux autres que des poissons
- Poissons morts
- Etude ne comportant pas de résultat de concentration en microcystines dans les tissus
- Etude en laboratoire d'exposition des poissons aux microcystines
- Toxines autres que des microcystines
- Articles de revue
- Langue autre que français et anglais
- Articles non disponibles en entier

## Annexe 4 : Détails des circonstances d'expositions aux cyanotoxines relatives à une activité de baignade

Tableau LXXIII : détail des circonstances d'exposition relatives à une activité de baignade

Circonstances d'exposition	Nombre de personnes concernées	Lieu d'exposition	Information sur la présence de cyanobactéries
Professionnelle	1 personne	Lac de Souppes-sur-Loing	Maitre-nageur sur un lac. Des analyses ont confirmé la présence de cyanobactéries bien qu'à de faibles taux
Sport nautique	1 personne	Lac	Planche à voile sur un lac interdit à la baignade en raison de la présence de cyanobactéries
Sport nautique	1 personne	Plan d'eau	Canoé kayak sur un plan d'eau en alerte de niveau 3 (baignade et sports nautiques interdits) en raison de la présence de cyanobactéries
Sport nautique	1 personne	Lac de Ploermel	Sport nautique sur un lac interdit à la baignade pour cause de cyanobactéries
Sport nautique	1 personne	Lac	Activité nautique dans un lac contaminé par des cyanobactéries
Pêche à pied	1 personne	Rivière Thouet	Pêche à pied sans équipement de protection individuelle dans un lac où la baignade était interdite pour cause de cyanobactéries
Pêche à pied	1 personne	Non renseignée	Pêche à pied dans une eau trouble et verdâtre
Alimentaire	1 personne	Non renseignée	Consommation d'eau du robinet. Mise en évidence de cyanobactéries du genre <i>Lyngbia</i>
Alimentaire	1 personne	Lac de Moulin Neuf	Consommation de poissons pêchés dans un lac interdit à la pêche en raison de la présence de cyanobactéries
Alimentaire	1 personne	Lac de la forêt d'Orient	Consommation de l'eau du lac. Baignade non interdite et qualité des eaux surveillée
Baignade	5 personnes	Base nautique du bassin du Messein	Baignade autorisée Après prélèvements, confirmation de la présence de cyanobactéries sur le site (2 365 570 cellules/ml)
Baignade	1 personne	Etang des marais à Remering les Puttelanges	Au bord de l'étang, affiche signalant la contamination de l'eau par des cyanobactéries. La baignade dans l'étang était réouverte depuis peu
Baignade	1 personne	Etang de Rochefort en Terre	Baignade dans l'étang interdite en raison de la présence de cyanobactéries. Panneau présent au bord de l'étang mais non vu.
Baignade	3 personnes	Lac	Baignade apparemment interdite en raison de la présence de cyanobactéries
Baignade	1 personne	Lac de Lavaud Gelade	Prélèvements avec présence de 400 000 cellules/ml Installation du panneau interdisant la baignade
Baignade	2 personnes	Lac de Royère de Vassivière	Présence de cyanobactéries signalée par un panneau n'interdisant pas la baignade mais stipulant qu'une douche soigneuse était conseillée en cas de baignade
Baignade	1 personne	Rivière de la Drôme	Pas de précision sur l'interdiction ou non de baignade mais notion de chiens décédés

Baignade	1 personne	Etang	Enlèvement d'algues dans un étang contaminé par des cyanobactéries
Baignade	1 personne	Lac de Saint Pardoux	Cyanobactéries présentes mais à un taux autorisant la baignade
Baignade	1 personne	Etang d'Apinié	Baignade interdite par mesure préventive
Baignade	2 personnes	Lac Ribou	Baignade interdite en raison de la présence de cyanobactéries avec présence d'un panneau explicatif que les personnes n'ont pas vu
Baignade	2 personnes	Lac	Baignade interdite par arrêté préfectoral 3 jours après l'exposition en raison de la présence de cyanobactéries
Baignade	2 personnes	Lac de Tremellin	Baignade autorisée mais niveau 1 d'alerte
Baignade	1 personne	Lac de Maine	Interdiction de baignade levée 3 jours avant
Baignade	1 personne	Plan d'eau	Plan d'eau fermé à la baignade 3 jours après l'exposition du fait de la présence de cyanobactéries
Baignade	1 personne	Lac	Lac fermé par la suite en raison de la présence de cyanobactéries
Baignade	1 personne	Etang à Acigné	Baignade interdite peu après du fait de la présence de cyanobactéries
Baignade	1 personne	Rivière à Saint Jean de Niost	Alerte de l'ARS concernant la présence de cyanobactéries et le décès d'un chien
Baignade	1 personne	Lac	Baignade dans un lac à eau verte
Baignade	2 personnes	Lacs aux Ducs	Baignade dans une eau interdite pour cause de cyanobactéries
Baignade	2 personnes	Rivière (Indre)	Baignade dans une eau non interdite mais stagnante
Baignade	1 personne	Lac de la Chapelle Erbrée	Baignade dans une eau interdite pour cause de cyanobactéries
Baignade	1 personne	Base de loisirs de Montjean sur Loire	Pas d'information
Baignade	1 personne	Retenue d'eau La bruyère	Eclaboussé par de l'eau contenant des cyanobactéries
Baignade	1 personne	Base de loisirs de l'Île Charlemagne	Baignade dans un base nautique sans interdiction
Baignade	1 personne	Lac d'Aydat	Lac fermée à la baignade le soir même en raison de la présence de cyanobactérie
Baignade	1 personne	Lac de Superbesse	Eau interdite à la baignade. Taux de cyanobactéries : 130 000 cellules/ml
Baignade	1 personne	Lac de Naussac	Baignade dans le lac. Notion de chiens décédés
Baignade	1 personne	Rivière	Pas d'information
Baignade	2 personnes	Etang	Alerte pour cyanobactéries dans l'étang concerné
Baignade	3 personnes	Lac de Malsaucy	Alerte par l'ARS pour cause de cyanobactéries dans le lac
Baignade	2 personnes	Lac de Malsaucy	Alerte par l'ARS pour cause de cyanobactéries dans le lac

Source : SICAP.





## Annexe 5 : Clé de détermination visuelle d'une prolifération de cyanobactéries planctoniques








CARACTERES GENERAUX DES CYANOBACTERIES	
Couleur	Les cyanobactéries sont appelées « algues bleues », elles sont généralement bleues - vertes, cependant certaines sont de couleur rouge.
Taille des particules	Les particules peuvent être à peine perceptibles de près, leur agglomération peut mesurer seulement quelques millimètres voire moins.
Odeur	Des odeurs de gazon fraîchement coupé ou d'ordures peuvent accompagner un fort développement (efflorescence).
Zone de prolifération	Les proliférations peuvent s'étendre sur tout le plan d'eau ou être très localisées (anses calmes, orientation aux vents dominants).
Localisation dans la colonne d'eau	Les proliférations de cyanobactéries peuvent occuper la surface de l'eau mais aussi la colonne d'eau sur 1 ou plusieurs mètres de profondeur.
Apparence	Les cyanobactéries peuvent présenter différents aspects notamment en fonction du stade de développement : <ul style="list-style-type: none"> <li>✗ simples particules dispersées pouvant rendre l'eau turbide,</li> <li>✗ masse importante dans la colonne d'eau - « purée de pois »,</li> <li>✗ film, traînées de surface ressemblant à un déversement de peinture,</li> <li>✗ écume colorée.</li> </ul>

### RAPPEL : EN CAS DE PROLIFÉRATION DE CYANOBACTÉRIES, LE RÉSEAU DE SURVEILLANCE DOIT :

- remplir la fiche d'observations,
- contacter le SMGBL, pour éventuellement effectuer un prélèvement.

CLE DE DETERMINATION		
1. Observer de près le phénomène et vérifier s'il comporte des « particules », des « éléments » flottants ou en suspension dans la colonne d'eau.	Absence de particules.	Ce n'est pas une prolifération de cyanobactéries
	Présences de particules, d'éléments flottants.	Aller au 2
2. Prendre des gants en latex,  Passez votre main dans la zone de prolifération en écartant légèrement les doigts,  Laissez couler l'eau.	Si de longues masses fibreuses plus ou moins rigides pendent à vos doigts. 	Aller au 3
	S'il ne reste rien ou juste quelques morceaux visqueux collés à vos gants. 	Aller au 4
3. La masse garde-t-elle sa forme hors de l'eau avec des éléments de formes différentes ?	Oui, avec des feuilles, des tiges et des racines.	<b>Plantes aquatiques - A</b>
	Non, filaments minces de formes identiques.	<b>Algues filamenteuses - B</b>
4. Une partie de la prolifération est-elle fixée au fond au moins partiellement ?	Oui	Aller au 5
	Non	Aller au 6
5. Quelle est la couleur et l'allure de la prolifération ?	Masse floconneuse de couleur jaunâtre à brunâtre.	<b>Probablement un genre de diatomée : <i>Didymosphenia</i> - C</b>
	Tapis assez fins, plus ou moins visqueux de couleur verte à brune.	<b>Périphyton - D</b>
6. Quelle est la couleur et l'aspect de la prolifération ?	Particules flottantes d'apparence poudreuse, de couleur jaunâtre.	<b>Pollens ou spores - E</b>
	Particules brunes en suspension dans la colonne d'eau.	<b>Diatomées planctoniques - F</b>
	Mousse en surface de couleur beigeâtre.	<b>Mousses lacustres - G</b>
	Particules de couleur essentiellement bleu-vert ou rouge, sous forme d'amas, de billes dans la colonne d'eau et/ou en surface.	<b>Cyanobactéries - H</b>

Version 3.0

DESCRIPTION DES DIFFERENTS TYPES DE PROLIFERATIONS				
Type	Noms	Couleurs	Caractéristiques	Photos
A	Plantes aquatiques Macrophytes vasculaires	Vert, brun	Composées de feuilles, tiges, racines, thalles dont tout ou partie peut flotter. <i>Aspect de particules ou de tapis flottants.</i>	 C. Laplace-Treytoure
B	Algues filamenteuses Macrophytes non vasculaires	Vert	Filaments minces, très souples qui flottent souvent à la surface de l'eau ou accrochés à un support. <i>Parfois aspect de cheveux mêlés.</i>	 C. Laplace-Treytoure
C	<i>Didymosphenia</i> Microalgues de la famille des diatomées	Entre blanc et jaune brunâtre	Filaments formant des amas visibles à l'œil nu. <i>Humide la texture s'apparente à de la laine mouillée et en séchant à du parchemin.</i>	 V. Bouchareychas, 2012
D	Périphyton Algues benthiques	Verdâtre, brun	Tapis visqueux ayant une apparence plus ou moins mousseuse. <i>Lorsqu'il est mort et séché, il peut avoir l'aspect du papier.</i>	 C. Chauvin
E	Pollens ou spores	Jaunâtre	Particules flottantes d'apparence poudreuse.	
F	Diatomées Microalgues siliceuses unicellulaires planctoniques	Brunâtre	Particules en suspension donnant une eau turbide.	 C. Laplace-Treytoure
G	Les mousses lacustres	Beigeâtre, blanchâtre	Elles peuvent accompagner une efflorescence de cyanobactéries ou se produire à la suite d'un épisode de vent. Elles sont remarquables lorsqu'elles s'accumulent en bordure.	

Version 3.0

H	EXEMPLES D'EFFLORESCENCE DE CYANOBACTERIES OBSERVES	
<p>Simple particules dispersées pouvant rendre l'eau turbide</p>		
<p>Masse importante dans la colonne d'eau type « Purée de pois »</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">M. Roux, CSP, 2001</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">L. Pickhahn</p>
<p>Film, trainées en surface type « Déversement de peinture »</p>	 <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); font-size: small;">L. Pickhahn</p>	
<p>Ecume colorées en bleu-vert ou brunâtres</p>		

CONTACTS & COMPLÉMENTS D'INFORMATION

SMGBL - Julien Lauqué - 06 45 49 56 67 - baignades40@orange.fr - <http://smgbl.free.fr>



Version 3.0

## Annexe 6 : Questionnaire de recensement des pratiques des ARS en matière de surveillance et de gestion des cyanobactéries et de leurs toxines

(à remplir pour chaque département –la transmission d'un fichier colligé par ARS est demandé)

ARS : .....

Département : .....

Personne contact : .....

### I. EAUX RECREATIVES (BAIGNADES & ZONES DE LOISIRS NAUTIQUES)

#### ❖ Stratégie générale de la surveillance

##### 1) Une surveillance des cyanobactéries et/ou de leurs toxines est-elle réalisée dans le département ?

	NON	OUI	Nb sites	Année démarrage surveillance	Période d'interruption de la surveillance	Année fin surveillance
Zones de baignades						
Zones de loisirs nautiques (ZLN)						
Autres ( <i>préciser</i> )						

##### 2) Quels sont les paramètres de la surveillance ?

- Présence de cyanobactéries (CYANO BQ)
- Dénombrement de cellules de cyanobactéries (CYANO BA)
- Dénombrement de colonies de cyanobactéries (CYANO B2)
- Dénombrement de cellules de cyanobactéries potentiellement toxiques toxinogènes (CYANO TOX)
- % de colonies de cyanobactéries (CYANO B1)
- Identification et dénombrement des genres de cyanobactéries (CYANO 01 à 49)
- Identification et dénombrement des espèces de cyanobactéries
- Chlorophylle A (CHLA)
- pH

- Transparence Secchi
- Changement anormal de coloration
- Concentration en phosphore
- Température de l'eau
- Température de l'air
- Turbidité
- Anatoxine a
- Cylindrospermopsine
- Saxitoxine
- BMAA
- Nodularine
- Microcystine LR
- Microcystine RR
- Microcystine YR
- Somme des microcystines analysées (MCTOT)
- Autres (à préciser)
- Observations ( poissons morts, mousse, déchets, etc.)

Observations

**3) Quelle est la période de surveillance sanitaire effectuée par l'ARS ?**

**4) Quelle est la fréquence de surveillance des paramètres (préciser les principes) ?**

**5) Quels sont les coûts (HT) liés à la surveillance mise en œuvre ?**

- Pour le prélèvement et mesures terrain
- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
- Pour les analyses de toxines :

**6) Qui supporte le coût de la surveillance ?**

- Les collectivités/gestionnaires des sites surveillés
- L'ARS
- Autres (*préciser : subventionnement Agence de l'Eau, Conseil Départemental, etc...*)

## ❖ Méthodes de prélèvement et d'analyses

7) Préciser le protocole appliqué pour la réalisation des prélèvements d'eau : échantillon d'eau unique/ mélange de plusieurs échantillons d'eau, localisation des prélèvements (bord de rive et/ou éloigné de la rive ; surface et/ou colonne d'eau), matrice (eau, substrat), conservation au Lugol, etc... ?

8) Quelles sont les techniques analytiques utilisées ?

- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
  - Microscopie optique droite et cellules de numération
  - Microscopie inversée et chambres de sédimentation (méthode Utermöhl)
  - Autres (*préciser*)
  
- Pour l'analyse des toxines :
  - Tests enzymatiques
  - Tests immunologiques (tests ELISA)
  - Chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (HPLC -MS ; HPLC-MS/MS)
  - Chromatographie en phase liquide et détection UV (HPLC-UV)
  - Autres (*préciser*)

9) Comment le résultat de l'analyse des toxines est-il exprimé ?

- Sur la fraction biomasse uniquement
- Sur la fraction dissoute uniquement
- Sur la fraction totale uniquement (biomasse + fraction dissoute)
- Sur la fraction totale (biomasse + fraction dissoute), la fraction dissoute et la fraction biomasse

10) Quels sont les délais de restitution des résultats ?

- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
  - ≤ 48 h
  - > 48 h et ≤ 5 j
  - ≥ 5 j (à préciser)
- Pour l'analyse des toxines :
  - ≤ 48 h
  - > 48 h et ≤ 5 j
  - ≥ 5 j (à préciser)

## ❖ Bancarisation et disponibilité des résultats

### 11) Les données issues de la surveillance sont-elles bancarisées dans SISE-Baignades ?

- Oui (préciser le cas échéant s'il existe une distinction entre baignades et ZLN)
- Non

### 12) Si oui, préciser les modalités de bancarisation ?

Paramètre	NON	OUI	Année démarrage bancarisation
Présence de cyanobactéries (CYANOBQ)			
Dénombrement de cellules de cyanobactéries (CYANOBA)			
Dénombrement de colonies de cyanobactéries (CYANOB2)			
Dénombrement des cellules de cyanobactéries potentiellement toxiques (CYANTOX)			
% de colonies de cyanobactéries (CYANOB1)			
Dénombrement détaillé par genre (CYANO 01 à 49)			
Résultat de l'analyse des toxines			
Autres paramètres (préciser)			

### 13) Sinon, les données (préciser lesquelles et sur quelle période) sont-elles disponibles sous un autre format numérique exploitable (tableur, base de données) ?

## ❖ Gestion des résultats et mesures sanitaires

### 14) Indiquer la stratégie de gestion des risques sanitaires appliquée dans votre département :

- seuils de gestion
  - modalités d'interdictions/restrictions des usages et de levée des interdictions/restrictions
  - prise en compte du caractère toxigène des espèces
  - gestion des situations d'écumes/mousse
  - valeurs sanitaires de référence utilisées pour les toxines, etc...)
- Pour la baignade et les activités de loisirs nautiques
- Pour la pêche/ consommation de poissons de pêche



**15) Avez-vous rencontré des difficultés dans la mise en œuvre de ces mesures de gestion ?***Réponse libre***16) Avez-vous eu connaissance de signaux sanitaires (humains ou animaux) potentiellement en lien avec la présence de cyanobactéries ?**

- Non
- Oui, préciser

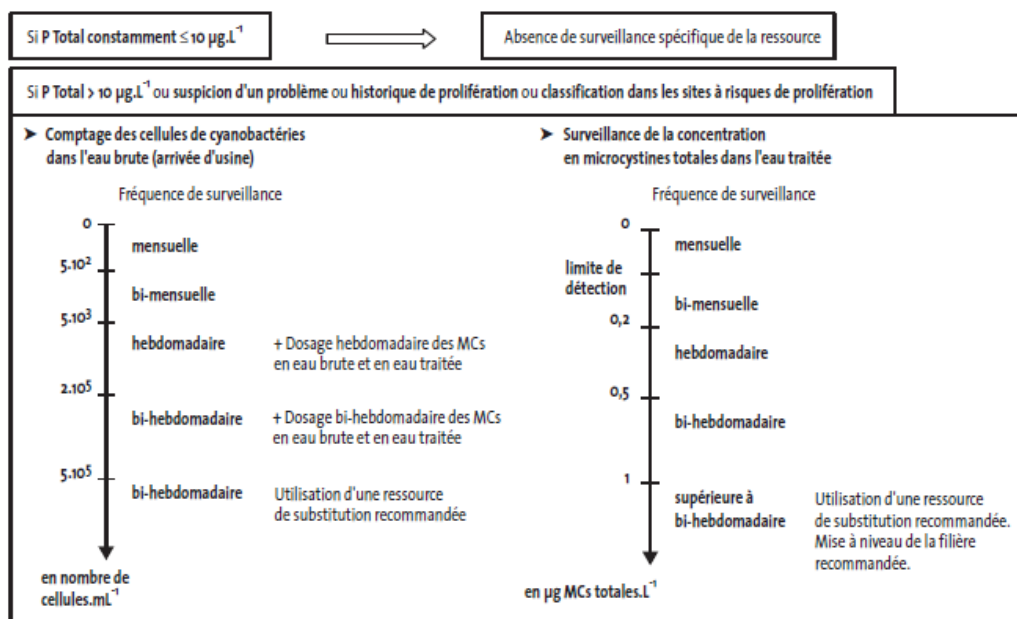
**II. EAU DESTINEE A LA CONSOMMATION HUMAINE****❖ Stratégie générale de la surveillance****17) Une surveillance des cyanobactéries et/ou de leurs toxines est-elle réalisée sur les installations d'alimentation en EDCH dans le département ?**

	NON	OUI	Nb sites	Nature des sites*	Année de démarrage de la surveillance
Eau brute					
Eau traitée (sortie de production)					
Eau distribuée (robinet)					
Autres ( <i>préciser</i> )					

*\*Retenue, prise d'eau en rivière, bassin de stockage, etc.***18) Quels sont les paramètres de la surveillance ?***Voir question 2) pour la liste des paramètres***19) Quelle est la période du contrôle sanitaire par l'ARS ?****20) Quelle est la stratégie de surveillance adoptée ?**

- En référence à l'arbre décisionnel figurant dans le rapport AFSSA-AFSSET de juillet 2006 (cf. infra)

Figure VIII-1 : Proposition de stratégie de surveillance des eaux destinées à la consommation humaine vis-à-vis des risques liés aux cyanotoxines. Les fréquences proposées sont maintenues tant que deux résultats consécutifs situés au niveau inférieur n'ont pas été obtenus.



Selon une stratégie élaborée localement (à préciser/joindre si possible)

## 21) Quels sont les coûts (HT) liés au contrôle et à la surveillance mise en œuvre ?

- Pour les prélèvements et mesures *in situ*
- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
- Pour les analyses de toxines :

## 22) Qui supporte le coût du contrôle sanitaire ?

- La PPRDE
- L'ARS
- Autres (préciser : subventionnement Agence de l'Eau, etc...)

## ❖ Méthodes d'analyses

### 23) Quelles sont les techniques analytiques utilisées ?

- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
  - Microscopie optique droite et cellules de numération
  - Microscopie inversée et chambres de sédimentation (méthode Utermöhl)
  - Autres (à préciser)

- Pour l'analyse des toxines :
  - Tests enzymatiques
  - Tests immunologiques (tests ELISA)
  - Chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (HPLC -MS ; HPLC-MS/MS)
  - Chromatographie en phase liquide et détection UV (HPLC-UV)
  - Autres (à préciser)

#### 24) Comment le résultat de l'analyse des toxines est-il exprimé ?

##### - Sur les eaux brutes

- Sur la fraction biomasse uniquement
- Sur la fraction dissoute uniquement
- Sur la fraction totale uniquement (biomasse + fraction dissoute)
- Sur la fraction totale (biomasse + fraction dissoute), la fraction dissoute et la fraction biomasse

##### - Sur les eaux traitées / distribuées

- Sur la fraction biomasse uniquement
- Sur la fraction dissoute uniquement
- Sur la fraction totale uniquement (biomasse + fraction dissoute)
- Sur la fraction totale (biomasse + fraction dissoute), la fraction dissoute et la fraction biomasse

#### 25) Quels sont les délais de restitution des résultats ?

- Pour le dénombrement et l'identification des cyanobactéries :
  - ≤ 48 h
  - > 48 h et ≤ 5 j
  - ≥ 5 j (à préciser)
- Pour l'analyse des toxines :
  - ≤ 48 h
  - > 48 h et ≤ 5 j
  - ≥ 5 j (à préciser)

## ❖ Bancarisation et disponibilité des résultats

26) Les données issues de la surveillance sont-elles bancarisées dans SISE-Eaux ?

- Oui  
 Non

27) Si oui, préciser les modalités de bancarisation ?

Paramètre	NON	OUI	Année démarrage bancarisation
Présence de cyanobactéries (CYANOBQ)			
Dénombrement de cellules de cyanobactéries (CYANOBA)			
Dénombrement de colonies de cyanobactéries (CYANOB2)			
Dénombrement des cellules de cyanobactéries potentiellement toxiques (CYANTOX)			
% de colonies de cyanobactéries (CYANOB1)			
Dénombrement détaillé par genre (CYANO 01 à 49)			
Résultat de l'analyse des toxines			
Autres paramètres ( <i>paramètres terrain par ex., préciser</i> )			

28) Sinon, les données (préciser lesquelles et sur quelle période) sont-elles disponibles sous un autre format numérique exploitable (tableur, base de données) ?

## ❖ Gestion des résultats et mesures sanitaires

29) Avez-vous été amenés à demander la mise en œuvre de mesures sanitaires aux gestionnaires des installations d'alimentation en EDCH ?

- Non  
 Oui, préciser :  
 Interdiction de consommer l'EDCH
  - Substitution de ressource AEP
  - Renforcement du traitement
  - Interdiction de pêche / consommation de poissons de pêche

- Autres (préciser)

**30) Indiquer la stratégie de gestion des risques sanitaires appliquée dans votre département :**

- seuils de gestion
- modalités d'interdictions/restrictions des usages et de levée des interdictions/restrictions
- prise en compte du caractère toxigène des espèces
- gestion des situations d'écumes/mousse
- valeurs sanitaires de référence utilisées pour les toxines, etc.

**31) Avez-vous rencontré des difficultés dans la mise en œuvre de ces mesures de gestion ?**

*Réponse libre*

**32) Avez-vous eu connaissance de signaux sanitaires (humains ou animaux) potentiellement en lien avec la présence de cyanobactéries ?**

- Non
- Oui, préciser

## Annexe 7 : Conditions de la requête des bases de données SISE-Eaux et SISE-Baignades

DATES	2010-2017
Usage des installations	AEP (Adduction collective publique)
Types d'installation	CAP ; MCA ; TTP
Motifs de plv	CP ; CD ; CS ; CV ; S1 ; S2 ; S3 ; S4
Types d'eau	A ; A1 ; A2 ; A3 ; B ; S ; T ; T1 ; T2 ; T3
Représentativité de l'analyse	O ; P
Paramètres	ANTXA ; CYANO01 ; CYANO02 ; CYANO03 ; CYANO04 ; CYANO05 ; CYANO06 ; CYANO07 ; CYANO08 ; CYANO09 ; CYANO10 ; CYANO11 ; CYANO12 ; CYANO13 ; CYANO14 ; CYANO15 ; CYANO16 ; CYANO17 ; CYANO18 ; CYANO19 ; CYANO20 ; CYANO21 ; CYANO22 ; CYANO23 ; CYANO24 ; CYANO25 ; CYANO26 ; CYANO27 ; CYANO28 ; CYANO29 ; CYANO30 ; CYANO31 ; CYANO32 ; CYANO33 ; CYANO34 ; CYANO35 ; CYANO36 ; CYANO37 ; CYANO38 ; CYANO39 ; CYANO40 ; CYANO41 ; CYANO42 ; CYANO43 ; CYANO44 ; CYANO45 ; CYANO46 ; CYANO47 ; CYANO48 ; CYANO49 ; CYANO50 ; CYANO51 ; CYANO52 ; CYANOB1 ; CYANOB2 ; CYANOBA ; CYANOBQ ; CYANTOX ; CYSPPS ; DMCLR ; DMCRR ; MCLA ; MCLF ; MCLR ; MCLRB ; MCLRD ; MCLW ; MCLY ; MCRR ; MCRRB ; MCRRD ; MCTOEL ; MCTOT ; MCYR ; MCYRB ; MCYRD ; NOD_B ; NOD_D ; NODULA ; SAXIT

Figure 75 : conditions de la requête de la base SISE-Eaux

Contexte	ART ; BAI ; NAU
Dates	2010 – 2017
Motifs	B1 ; CD ; CS ; CV ; S1 ; S2 ; S3
Paramètres	ANTXA ; CYANO01 ; CYANO02 ; CYANO03 ; CYANO04 ; CYANO05 ; CYANO06 ; CYANO07 ; CYANO08 ; CYANO09 ; CYANO10 ; CYANO11 ; CYANO12 ; CYANO13 ; CYANO14 ; CYANO15 ; CYANO16 ; CYANO17 ; CYANO18 ; CYANO19 ; CYANO20 ; CYANO21 ; CYANO22 ; CYANO23 ; CYANO24 ; CYANO25 ; CYANO26 ; CYANO27 ; CYANO28 ; CYANO29 ; CYANO30 ; CYANO31 ; CYANO32 ; CYANO33 ; CYANO34 ; CYANO35 ; CYANO36 ; CYANO37 ; CYANO38 ; CYANO39 ; CYANO40 ; CYANO41 ; CYANO42 ; CYANO43 ; CYANO44 ; CYANO45 ; CYANO46 ; CYANO47 ; CYANO48 ; CYANO49 ; CYANO50 ; CYANO51 ; CYANO52 ; CYANOB1 ; CYANOB2 ; CYANOBA ; CYANOBQ ; CYANTOX ; CYSPPS ; DMCLR ; DMCRR ; MCLA ; MCLF ; MCLR ; MCLRB ; MCLR D ; MCLW ; MCLY ; MCR R ; MCR RB ; MCR RD ; MCTO AEL ; MCTOT ; M CYR ; M CYR B ; M CYR D ; NOD_B ; NOD_D ; NODULA ; SAXIT

**Figure 76 : conditions de la requête de la base SISE-Bagnades**

## Annexe 8 : Biovolume en fonction des genres de cyanobactéries

Nom	Code Sise Eaux	Biovolume en $\mu\text{m}^3$
<i>Anabaena</i>	CYANO01	99
<i>Anabaenopsis</i>	CYANO02	125
<i>Aphanizomenon</i>	CYANO03	72
<i>Aphanocapsa</i>	CYANO04	2
<i>Aphanothece</i>	CYANO05	10
<i>Calothrix</i>	CYANO06	215
<i>Chroococcus</i>	CYANO07	122
<i>Coelomoron</i>	CYANO08	8,1
<i>Coelosphaerium</i>	CYANO09	4
<i>Cyanocatena</i>	CYANO45	0,45
<i>Cyanodictyon</i>	CYANO41	2
<i>Cyanogranis</i>	CYANO48	1
<i>Cylindrospermopsis</i>	CYANO10	34,5
<i>Cylindrospermum</i>	CYANO11	65,7
<i>Fischerella</i>	CYANO12	261,3
<i>Geitlerinema</i>	CYANO51	19,7
<i>Gloeotrichia</i>	CYANO13	287,6
<i>Gomphosphaeria</i>	CYANO14	11
<i>Hapalosiphon</i>	CYANO15	236,5
<i>Homoeothrix (Tapinothrix)</i>	CYANO40	16,3
<i>Komvophoron</i>	CYANO52	80
<i>Lemmermanniella</i>	CYANO16	2,2
<i>Leptolyngbya</i>	CYANO42	6,3
<i>Limnothrix</i>	CYANO17	31
<i>Lyngbya</i>	CYANO18	56
<i>Merismopedia</i>	CYANO19	13
<i>Microcoleus</i>	CYANO20	263
<i>Microcystis</i>	CYANO21	50
<i>Nodularia</i>	CYANO22	170,7
<i>Nostoc</i>	CYANO23	50,1
<i>Oscillatoria</i>	CYANO24	410
<i>Pannus</i>	CYANO47	2,9
<i>Phormidium</i>	CYANO25	177
<i>Planktolyngbya</i>	CYANO26	4
<i>Planktothrix</i>	CYANO39	52
<i>Pseudanabaena</i>	CYANO27	43
<i>Radiocystis</i>	CYANO43	30,82
<i>Rhabdoderma</i>	CYANO29	16
<i>Raphidiopsis</i>	CYANO28	70,2



<i>Rivularia</i>	CYANO49	171,6
<i>Romeria</i>	CYANO46	4
<i>Schizothrix</i>	CYANO30	8,8
<i>Scytonema</i>	CYANO31	1565
<i>Snowella</i>	CYANO34	7
<i>Sphaerospermopsis</i>	CYANO50	79,65
<i>Spirulina</i>	CYANO32	177
<i>Symploca</i>	CYANO33	55,6
<i>Synechococcus</i>	CYANO35	55
<i>Synechocystis</i>	CYANO44	4
<i>Trichodesmium</i>	CYANO36	113
<i>Umezakia</i>	CYANO37	226
<i>Woronichinia</i>	CYANO38	15

## Annexe 9 : Revue systematique relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanobactéries et leurs toxines associées

Une rapide description des principaux résultats des 16 études analysées par le GT comportant à la fois des données de contamination des poissons et de l'eau par les microcystines est présentée ci-dessous.

1. Les travaux de Bukaveckas *et al.* (2017) ont montré, selon les espèces piscicoles étudiées (perche, gardon, sandre, brème, ablette), une évolution temporelle des concentrations en MC dans le foie en fonction de la saison (printemps, été, automne) malgré une faible variation de la contamination de l'eau par les cyanobactéries (mesures de chlorophylle a et de MC totales dans l'eau). Contrairement au schéma observé pour les contaminants chimiques hydrophobes (e.g. PCB, pesticides) pour lesquels des concentrations s'avèrent plus importantes chez les espèces carnassières, cette étude conforte la tendance (Anses, 2016) d'une contamination plus importante des poissons juvéniles et des espèces planctonivores (juvéniles de perches plus contaminés que les adultes ou que les sandres, mais avec des niveaux de contamination équivalents à ceux des gardons ou des brèmes).
2. Les travaux de Dobrac *et al.* (2016) ont porté sur l'étude de la contamination par les MC dans l'eau et les muscles de carpes communes dans 13 étangs piscicoles. Cependant, les auteurs ont rapporté que le transfert de poissons d'un étang à l'autre était une pratique piscicole et n'ont pas précisé dans quel étang chaque carpe avait été pêchée. Cette étude a donc été jugée peu pertinente pour rechercher un lien de causalité de contamination entre les poissons et leur environnement.
3. Le travail de Flores *et al.* (2018) est une revue de la littérature qui s'appuie sur l'analyse de 50 articles relatifs aux MC (études de terrain). Leur analyse met en évidence une relation positive entre les concentrations intracellulaires en MC dans l'eau et celles dans les tissus des poissons mesurées par ELISA et PPIA, tout en soulignant que les résultats sont controversés en raison des méthodes analytiques utilisées. De manière globale, les concentrations les plus élevées sont rapportées dans les poissons omnivores. Cependant, le GT souligne la fragilité de certaines hypothèses, par exemple lorsque les auteurs ont appliqué un taux par défaut de 0,31 pour convertir en poids sec les concentrations mesurées en poids frais, et le fait de prendre des concentrations moyennes en MC dans l'eau pour l'apparier à la concentration dans les tissus des poissons.
4. Gurbuz *et al.* (2016) ont réalisé un suivi mensuel sur une période de 9 mois de la contamination de l'eau (MC extracellulaires) et celle des poissons (carpes communes, carassins et athérines) dans un lac. Les auteurs n'ont pas recherché de lien et présentent des concentrations moyennes mensuelles, ce qui ne permet pas une analyse fine des variations temporelles. D'autre part, les auteurs n'ont pas précisé les lieux de prélèvements d'eau et des poissons, ce qui ne permet pas de juger de leur correspondance spatiale.
5. Jia *et al.* (2016) ont prélevé de l'eau et des poissons en septembre 2013 et en septembre 2014. Au total, 7 espèces piscicoles dont la carpe commune et le carassin (les 5 autres espèces ne sont pas présentes en Europe) ont été prélevées mais seulement 3 espèces (non présentes en Europe) étaient communes aux 2 périodes, ce qui limite la comparaison. Selon les auteurs, les concentrations étaient plus élevées dans l'eau et dans les poissons (muscles ou poissons entiers) en 2014 qu'en 2013.
6. Jiang *et al.* (2017) ont étudié 4 espèces piscicoles non présentes en Europe sur une période de 5 mois, avec des prélèvements mensuels, sur 2 sites. Les variations en MC peuvent être différentes selon l'organe au sein d'une même espèce (diminution de la concentration en MC dans le foie en automne mais augmentation dans le muscle). Les auteurs rapportent que de grandes variations de MC dans l'eau ont été observées mais que les concentrations chez un poisson carnivore étaient relativement stables. Ces résultats illustrent l'absence de relation simple entre la contamination des muscles des poissons et celle de l'eau environnante, et vont dans le sens d'une potentielle remobilisation post-exposition des toxines accumulées dans le foie vers le muscle, chez certaines espèces de poisson.
7. Ni *et al.* (2017) ont prélevé des carpes à grosse tête (espèce asiatique) durant une efflorescence de cyanobactéries. Des prélèvements d'eau ont été réalisés sur 4 sites. Mais les auteurs n'ont précisé ni les

lieux ni les dates de ces prélèvements, rendant impossible l'étude du lien potentiel entre les concentrations dans l'eau et celles dans les poissons.

8. Pham *et al.* (2017) ont prélevé mensuellement de l'eau et des poissons (2 espèce non présentes en Europe) sur une période de 5 mois, pendant une efflorescence de cyanobactéries. Mais les auteurs n'ont précisé ni les lieux ni les dates de ces prélèvements, et ne fournissent pas de résultats détaillés pour chaque mois, rendant impossible l'étude du lien potentiel entre les concentrations dans l'eau et celles dans les poissons.

9. Rezaitabar *et al.* (2017) ont prélevé de l'eau et des poissons (une espèce de carpe asiatique et des brochets) sur 5 sites, au printemps, à l'été et à l'automne (3 dates). Les analyses de poisson ont été réalisées par pool de 3 individus et les résultats présentés ont agrégé les 5 sites, ce qui limite la pertinence de l'étude du lien entre les concentrations en MC dans l'eau (intra et extracellulaire) et celles dans les muscles des poissons. Les auteurs ont réalisé une analyse statistique de la variation saisonnière et ont conclu à l'absence de différence pour la concentration en MC dissoutes et totales ainsi que pour la concentration en MC dans le muscle des carpes et des brochets. Sur les 3 saisons, les auteurs concluent à l'absence de différence entre les 2 espèces. Ces résultats ne concordent donc pas avec ceux de Bukaveckas *et al.* (2017) qui montraient une moindre contamination du sandre (espèce carnassière).

10. Scott *et al.* (2018) ont réalisé des prélèvements d'eau sur 10 sites d'un plan d'eau et de 3 espèces de poissons (carpes communes et 2 autres espèces de poissons africains non présentes en Europe) pendant une efflorescence de cyanobactéries. Les analyses de MC (phytoplancton, muscles, foies) ont porté sur une seule date de prélèvement, ce qui ne permet pas de rechercher un lien entre la concentration dans l'eau et celle dans les poissons. Les analyses de MC ont porté sur 2 dates et sur la base de ces résultats les auteurs concluent que la concentration en toxines dans les poissons n'est pas corrélée à la densité de l'efflorescence.

11. Simiyu *et al.* (2018) concluent que la concentration en MC dans les poissons est reliée à celle dans le phytoplancton puisqu'ils ont comparé 2 sites (l'un affecté par une efflorescence, l'autre non) et que les petits poissons entiers (< 6 cm, principalement d'une espèce de cyprinidés non présente en Europe) étaient plus contaminés dans le site affecté par une efflorescence. Les auteurs ont réalisé des prélèvements mensuels d'eau et de poissons sur une période de 5 mois mais n'ont pas exploité leurs données pour rechercher un lien entre la concentration en MC dans les poissons et celle dans l'eau (MC intra et extracellulaire, eau de surface, profondeur et écume).

12. Les travaux de Stepanova *et al.* (2018) ont porté sur l'étude d'un épisode de mortalité massive de poissons (carassins) et de canards. Des analyses de MC et anatoxine-a ont été réalisées dans des prélèvements d'eau et d'un poisson mort. Les auteurs concluent que la cause probable est une efflorescence de cyanobactéries. Ces résultats ne sont pas pertinents pour rechercher un lien entre la concentration en MC dans les poissons et celle dans l'eau.

13. Tokodi *et al.* (2018) ont réalisé des prélèvements d'eau (4 dates) et de carassins argentés (2 dates) dans un lac. Les concentrations en MC dans les muscles de poissons étaient faibles et identiques aux 2 dates alors que la concentration en MC totales dans l'eau était plus élevée à l'une des 2 dates. Ces données ne sont pas en faveur d'une relation simple entre la concentration en MC dans le muscle des poissons et celle du milieu à un instant donné.

14. Trung *et al.* (2018) ont investigué 17 masses d'eau dont certaines utilisées en pisciculture avec des prélèvements d'eau et de poissons de 6 espèces (carpe commune, carassin doré, tilapia et 3 espèces asiatiques non présentes en France). Les concentrations en MC totales dans l'eau étaient élevées mais les concentrations dans les muscles étaient inférieures à la limite de détection (sauf pour un échantillon).

15. Wituszynski *et al.* (2017) ont analysé une efflorescence planctonique par images satellitaires et ont mis en évidence une corrélation entre l'intensité estimée par la chlorophylle-a le jour de prélèvement des poissons et la concentration en MC mesurée dans le muscle de baretts mais pas pour celle de perchaudes. Ces données illustrent la complexité de la relation qui diffère selon les espèces de poissons et leur cinétique de dépuración. La concentration en MC n'était corrélée ni à la taille des poissons, ni à leur âge, ce qui diffère des Bukaveckas *et al.* (2017) qui montrent une plus forte contamination des juvéniles.

16. Zewde *et al.* (2018) ont prélevé de l'eau et des poissons de 3 espèces (tilapias, carpes communes, poissons chats africains) au même endroit et au même moment de manière mensuelle pendant 6 mois sur 2

sites. Les concentrations dans les muscles étaient toutes inférieures à la limite de détection. Dans les foies, les variations de concentrations au cours des mois dans les 3 espèces ont montré un profil différent entre eux et différent de celui des variations en chlorophylle-a. Les profils dans les foies étaient aussi différents pour une même espèce selon le site alors que les 2 sites avaient un même profil de chlorophylle-a.

Par ailleurs, l'étude de Cheng *et al.* (2018), menée en aquarium sur Zebrafish, montre une augmentation dose-dépendante entre la dose d'exposition via l'eau et la concentration en MC-LR dans les organes (foie, cerveau, ovaires) après 21 jours d'exposition. Selon les auteurs, ces travaux ont mis en évidence que l'accumulation dans la chair de poisson était amplifiée dans le cas d'une exposition simultanée à d'autres xénobiotiques (mais sans fournir d'analyse statistique de cette amplification). Ces données conduisent à présumer que la multi-contamination des milieux aquatiques est susceptible de complexifier l'observation de relations entre les concentrations en MC dans l'eau et les concentrations mesurées dans le poisson.

## Annexe 10 : Exemple de fiche de renseignements - Cyanobactéries en zone de baignade et/ou d'activités nautiques (d'après un document du SMGBL et d'Irstea)

Fiche de renseignements : cyanobactéries et analyse de toxines dans des zones de baignade et/ou d'activités nautiques			
ZONE DE BAIGNADE		OBSERVATEUR	
Zone de baignade		Nom prénom	
Plan d'eau/cours d'eau		Téléphone	
Commune		Structure	
CONTEXTE			
Date et heure d'observation	Le ..... / ..... / ..... à ..... h .....		
Température de l'air (°C)	(°C)	Température de l'eau (°C)	(°C)
Conditions météorologiques	<input type="checkbox"/> Soleil <input type="checkbox"/> Pluie <input type="checkbox"/> Couvert <input type="checkbox"/> Brouillard <input type="checkbox"/> Autre : .....		
Etat de la surface de l'eau	<input type="checkbox"/> Lisse <input type="checkbox"/> Faiblement agitée <input type="checkbox"/> Agitée <input type="checkbox"/> Très agitée		
Vent	<input type="checkbox"/> Nul <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Fort		
Direction du vent	..... <input type="checkbox"/> Vers la zone de baignade <input type="checkbox"/> Vers l'extérieur de la zone de baignade		
PROLIFERATION DE CYANOBACTERIES			
Localisation	<input type="checkbox"/> dans la zone de baignade Précisions : ..... <input type="checkbox"/> à proximité de la zone de baignade ..... <input type="checkbox"/> éloignée de la zone de baignade .....		
Schéma <i>Indiquez la localisation de la prolifération et du(es) prélèvement(s) si réalisé(s)</i>			
Etendue de la prolifération dans la zone de baignade	<input type="checkbox"/> Inconnue <input type="checkbox"/> Généralisée (environ 75%) <input type="checkbox"/> Grande (50 à 75 %) <input type="checkbox"/> Limitée (moins de 50%) <input type="checkbox"/> Très limitée (inférieur à 25%)		
OBSERVATIONS			
Photographies	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Nombre	
Couleur de l'eau si inhabituelle	<input type="checkbox"/> Violet <input type="checkbox"/> Bleu <input type="checkbox"/> Vert <input type="checkbox"/> Jaune <input type="checkbox"/> Orange <input type="checkbox"/> Rouge		
Intensité de la coloration	<input type="checkbox"/> Légèrement coloré <input type="checkbox"/> Moyennement coloré <input type="checkbox"/> Fortement coloré		
Apparence et intensité	<input type="checkbox"/> La densité est faible : particules réparties de façon clairsemée dans la colonne d'eau. (eau anormalement trouble, particules flottant entre deux eaux, traînées clairsemées en surface) <input type="checkbox"/> La densité est moyenne à élevée : particules distribuées dans la colonne d'eau. (soupe au brocoli plus ou moins consistante, purée de pois, agrégats ou amas nombreux ou rapprochés) <input type="checkbox"/> La densité est très élevée : particules concentrées à la surface de l'eau (écume). (films ou traînées opaques à la surface, déversement de peinture, dépôt près du rivage)		
Présence d'écume	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Dépôts sur le rivage	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Odeur	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Commentaires			
PRELEVEMENT			
Nom prénom du préleveur		Date et heure de prélèvement	Le ..... / ..... / ..... à ..... h .....
Type de prélèvement	<input type="checkbox"/> Cyanobactéries <input type="checkbox"/> Toxines	Nombre de prélèvements	
Fixation du prélèvement de cyanobactéries	<input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> au lugol <input type="checkbox"/> au glutaraldéhyde <input type="checkbox"/> autre : .....		
Transport au laboratoire	<input type="checkbox"/> Par la collectivité <input type="checkbox"/> Par le laboratoire		

Version 1.0

## Annexe 11 : Protocole de dénombrement des cyanobactéries planctoniques

La quantification au microscope est réalisée sur les échantillons phytoplanctoniques ou benthiques fixés au lugol.

Il est alors recommandé de compter au moins 100 individus pour obtenir un résultat satisfaisant avec une erreur de l'ordre de  $\pm 10\%$ . Le comptage est réalisé sur un volume d'échantillon de 1 à 25 mL maximum selon la concentration. Le temps de sédimentation varie alors de 25 minutes (pour 1 mL) à 18 heures (pour 25 mL) à raison de 4 heures/cm de hauteur de colonne. Les volumes classiquement employés sont de 1 à 3 mL pour les eaux de baignade.

Pour les EDCH, étant donné que la concentration attendue en cyanobactéries est très faible, un volume de 1 litre doit être filtré sur une membrane polycarbonate de 3  $\mu\text{m}$  de porosité moyenne (diamètre 2,5 cm). Les algues retenues par le filtre doivent être remises en suspension dans un millilitre d'eau déminéralisée directement dans la chambre de sédimentation par un frottement délicat de sa surface avec un gant.

Une première observation à un grossissement faible (100 x) d'un millilitre de l'échantillon, déposé en fond de chambre de sédimentation, doit systématiquement être réalisée au départ. Il permet d'avoir une idée de la concentration de l'échantillon, de contrôler la distribution aléatoire, d'observer si des algues flottent en surface et d'identifier les principaux genres présents. Si le nombre d'individus présents semble suffisant pour atteindre l'effort de comptage de 100 individus et que la distribution semble aléatoire alors l'échantillon peut être compté directement sur un millilitre. Dans le cas contraire, une sédimentation d'un volume supérieur est à réaliser.

Si des cyanobactéries flottent en surface, il est alors procédé à un éclatement des vésicules gazeuses. Cette étape est réalisée au moyen d'une seringue de 50 à 60 mL dans laquelle une fraction de l'échantillon homogénéisé est placée. L'extrémité de la seringue est bouchée avec le doigt puis le piston est frappé vigoureusement 2 à 3 fois sur une surface plane. L'échantillon est alors transféré dans un flacon, homogénéisé de nouveau puis un millilitre y est prélevé pour observation dans la chambre de sédimentation. La flottabilité des cyanobactéries est de nouveau contrôlée. Si aucune cyanobactérie ne flotte de manière significative alors l'échantillon peut être compté sur un millilitre ou plus si nécessaire.

Le comptage est ensuite réalisé en deux phases. Tout d'abord, un comptage des gros individus est réalisé avec un faible grossissement (100x) sur la chambre entière ou une surface inférieure (plusieurs transects) si les individus sont trop abondants. Puis un comptage par champs aléatoires ou par transects avec un grossissement plus important (400x voire 600x) est réalisé pour compter toutes les autres cyanobactéries de taille inférieure. Dans le cas de l'utilisation de champs, 20 champs minimum doivent être comptés. Dans le cas de l'utilisation de transects, le comptage d'un transect minimum est requis.

Au cours de ces deux phases successives de comptage au moins 100 individus au total doivent être comptés dans lesquels le nombre de cellules est estimé (cas de colonies et des filaments) ou comptés (unicellulaires) en suivant les règles de comptage définies dans la norme NF EN 15 204. Le résultat obtenu est alors exprimé en cellules par millilitre (cel/mL).

Pour s'affranchir du problème de la variabilité de la taille des cellules, la conversion des dénombrements en biovolume (biomasse) est alors préconisée par les experts (voir Estimation des biovolumes). Le résultat du dénombrement permet alors d'évaluer la quantité totale de cyanobactéries présentes dans l'échantillon phytoplanctonique, tout en identifiant la présence et la biomasse des genres potentiellement producteurs de cyanotoxines.

## Annexe 12 : Exemple d'affichage proposé par les ARS



# BAIGNADE : SOYEZ VIGILANT!

Des micro organismes, appelés cyanobactéries, colonisent parfois le fond des rivières, l'été voire en début d'automne. Elles forment à la surface des cailloux des plaques (biofilms) de couleur vert / brun foncé, qui peuvent se détacher et s'accumuler sur les bords (flocs, amas ressemblant à des algues). Elles peuvent être à l'origine d'intoxications mortelles pour les chiens.

Pour éviter les risques, il est important de connaître les précautions de bon sens à mettre en œuvre, simples et dont chacun a la responsabilité. Reconnaître les symptômes d'une intoxication permet également d'adapter votre comportement.

PRÉCAUTIONS à prendre vis à vis  
DES CYANOBACTÉRIES EN RIVIÈRES ?

Attention aux enfants !

- ➔ Ne pas se baigner en dehors des sites autorisés et surveillés
- ➔ Éviter d'ingérer de l'eau
- ➔ Ne pas jouer avec des bâtons ou galets ayant été immergés ou avec des dépôts d'algues, ne pas les porter à la bouche.
- ➔ Prendre une douche après la baignade
- ➔ Ne pas pratiquer des activités de loisirs (canoë, activités nautiques...) dans des zones où des amas d'algues sont accumulés

Attention aux animaux domestiques !  
(risque de mortalité canine)

- ➔ Tenir les chiens en laisse
- ➔ Ne pas les laisser accéder à la rivière / zone de baignade où des amas d'algues sont accumulés

SYMPTÔMES D'UNE INTOXICATION  
AUX TOXINES DE CYANOBACTÉRIES ?

Après une baignade : *irritation (de la peau, des yeux...), ou boutons...*

En cas d'ingestion : *tremblements, fièvre, douleurs abdominales, douleurs musculaires, nausées, vomissements...*

Consulter rapidement un médecin

Après avoir bu l'eau de la rivière, ou joué avec des bâtons ou des galets, ou mangé des algues :  
*tremblements des pattes arrière, perte d'équilibre, état anxieux, nausées, yeux globuleux, bave...*

Consulter sans délai un vétérinaire, en ayant récupéré si possible les éventuelles vomissures



Biofilms à cyanobactéries





Flocs (biofilms détachés à cyanobactéries)

Pour plus d'informations :

DDCSPP de Loir-et-Cher : [ddcspp@loir-et-cher.gouv.fr](mailto:ddcspp@loir-et-cher.gouv.fr)  
02 54 90 97 90

Agence régionale de santé : 02 38 77 32 10

Centre-Val de Loire

Site Internet des services de l'État en Loir-et-Cher  
<http://www.loir-et-cher.gouv.fr>



PRÉFET DE  
LOIR-ET-CHER

DE LA  
COMMISSION  
DÉPARTEMENTALE  
DES SALES  
PUBLIQUES  
DE LOIR-ET-CHER



ARS  
Agence Régionale de Santé  
Centre-Val de Loire





Agence nationale de sécurité sanitaire  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
14 rue Pierre et Marie Curie  
F94701 Maisons-Alfort cedex  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr)  
[@Anses\\_fr](https://twitter.com/Anses_fr)