

Première évaluation du risque toxique lié aux cyanobactéries d'eau douce en France : le programme « EFFLOCYA »

First assessment of the toxic risk associated with fresh water cyanobacteria in France: the "EFFLOCYA" research program

G. SARAZIN^{* 1}, C. QUIBLIER-LLOBÉRAS¹, G. BERTRU², L. BRIENT², C. VEZIE², C. BERNARD³, A. COUTÉ³, M.C. HENNION⁴, C. ROBILLOT⁴, N. TANDEAU DE MARSAC⁵

SUMMARY

An inquiry covering the whole French territory together with specific studies of natural and artificial reservoirs has been made to assess the human health risk related to the proliferation of toxin producing blue green algae (cyanobacteria). The conclusions show that any lentic ecosystem can be affected like it has been shown already in other countries all over the world and more specifically within the EU. The main genus concerned are: *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* and *Cylindrospermopsis*.

Blooms can occur during the whole year since some species are well adapted to cold water and are not clearly linked with the trophic status of the aquatic ecosystem.

The toxic production is the largest when the cyanobacteria populations contain only a few number of species. The results of recent works are well correlated with our findings which show that the production of toxic heptapeptides (microcystins) could be correlated with high levels of nitrate and depletions of ammonium and iron.

The follow up of this work should now include the set up of a national observatory of toxic algal blooms.

Key-words: blue green, cyanobacteria, toxins, microcystins, national inquiry.

-
1. Laboratoire de géochimie des eaux, Université Paris 7, 2 place Jussieu, 75251 Paris cedex 05, France.
 2. Fonctionnement des écosystèmes et biologie de la conservation, Université de Rennes 1, 263 av. du Général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.
 3. Laboratoire de cryptogamie du Muséum national d'histoire naturelle, 12 rue de Buffon, 75005 Paris, France.
 4. Laboratoire de chimie de l'environnement, École supérieure de physique et chimie industrielle de la ville de Paris (ESPCI), 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France.
 5. Unité de physiologie microbienne, Institut Pasteur de Paris, 28 rue du Docteur Roux, 75728 Paris, France.

* Correspondance. E-mail : sarazin@ipggp.jussieu.fr

Les commentaires seront reçus jusqu'au 31 mars 2003.

RÉSUMÉ

Une enquête menée à l'aide d'un questionnaire couvrant l'ensemble du territoire français ainsi que l'étude spécifique d'écosystèmes aquatiques de type lacs et réservoirs ont permis de montrer que les proliférations de cyanobactéries toxiques pouvaient a priori affecter n'importe quel plan d'eau de l'Héxagone. Les genres rencontrés responsables de la production de toxines, le plus souvent hépatiques, sont *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* et *Cylindrospermopsis*.

Les efflorescences peuvent se produire tout au long de l'année car certaines espèces sont adaptées aux eaux froides et elles ne sont pas liées de manière univoque à un état eutrophe de l'écosystème.

La production toxinique est la plus élevée lorsque les populations cyanobactériennes sont peu ou pas diversifiées et à la lumière de travaux récents, cette production serait favorisée, en ce qui concerne les microcystines, par un milieu riche en nitrate, pauvre en ammonium et fortement carencé en fer.

La suite à donner à ce travail pourrait être la création d'un observatoire national des efflorescences toxiques.

Mots clés : cyanobactéries, toxines, microcystines, enquête nationale.

1 – INTRODUCTION

Les intoxications accidentelles liées à la contamination des eaux de surface par des toxines synthétisées par les cyanobactéries sont connues depuis plus d'un siècle. En effet, l'empoisonnement mortel de bétail en Australie a été relaté dès 1878 par une publication de FRANCIS. La multiplication d'accidents plus ou moins graves recensés dans pratiquement tous les pays du monde a conduit la communauté scientifique à s'intéresser au déterminisme des efflorescences et à celui de la production toxinique. Récemment, un accident survenu au Brésil a entraîné la mort de soixante personnes, insuffisants rénaux, dialysés avec une eau contaminée par une hépatotoxine (POURIA *et al.*, 1998). Tous les pays de l'Union européenne font maintenant état de la prolifération de ces organismes toxiques et certains d'entre eux (Finlande, Portugal, Royaume-Uni) fournissent au public une information concernant les risques d'utilisation des plans d'eaux récréatifs.

Alerté de ce problème au cours d'une réunion du Comité EGPN, le ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, en collaboration avec le ministère de la Santé, a financé une étude, le programme « EFFLOCYA », dans le but d'évaluer le risque pour la santé publique de la toxicité liée à la prolifération des cyanobactéries d'eau douce.

2 – LE PROGRAMME « EFFLOCYA »

La réalisation du programme « EFFLOCYA » a nécessité la collaboration de cinq laboratoires qui en fonction de leurs compétences propres, ont assuré :

- l'analyse chimique des échantillons d'eau : LGE (Paris 7) ;
- l'analyse des toxines : LC (MNHN), LCE (ESPCI), FEBC (Rennes 1) ;
- la systématique des organismes phytoplanctoniques : LGE, LC, FEBC ;
- l'élaboration d'un questionnaire d'enquête : UPM (IP-Paris) ;

Le programme était organisé selon deux composantes principales :

- la réalisation d'une enquête nationale par l'intermédiaire d'un questionnaire ;
- l'étude spécifique de sites déjà connus par les différentes équipes.

2.1 Enquête nationale

Elle a été réalisée grâce à un questionnaire élaboré par l'équipe de l'Institut Pasteur. Celui-ci a été envoyé, à raison de 1 000 exemplaires, à différents organismes publics (DDASS, DIREN, Agences de l'eau, CSP, Parcs nationaux et PNR, AFSSA, Institut de la veille sanitaire, IFREMER, EDF, Laboratoires universitaires et du CNRS) ou privés (associations de chasse et pêche, associations de protection de la nature, Vivendi, Lyonnaise des Eaux).

Environ 150 réponses ont été obtenues. À partir de celles-ci il est possible de dresser une carte de la France métropolitaine où des développements algaux potentiellement toxiques (appelés incidents) ont été observés pour l'année 1999. La répartition aléatoire des incidents montre qu'*a priori* aucune région ne semble être épargnée. L'absence d'incident correspond en fait à une absence de réponse. Nous avons d'autre part pu remarquer que certaines réponses, pour un département donné, ne comptabilisait pas l'ensemble des incidents survenus. Ainsi nous avons reçu de la DDASS de la Loire une information positive concernant deux plans d'eaux seulement, alors qu'à notre connaissance, au moins trois plans d'eau étaient contaminés. Il est impossible d'affirmer actuellement que le phénomène s'étend géographiquement car on ne dispose d'aucune statistique fiable sur les quinze dernières années.

L'analyse des réponses au questionnaire montre en outre que : le développement cyanobactérien est réparti dans le temps entre juin et septembre avec un maximum en juillet. Au cours de cette période estivale, de forte fréquentation touristique, la température de l'eau se situe entre 20° et 23 °C. Cependant certaines espèces appartenant au genre *Planktothrix* se développent également bien en eau froide et peuvent dominer la population algale en période hivernale.

Les systèmes lenticques, où l'eau a un faible taux de renouvellement, sont le plus affectés (85 %). Les rivières et fleuves sont concernés dans 15 % des cas avec un maximum enregistré pour l'Oise dans laquelle la population de cyanobactéries, au lieu de prélèvement, atteint 10⁴ filaments par litre et représente 30 % du phytoplancton (essentiellement *Planktothrix agardhii*). Les genres potentiellement toxiques les plus fréquemment rencontrés sont : *Anabaena* (32 %), *Microcystis* (26 %), *Aphanizomenon* (23 %), *Planktothrix* (16 %) et *Gomphosphaeria* (3 %). Une espèce particulièrement toxique, *Cylindrospermopsis raciborskii*, est signalée dans deux plans d'eau sur lesquels nous reviendrons.

Dans l'état actuel de l'enquête, il est très difficile d'affirmer si les incidents signalés ont provoqué des troubles de santé ou des mortalités chez les verté-

brés et l'homme en particulier. Cependant 11 % des réponses font état de « perturbations du comportement animal » sans préciser la nature des perturbations observées. Dans 22 % des cas, on observe des mortalités de poissons et d'oiseaux sans être certain que celles-ci soient le fait des toxines cyanobactériennes. Les examens vétérinaires effectués ne permettent pas d'attribuer une cause évidente à ces mortalités.

Des problèmes de santé chez l'homme ont été signalés dans 9 % des incidents. Ce résultat peut paraître faible mais peu de personnes connaissent les problèmes de santé humaine liés aux toxines de cyanobactéries. Les incidents signalés concernent des gastroentérites et des dermatoses. Aucun accident hépatotoxique (lié à *Microcystis* ou *Planktothrix*) ou neurologique grave (lié à *Anabaena* ou *Aphanizomenon*) n'a été signalé. S'il existe une volonté de faire progresser la connaissance sur les accidents mettant en cause la santé humaine, en liaison avec la présence de cyanobactéries toxiques, on devra passer nécessairement dans un avenir proche, par une enquête épidémiologique auprès des services de santé publics ou privés situés à proximité des sites à risques.

2.2 Étude spécifique de sites contaminés

Il s'agit de plans d'eaux naturels ou artificiels où la prolifération des cyanobactéries est avérée depuis plusieurs années et qui ont été spécifiquement étudiés par les différentes équipes ayant participé au programme de recherche.

2.2.1 Analyse des toxines

Suivant les genres rencontrés, la recherche des toxines s'est orientée soit vers le dosage des différents variants de microcystines, soit de la cylindrospermopsine ou encore de l'anatoxine-a.

La recherche des microcystines a été opérée dans un premier temps par un test enzymatique basé sur l'inhibition de la déphosphorylation des protéines-phosphatases 2A (PP2A) mis au point initialement sur les PP1A par AN et CAR-MICHAEL (1994). Dans le cas où le test s'est révélé positif, une quantification plus précise a été effectuée par HPLC couplée avec un détecteur à barrette de diodes entre 180 et 350 nm. Les recherches d'anatoxine-a et de cylindrospermopsine ont été réalisées par HPLC-barrette de diodes et LC-MS.

Plusieurs modes d'expression des résultats ont été proposés (FASTNER et al., 1999 ; CHORUS et BARTRAM, 1999) : μg de toxine/g de poids sec algal, μg de toxine/ μg de chlorophylle et plus récemment, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, suivant la recommandation de l'OMS qui préconise une valeur guide de $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour la limite d'intoxication aiguë et $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour la limite d'intoxication chronique. Compte tenu de la distribution spatiale et temporelle des cyanobactéries dans la colonne d'eau, de la composition des communautés phytoplanctoniques, de l'âge physiologique des cellules et probablement des conditions macro et micronutritionnelles, les résultats présentent le plus souvent une très grande variabilité. Ainsi, quel que soit le mode d'expression utilisé, les mesures restent difficilement comparables d'un site à l'autre. Les valeurs guides proposées par l'OMS, si elles doivent se transformer à l'avenir en normes ISO ou CEN ne manqueront pas de soulever les délicats problèmes du mode d'échantillonnage et du comptage (pas toujours possible des cellules). L'unité idéale mais peu

réaliste, serait le produit du quota toxinique cellulaire multiplié par le nombre de cellules/L. Un gros travail attend probablement les différentes commissions compétentes qui auront à établir les protocoles normalisés !

Pour les 38 sites de la région Ouest, les résultats sont exprimés par rapport au poids sec alors que pour tous les autres sites les auteurs ont exprimé leurs résultats par unité de volume.

2.2.2 Sites d'Île de France

Trois sites ont été suivis au pas mensuel entre juillet 1998 et décembre 1999. Il s'agit de deux plans d'eau très proches, distants d'une cinquantaine de mètres : l'étang des Francs Pêcheurs et la base nautique de Viry-Châtillon (91) ainsi qu'un bassin de stockage de l'usine de potabilisation de la Compagnie Générale des Eaux située à Méry-sur-Oise (95).

L'étang des Francs Pêcheurs est un petit plan d'eau privé utilisé uniquement pour la pêche de la carpe et régulièrement empoisonné par les utilisateurs avec des spécimens souvent importés d'Europe de l'Est. L'alimentation de ce plan d'eau de 1,5 ha (prof. max. : 7 m ; prof. moy. : 2,5 m) se fait naturellement par la nappe phréatique et aucune entrée ni sortie d'eau n'est visible. La composition de l'eau, constante sur toute l'année, est caractérisée par une concentration très élevée en sulfate (près de 10 mM) et une teneur très faible, voire indétectable, en sels nutritifs ($1,7 \pm 4,6 \mu\text{M}$ en NO_3 et $1 \pm 1 \mu\text{M}$ en orthophosphate dissous) au moment où la production primaire est la plus élevée (juin à septembre). L'étang se caractérise par une efflorescence récurrente annuelle de *Cylindrospermopsis raciborskii* qui, pour l'année 1999, débute en juillet, passe par un maximum au début du mois d'août (100 % du phytoplancton) et cesse très brutalement aux premiers jours de septembre. Cet organisme, probablement invasif a été signalé pour la première fois en France par A. Couté en 1994 (COUTÉ *et al.*, 1997). L'espèce qui colonise l'étang ne produit pas de cylindrospermopsine mais présente une très forte neurotoxicité mise en évidence par le « test souris » (BRIAND *et al.*, 2002). La toxine incriminée n'a pas été identifiée pour l'instant et le « test souris » devra être confirmé.

La base nautique de Viry-Châtillon est, contrairement à l'étang des Francs Pêcheurs, en relation avec la Seine par l'intermédiaire d'un canal. La composition de l'eau de cette étendue aquatique de 98 ha (prof. max. : 5,3 m ; prof. moy. : 2,8 m) est donc très variable en fonction de la différence de niveau hydrostatique saisonnière qui existe avec le niveau du fleuve. La concentration en nitrate peut ainsi passer brusquement d'une concentration non détectable à plusieurs centaines de μM lorsque le plan d'eau est plus alimenté par la Seine que par la nappe phréatique. Il s'y développe une population phytoplanctonique à *Planktothrix agardhii* (50 %) et à *Limnothrix sp.* (50 %) présente toute l'année mais où *Planktothrix agardhii* domine pendant l'hiver, lorsque la température de l'eau est de l'ordre de 10 °C. Les concentrations en microcystines mesurées par HPLC sont des plus inquiétantes, largement supérieures aux normes de recommandations proposées par l'OMS.

Le bassin de stockage de l'usine de Méry-sur-Oise a une surface de 5 ha et une profondeur de 9 m. Il est directement alimenté par l'Oise. Le faible temps de résidence de l'eau (quelques jours) ne permet pas le développement d'une véritable efflorescence et la composition chimique de l'eau demeure identique à celle de l'Oise. La population phytoplanctonique est très diversifiée. Dans le

cortège algal, la proportion des cyanobactéries est au maximum de 30 % en août 1999 et plusieurs genres, tous potentiellement toxiques, ont été identifiés : *Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis* et *Planktothrix*.

2.2.3 Sites de la région Ouest

Le Laboratoire « Fonctionnement des écosystèmes et biologie de la conservation » (Rennes 1) a mis en place un programme de recherche sur les toxines cyanobactériennes depuis 1993 et suit régulièrement l'évolution du phytoplancton sur un ensemble de 38 plans d'eau utilisés comme aires de loisirs et/ou comme ressource en eau potabilisable. Ce suivi montre que la colonisation par les cyanobactéries évolue dans le temps de juillet à septembre :

- en juillet aucun plan d'eau n'est affecté par une efflorescence mais 55 % des sites contiennent des cyanobactéries, toutes potentiellement toxiques ;
- en août 66 % des sites sont envahis par de véritables fleurs d'eau et cette proportion atteint 82 % en septembre ;
- sur l'ensemble des sites suivis, seulement quatre ne produisent pas de cyanobactéries pendant la période la plus favorable à leur développement.

En 1999 cinq nouveaux sites ont été suivis dans le Morbihan ainsi qu'un plan d'eau du département de l'Orne, la retenue de Landiscap, utilisée comme ressource en eau potable.

L'espèce toxique la plus fréquemment rencontrée dans cette étude est *Microcystis aeruginosa* mais ont été identifiées également *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon flos-aquae* et *Planktothrix agardhii*.

2.2.4 Sites d'Auvergne et de la Loire

Deux lacs ont été suivis pendant deux ans (1998 et 1999) au pas mensuel :

- le lac d'Aydat (63) est un lac naturel très eutrophe de la région de Clermont-Ferrand (surface de 60 ha ; prof. max : 15 m ; prof. moy. : 7,8 m) ;
- le lac de Villerest (42) est un lac artificiel géré par EDF mis en eau en 1984, il est situé à proximité de Roanne (surface de 720 ha et profondeur variable en fonction du stockage de l'eau. Au niveau du barrage la profondeur peut atteindre 45 m mais elle peut diminuer en été jusqu'à 20 m). Le plan d'eau est devenu eutrophe environ cinq ans après sa mise en eau.

Ces deux lacs ont en commun un caractère eutrophe très marqué et développent chaque été une fleur d'eau à cyanobactéries.

Dans le cas du lac d'Aydat, on observe pendant la période s'étendant de la fin juillet à la fin septembre une efflorescence composée des genres *Anabaena* (3 espèces), *Aphanizomenon*, *Caelosphaerium* et *Microcystis*. À l'exception du troisième genre cité, les autres présentent des espèces potentiellement toxiques. Cependant, la production d'hépatotoxines est extrêmement faible (quelques $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) et aucune anatoxine n'a été détectée. La forte productivité du lac entraîne, pendant l'été, une anoxie partielle de la colonne d'eau qui s'étend depuis le fond jusqu'à environ 5 m sous la surface. Cette anoxie rend facilement disponible des concentrations relativement élevées d'azote directement assimilable sous forme d'ammonium et de fer soluble sous forme de Fe (II).

Ces deux espèces chimiques peuvent être injectées au-dessus de la thermocline au cours d'épisodes météorologiques turbulents et ainsi être mises à disposition des producteurs primaires (SARAZIN et DEVAUX, 1991).

Le lac de Villerest développe chaque été, presque systématiquement, une fleur d'eau quasi monospécifique à *Microcystis aeruginosa* à partir de la fin juin jusqu'à la fin septembre. La production est si élevée que l'eau prend en surface un aspect de peinture verte huileuse ce qui compromet depuis plusieurs années le potentiel touristique du site avec les conséquences économiques qui en résultent. La population de poissons nobles a entièrement disparue, remplacée progressivement par un peuplement abondant de poisson-chat. L'introduction de la carpe chinoise par EDF, destinée à brouter les cyanobactéries n'a donné aucun résultat. De plus, les analyses de toxines aussi bien par test biochimique que par HPLC montrent une forte production de microcystines (hépatotoxines).

La physique du lac de Villerest est très différente de celle du lac d'Aydat et est essentiellement sous la dépendance de la gestion des lâchers d'eau (BONNET, 1998). La stratification thermique et chimique est, en général, peu marquée en raison du temps de résidence de l'eau qui n'excède pas quelques semaines contre 6 mois environ pour le lac d'Aydat. L'anoxie reste limitée à la zone profonde, confinant les espèces réduites de l'azote et du fer loin de la zone trophogène. Une autre différence importante entre les deux sites réside dans les concentrations de nitrate et d'orthophosphate. Respectivement de 20 μM et 1-2 μM à Aydat, elles sont, en général, voisines de 200 μM et de 4 μM à Villerest. Nous essayerons d'analyser ces contrastes qui peuvent jouer un rôle dans le déterminisme de la production toxinique, très différente, observée pour ces deux sites.

2.2.5 Site de Savoie : le lac du Bourget

Avec une surface de 54 km², une profondeur moyenne de 70 m et une profondeur maximum de 145 m, le lac du Bourget est le plus grand lac français. Menacé d'eutrophisation dans les années 1970 en raison des entrées massives de sels nutritifs liées à l'agriculture et aux eaux usées des agglomérations de Chambéry et Aix-les-Bains, d'importants travaux réalisés dans les années 1980 ont permis de diviser par un facteur environ 10, les entrées d'azote et de phosphore. Le lac a ainsi récupéré un statut mésotrophe et continue d'évoluer dans le sens d'une amélioration de la qualité de son eau.

La population phytoplanctonique y est très diversifiée et caractérisée, jusqu'en 1998, par une prédominance des Diatomophycées et Chlorophycées, les cyanobactéries restant très minoritaires. À l'automne 1998, une efflorescence monospécifique de *Planktothrix rubescens* est apparue et a dominé le peuplement du phytoplancton jusqu'en février 1999. Le même phénomène, qui n'avait jamais été observé préalablement, s'est reproduit à l'automne 1999 puis à l'automne 2000 avec une intensité à peu près semblable.

Outre la toxicité de cet organisme producteur d'hépatotoxines, sur laquelle nous reviendrons, l'intensité de l'efflorescence est telle qu'elle gêne considérablement la pratique de la pêche professionnelle et compromet gravement la qualité de la ressource en eau, le lac étant utilisé comme réserve d'eau potabilisée pour alimenter les deux agglomérations déjà citées.

2.3 Apparition et nature des toxines

Tous les sites étudiés par les différentes équipes produisent des cyanobactéries potentiellement productrices de toxines. Cependant, la toxicité mesurée peut varier considérablement d'un site à l'autre même si les espèces rencontrées sont identiques.

Les taxons identifiés dans le cadre de cette étude et qui produisent effectivement des toxines sont *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii* et *Planktothrix rubescens*. Tous trois produisent des hépatotoxines, les microcystines, dont le variant le plus toxique, la microcystine LR (mLR) est surtout produite par le premier. Les deux autres synthétisent différents variants de microcystines décrits comme moins toxiques.

Dans tous les cas où de fortes concentrations de toxines ont été mesurées dans les cellules et dans l'eau, l'efflorescence était monospécifique. C'est ce que nous avons observé dans :

- la retenue de Landiscap (61) : *Microcystis aeruginosa* ;
- le lac de Villerest (42) : *Microcystis aeruginosa* ;
- la base nautique de Viry-Châtillon (91) : *Planktothrix agardhii* ;
- le lac du Bourget (73) : *Planktothrix rubescens* ;
- l'étang des Francs Pêcheurs (91) : *Cylindrospermopsis raciborskii*.

La retenue de Landiscap est utilisée comme ressource en eau potabilisée par une usine de traitement qui dessert 18 000 personnes. C'est également une aire de loisirs très fréquentée en période estivale. Les échantillons prélevés en septembre 1999 révèlent des concentrations en mLR de 1 000 à 5 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les cellules et de 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau filtrée. Les analyses faites au moment de la disparition du bloom en novembre donnent encore, pour le même variant, 32,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les cellules et 4,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau filtrée. Rappelons ici que les normes proposées par l'OMS pour l'eau sont de 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en ce qui concerne le seuil d'intoxication aiguë et de 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour le seuil d'intoxication chronique. La présence de toxines résiduelles dans l'eau traitée à l'ozone et au charbon actif (0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de mRR) a été à l'origine d'un arrêté préfectoral qui a suspendu la distribution d'eau potable pendant plusieurs jours. Les valeurs de concentrations citées ci-dessus sont les plus élevées enregistrées au cours de cette étude.

Dans le lac de Villerest, la production de toxines a été détectée en 1998 et 1999 pendant la période qui s'étend de juillet à octobre. La souche de *Microcystis aeruginosa* produit ici essentiellement le variant mLR. Les concentrations les plus élevées sont enregistrées à la fin de l'efflorescence : 39,3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les cellules et 1,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau en octobre 1999, cette dernière valeur étant près de 2 fois supérieure au seuil d'intoxication aiguë fixé par l'OMS. Une telle situation devrait inciter les gestionnaires (EDF, mairie etc.) à fournir un minimum d'informations sur les risques encourus concernant l'usage récréatif (baignade, pêche etc.) de ce lac, ce qui à notre connaissance, n'est pas assuré actuellement.

La base nautique de Viry-Châtillon et le lac du Bourget ont en commun la particularité d'être envahis à la fin de l'automne et en hiver par deux espèces différentes de *Planktothrix*, ce qui confirme la préférence de ce genre pour les

eaux froides. Le risque d'exposition, pour les usagers, est donc moindre que lorsque les efflorescences se produisent en période estivale. Le genre *Planktothrix* génère essentiellement, voire parfois exclusivement, de la microcystine RR, variant moins toxique que la mLR. Cependant, le clone présent en 1998-1999 dans l'eau de la base nautique synthétise les trois variants les plus courants (mLR, mRR et mYR). La concentration maximale de toxines en équivalent mLR est notée en octobre et novembre 1999. Elle est de $7,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans les cellules (en octobre) et de $0,38 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau (en novembre). Aucune information n'est donnée au public, constitué en cette saison uniquement de pêcheurs qui consomment le poisson qu'ils capturent.

L'efflorescence de *Planktothrix rubescens* qui se développe depuis trois ans dans le lac du Bourget ne provoque pas que les nuisances mécaniques signalées plus haut (colmatage des filets de pêche et des crépines d'alimentation en eau potable). La souche de cyanobactérie produit aussi mais uniquement, la microcystine RR. Les concentrations intracellulaires les plus élevées, ont été enregistrées en novembre 1998 et 1999 (respectivement 3 et $5,4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). La présence d'un résiduel de toxine dans l'eau après traitement (filtration, chloration et ozonation) de $0,06 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de mLR a conduit les gestionnaires à geler temporairement cette ressource et un ancien forage phréatique a dû être réactivé sur la commune de Tresserve.

Nous terminerons la description des sites par l'étang des Francs Pêcheurs situé sur la commune de Viry-Châtillon car il représente un cas nouveau en France : le développement d'une fleur d'eau à *Cylindrospermopsis raciborskii*. Cette espèce n'a été détectée qu'en Île de France. Outre sa présence dans cet étang, on en trouve quelques filaments dans le bassin de Méry-sur-Oise (95) et un développement important dans la base nautique de Chanteraine à Ville-neuve-la-Garenne (92). La souche étudiée à Viry-Châtillon ne produit pas de cylindrospermopsine ni de PSPs, toxines connues comme étant produites par cette espèce. Un test sur souris a montré qu'elle est fortement neurotoxique ($0,23 \text{ MU}\cdot\text{mg}^{-1}$ d'extrait cellulaire ou $0,11 \text{ éq STX}\cdot\text{mg}^{-1}$). La tentative d'identification en spectrométrie de masse n'a pour l'instant pas abouti à la détection d'une toxine connue et, en conséquence, le test sur souris devra être recommencé pour avoir une confirmation du caractère neurotoxique de cette souche.

3 – DISCUSSION

L'analyse des résultats de l'enquête nationale et de ceux obtenus sur les sites spécifiquement étudiés montre que :

- les espèces de cyanobactéries productrices de toxines ou appartenant à des genres potentiellement toxiques sont ubiquistes et peuvent se rencontrer sur l'ensemble du territoire ;
- la température ne semble pas être un critère décisif. Si les genres *Aphanizomenon*, *Anabaena* et *Microcystis* se développent plus intensément dans les eaux relativement chaudes ($20-25 \text{ }^\circ\text{C}$), le genre *Planktothrix* a une nette préférence pour les eaux froides ($5-10 \text{ }^\circ\text{C}$). Quant à *Cylindrospermopsis*

raciborskii, la première efflorescence observée (1994) s'est développée dans une eau très chaude (28-30 °C), les suivantes, en 1998 et 1999 dans de l'eau respectivement à 17° et 24 °C ;

- la disponibilité en nutriments (N et P) semble être un critère un peu plus sélectif, les efflorescences massives s'observant plus fréquemment dans les plans d'eau eutrophes. Cependant, ce n'est pas le cas de l'étang des Francs Pêcheurs, qui est toujours très carencé en azote et en phosphore biodisponibles ni celui du lac du Bourget qui voit au contraire se développer des blooms toxiques depuis trois ans alors que son statut trophique s'est considérablement amélioré ces dernières années ;
- la production toxinique est importante lorsque la diversité spécifique des cyanobactéries est moindre, voire nulle (Landiscap, Villerest, Viry-Châtillon). Ceci est vérifié pour tous les sites étudiés. À l'inverse, lorsque la population de cyanobactéries est bien diversifiée comme au lac d'Aydat ou dans le bassin de Méry-sur-Oise, la production de toxines est très faible (quelques ng·L⁻¹) ou non détectable.

Cette dernière constatation constitue peut être une piste de recherche concernant le déterminisme de la production d'héptapeptides toxiques. Les travaux de KERRY *et al.* (1988), LYCK *et al.* (1996) et ORR et JONES (1998) montrent que cette production, chez *Microcystis aeruginosa*, est fortement influencée par :

- la concentration initiale en nitrate du milieu de culture : la vitesse de croissance est proportionnelle à celle-ci ainsi que la production de mLR. Pour ORR et JONES ces résultats montrent que la production de microcystines est le résultat d'une activité métabolique indispensable à la vie cellulaire. Ces polypeptides ne sont donc pas des métabolites secondaires comme on a pu le penser (CARMICHAEL, 1992). Ils représenteraient une forme de stockage de l'azote. Ces résultats, d'après les auteurs, s'appliquent également à *P. agardhii* ;
- la concentration en fer du milieu aurait également un rôle très important dans la production des microcystines. KERRY *et al.* (1988) et LYCK *et al.* (1996) montrent qu'une carence progressive en fer du milieu de culture provoque une augmentation très importante de la production toxinique. L'importance de cet élément n'est plus à démontrer dans nombre de processus fondamentaux pour la vie de la cellule végétale (LEONHARDT et STRAUS, 1994). Il intervient également dans le cycle intracellulaire de l'azote puisqu'il est nécessaire à la synthèse de la nitrate réductase et de la nitrogénase.

Le croisement de ces résultats permet d'envisager *a priori* une forte production toxinique dans les milieux à la fois carencés en fer et en azote réduit (NH₄⁺) mais où la concentration en nitrate est élevée.

Les seuls sites étudiés où nous disposons de l'ensemble des données physicochimiques pour tester ces hypothèses sont les lacs d'Aydat et de Villerest.

On observe effectivement une très forte production de microcystines à Ville- rest là où l'eau est fortement chargée en nitrate au début de la période estivale et où l'hypolimnion, riche en ammonium et en fer, reste toujours très éloigné de la zone trophique. En revanche, au lac d'Aydat, la situation est totalement différente

puisque la charge en nitrate du lac est toujours très faible mais l'hypolimnion, riche en fer soluble et en ammonium, est très proche de la zone de production, pendant la période estivale, au moment des efflorescences de cyanobactéries.

4 – CONCLUSION

L'enquête nationale ainsi que l'étude plus approfondie de quelques réservoirs naturels et artificiels ont permis de montrer que, comme ses voisins de l'Union européenne où ce type d'étude avait déjà été effectué, la France n'est pas à l'abri d'un risque de santé publique lié à la présence, parfois massive, de cyanobactéries toxiques. Il reste cependant un gros effort à faire concernant l'information du public et l'initiation d'enquêtes épidémiologiques auprès des services de santé publics et privés. Les hypothèses présentées ici, concernant le déterminisme de la production toxinique, doivent encore être testées sur un grand nombre de sites si on veut pouvoir les valider. Dans cette perspective il serait souhaitable, maintenant, que la communauté scientifique compétente en charge de ces problèmes se dote d'une structure de type « observatoire » pour qu'une suite efficace et concrète soit donnée à ce travail et pour se prémunir contre tout risque d'intoxication massive.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier pour leur efficacité aussi bien sur le terrain qu'au laboratoire : J.F. Briand et L. Ten Hage (LC-MNHN), M. Evrard, D. Lavergne et M. Pèpe (LGE-Paris 7) ainsi que toute l'équipe du laboratoire de biologie des protistes de l'université Blaise Pascal (Clermont 2) et particulièrement : C. Amblard, G. Bourdier et J.-C. Romagoux.

Enfin ce travail n'aurait pu être accompli sans le soutien du ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement et la collaboration du ministère de la Santé.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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*, 32, 1495-1507.
- BONNET M.P., 1998. Fonctionnement d'un écosystème lacustre : modélisation des successions planctoniques de la retenue de Villerest (Loire, France). École des mines de Paris. *Mémoire des Sciences de la Terre n° 35*. Centre d'Informatique Géologique.
- BRIAND J.F., ROBILLOT C., QUIBLIER-LLOBERAS C., KRYS S., COUTÉ A., BER-

- NARD C., 2002. Ecology and first toxicity studies on *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) in France. *Wat. Res.*(sous presse).
- CARMICHAEL W.W., 1992. Cyanobacteria secondary metabolites - The cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.*, 72, 445-459.
- CHORUS I., BARTRAM J., 1999. Toxic Cyanobacteria in Water. 1st edition, E & FN Spon, London.
- COUTÉ A., LEITAO M., MARTIN C., 1997. Première observation du genre *Cylindrospermopsis* (cyanophyceae, nostocales) en France. *Cryptogam. Algol.*, 18, 57-70.
- FASTNER J., NEUMANN U., WIRSING B., WECKSSER J., WIEDNER C., NIXDORF B., CHORUS I., 1999. Microcystins (hepatotoxic heptapeptides) in German fresh water bodies. *Environ. Toxicol.*, 14, 13-22.
- FRANCIS G., 1878. Poisonous Australian Lake. *Nature*, 18, 11-12.
- KERRY A., LAUDENBACH D.E., TRICK C.G., 1988. Influence on iron limitation and nitrogen source on growth and siderophore production by cyanobacteria. *J. Phycol.*, 24, 566-571.
- LEONHARDT K, STRAUS N.A., 1994. Photosystem II genes ISIA, PSBDI and PSBC in *Anabaena* sp. PCC 7120: cloning, sequencing and the transcriptional regulation in iron-stressed and iron repleted cells. *Plant mol. biol.*, 24, 63-73.
- LYCK S., GJØLME N., UTKILEN H., 1996. Iron starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* cultures. *Phycologia*, 35, 120-124.
- ORR P.T., JONES G.J., 1998. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnol. and Oceanogr.*, 43, 1604-1614.
- POURIA S., DE ANDRADE A., BARBOSA J., CAVALCANTI R.L., BARRETO V.T.S., WARD C.J., PREISER, POON G.K., CODD G.A., 1998. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, 352, 21-26.
- SARAZIN G., DEVAUX J., 1991. Diagenèse précoce de la matière organique dans la colonne d'eau et le sédiment d'un lac eutrophe : le lac d'Aydat (Puy de Dôme). *Oceanis*, 17, 533-560.