

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

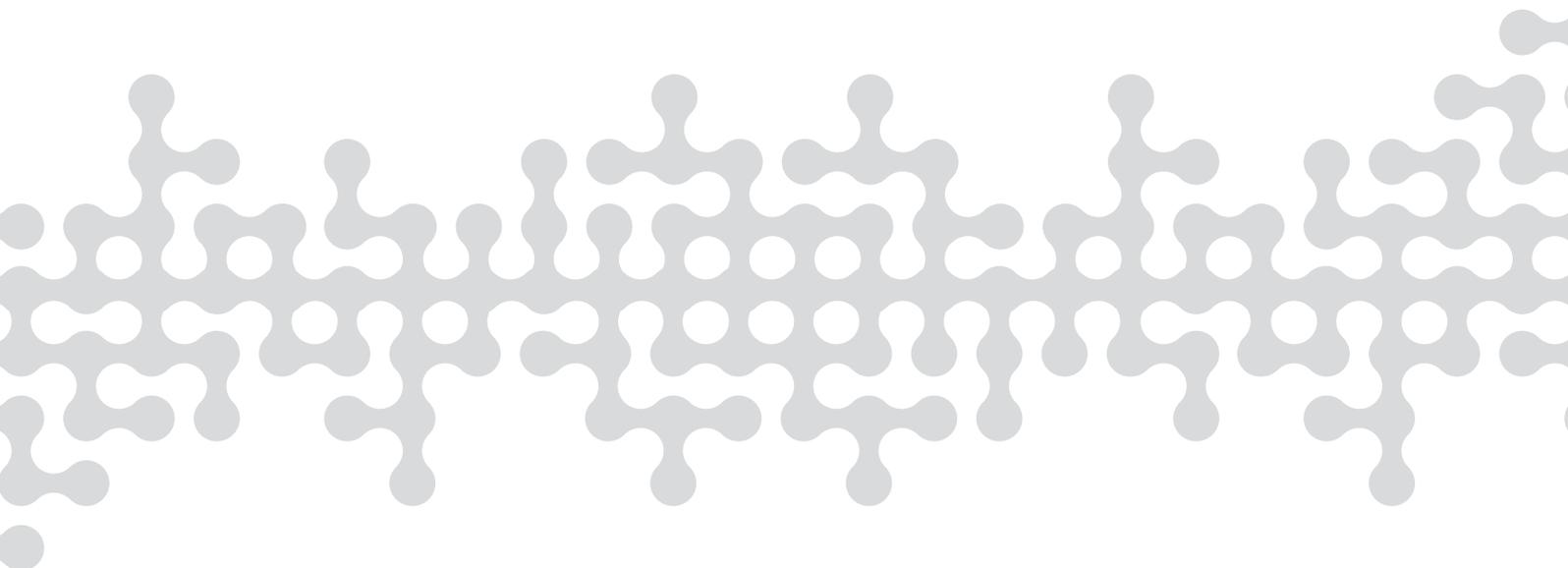


Actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines

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 CO₂, 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 lyse¹ 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.

¹ 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⁻¹ 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'oligotrophie² à l'eutrophie³. 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⁻¹. 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

² 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.

³ 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
Microcystines	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>
Anatoxine-a	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>
Anatoxine-a(S)	Eau douce	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Dolichospermum (Anabaena)</i>	
Cylindrospermopsines	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>	
		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>	
Saxitoxines	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>
Béta-méthylamino-L-alanine (BMAA)	Eau marine	Filamenteux	<i>Leptolyngbya</i>	
Nodularines	Eau marine/saumâtre (et eau douce selon Foss <i>et al.</i> , 2016)	Filamenteux avec hétérocyte	<i>Nodularia</i>	<i>Nostoc</i>
Lyngbyatoxines	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya (Organismes typiquement benthiques)</i>	<i>Moorea (Moorena)</i>
Aplysiatoxines	Eau marine	Filamenteux	<i>Lyngbya (Organismes typiquement benthiques)</i>	<i>Moorea (Moorena), Leibleinia</i>
Palytoxines	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^{er} 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 intoxication⁴ 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.**

⁴ 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**

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 <i>Chen et al. (2011)</i>	DSENO ⁵ = 1 µg.L ⁻¹ = 0,15 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique⁶</u> DSENO _{HED} = 0,02 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	25 UF _A : 2.5 UF _D : 10	1 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹
					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 ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> DMENO _{HED} = 10,31 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3	0,14 µg.kg⁻¹pc.j⁻¹
					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 ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> DSENO _{HED} = 22 µg.kg pc ⁻¹	250 UF _A : 2,5 UF _D : 10 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 1	0,1 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹
					Niveau de confiance Faible

2

⁵ DSENO : Dose maximale sans effet néfaste observé ; DMENO : Dose minimale entraînant un effet néfaste observé

⁶ 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 hypolimnique⁷ 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

⁷ 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 toxines⁸ 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⁻¹) 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.**

⁸ 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) ¹ (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

¹ données issues de l'étude INCA3 (Anses, 2019c) ; P95 : 95^{ème} 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 ¹	1	15 ou 30
7-10 ans	29	30 ²	1	15 ou 30
11-14 ans	46	30 ²	1	15 ou 30
15-17 ans	62	18 ²	1	15 ou 30
Adulte plus de 18 ans	70	7 ²	1	15 ou 30

¹ Owen et Sunger, 2018 – ² 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⁻¹ 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⁻¹ 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^{ème} 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 µg.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 (µg.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 ± 33 µg.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 Cylindrospermopsine

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⁻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 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 ⁻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 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⁻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).

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)
P95 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge	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
P97,5 de la distribution des tailles de portion de poisson selon la classe d'âge	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 2017⁹, 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 $33\,591 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

⁹ 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 totales¹⁰, 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).

¹⁰ 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 | - α : le risque de première espèce |
| - σ^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 | |
| - μ : 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 sentinelles¹¹ 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.

¹¹ 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 biovolume¹² 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 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 aiguë 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.

¹² 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.



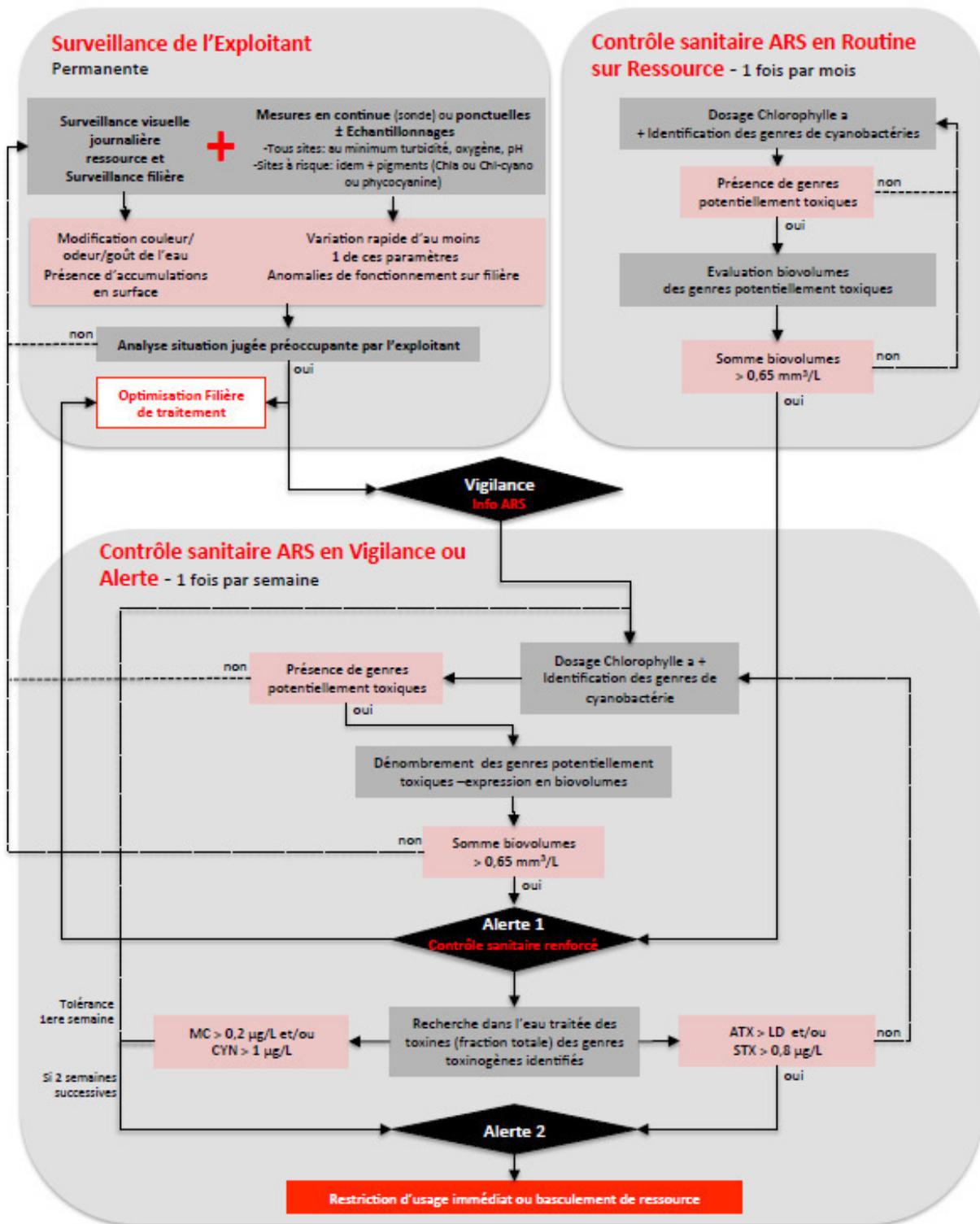


Figure 1 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des EDCH vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.

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 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.

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.

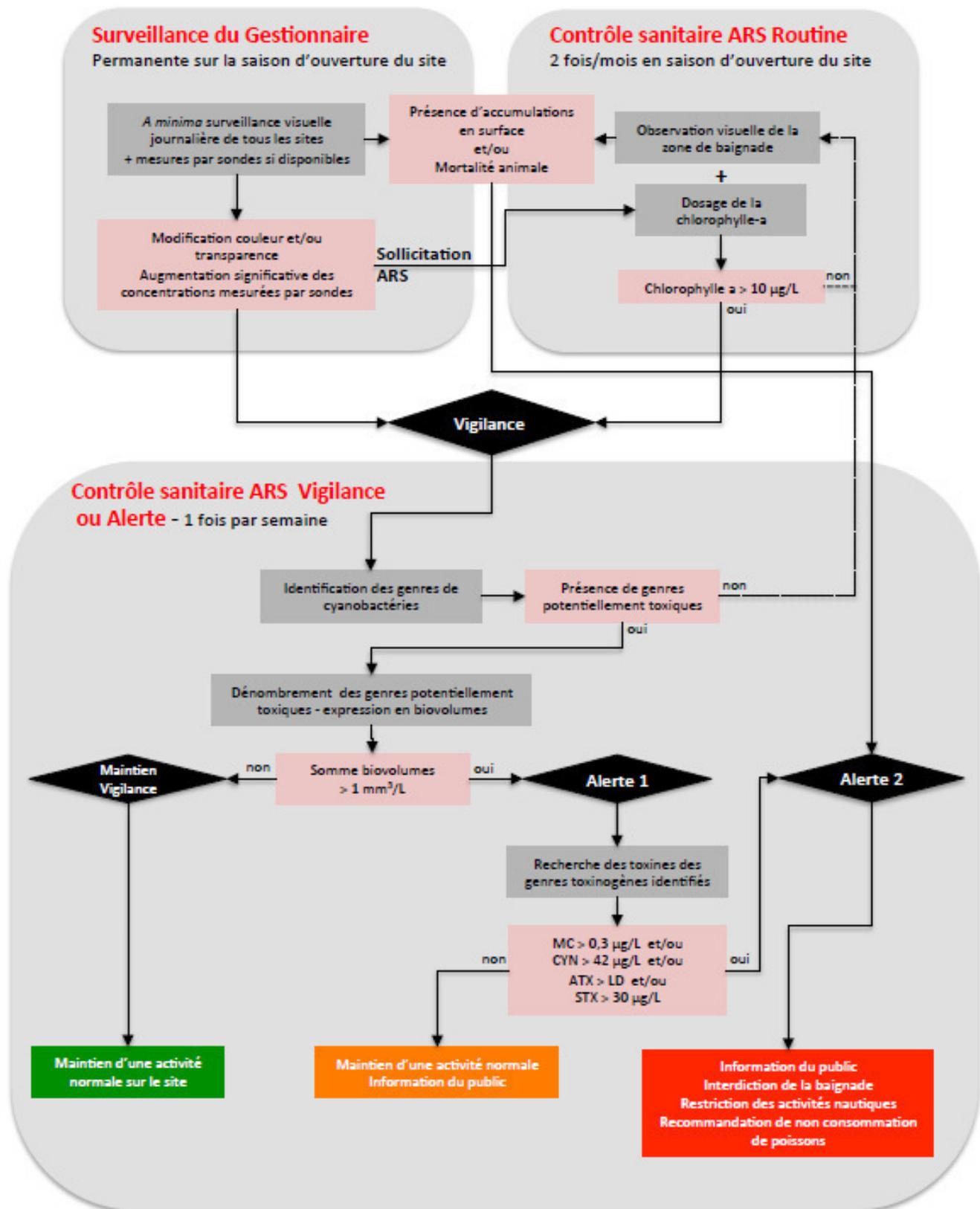


Figure 2 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries planctoniques.

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.

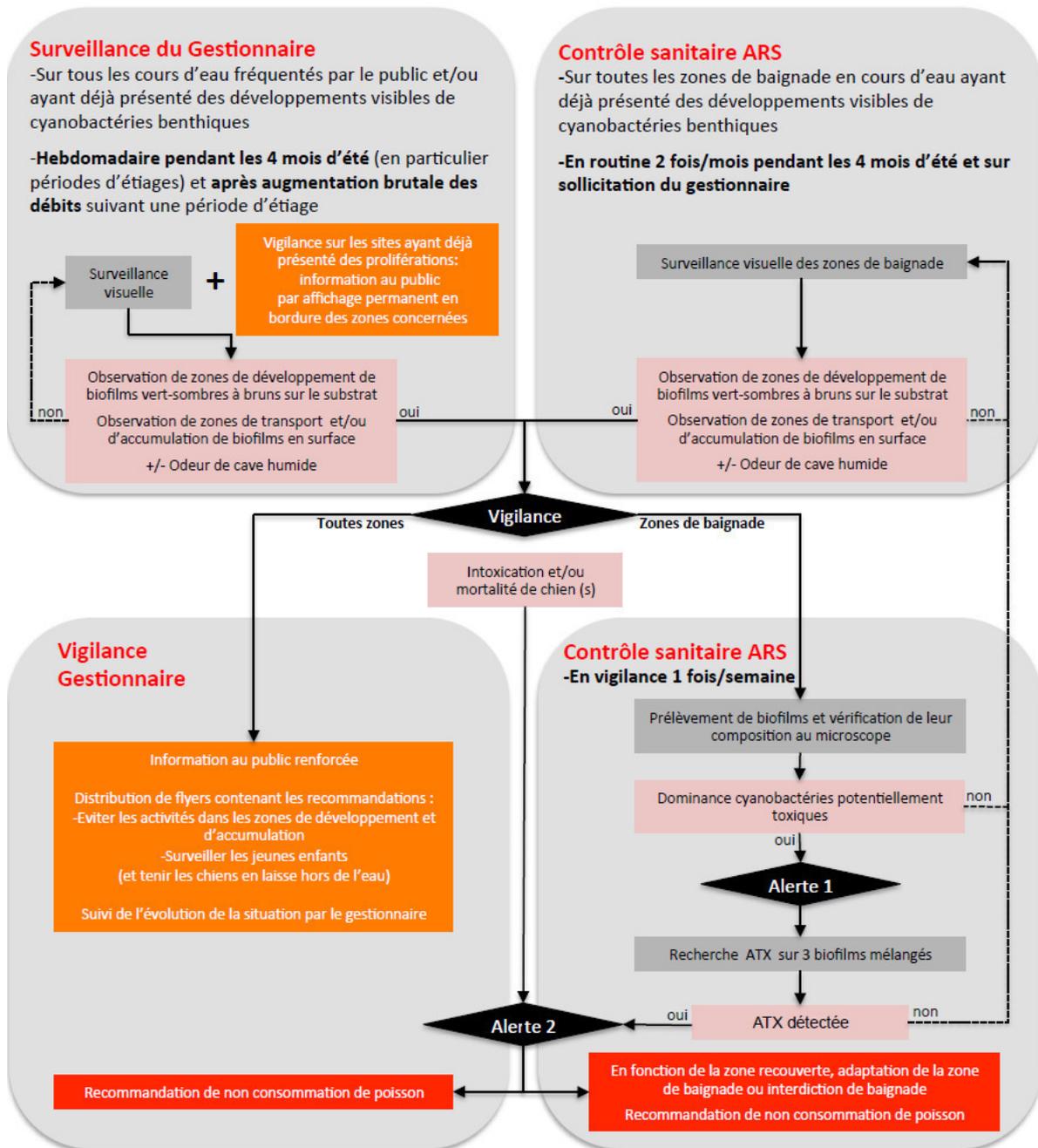


Figure 3 : Proposition de stratégie de surveillance et de contrôle sanitaire des eaux de baignade vis-à-vis des cyanobactéries benthiques.

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 « Eaux » 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-Treytore, 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 μm^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"> x simples particules dispersées pouvant rendre l'eau turbide, x masse importante dans la colonne d'eau - « purée de pois », x film, trainées de surface ressemblant à un déversement de peinture, x écume colorée.

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.  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>



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"/> <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 arrières, perte d’équilibre, état anxieux, nausées, yeux globuleux, bave...

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






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>



TRIBUTION
COMPLEMENTAIRE



ARS
Agence Régionale de Santé
Centre-Val de Loire



SOS 112

