



**HAL**  
open science

## État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines

Ronel Biré, Guillaume Duflos, Valérie Fessard, César Mattei, Nathalie Arnich

### ► To cite this version:

Ronel Biré, Guillaume Duflos, Valérie Fessard, César Mattei, Nathalie Arnich. État des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines : Rapport d'appui scientifique et technique. [0] Saisine n° 2015-SA-0206, Anses. 2016, 262 p. anses-01419666

**HAL Id: anses-01419666**

**<https://anses.hal.science/anses-01419666>**

Submitted on 14 May 2019

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

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



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

---

# Etat des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines

---

Demande « 2015-SA-0206 »

## **RAPPORT d'appui scientifique et technique**

ETUDE DES DONNEES DE LA LITTERATURE

Comité d'Experts Spécialisé  
« Evaluation des Risques physico-Chimiques dans les Aliments »  
(CES ERCA)

Juin 2016

## Mots clés

---

Poisons d'eau douce, cyanotoxines, cyanobactéries, microcystines, méthodes analytiques, cinétique, contamination, décontamination

*Freshwater fish, cyanotoxins, microcystins, analytical methods, kinetic, contamination, depuration*

## Présentation des intervenants

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

### RAPPORTEURS

---

M. Ronel BIRE – chargé de projet en chimie – compétences en chimie analytique

M. Guillaume DUFLOS, membre du CES ERCA – Responsable de laboratoire – compétences en chimie analytique, en physiologie des poissons

Mme Valérie FESSARD – Chef d'unité – compétences en toxicologie et en cyanotoxines

M. César MATTEI, membre du CES ERCA – Maître de conférence des universités – compétences en toxicologie et en toxines

### Contribution scientifique de l'Anses

Mme Nathalie ARNICH – Adjointe au chef d'unité – compétences en toxicologie et en cyanotoxines

### COMITÉ D'EXPERTS SPECIALISÉ

---

- Comité d'Experts Spécialisé « Evaluation des Risques physico-Chimiques dans les Aliments » (CES ERCA), réuni le 20 octobre 2015, le 24 mai 2016 et le 23 juin 2016.

### Président

M. Cyril FEIDT – Professeur des universités – compétences en transfert des contaminants

### Membres

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

M. Pierre-Marie BADOT - Professeur des universités – compétences en transfert des contaminants

M. Jacques BELEGAUD – Professeur honoraire– compétences en toxicologie

Mme Valérie CAMEL- Professeur des universités – compétences en chimie analytique

Mme Martine CLAUW- Professeur des universités- compétences en toxicologie

M. Guillaume DUFLOS- Responsable de laboratoire- compétences en chimie analytique

Mme Camille DUMAT- Professeur des universités – compétences en chimie analytique

M. Jérôme GAY-QUEHEILLARD- Maître de conférence des universités- compétences en impacts digestifs et métabolisme

M. Thierry GUERIN – Directeur de recherche – compétences en chimie analytique

Mme Nicole HAGEN-PICARD- Professeur des universités- compétences en toxicologie

Mme Laila LAKHAL- Ingénieur animateur de projets - compétences en toxicologie

M. Claude LAMBRE- Retraité- compétences en toxicologie

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

Mme Raphaële LE GARREC- Maître de conférence des universités- compétences en toxicologie

M. Eric MARCHIONI- Professeur des universités- compétences en chimie analytique

M. César MATTEI- Maître de conférence des universités- compétences en toxicologie

Mme Sakina MHAOUTY-KODJA- Directeur de recherche- compétences en toxicologie

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

M. Alain-Claude ROUDOT- Professeur des universités - compétences en modélisation mathématique

Mme Karine TACK- Responsable de laboratoire- compétences en chimie analytique

Mme Paule VASSEUR- Professeur émérite- compétences en toxicologie

M. Eric VERDON- Responsable de laboratoire - compétences en chimie analytique

M. Jean-Paul VERNOUX- Professeur émérite-compétences en toxicologie

---

## **PARTICIPATION ANSES**

### **Coordination scientifique**

Mme Nathalie ARNICH - Adjointe au Chef de l'Unité d'Evaluation des risques liés aux aliments, Direction de l'Evaluation des Risques

### **Secrétariat administratif**

Mme Angélique LAURENT – Direction de l'Evaluation des Risques

## SOMMAIRE

Présentation des intervenants .....	3
Synthèse - Conclusions .....	7
Sigles et abréviations .....	9
Liste des tableaux.....	10
Structures chimiques des cyanotoxines majeures .....	11
<b>1 Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux.....</b>	<b>13</b>
1.1 Contexte.....	13
1.2 Objet de la demande .....	14
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	14
1.4 Méthodologie de travail .....	14
1.4.1 Protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons .....	16
1.4.2 Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines .....	17
1.4.3 Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines .....	18
<b>2 Résultats concernant les méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons.....</b>	<b>24</b>
2.1 Synthèse concernant l'utilisation et les performances des méthodes d'analyse .....	24
2.2 Conclusion et recommandations .....	27
<b>3 Résultats : éléments d'éclairage concernant la contamination des poissons par les microcystines .....</b>	<b>28</b>
3.1 Synthèse des grilles de lecture .....	28
3.2 Conclusion et recommandations .....	39
3.3 Points particuliers .....	40
3.3.1 A propos des microcystines libres et liées .....	40
3.3.2 A propos de l'effet de la cuisson .....	41
3.3.3 A propos des concentrations en microcystines dans la chair de poisson .....	41
<b>4 Résultats : éléments d'éclairage concernant la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines .....</b>	<b>44</b>
4.1 Synthèse des grilles de lecture.....	44
4.2 Conclusion et recommandations.....	47
<b>5 Conclusion générale de l'AST.....</b>	<b>49</b>
<b>4 Bibliographie.....</b>	<b>52</b>

<b>ANNEXES .....</b>	<b>66</b>
<b>Annexe 1 : Lettre de la demande .....</b>	<b>67</b>
<b>Annexe 2 : Etat de l'art concernant les méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons .....</b>	<b>69</b>
<b>Annexe 3 : Grilles de lecture des articles relatifs à la contamination des poissons par les microcystines .....</b>	<b>89</b>
<b>Annexe 4 : Grilles de lecture des articles relatifs à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines .....</b>	<b>216</b>

## Synthèse - Conclusions

La consultation de l'Anses fait suite à l'observation d'efflorescences de cyanobactéries dans des plans d'eau en 2014 et en 2015 ayant conduit à une interdiction temporaire des activités de pêche professionnelle et de loisir en même temps que les autres activités récréatives (baignade, activités nautiques), compte tenu du risque de contamination des poissons par des cyanotoxines.

Afin de collecter des informations utiles aux gestionnaires du risque sur la contamination des poissons par les cyanotoxines, l'Anses a réalisé une revue systématique de la littérature.

**Concernant les microcystines**, 69 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

L'accumulation des microcystines dans le tissu musculaire des poissons ne semble pas suivre une relation linéaire ni avec la durée ni avec la dose d'exposition dans la majorité des études. Toutefois, un très faible nombre de ces études a pris en compte les microcystines présentes sous forme liée aux protéines, qui peuvent représenter dans le foie de 60% à presque 100% des microcystines totales, et dont la biodisponibilité n'est pas connue.

L'élimination des microcystines libres accumulées dans le muscle des poissons est très lente dans la majorité des études. Si certaines d'entre elles rapportent une élimination rapide dans les heures ou les jours suivant l'arrêt de l'exposition, une grande partie constate que cette élimination n'est pas totale. Des études *in situ* de suivi de poissons sur plusieurs mois montrent d'ailleurs un bruit de fond de la concentration en microcystines dans le muscle, ce qui traduit bien une cinétique de dépuraison lente et non totale entre 2 efflorescences de cyanobactéries.

De manière plus préoccupante, plusieurs études rapportent une augmentation de la concentration en microcystines libres dans le muscle après l'arrêt de l'exposition aux microcystines dans l'eau. Certains auteurs suggèrent un transfert des toxines accumulées dans le foie vers le muscle.

D'autre part, la présence de microcystines libres dans les muscles de poissons a été observée dans plusieurs études en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries (ou avec des concentrations en microcystines dans l'eau inférieures à 1 µg/L, correspondant à la concentration maximale dans l'eau de boisson selon le Code de la santé publique).

La concentration en microcystines libres dans le muscle des poissons dépend fortement de l'espèce et peut être expliquée en partie par le régime alimentaire. Ainsi, les poissons phyto-planctonivores sont généralement les plus contaminés et les carnivores les moins contaminés.

Au sein d'une même espèce, les concentrations en microcystines libres dans le muscle sont plus élevées chez les individus de petite taille comparées aux individus de grande taille. Les concentrations sont nettement plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles. Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux microcystines.

Les données collectées dans le cadre de cette analyse conduisent à conclure qu'un délai de 2 semaines après la fin de l'efflorescence de cyanobactéries n'est pas suffisant pour assurer la décontamination des muscles des poissons.

**Concernant les toxines autres que les microcystines** (anatoxines, aplysiatoxines, β-N-méthylamino-L-alanine, cylindrospermopsines, lyngbyatoxines, nodularines, saxitoxines), 32 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

Il convient de noter que rares sont les articles comportant des informations à la fois sur les concentrations de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et sur celles dans les tissus des poissons. L'un des problèmes majeurs pour ces cyanotoxines (à l'exception des nodularines) reste l'identification des cyanobactéries à l'origine de leur production.

De plus, le nombre de publications pour chaque cyanotoxine prise séparément reste très faible. Ainsi, certains articles ont été analysés même s'ils ne contenaient pas de données sur les

cyanobactéries ou cyanotoxines dans l'eau ou s'ils ne comportaient pas de mesure dans le muscle mais dans d'autres organes comme le foie.

Par ailleurs, certains poissons sont euryhalins ou présentent des phases de vie en milieu marin succédant à des phases en eau douce. La classification en poissons d'eau douce et poissons marins n'est donc pas si stricte.

Les aplysiatoxines et les lymbytoxines affectent plus particulièrement le milieu marin et aucun article correspondant aux critères d'inclusion pour cette analyse n'a été identifié.

Pour les autres familles de cyanotoxines (anatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, nodularines et saxitoxines), les données collectées montrent un potentiel d'accumulation dans les tissus des poissons, bien que les méthodes analytiques soient souvent peu caractérisées. Mais ces données sont trop parcellaires pour déterminer si cette accumulation peut être reliée à la concentration dans l'eau ou à la durée d'exposition. Pour la BMAA, un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté (pas pour les autres toxines). Comme les microcystines, la BMAA peut être présente sous formes libre et liée, et très peu d'études ont pris en compte les formes liées. Enfin, certaines études rapportent la présence simultanée de plusieurs familles de cyanotoxines dans les tissus des poissons.

Concernant la dépuración, pour les nodularines, un petit nombre d'études montre une diminution assez rapide (en quelques jours) de la concentration mais la toxine ne semble pas réellement éliminée, elle serait plutôt transformée en métabolites qui restent dans le tissu. Pour les autres toxines (saxitoxines, anatoxines, cylindrospermopsines), le peu de données disponibles (seulement un ou deux articles) semble indiquer une possible dépuración.

Comme pour les microcystines, les concentrations sont plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles (sauf pour la BMAA). Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux cyanotoxines.

A l'exception de la BMAA, pour laquelle un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté, les autres toxines seraient présentes en moindre concentration chez les poissons prédateurs. Cependant, ces conclusions sont à prendre avec beaucoup de précaution compte tenu du faible nombre de publications disponibles et fiables concernant cet aspect.

Les données collectées sur les cyanotoxines autres que les microcystines ne permettent pas de proposer de recommandation basée sur la présence de cyanobactéries ou de toxines dans l'eau.

**Concernant les méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les tissus des poissons**, des recommandations sont formulées en matière de préparation des échantillons et de détection.

La prise d'essai doit être représentative de l'échantillon analysé ce qui suppose que ce dernier doit être homogène. Dans plusieurs études, l'échantillon est lyophilisé avant extraction, ce qui facilite le processus d'extraction en particulier pour la chair de poisson qui est une matrice fibreuse. En contrepartie, il convient de s'assurer des effets éventuels de la lyophilisation sur les toxines et notamment pour les formes libres et liées (dans le cas des microcystines et de la BMAA).

Le choix du protocole d'extraction doit être adapté à la nature des toxines recherchées et tenir compte de la forme des toxines recherchées (toxines libres ou liées).

La purification des extraits n'est pas une étape indispensable mais elle peut s'avérer utile en cas d'effets matrices en éliminant les éventuels interférences ou pour concentrer les toxines.

En matière de détection, une méthode rapide, simple et peu onéreuse telle que l'ELISA peut être mise en œuvre pour une analyse de première intention. Il est important de prendre en compte le niveau de réaction croisé (préférentiellement anti-Adda pour les microcystines). Elle devra être complétée par une analyse de confirmation par LC-MS/MS afin d'identifier les toxines présentes (en veillant à prendre en compte un grand nombre de variants et de formes conjuguées).

Il est fortement recommandé que les méthodes de détection utilisées soient **a minima caractérisées par leurs limites de détection et de quantification ainsi que par le rendement de récupération.**

## Sigles et abréviations

ACQ : 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate

ACh : acétylcholine

ACN : acétonitrile

ANTX : anatoxine

ASE : extraction accélérée par solvant

AST : appui scientifique et technique

BES : bioessai sur souris

BMAA :  $\beta$ -N-méthylamino-L-alanine

BuOH : butanol

C4-NA-NHS : ester N-hydroxysuccinimide d'acide N-butylnicotinique

CE : électrophorèse capillaire

GC : chromatographie en phase gazeuse

CIPPIA : test immuno-colorimétrique d'inhibition de la protéine phosphatase

HPLC : chromatographie liquide haute performance

LC-MS/MS : spectrométrie de masse en tandem

CSH : conjugué cystéine

CTX : ciguatoxine

CYN : cylindrospermopsine

DAB / DABA : isomère de la BMAA, acide 2,4-diaminobutyrique / dihydrochlorure d'acide diaminobutyrique

EC : détection électrochimique

EI : impact électronique

ELISA : enzyme linked immunosorbent assay

ESI : ionisation par électrospray

FLD : détecteur de fluorescence

FMOC : 9-Fluorenylmethyl chloroformate

GSH : conjugué glutathion

GTX : gonyautoxine

HCl : acide chlorhydrique

HILIC : chromatographie liquide d'interaction hydrophile

HRP : peroxydase de raifort

i.p. : intrapéritonéal

LAL : lysat d'amibocyte de limule

LD : limite de détection

LPS : lipopolysaccharides

LQ : limite de quantification

mAb : anticorps monoclonal

MC ou MCs : microcystine(s)

MeOH : méthanol

IM : mobilité ionique

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

nAChR : récepteur nicotinique à l'acétylcholine

NBD-F : 4-fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole

NOD : nodularine

OVTX : ovatoxine

pAb : anticorps polyclonal

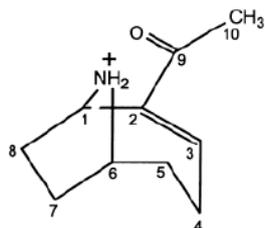
Phe : phenylalanine  
 PLTX : palytoxine  
 p-NP : para-nitrophenol  
 PPIA : test d'inhibition de la protéine phosphatase  
 PSP : paralytic shellfish poisoning (toxines paralysantes de la famille des saxitoxines)  
 RBA : test ligand-récepteur  
 RMN : résonance magnétique nucléaire  
 Si : silice  
 SPE : extraction en phase solide  
 SPME : microextraction en phase solide  
 SPR : résonance plasmonique de surface  
 STX : saxitoxine  
 TCA : acide trichloro-acétique  
 UV : ultraviolet

## Liste des tableaux

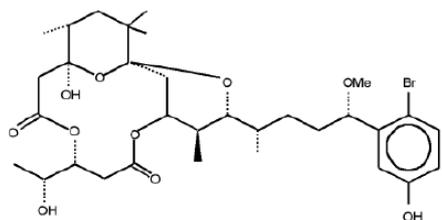
Tableau 1 : protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons	16
Tableau 2 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines	17
Tableau 3 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les anatoxines	19
Tableau 4 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les aplysiatoxines	19
Tableau 5 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par la BMAA	20
Tableau 6 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cylindrospermopsines	21
Tableau 7 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les lyngbyatoxines	21
Tableau 8 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les nodularines	22
Tableau 9 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les saxitoxines	23
Tableau 10 : méthodes d'analyses chimiques des cyanotoxines	25
Tableau 11 : méthodes d'analyses biologiques des cyanotoxines	25
Tableau 12 : tableau de synthèse des articles éligibles relatifs aux MC	31
Tableau 13 : tableau de synthèse des articles additionnels relatifs aux MC	36
Tableau 14 : informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de la BMAA dans différentes matrices	72
Tableau 15 : informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de CYN dans différentes matrices	74
Tableau 16 : informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de NOD dans différentes matrices	77

## Structures chimiques des cyanotoxines majeures

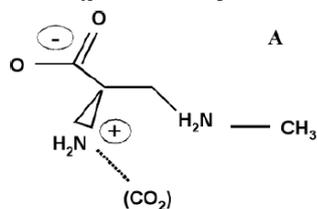
### Anatoxine a



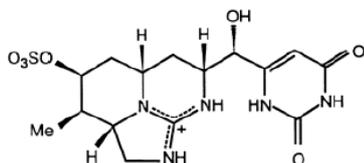
### Aplysiatoxines



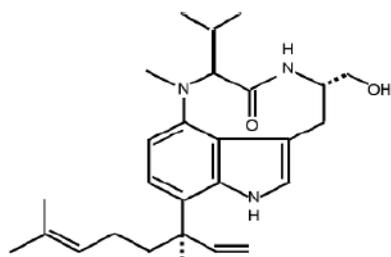
### BMAA ( $\beta$ -N-méthylamino-L-alanine)



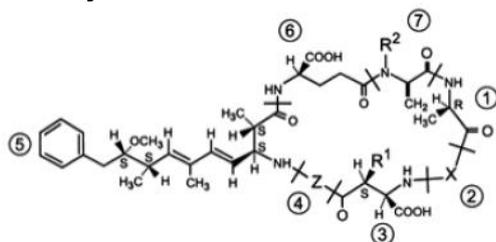
### Cylindrospermopsines



### Lyngbyatoxines

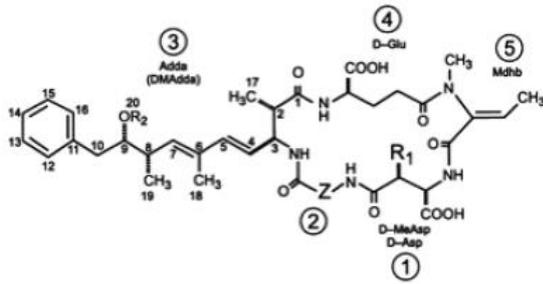


### Microcystines

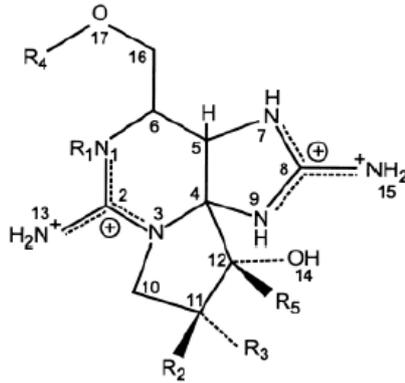


X et Z sont des acides aminés variables, R = H ou CH<sub>3</sub>.

## Nodularines



## Saxitoxines



Toxines	LogP (ou Log Kow)	Référence
Anatoxine-a	1,1 1,7450	US EPA Molbase
Anatoxine-a(S)	-0,1986	Molbase
Aplysiatoxine	5,14920	Molbase
BMAA	-0.29110	Molbase
Cylindrospermopsine	-0,77 -1,1 -1,1218	ChemAxon ALOGPS Molbase
Lyngbyatoxine A	5.2458	Molbase
Microcystine-LR	4,2 3.9297	Rivasseau et al. (1998) Molbase
Microcystine-RR	4,4 3.3278	Rivasseau et al. (1998) Molbase
Microcystine-YR	3,9 3.8319	Rivasseau et al. (1998) Molbase
Nodularine	3.6266	Molbase
Saxitoxine	-2.6132	Molbase

Rivasseau, C., Martins, S., and Hennion, M.-C. (1998). Determination of some physicochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **799**, 155-169.

# 1 Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux

## 1.1 Contexte

La consultation de l'Anses fait suite à l'observation d'efflorescences de cyanobactéries dans des plans d'eau en 2014 et en 2015 ayant conduit à une interdiction temporaire des activités de pêche professionnelle et de loisir en même temps que les autres activités récréatives (baignade, activités nautiques), compte tenu du risque de contamination des poissons par des cyanotoxines.

Le terme cyanobactéries désigne des microorganismes procaryotes photosynthétiques à Gram négatif dont la pigmentation peut varier du bleu-vert au rouge. Elles sont aussi désignées sous le terme d'algues bleues.

Ces microorganismes sont classés du point de vue systématique dans le règne des Eubactéries bien qu'ils aient longtemps été rangés dans le règne végétal car ils présentent, outre des propriétés spécifiques des bactéries, des caractéristiques propres aux algues. La structure cellulaire est similaire à celle des bactéries et caractérisée en particulier par l'absence de noyau et d'organites intracellulaires. Comme les algues, la plupart des cyanobactéries des eaux continentales possèdent de la chlorophylle a, et non de la bactériochlorophylle comme certaines bactéries. Elles renferment généralement, comme autres pigments photosynthétiques, des phycobiliprotéines et réalisent une photosynthèse productrice d'oxygène en utilisant l'eau comme donneur d'électrons.

Les cyanobactéries se développent principalement dans les milieux dulçaquicoles, mais elles sont aussi présentes dans les milieux saumâtres et marins. Lorsque les conditions environnementales (température, nutriments) leur sont favorables elles prolifèrent de manière massive et rapide (en quelques jours), on parle alors d'efflorescence (« bloom » en anglais). Dans certains cas, ces proliférations sont facilement observables par un changement de couleur de l'eau et la formation d'écume ou de mousse. Cependant, l'absence d'écume ne constitue pas un critère permettant d'écarter la présence éventuelle des cyanobactéries. Leur présence est signalée sur tous les continents et la préoccupation internationale est croissante vis-à-vis des risques sanitaires associés.

L'augmentation du nombre de barrages et de réservoirs dans les zones en manque d'eau ainsi que celle des apports nutritifs liés à la pollution des eaux de surface contribuent à favoriser ces proliférations.

Certaines espèces de cyanobactéries produisent des toxines appelées cyanotoxines qui comprennent une grande variété de structures chimiques et de mécanismes d'action. En fonction de ces derniers, les cyanotoxines sont classées en hépatotoxines (microcystines, nodularines, cylindrospermopsines), en neurotoxines (anatoxines, saxitoxines et dérivés), en dermatotoxines à effet irritant (lyngbyatoxines, aplysiatoxines).

Les cyanotoxines sont principalement intracellulaires, mais elles sont libérées dans l'eau sous forme libre lors de la lyse des cellules, en particulier au cours de la phase de sénescence de l'efflorescence (Rapport commun Afssa/Afsset, 2006).

La lettre de saisine figure en annexe 1.

## 1.2 Objet de la demande

La Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la Direction générale de la santé (DGS) ont demandé à l'Anses d'apporter des éléments d'éclairage en réponse aux questions suivantes :

- ▶ Quel est l'état des connaissances concernant la toxicocinétique des différentes cyanotoxines chez les poissons d'eau douce susceptibles d'être consommés par l'Homme, notamment :
  - capacité de bioaccumulation, le cas échéant, à quelle proportion dans les différents organes / tissus ?
  - est-il possible d'établir un lien entre les concentrations en toxines mesurées dans l'eau et/ou les cyanobactéries et celles mesurées dans les poissons ?
  - quelle est la vitesse d'élimination des toxines ?
- ▶ Sur la base des avantages et des inconvénients des différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons, quelle(s) seraient celle(s) à recommander ?
- ▶ Sur la base des informations recueillies en réponse à la question 1 sur la cinétique de contamination/décontamination, quels éléments d'éclairage peuvent être apportés concernant la levée d'une interdiction de consommation des poissons suite à un épisode d'efflorescence de cyanobactéries (retour sous un seuil de cyanobactéries dans l'eau par exemple) ?

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

L'appui scientifique et technique (AST) réalisé en réponse à la présente demande de la DGAL et de la DGS ne fonde pas une évaluation des risques sanitaires.

Les travaux ont été présentés au Comité d'Experts Spécialisé compétent, à savoir le CES ERCA (Evaluation des Risques physico-Chimiques dans les Aliments), lors des séances plénières du 20 octobre 2015, du 24 mai 2016 et du 23 juin 2016.

Afin de réaliser les travaux, 4 rapporteurs ont été nommés :

- 2 experts membres du CES ERCA ;
- 1 expert du Laboratoire de sécurité des aliments, Unité Pesticides et Biotoxines Marines (Anses) ;
- 1 expert du Laboratoire de Fougères, Unité Toxicologie des Contaminants (Anses).

Une partie des travaux a été réalisée en interne à l'Anses, à la Direction de l'Evaluation des Risques, au sein de l'Unité d'Evaluation des risques liés aux aliments.

## 1.4 Méthodologie de travail

Afin d'identifier et de recueillir les données de la littérature permettant de répondre aux questions de la saisine, l'Anses a suivi la méthodologie d'une revue systématique.

Une revue systématique a pour objectif d'identifier de façon méthodique et transparente, d'évaluer et de synthétiser toutes les données disponibles et pertinentes afin de répondre à une question précise.

Cette méthodologie vise à minimiser les biais et maximiser la transparence afin de permettre un examen plus fiable du poids de la preuve sur un sujet spécifique.

Les maîtres mots d'une revue systématique sont : méthodologie rigoureuse, transparence et reproductibilité.

Selon les principes établis par l'Institut Cochrane<sup>1</sup> et par l'Efsa (2010), la revue systématique est une démarche scientifique rigoureuse constituée de plusieurs étapes :

- ▶ rechercher toutes les études existantes publiées ;
- ▶ évaluer la qualité de chaque étude et sélectionner celles qui correspondent à un standard de qualité élevé ;
- ▶ effectuer la synthèse des résultats obtenus dans les études sélectionnées ;
- ▶ si les données le permettent, effectuer une analyse statistique, appelée méta-analyse.

L'évaluation de l'effet d'une exposition sur une population suit une structure dite PECO :

P = population : dans le cadre de cette saisine il s'agit des poissons d'eau douce ;

E = exposition : dans le cadre de cette saisine il s'agit de l'exposition aux cyanobactéries / cyanotoxines ;

C = comparateur, l'exposition de référence : dans le cadre de cette saisine il s'agit d'une situation sans la présence de cyanobactéries / cyanotoxines ;

O = « outcome », la propriété mesurable : dans le cadre de cette saisine il s'agit de la concentration en cyanotoxines dans la chair des poissons.

Suivant les recommandations émises par l'Efsa (2010), le protocole mis en œuvre dans la présente expertise a comporté 8 étapes :

- 1) préparation de la revue : identification des bases de données documentaires, élaboration des phrases de recherche avec les mots-clés des questions de la saisine, définition des critères d'inclusion et d'exclusion ;
- 2) recherche des études : interrogation des bases de données documentaires (les résultats de l'ensemble des requêtes sont sauvegardés dans un logiciel de gestion documentaire) ;
- 3) sélection des études selon les critères d'inclusion et d'exclusion (les résultats de l'ensemble des étapes sont sauvegardés dans un logiciel de gestion documentaire) ;
- 4) collecte des données dans une grille de lecture prédéfinie ;
- 5) évaluation de la qualité méthodologique des études ;
- 6) synthèse des données ;
- 7) présentation des données et des résultats ;
- 8) interprétation des résultats et élaboration des conclusions.

Les détails du protocole mis en œuvre sont présentés ci-après dans l'ordre suivant :

**1.4.1** Protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons

**1.4.2** Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines

**1.4.3** Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines

*L'ordre de présentation sera identique dans les sections relatives aux résultats car il est important pour le lecteur d'avoir une description des méthodes analytiques et des critères de validité avant de présenter les résultats relatifs aux concentrations en cyanotoxines dans les tissus des poissons.*

<sup>1</sup> <http://swiss.cochrane.org/fr/les-revues-syst%C3%A9matiques-systematic-reviews#comment>

### 1.4.1 Protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons

Le protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons et les résultats de différentes étapes de sélection sont présentés dans le tableau 1.

**Tableau 1 : protocole de la revue systématique relative aux méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons**

Revue systématique	Données bibliographiques relatives à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Méthodes d'analyse des cyanotoxines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	TITLE-ABS-KEY ((fish OR finfish) AND ((sample preparation) OR extraction OR detection OR quantification OR analytical OR analysis OR {analytical method} OR development OR {method development} OR validation OR {method validation})) AND (cyanobacteria OR cyanotoxin* OR microcystin* OR nodularin* OR cylindrospermopsin* OR *anatoxin* OR BMAA OR saxitoxin* OR lipopolysaccharide* OR LPS OR *aplysiatoxin* OR lyngbyatoxin* OR palytoxin* OR ovatoxin* OR ciguatoxin*)
Date	22 février 2016
Nombre de références trouvées	1838
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	MEDLINE
Phrase de recherche	TITLE-ABS ((fish OR finfish) AND ((sample preparation) OR extraction OR detection OR quantification OR analytical OR analysis OR {analytical method} OR development OR {method development} OR validation OR {method validation})) AND (cyanobacteria OR cyanotoxin* OR microcystin* OR nodularin* OR cylindrospermopsin* OR *anatoxin* OR BMAA OR saxitoxin* OR lipopolysaccharide* OR LPS OR *aplysiatoxin* OR lyngbyatoxin* OR palytoxin* OR ovatoxin* OR ciguatoxin*)
Date	22 février 2016
Nombre de références trouvées	1926
<b>Élimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	3764
Nombre de références en double	1137 dont 411 retirées manuellement
Nombre final sans les références en double	2627
Date	24 février 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	2224
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	403
Date	04 mars 2016
<b>Seconde étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	173
Nombre de références retenues pour analyse	<b>230</b>
Autre cas	0
Date	11 mars 2016

#### Critères d'inclusion

- Description de la méthode analytique ;
- Cyanotoxines : anatoxines, aplysiatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, homoanatoxine-a, nodularines, microcystines, lipopolysaccharides toxines, lyngbyatoxines, saxitoxines, toxines de type palytoxine, toxines de type ciguatoxine.

#### Critères d'exclusion :

- Toxines autres que des cyanotoxines de la liste d'inclusion ;

- Publications traitant de l'analyse de l'eau et/ou des cyanobactéries ;
- Langue autre que français et anglais.

### 1.4.2 Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines

Le protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines et les résultats de différentes étapes de sélection sont présentés dans le tableau 2.

**Tableau 2 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les microcystines**

Revue systématique	Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Données de contamination par les microcystines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (microcystin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	19 février 2016
Nombre de références trouvées	525
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("microcystin"[All Fields] OR "microcystins"[MeSH Terms] OR "microcystins"[All Fields]) OR microcystine[All Fields] OR microcystines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	19 février 2016
Nombre de références trouvées	393
<b>Élimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	918
Nombre de références en double détectées par EndNote	225
Références trouvées en double par le rédacteur	129
Nombre final sans les références en double	<b>564</b>
Date	19 février 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	447
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	117
Date	20 février 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	36
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	81
Autre cas (pdf non disponible)	1
Date	1 <sup>er</sup> avril 2016
<b>Autre type de sélection</b>	
Références supplémentaires identifiées	2
<b>Troisième étape de sélection (selon la fiabilité de la méthode analytique)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	48
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	35
Date	1 <sup>er</sup> avril 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>35</b>
<b>Articles ré-intégrés car présentant des informations intéressantes mais pour lesquels la méthode analytique n'est pas fiable</b>	<b>34</b>
Date de finalisation de l'étape de sélection	1 <sup>er</sup> avril 2016

Critères d'inclusion lors de la **première étape** de sélection des articles :

- Espèces de poissons d'eau douce ;
- Etude comportant des résultats de concentration en microcystines dans les tissus de poissons.

Critères d'inclusion lors de la **deuxième étape** de sélection (article analysé en entier) :

- Etude comportant au moins 2 résultats de concentration en microcystines dans les tissus de poissons à des temps différents permettant d'avoir une information sur la cinétique de contamination ou de décontamination ;
- Etude comportant au moins un résultat de concentration en microcystines dans les tissus de poisson ET un résultat de cyanobactérie et/ou cyanotoxines dans l'eau.

Critères d'inclusion lors de la **troisième étape** de sélection (pour faire l'objet d'une fiche détaillée de lecture) :

- Méthode analytique jugée suffisamment fiable : validée en interne (score 1) ou caractérisée (score 2 = rendement d'extraction, LD et/ou LQ, score 3 = rendement d'extraction uniquement).

Critères d'exclusion :

- Espèce de poisson non d'eau douce
- Etudes sur Zebrafish, Medaka
- Animaux autres que des poissons
- Etude ne comportant pas de résultat de concentration en microcystines dans les tissus
- Toxines autres que des microcystines
- Articles de revue
- Langue autre que français et anglais
- Articles non disponibles en entier
- Méthode analytique jugée non suffisamment fiable (score 4 = pas rendement d'extraction, uniquement LD et/ou LOQ voire aucune information).

### 1.4.3 Protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines

Le protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines et les résultats de différentes étapes de sélection sont présentés dans le tableau 3 pour les anatoxines, le tableau 4 pour les aplysiatoxines, le tableau 5 pour la BMAA, le tableau 6 pour les cylindrospermopsines, le tableau 7 pour les lyngbyatoxines, le tableau 8 pour les nodularines et le tableau 9 pour les saxitoxines. Compte tenu du nombre restreint d'articles concernant chacune de ces cyanotoxines, les critères d'inclusion et d'exclusion ont été modifiés par rapport aux recherches concernant les microcystines afin d'être moins sélectifs. La qualité des articles est faible et la description des méthodes analytiques insuffisante.

Critères d'inclusion lors de la **première étape** de sélection des articles :

- Etude portant sur des espèces de poissons.

Critères d'inclusion lors de la **deuxième étape** de sélection (article analysé en entier) :

- Etude comportant des résultats de mesures en toxines (selon la toxine ou famille de toxines considérées) dans les tissus de poissons ;
- Etude sur des prélèvements cotiers, estuariens, d'eau douce ou saumâtre.

Critères d'exclusion :

- Etudes sur Zebrafish, Medaka
- Animaux autres que des poissons
- Toxines autres qu'anatoxines, aplysiatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, lyngbyatoxines, nodularines et saxitoxines
- Articles de revue
- Langue autre que français et anglais
- Articles non disponibles en entier.

**Tableau 3 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les anatoxines**

Revue systématique	Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Données de contamination par les anatoxines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (anatoxin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	57
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("anatoxin"[All Fields] OR "anatoxins"[MeSH Terms] OR "anatoxins"[All Fields]) OR anatoxine[All Fields] OR anatoxines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	38
<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	95
Nombre de références en double détectées par EndNote	13
Références trouvées en double par le rédacteur	12
Nombre final sans les références en double	<b>70</b>
Date	24 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	63
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	7
Date	24 mars 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	2
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	5
Autre cas (pdf non disponible)	0
Date	24 mars 2016
<b>Troisième étape de sélection (selon la fiabilité de la méthode analytique)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	0
Nombre de références pour l'étape suivante	5
Date	24 mars 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>7 (2 articles ont été ajoutés)</b>

**Tableau 4 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les aplysiatoxines**

Revue systématique	Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Données de contamination par les aplysiatoxines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (aplysiatoxin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	25 mars 2016
Nombre de références trouvées	3
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("aplysiatoxin"[All Fields] OR "aplysiatoxins"[MeSH Terms] OR "aplysiatoxins"[All Fields]) OR aplysiatoxine[All Fields] OR aplysiatoxines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])

Date	25 mars 2016
Nombre de références trouvées	0
<b>Élimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	3
Nombre de références en double détectées par EndNote	0
Références trouvées en double par le rédacteur	0
Nombre final sans les références en double	<b>3</b>
Date	25 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	3
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	0
Date	14 avril 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture	0

Tableau 5 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par la BMAA

<b>Revue systématique</b>	<b>Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines</b>
Thème	Données de contamination par la BMAA
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (BMAA*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	19
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	"BMAA"[All Fields] OR "BMAAs"[MeSH Terms] OR "BMAAs"[All Fields]) AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	20
<b>Élimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	39
Nombre de références en double détectées par EndNote	5
Références trouvées en double par le rédacteur	13
Nombre final sans les références en double	<b>21</b>
Date	24 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	9
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	12
Date	24 mars 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	7
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	5
Autre cas (pdf non disponible)	0
Date	24 mars 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>5</b>

**Tableau 6 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les cylindrospermopsines**

Revue systématique	Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Données de contamination par les cylindrospermopsines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (cylindrospermopsin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	59
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("cylindrospermopsin"[All Fields] OR "cylindrospermopsins"[MeSH Terms] OR "cylindrospermopsins"[All Fields]) OR cylindrospermopsine[All Fields] OR cylindrospermopsines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	36
<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	95
Nombre de références en double détectées par EndNote	5
Références trouvées en double par le rédacteur	30
Nombre final sans les références en double	<b>60</b>
Date	24 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	46
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	14
Date	24 mars 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	8
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	6
Autre cas (pdf non disponible)	0
Date	24 mars 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>6</b>

**Tableau 7 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les lyngbyatoxines**

Revue systématique	Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines
Thème	Données de contamination par les lyngbyatoxines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (lyngbyatoxin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	25 mars 2016
Nombre de références trouvées	7
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("lyngbyatoxin"[All Fields] OR "lyngbyatoxins"[MeSH Terms] OR "lyngbyatoxins"[All Fields]) OR lyngbyatoxine[All Fields] OR lyngbyatoxines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	25 mars 2016
Nombre de références trouvées	0

<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	7
Nombre de références en double détectées par EndNote	0
Références trouvées en double par le rédacteur	0
Nombre final sans les références en double	<b>7</b>
Date	25 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	6
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	1
Date	14 avril 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	1
Nombre de références retenues	0
Autre cas (pdf non disponible)	0
Date	14 avril 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture	0

**Tableau 8 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les nodularines**

<b>Revue systématique</b>	<b>Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines</b>
Thème	Données de contamination par les nodularines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (nodularin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	59
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("nodularin"[All Fields] OR "nodularins"[MeSH Terms] OR "nodularins"[All Fields]) OR nodularine[All Fields] OR nodularines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	38
<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	97
Nombre de références en double détectées par EndNote	13
Références trouvées en double par le rédacteur	21
Nombre final sans les références en double	<b>63</b>
Date	24 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	27
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	36
Date	24 mars 2016
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	28
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	8
Autre cas (pdf non disponible)	0
Date	24 mars 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>8</b>

**Tableau 9 : protocole de la revue systématique relative à la contamination des poissons par les saxitoxines**

<b>Revue systématique</b>	<b>Données bibliographiques relative à la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines</b>
Thème	Données de contamination par les saxitoxines
<b>Recherche n°1</b>	
Base de données n°1	SCOPUS
Phrase de recherche	(TITLE-ABS-KEY (saxitoxin*) AND TITLE-ABS-KEY (fish))
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	273
<b>Recherche n°2</b>	
Base de données n°2	PUBMED
Phrase de recherche	("saxitoxin"[All Fields] OR "saxitoxins"[MeSH Terms] OR "saxitoxins"[All Fields]) OR saxitoxine[All Fields] OR saxitoxines[All Fields] AND ("fishes"[MeSH Terms] OR "fishes"[All Fields] OR "fish"[All Fields])
Date	24 mars 2016
Nombre de références trouvées	165
<b>Elimination des références en double</b>	
Nombre total de références (somme des bases de données)	438
Nombre de références en double détectées par EndNote	100
Références trouvées en double par le rédacteur	37
Nombre final sans les références en double	<b>304</b>
Date	24 mars 2016
<b>Première étape de sélection (titre et résumé)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	233
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	68
Date	
<b>Deuxième étape de sélection (articles en entier)</b>	
Nombre de références exclues car ne répondant pas aux critères d'inclusion	37
Nombre de références retenues pour l'étape suivante	6
Autre cas (pdf non disponible)	15
Date	12 juin 2016
<b>Résultats de l'étape de sélection</b>	
<b>Articles retenus pour faire l'objet d'une grille de lecture</b>	<b>6</b>

## **2 Résultats concernant les méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons**

Un état de l'art détaillé concernant les méthodes analytiques applicables aux cyanotoxines dans les poissons est présenté en annexe 2.

### **2.1 Synthèse concernant l'utilisation et les performances des méthodes d'analyse**

#### **Traitement de l'échantillon**

L'extraction des toxines constitue la première partie du traitement de l'échantillon. Idéalement, la méthode utilisée doit permettre l'extraction quantitative des composés d'intérêt tout en évitant la co-extraction d'interférences potentielles. Cela s'avère difficile, surtout lorsqu'il s'agit de traiter des matrices complexes telles que les organismes aquatiques (poissons, mollusques, crustacés, etc.), d'autant que les techniques de détection peuvent être plus ou moins sensibles à la présence d'interférences ou effets matrices.

Les protocoles d'extraction varient selon les toxines recherchées ; ces dernières peuvent être extraites en milieu aqueux acidifié (ANTX, BMAA, STX) ou en utilisant des solvants ou mélanges de solvants organiques (CYN, NOD, MC, CTX, PLTX, LPS). La nature du mélange de solvants utilisé dans le cadre du procédé d'extraction doit être choisie avec soin pour assurer sa compatibilité avec la technique de détection. Par exemple, des techniques biologiques ne sont pas compatibles avec des concentrations élevées en solvants organiques, ce qui peut nécessiter de diluer les extraits avant analyse.

Certaines toxines telles que les MC et la BMAA sont connues pour exister sous la forme de toxines libres ou liées à des protéines. Dans de telles circonstances, il est important d'utiliser la procédure d'extraction adéquate en fonction de l'objectif fixé, qui peut être de ne s'intéresser qu'à l'une ou l'autre des formes de la toxine d'intérêt. Ce choix est à mettre en balance avec la notion de biodisponibilité. En effet, il convient de s'interroger sur la pertinence d'extraire les toxines liées aux protéines si elles ne sont ni bioaccessibles ni biodisponibles sous cette forme, et ne représentent donc pas de risque sanitaire pour le consommateur. Il est donc crucial de répondre à ces questions toxicologiques avant de déterminer s'il convient de rechercher les formes libres ou liées des toxines dans le cadre d'une surveillance sanitaire.

L'incorporation d'étapes de purification dans l'analyse des cyanotoxines a été largement rapportée et concerne différents procédés tels que la séparation liquide-liquide, la SPE, la SPME ou plus rarement l'utilisation de cartouches d'immuno-affinité. Si ces étapes de nettoyage visent à réduire la charge matricielle et de ce fait les interférences éventuelles, elles sont également susceptibles de réduire la teneur en toxines au travers de pertes durant le processus. Malheureusement, les rendements de récupération de ces procédures ne sont pas toujours communiqués alors qu'ils devraient l'être pour corriger le résultat final, afin d'avoir l'estimation la plus précise de la teneur en toxines dans la matrice analysée.

#### **Méthodes de détection**

Le concept de performance des méthodes d'analyse est essentiel pour produire des données fiables destinées à être utilisées dans le cadre d'actions de type surveillance sanitaire ou à des fins d'évaluation des risques (données d'occurrence).

Les techniques de détection utilisées pour l'analyse des cyanotoxines peuvent être classées comme chimiques (CE, GC ou LC - UV, FLD ou MS) ou biologiques (bioessais, immunoessais, tests de cytotoxicité, test ligand-récepteur). Parmi cet éventail de techniques, les plus communément utilisées pour l'ensemble des familles de cyanotoxines sont la LC-MS/MS pour les techniques chimiques (tableau 10) et l'ELISA pour les techniques biologiques (tableau 11).

Tableau 10 : méthodes d'analyses chimiques des cyanotoxines

	Cyanotoxines								
	ANTX	BMAA	CTX	CYN	MC	NOD	PLTX	STX	LPS
<b>Chromatographie en phase gazeuse</b>									
GC-MS	X	X							
<b>Chromatographie liquide</b>									
LC-UV	X	X		X	X	X	X		
LC-FLD	X	X	X**				X	X***	
LC-MS(/MS)	X	X*	X	X	X	X	X	X	
<b>Electrophorèse capillaire</b>									
CE-UV		X					X	X	
CE-MS		X						X	
<b>Autres</b>									
LDTD-MS	X								
(*) dérivaison au 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) ou ester N-hydroxysuccinimide d'acide N-butylnicotinique (C4-NA-NHS) requise avant l'analyse LC-MS/MS ; (**) dérivaison au moyen de réactifs fluorescents à base de 1-anthroylnitrile ou coumarin ; (***) dérivaison pré or post-colonne									

Tableau 11 : méthodes d'analyses biologiques des cyanotoxines

	Cyanotoxines								
	ANTX	BMAA	CTX	CYN	MC	NOD	PLTX	STX	LPS
<b>Animal</b>									
Bioessai sur souris	X	X	X	X	X	X	X	X	
<b>Immunoessais</b>									
ELISA	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SPR								X	
<b>Cytotoxicité</b>									
Test hémolytique							X		
Neuro-2a			X				X	X	
MCF-7							X		
Test du lysat d'amibocyte de limule									X
Test PiroGene rFC de détection d'endotoxine									X
Test d'inhibition de la protéine phosphatase					X	X			
<b>Récepteur-ligand</b>									
Récepteur nicotinique à l'ACh	X								
Synaptosome de cerveau de rat			X						
Récepteur à la saxiphiline								X	

La LC-MS est une technique sensible qui permet l'identification des toxines, en distinguant les différents analogues, et leur quantification, le plus couramment en calibration externe (utilisation d'une gamme étalon). Cette technique est également très spécifique en particulier en haute résolution, ce qui permet de distinguer des composés isobares tels que l'ANTX-a et la Phe qui ont la même masse nominale.

Pourtant, cette technique présente un certain nombre d'inconvénients. Elle nécessite l'utilisation de matériels complexes utilisables par du personnel hautement qualifié. Le coût des analyses est élevé en raison notamment du prix d'achat des détecteurs et les méthodes basées sur l'utilisation de cette technologie sont peu adaptées au traitement d'un nombre élevé d'échantillons. De plus, la LC-MS est sujette à des effets matrices, responsables de l'inexactitude de la mesure due à l'augmentation ou à la suppression du signal, particulièrement en mode ESI. On peut regretter que ces effets matrices ne soient pas systématiquement évalués dans les études publiées.

Du côté des techniques biologiques, les méthodes ELISA présentent une spécificité élevée vis-à-vis de la toxine utilisée. Il s'agit de méthodes rapides, facile à mettre en oeuvre, permettant de traiter un grand nombre d'échantillons (plaques 96 puits) à faible coût. La facilité de leur mise en oeuvre leur permet d'être utilisables sur le terrain par des professionnels de la pêche notamment dans le cadre d'auto-contrôles. Cette facilité d'utilisation est due au fait que les tests ELISA sont disponibles sous la forme de kits prêts à l'emploi (type bandelettes) disponibles dans le commerce.

En revanche, l'ELISA est une méthode semi-quantitative qui ne permet pas d'identifier les différents analogues de la famille de toxines recherchée. Ceci est dû au fait que les anticorps utilisés pour la détection ne reconnaissent qu'une partie (épitote) de la toxine. C'est également la raison pour laquelle bien souvent le niveau de réactions croisées, autrement dit la capacité de l'anticorps à détecter une toxine proche de celle utilisée lors du processus d'immunisation, est faible. Dans le cas de l'analyse des MC, le niveau de réactivité croisée du test Abraxis a été très nettement amélioré en utilisant un anticorps dirigé contre le groupement **Adda** propre à toutes les MC et à la NOD, conférant au test immunologique une spécificité plus étendue. Les tests ELISA sont également sensibles aux effets matrices, responsables de résultats faussement positifs ou faussement négatifs.

Il est fait mention dans la littérature de comparaisons de méthodes LC-MS/MS et ELISA, mais il est difficile de parvenir à une conclusion en raison de différents facteurs dont les biais analytiques liés à l'utilisation de procédures d'extraction différentes. Les différences de résultats observées entre ces deux techniques peuvent également s'expliquer par la grande spécificité de la LC-MS/MS qui ne permet de détecter que les toxines recherchées alors que l'ELISA, du fait des réactions croisées, permet de tenir compte, à des degrés variables, de la présence d'analogues de la toxine/famille de toxines recherchée ou de métabolites. En outre, les observations réalisées sont très dépendantes du couple toxine/matrice et peuvent différer d'un couple à l'autre.

Bien que la LC-MS/MS et l'ELISA soient des techniques souvent utilisées pour l'analyse des cyanotoxines dans les poissons, d'autres approches chimiques ou biologiques ont été mises en oeuvre. Différentes méthodes chromatographiques (GC-MS, LC-UV ou -FLD) et des méthodes semi-quantitatives telles que les tests de cytotoxicité (test hémolytique pour PLTX, Neuro-2a pour PLTX et STX, PPIA ou CIPPIA pour NOD et MC, test LAL pour les LPS...) et des tests de liaison ligand-récepteur (RBA pour les CTX, nAChR pour ANTX...) ont été rapportés pour l'analyse des cyanotoxines dans les matrices alimentaires complexes avec occasionnellement des données de caractérisation pour évaluer leur performance.

Les performances de ces techniques, qu'elles soient chimiques ou biologiques, sont évaluées par des études de caractérisation et/ou de validation. Les critères d'intérêt pour l'évaluation des performances sont les suivants : limites de détection et de quantification, linéarité, portée, spécificité, exactitude, fidélité (répétabilité et reproductibilité [ou fidélité intermédiaire]), robustesse. Ils ne sont pas tous pertinents en fonction du type de méthode utilisée (quantitative ou qualitative) ; de même différentes normes/lignes directrices nationales et internationales sont disponibles et peuvent être suivies dans le cadre d'un processus de validation. Les études complètes de

validation sur cyanotoxines sont peu nombreuses notamment concernant les organismes aquatiques dont les poissons.

Lors de la publication d'articles, la communication des données de caractérisation/validation de méthodes devrait être encouragée car elle augmenterait le niveau de confiance dans les données produites et une condition nécessaire pour atteindre cet objectif serait la disponibilité d'étalons et de matériaux de référence des différentes toxines qui font défaut pour le moment.

## 2.2 Conclusion et recommandations

### En matière de préparation des échantillons :

La prise d'essai doit être représentative de l'échantillon analysé ce qui suppose que ce dernier doit être homogène. Dans plusieurs études, l'échantillon est lyophilisé avant extraction, ce qui facilite le processus d'extraction surtout dans le cas de la chair de poisson qui est une matrice fibreuse. En contrepartie, il convient de s'assurer des effets éventuels de la lyophilisation sur les toxines et notamment pour les formes libres et liées. Le choix de la partie à analyser est lui aussi crucial et doit tenir compte des enjeux sanitaires (analyse de la partie consommée ou de la partie susceptible d'être la plus contaminée afin de maximiser le risque ?).

L'extraction des toxines est réalisée en présence de solvant ou mélange de solvants (eau, solvants organiques) et par action mécanique (Vortex, Turrax...) et éventuellement thermique sur les tissus. Le choix du protocole d'extraction est fonction de la nature des toxines recherchées et doit également tenir compte de leur forme libre ou liée, dans le cas de la BMAA et des MC.

La purification des extraits n'est pas une étape indispensable mais elle peut s'avérer utile en cas d'effets matrices en éliminant les éventuelles interférences ou pour concentrer les toxines. Il convient de vérifier la compatibilité du solvant de reprise, après purification, avec la technique de détection mise en œuvre (sensibilité des méthodes biologiques à la présence de solvants organiques). De même, il est important de déterminer le rendement de récupération après purification.

### En matière de détection :

Une stratégie analytique pourrait être mise en place afin de tirer profit des avantages des principales méthodes de détection utilisées pour l'analyse des cyanotoxines et de leur complémentarité. Cette stratégie pourrait se décliner en trois étapes :

Orientation du choix analytique en fonction des éléments de contexte : mise en évidence d'une efflorescence, identification de(s) espèce(s) de cyanobactéries...

Mise en œuvre d'une méthode rapide, simple et peu onéreuse pour une analyse de première intention permettant de collecter les premiers éléments d'information (quantification, évaluation de la toxicité...). L'ELISA semble être l'approche de choix mais d'autres méthodes peuvent être utilisées selon les toxines recherchées (Neuro-2a, test hémolytique, PPIA ou CIPPIA).

Analyse de confirmation par LC-MS/MS pour identifier les toxines présentes et conforter les résultats des analyses de première intention (en veillant à prendre en compte un grand nombre de variants et de formes conjuguées).

Idéalement, il faudrait que les méthodes d'analyse soient validées mais cette exigence n'est pas toujours facile à satisfaire pour différentes raisons. **Il faudrait donc qu'a minima, les méthodes soient caractérisées (LD, LQ, gamme de concentrations, rendements de récupération, spécificité...) afin de fiabiliser les résultats produits.**

Quelle que soit la méthode choisie, il est important de connaître les restrictions s'y rapportant ; à titre d'exemple, le **niveau de réactions croisées de l'ELISA** est primordial car il renseigne sur les limites du test (préférentiellement anti-Adda pour les microcystines).

### 3 Résultats : éléments d'éclairage concernant la contamination des poissons par les microcystines

#### 3.1 Synthèse des grilles de lecture

A l'issue des étapes de sélection des articles menées dans le cadre de la revue systématique, 69 articles ont fait l'objet d'une grille de lecture : 35 articles étaient éligibles car répondant à l'ensemble des critères d'inclusion et 34 articles ont été ré-intégrés car ils comportaient des informations intéressantes en réponse à la saisine mais ne répondaient pas au critère d'inclusion concernant la fiabilité de la méthode analytique (les informations présentées dans les articles étaient insuffisantes concernant la description des performances analytiques en termes de limite de détection, de quantification et de rendement d'extraction) .

Les informations utiles en réponse aux questions de la saisine sont présentées de manière synthétique dans les tableaux 12 et 13. Les grilles de lecture détaillées figurent en annexe 3.

Parmi les 35 articles éligibles :

- ▶ 6 comportent des informations concernant la cinétique d'accumulation des MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce ;
- ▶ 7 comportent des informations concernant la cinétique de dépuraction (élimination des MC accumulées dans le muscle ou le foie après l'arrêt de l'exposition) ;
- ▶ 20 ont étudié les concentrations en MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce et les concentrations en MC dans l'eau, certaines de ces études ont étudié la possible corrélation entre ces 2 paramètres.

Parmi les 34 articles additionnels :

- ▶ 8 comportent des informations concernant la cinétique d'accumulation des MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce ;
- ▶ 9 comportent des informations concernant la cinétique de dépuraction (élimination des MC accumulées dans le muscle ou le foie après l'arrêt de l'exposition) ;
- ▶ 21 ont étudié les concentrations en MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce et les concentrations en MC dans l'eau, certaines de ces études ont étudié la possible corrélation entre ces 2 paramètres.

#### Concernant la cinétique d'accumulation des MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce

Parmi les 6 articles éligibles comportant des informations, 2 rapportent une augmentation de la concentration en MC dans le muscle et le foie en fonction de la durée d'exposition mais 4 **ne mettent pas en évidence de relation linéaire** entre ces 2 paramètres.

Trois de ces 6 études ont porté sur des espèces de poisson présentes en France (parmi ces 3 études, 1 va dans le sens d'une relation linéaire et 2 dans le sens d'une relation non linéaire).

Une de ces 6 études a pris en compte les MC liées<sup>2</sup> (dans le sens d'une relation non linéaire).

<sup>2</sup> Pour 2 autres études, les auteurs indiquent que leur méthode d'analyse par ELISA prend en compte les MC liées mais les informations présentées dans les articles ne sont pas suffisantes pour le confirmer.

Parmi les 8 articles additionnels comportant des informations, 7 **ne mettent pas en évidence de relation linéaire** entre la concentration en MC dans le muscle et/ou le foie et la durée d'exposition. En effet, après une phase initiale d'augmentation de la concentration dans les tissus, les résultats montrent une seconde phase au cours de laquelle la concentration diminue alors que les poissons sont toujours exposés aux MC.

Trois de ces 7 études ont porté sur des espèces de poisson présentes en France.

Dans une seule étude, la concentration en MC dans le muscle augmente de manière régulière avec la durée d'exposition (jusqu'à 80 jours), ce qui n'est pas le cas dans le foie. Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.

Ces 8 études n'ont pris en compte que les MC libres (pas les MC liées).

### Concernant la cinétique de dépuración des MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce

Parmi les 7 articles éligibles comportant des informations, 6 ont porté sur le muscle et 1 sur le foie. Concernant le muscle :

- ▶ 3 études rapportent **une augmentation de la concentration en MC dans le muscle pendant la phase de dépuración** (à 3 jours, 22 jours ou 30 jours). Deux de ces études ont été réalisées chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 2 études observent une diminution rapide (dès le mois suivant) de la concentration en MC dans le muscle après l'efflorescence mais ces concentrations fluctuent ou conservent un bruit de fond les mois suivants. Ces études ont été réalisées chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 1 étude conclut à l'absence de diminution de la concentration en MC dans le muscle après 5 jours de dépuración. Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.

Concernant le foie : 1 étude montre une diminution rapide mais non complète 2 jours après l'exposition (par injection intrapéritonéale).

Ces études n'ont pris en compte que les MC libres<sup>2</sup> (pas les MC liées).

Parmi les 9 articles additionnels comportant des informations, 4 ont porté sur le muscle et 6 ont porté sur le foie. Concernant le muscle :

- ▶ 1 étude montre une cinétique de dépuración lente des MC dans le muscle : 20 jours après l'arrêt de l'exposition, la concentration en MC dans le muscle a diminué de moitié par rapport au pic de contamination. **L'extension de 20 jours supplémentaires de dépuración ne conduit pas à une diminution de la contamination.** Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 1 étude met en évidence **une augmentation de la concentration en MC dans le muscle pendant la phase de dépuración** (après l'arrêt de l'exposition, les poissons étant placés dans un aquarium avec de l'eau sans MC). Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson qui n'est pas présente en France.
- ▶ 1 étude décrit une cinétique de dépuración rapide des MC dans le muscle : la concentration en MC dans le muscle diminue fortement 2 semaines après l'arrêt total de l'exposition (dans une eau dépourvue de MC). La cinétique de dépuración indique une  $\frac{1}{2}$  vie de 0,7 à 7,5 jours. Cette étude a été réalisée chez 2 espèces de poisson présentes en France.
- ▶ 1 étude ne montre pas de diminution significative de la concentration en MC dans le muscle au cours d'une période de dépuración de 14 jours. Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.

Concernant le foie :

- ▶ 1 étude montre une cinétique de dépuración plus lente que dans le muscle, des MC étant toujours présentes 2 semaines après l'arrêt de l'exposition (alors qu'elles ne sont plus détectées dans le muscle). Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 1 étude décrit une cinétique de dépuración très lente car la concentration est encore élevée 4 semaines après l'arrêt de l'exposition (dans une eau sans MC). Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson qui n'est pas présente en France.
- ▶ 2 études n'observent pas de diminution significative de la concentration en MC dans le foie 7 jours après le pic de l'efflorescence ou 14 jours après l'arrêt de l'exposition (dans une eau sans MC). Ces études ont été réalisées chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 1 étude met en évidence **une augmentation de la concentration en MC dans le foie pendant la phase de dépuración** (après l'arrêt de l'exposition, les poissons étant placés dans un aquarium avec de l'eau sans MC). Cette étude a été réalisée chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 1 étude réalisée avec des MC radiomarquées suggère qu'une partie des MC liées dans le foie est modifiée, éliminée ou détruite.
- ▶ 1 étude montre des résultats discordants en fonction de la méthode analytique utilisée (ELISA ou PPI).

Ces 9 études n'ont pris en compte que les MC libres (pas les MC liées).

### Concernant la relation entre la concentration en MC dans le muscle ou le foie de poissons d'eau douce et la concentration en MC dans l'eau

Parmi les 20 articles éligibles comportant des informations :

- ▶ 9 études **ne mettent pas en évidence de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la concentration en MC dans l'eau** ; 3 de ces études ont considéré les MC intra et extracellulaires, 4 ont considéré uniquement les MC intracellulaires ; 4 de ces 8 études portaient sur une espèce de poisson non présente en France.
- ▶ 1 étude par injection intrapéritonéale n'observe pas de relation dose-réponse de l'accumulation et de la dépuración de la MC-RR dans le muscle chez une espèce de poisson présente en France.
- ▶ 4 études mettent en évidence soit une corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la concentration en MC dans l'eau (1 étude ayant considéré les MC intracellulaires) soit de manière qualitative une concentration en MC dans le muscle plus élevée lorsque la concentration dans l'eau augmente (2 études ayant considéré les MC intracellulaires et 1 étude les MC intra et extracellulaires). Seule 1 de ces 4 études portait sur une espèce de poisson non présente en France.
- ▶ 2 études observent seulement pour certains mois mais pas pour d'autres une concentration en MC dans le muscle plus élevée lorsque la concentration dans l'eau augmente. Ces études portaient sur une espèce de poisson présente en France

Ces études n'ont pris en compte que les MC libres<sup>2</sup> (pas les MC liées).

Par ailleurs, 3 études rapportent la **présence de MC dans les muscles de poissons en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries** (ou avec des concentrations en MC dans l'eau inférieures à 1 µg/L).

Au sein d'une même espèce, les **concentrations en MC dans le muscle sont plus élevées chez les individus de petite taille** comparées aux individus de grande taille (dans 3 études).

Parmi les 21 articles additionnels comportant des informations :

- ▶ 8 études **ne mettent pas en évidence de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la concentration en MC dans l'eau** ; 2 de ces études ont considéré les MC intra et extracellulaires, 3 ont considéré uniquement les MC intracellulaires et 2 uniquement les MC extracellulaires, enfin une étude a considéré le nombre de cellules de *Microcystis*. Seules 2 de ces 8 études portaient sur une espèce de poisson non présente en France.
- ▶ 4 études mettent en évidence soit une corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la concentration en MC dans l'eau (2 études ayant considéré les MC intra et extracellulaires ou uniquement intracellulaire) soit de manière qualitative une concentration en MC dans le muscle plus élevée lorsque la concentration dans l'eau augmente (2 études ayant considéré les MC intracellulaires). Il convient de noter que pour l'une de ces études, la corrélation est démontrée (analyse statistique) pour une espèce de poisson phytoplanctonivore mais pas pour une espèce de poisson zooplanctonivore. Seule 1 de ces 4 études portait sur une espèce de poisson non présente en France.

Parmi ces 12 études, 11 n'ont pris en compte que les MC libres (pas les MC liées). L'unique étude ayant pris en compte les MC totales (libres + liées) a conclu à l'absence de corrélation entre les concentrations en MC dans le muscle et dans l'eau (intra ou extracellulaire).

Par ailleurs, 4 études rapportent la **présence de MC dans les muscles de poissons en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries** (ou avec des concentrations en MC dans l'eau inférieures à 1 µg/L).

Au sein d'une même espèce, les **concentrations en MC dans le muscle sont plus élevées chez les individus de petite taille** comparées aux individus de grande taille (dans 2 études).

Enfin, toutes les études ayant porté sur plusieurs espèces de poisson observent une grande variabilité des concentrations en MC dans le muscle selon l'espèce (7 articles éligibles, 11 articles additionnels). Dans la plupart des cas, les poissons phytoplanctonivores sont les plus contaminés et les poissons carnivores les moins contaminés. Les concentrations sont nettement plus élevées dans le foie et les viscères comparativement au muscle.

**Tableau 12 : tableau de synthèse des articles éligibles relatifs aux MC**

[MC]muscle = concentration en MC dans le muscle de poisson, [MC]eau = concentration en MC dans l'eau

case en rouge = information n'allant pas dans le sens d'une relation ; case en vert : information allant dans le sens d'une relation ; case en orange : information attirant l'attention.

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/toxines dans l'eau
Amé et al. (2010)	<i>Odontesthes bonariensis</i> : pejerrey	non	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (totales ou dissoutes) et celle dans le muscle.
Bieczynski et al. (2013)	<i>Odontesthes hatcheri</i> (pas de nom commun)	non	66 à ~100% des MC dans le foie sont sous forme liée. Dans le foie, relation non-linéaire avec la durée d'exposition pour MC libres ou totales	-	-
Cazenave et al. (2005)	<i>Corydoras paleatus</i> : corydoras poivré <i>Jenynsia multidentata</i> (pas de nom commun) <i>Odontesthes bonariensis</i> : pejerrey	non	Accumulation de MC-RR dans le muscle et le foie différente selon l'espèce (en concentration et répartition entre les 2 organes).	-	[MC-RR]muscle plus élevée quand [MC-RR]eau (intracellulaire) plus élevée. [MC-RR]eau extracellulaire < LQ.
Chen et al. (2006)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui	-	[MC]muscle ↘ rapidement après le pic (dès le mois	En juillet, le pic de [MC]muscle correspond au pic de [MC]eau intracellulaires mais en juin et

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
				suyvant) mais on observe un bruit de fond pendant plusieurs mois	août il n'y a pas de corrélation entre les 2 paramètres (en juin, forte [MC] muscle mais pas de MC dans l'eau et en août, forte [MC]eau et faible [MC]muscle).
<b>Chen et al. (2007)</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> : carpe à grosse tête	oui	-	[MC]muscle ↘ rapidement après le pic (dès le mois suivant) mais on observe des fluctuations les mois suivants sans lien avec les MC dans l'eau	En juillet, le pic de [MC]muscle correspond au pic de [MC]eau intracellulaires mais en août et octobre pas de corrélation entre les 2 paramètres (août, forte [MC]eau et faible [MC]muscle, octobre petit pic [MC]muscle et faible [MC]eau).
<b>Dai et al. (2008)</b>	<i>Carassius auratus</i> : carassin doré, poisson rouge mais les auteurs font référence à « crucian carp » qui correspond au carassin commun <i>Carassius carassius</i> . Il y a peut-être une erreur d'attribution du nom latin	oui	-	Après injection ip de MC-LR, [MC] foie ↘ rapidement mais élimination pas totale 48h post injection car il reste 35% de la concentration observée 1h post injection. [MC-LR-GSH] représente que < 10% [MC-LR]foie	-
<b>Dong et al. (2009)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i> : tilapia hybride	non	Augmentation de la concentration dans le muscle et le foie en fonction de la durée d'exposition (après 30j et 60 j d'exposition)	Cinétique de dépuración des MC dans le muscle différente selon la dose. Faible dose, ↗ <b>de la concentration en MC pendant la dépuración (à 30 j)</b> suivie d'une ↘ (à 60j). Forte dose, pas ↗ mais ↘ très lente. Dans les 2 cas, <b>après 55 j de dépuración [MC]muscle toujours élevée.</b>	Pas de relation dose-réponse dans le muscle, les concentrations sont très proches pour les 2 doses testées après 30 ou 60 jours d'exposition
<b>Dong et al. (2011)</b>	Hybride <i>Acipenser baeri</i> x <i>gueldenstaedtii</i> esturgeon	oui	Augmentation de la concentration dans le muscle et le foie en fonction de la durée d'exposition (après 24j et 47 j d'exposition)	Cinétique de dépuración des MC dans le muscle différente selon la dose. 2 faibles doses, ↗ <b>de la concentration en MC pendant la dépuración (à 22 j)</b> suivie d'une ↘ (à 43j). Forte dose, pas ↗ mais ↘ très lente. <b>Dans les 3 cas, après 43 j de dépuración [MC]muscle toujours élevée.</b>	Augmentation dose-dépendante de la concentration dans le muscle et le foie
<b>Dyble et al. (2011)</b>	<i>Perca flavescens</i> : perchaude	non	Muscle : la phase d'accumulation atteint son pic entre 12 et 16h après l'exposition suivie d'une phase de dépuración qui n'est pas totale après 24h à la faible dose testée. Foie : le pic de concentration est observé entre 8 et 10h suivi d'une diminution jusqu'à 20h et un plateau à 24h pour la faible dose		Pas de relation dose-réponse : les profils d'accumulation et dépuración sur 24h dans le foie et le muscle sont similaires pour les 2 doses de MC testées et les concentrations sont du même ordre de grandeur
<b>Hardy et al. (2015)</b>	truite arc en ciel crapet-soleil = perche soleil = achigan à petite bouche perchaude poisson chat = barbotte brune achigan à grande	oui oui non oui oui	-	-	[MC]muscle poissons de diverses espèces prélevées lors d'efflorescences de cyanobactéries étaient faibles (2 à 11 µg MC-LReq/kg pf par ELISA anti-Adda et < LD par LC-MS/MS)

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
	bouche crapet de roche, truite fardée meunier à grandes écailles sauvagesse du Nord	oui non non non			
He et al. (2012)	<i>Aristichthys nobilis</i> carpe à grosse tête	oui	-	Pas de nette ↘ [MC]muscle 72h post injection, au contraire c'est à ce moment que la concentration de MC-LR <b>atteint son pic</b> à la faible dose testée.	Pas de relation dose-réponse de l'accumulation / dépuración de MC-LR et RR dans le muscle.
Ibelings et al. (2005)	Noms latins non précisés  perche gremille éperlant	oui	Forte variabilité [MC]foie selon l'espèce de poisson pendant une efflorescence : phytoplanctonivores > carnivores. Pas de preuve de bioamplification des MC le long de la chaîne alimentaire	-	-
Jiang et al. (2014)	<i>Carassius auratus</i> : carassin doré, poisson rouge <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée <i>Coilia ectenes</i> ( <i>Coilia nassus</i> ) : anchois	oui	Forte variabilité [MC]muscle selon l'espèce de poisson pendant une efflorescence : omnivores-phyto- planctonivores > carnivores.	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau et celle dans le muscle.
		oui			Au sein d'une espèce, pas de corrélation entre [MC]muscle et la taille des poissons.
		non			
Kagalou et al. (2008)	<i>Carassius gibelio</i> : carpe de Prusse	oui	-	-	Lors d'une efflorescence de cyanobactéries, [MC]muscle était de 16 ± 12 µg MC- LReq/kg de poids frais.
Lance et al. (2014)	<i>Gasterosteus aculeatus</i> : épineche	oui	Contamination des poissons suite à la consommation d'escargots naturellement contaminés par les MC, influence de la forme des MC ingérées (libres ou liées) sur la concentration dans les tissus des poissons.	Pas de ↘[MC]muscle des poissons exposés aux MC liées après 5 jours de dépuración	-
Mitsoura et al. (2013)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	[MC]muscle est restée stable entre les 2 dates de prélèvement entre mai et juin (la concentration n'a pas ↗alors que les poissons ont été exposés plus longtemps).-	-	Lors d'une efflorescence de cyanobactéries avec [MC]eau 2-3 µg/L (dissoutes) et 4-5 µg/L (intracellulaires), la [MC]muscle était de 108 à 114 µg MC-LR eq/kg de poids frais.
Ni et al. (2015)	<i>Aristichthys nobilis</i> carpe à grosse tête	oui	-	-	Lors d'une efflorescence avec [MC]eau de 12,24 µg/L, la [MC]muscle maximale était de 880 µg/kg de poids sec.
Papadimitriou et al. (2010)	<i>Carassius gibelio</i> : carpe de Prusse	oui	-	-	Les résultats ne sont présentés que sous forme de figures. En l'absence de données chiffrées pour les concentrations dans les muscles et dans l'eau, il n'est pas possible de conclure sur une possible relation entre ces 2 paramètres.

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
Papadimitriou et al. (2012a)	<i>Rutilus panosi</i> : gardon	non	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (dissoutes ou dans l'écume) et celle dans le muscle. Au sein d'une même espèce les [MC]muscle sont significativement plus élevées chez les poissons de petite taille par rapport à ceux de grande taille.
Papadimitriou et al. (2012b)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	-	[MCextra]eau : 0,32 à 4,12 µg MC-LReq/L, [MCintra]eau : 0,29 à 15,83 µg MC-LReq/L, [MC]muscle : 119,07 ± 32,99 µg à 95,78 ± 30,79 MC-LReq/kg de poids frais.
Papadimitriou et al. (2013)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	-	[MC]muscle plus élevées quand [MC]eau plus élevée (intra et extracellulaires)
Rios et al. (2013)	<i>Tinca tinca</i> : tanche	oui	-	-	Pas de MC détectées dans le muscle de tanches (LD = 6 µg/kg de poids sec) malgré la présence d'une efflorescence de cyanobactéries et de fortes concentrations en MC dans l'eau (jusqu'à 51,75 µg/L).
Schmidt et al. (2013)	<i>Pomoxis nigromaculatus</i> : marigane noire <i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Micropterus salmoide</i> : achigan à grande bouche <i>Lepomis macrochirus</i> : crapet arlequin <i>Ictalurus punctatus</i> : barbue de rivière	non oui oui non noni	Forte variabilité de la contamination en MC-LR selon l'espèce de poisson. Seules 2 espèces sur 5 étudiées avaient des concentrations quantifiables mais cela ne représentait que 10% des échantillons	-	Présence de MC dans les tissus des poissons en l'absence de MC dans l'eau.
Sotton et al. (2011)	<i>Coregonus lavaretus</i> : lavaret	oui	-	-	Les poissons ne fuient pas la zone d'une efflorescence de cyanobactéries ( <i>P. rubescens</i> ). Pas de MC détectée dans le muscle (LD = 0,5 µg/kg ps) malgré l'efflorescence.
Sotton et al. (2012a)	<i>Coregonus lavaretus</i> : lavaret	oui	[MC-LR]muscle et foie ↗ pendant 48h après exposition unique orale par gavage. A 96h, les profils de cinétique d'accumulation sont ≠ selon la dose de MC-LR (forte ou faible) que ce soit pour le foie ou pour le muscle. L'↗ continue pour la forte dose mais stagne pour la faible dose.	-	2 doses de MC testées (0,5 et 0,05 µg MC-LR/poisson), voir colonne « cinétique de contamination »
Sotton et al. (2012b)	<i>Perca fluviatilis</i> : perche commune	oui	Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le muscle et le foie (en laboratoire). [MC]muscle ↗ 6h, 12h, 24h après administration mais ↘ à 48h puis ↗ à 96h pour atteindre sa valeur max.	-	Corrélation entre [MC]eau intracellulaires et [MC]foie et muscle ( <i>in situ</i> ). Dans le foie, les profils de la cinétique d'accumulation sont différents selon la dose de MC-LR (faible ou forte). Dans le muscle, les profils de la cinétique d'accumulation sont similaires et dose-dépendants pour les 2 doses testées

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
Trinchet et al. (2013)	<i>Rutilus rutilus</i> : gardon, <i>Abramis brama</i> : brème, <i>Lepomis gibbosus</i> : perche-soleil, <i>Perca fluviatilis</i> : perche, <i>Sander lucioperca</i> : sandre, <i>Esox lucius</i> : brochet, <i>Gymnocephalus cernua</i> : grémille, <i>Cyprinus carpio carpio</i> : carpe miroir, <i>C. carpio</i> : carpe commune	oui	-	-	[MC]muscle de plusieurs espèces de poisson sont faibles (< LQ = 0,7 µg/kg de poids frais) malgré une efflorescence de cyanobactéries avec des concentrations en MC intracellulaires de 2,88 à 5 µg MC-LR eq/L.
Wilson et al. (2008)	<i>Perca flavescens</i> : perchaude	non	-	-	Pas de corrélation entre [MC] eau (intracellulaires) et celle dans le muscle et le foie.
Wood et al. (2014)	<i>Dorosoma cepedianum</i> : alose à gésier <i>Dorosoma petenense</i> alose fil <i>Ictalurus furcatus</i> : poisson-chat bleu <i>Brevoortia tyrannus</i> : alose tyran	non	-	-	[MC]poissons plus élevés lors des pics de [MC]eau mais corrélation que pour 1 espèce (alose fil) pas pour les 3 autres espèces. Au sein d'une même espèce, les concentrations sont moins élevées chez les individus de grande taille que chez ceux de petite taille (juvéniles). Accumulation de MC dans le foie et le muscle de plusieurs espèces de poisson alors que [MC]eau < 1 µg/L (intra et extracellulaires). Présence de MC dans les tissus même en absence de MC dans l'eau depuis plusieurs mois.
Wu et al. (2013)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	Le risque associé à la consommation de poissons contaminés par des MC peut être sous-estimé si l'on ne prend pas en compte les métabolites tels que la MC-RR-Cys.	Les pics de concentration en MC-RR ou ses métabolites dans les tissus des poissons ne correspondent pas au pic de concentration en MC-RR dans l'eau.
Xie et al. (2007)	<i>Carassius auratus</i> : carassin doré, poisson rouge, <i>Silurus glanis</i> : silure glane <i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	-	Concentrations élevées en MC-RR et LR intracellulaires durant une efflorescence. MC-LR détectée dans aucun organe de 3 espèces de poissons, les auteurs suggèrent qu'elle pourrait être présente sous forme liée. MC-RR détectée dans le muscle des 3 espèces de 140 à 490 µg/kg de poids sec en moyenne.
Zhang et al. (2009a)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée <i>Carassius auratus</i> : carassin doré, poisson rouge, <i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Culter ilishaeformis</i> <i>Neosalanx taihuensis</i> <i>Coilia ectenes</i>	oui oui oui non non non	[MC] muscle carnivores < phytoplanktonivores < omnivores	-	Pas de corrélation entre [MC] eau (intra ou extracellulaires) et celle dans le muscle et le foie des poissons carnivores, omnivores et phytoplanktonivores
Zhang et al. (2009b)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui	-	Le risque associé à la consommation de poissons contaminés par des MC peut être sous-estimé si l'on ne	-

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/toxines dans l'eau
				prend pas en compte les métabolites tels que la MC-LR-Cys.	
Zhang et al. (2012)	<i>Aristichthys nobilis</i> : carpe à grosse tête	oui	-	La forme majoritaire est MC-LR-Cys dans le foie des carpes <i>in situ</i> alors qu'après injection ip la forme majoritaire est MC-LR	Corrélation entre [MC-LR-Cys] foie et [MC-LR]eau intracellulaire. Pas étudié pour la concentration dans le muscle (MC-LR ou MC-LR-Cys)
Zhang et al. (2013)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui	-	-	Au sein d'une même espèce, les concentrations sont moins élevées chez les individus de grande taille que chez ceux de petite taille Pas de corrélation entre [MC] eau (intracellulaires) et celle dans le muscle

Tableau 13 : tableau de synthèse des articles additionnels relatifs aux MC

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/toxines dans l'eau
Adamovský et al. (2007)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui oui	Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le muscle et le foie (↗ au début puis↘).	muscle : dépuración en 2 semaines, 1/2 vie de 0,7 à 7,5 j ; foie : plus lente, MC toujours présentes après 2 semaines	[MC]eau : 13,8-22,7 µg/L (dissoutes)
Al-Kahtani et Fathi (2008)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le muscle et le foie (↗ au début puis↘).	-	-
Amrani et al. (2014)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Anguilla anguilla</i> : anguille d'Europe, anguille commune	oui oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (intra et extracellulaire) et celle dans le muscle des carpes et des anguilles. Présence de MC dans le muscle même en l'absence de cyanobactéries.
Bruno et al. (2009)	<i>Carassius carassius</i> : carassin commun <i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Dicentrarchus labrax</i> : bar commun <i>Leuciscus cephalus</i> : chevaîne <i>Mugil cephalus</i> : poisson queue bleue <i>Salmo trutta lacustris</i> : truite de lac	oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (intracellulaire) et celle dans le muscle des poissons. Présence de MC dans le muscle même en l'absence de MC dans l'eau.
Chellappa et al. (2008)	<i>Plagioscion squamosissimus</i> : Acoupa rivière <i>Cichla monoculus</i> : perciforme Prochilodus brevis : - <i>Hoplias malabaricus</i> : poisson tigre <i>Leporinus friderici</i> : - <i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	oui en Guyane  non non oui en Guyane non non		résultats jugés peu fiables	
Deblois et al. (2008)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil <i>Tilapia rendalli</i> : tilapia à poitrine rouge	non non	-	-	[MC]muscle plus élevées quand [MC]eau plus élevée (intra et extracellulaires)

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuration	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
Deblois et al. (2011)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le foie (↗ au début puis ↘). Pas de MC détectées dans le muscle.	[MC]foie stable 7 jours après le pic de l'efflorescence.	-
Guo et al. (2015)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée <i>Hypophthalmichthys nobilis</i> : carpe à grosse tête	oui oui	-	-	Corrélation entre la [MC]eau (intracellulaires) et celle dans le muscle pour une espèce de carpe (qui se nourrit de phytoplancton) mais pas pour l'autre (qui se nourrit de zooplancton).
Jiang et al. (2012)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (dissoutes) et celle dans le muscle
Li et al. (2007)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (intracellulaires) et celle dans le muscle
Liang et al. (2015)	<i>Carassius auratus</i> : carassin doré, poisson rouge	oui	pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le muscle (↗ au début puis ↘).	-	[MC]muscle augmente avec l'augmentation de la [MC]eau (intracellulaires) mais pas de manière linéaire
Magalhães et al. (2001)	<i>Tilapia rendalli</i> : tilapia à poitrine rouge	non	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (intracellulaires) et celle dans le muscle. Présence de MC dans le muscle même en absence de MC dans l'eau.
Magalhaes et al. (2003)	non précisée	?	-	-	Présence de MC dans le muscle même quand [MC]eau < 1 µg/L (intra et extracellulaires).
Mohamed et al. (2003)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	-	-	Lors d'une efflorescence de <i>M. aeruginosa</i> , la concentration en MC dans le muscle était de 45,7 à 102 µg/kg de poids frais
Mohamed and Hussein (2006)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	-	Résultats discordants selon la méthode d'analyse (ELISA et PPI) ne permettant pas de conclure sur la cinétique de dépuration des MC dans le foie des poissons.	-
Moreno et al. (2011)	<i>Tinca tinca</i> : tanche	oui	-	-	Les résultats de cette étude ne permettent pas de conclure sur la possible relation entre la concentration en MC dans l'eau et celle dans le muscle des poissons.
Nchabeleng et al. (2014)	<i>Labeo rosae</i> : labéo (famille des cyprinidés) <i>Oreochromis mossambicus</i> : tilapia du Mozambique	non oui en Martinique, Guadeloupe, la Réunion et Polynésie française	-	-	[MC]muscle peu élevée (< 1 µg/kg pf en moyenne) après une efflorescence de <i>Microcystis</i> mais il n'est pas possible de juger de la représentativité des sites de prélèvement d'eau par rapport aux sites de prélèvement des poissons
Palikova et al. (2011)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	pas de relation linéaire avec la durée d'exposition (↗ au début puis stable) dans le foie. Pas de MC détectées dans la plupart des	Très lente dans le foie et encore élevée après 4 semaines de dépuration. Pas étudiée dans le muscle.	[MC]eau : 17,4-25,4 µg/L (dissoutes)

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
			échantillons de muscle (< LD=3 µg/kg pf mais N non précisé). [MC]muscle max = 15 µg/kg pf.		
Pawlik-Skowrońska et al. (2012)	<i>Rutilus rutilus</i> : gardon <i>Carassius gibelio</i> : carassin argenté, aussi appelé carpe prussienne <i>Perca fluviatilis</i> : perche commune	oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (intra ou extra-cellulaires) et celle dans le muscle ( <b>MC libres + liées</b> )
Poste et al. (2011)	33 espèces	oui pour certaines	-	-	[MC]muscle peut être très élevée (jusqu'à 1917 µg/kg pf) et au sein d'une même espèce concentrations plus élevées chez les poissons de petite taille par rapport à ceux de grande taille.
Romo et al. (2012)	<i>Liza sp</i> : mullet	oui	-	-	[MC]muscle moyenne = 5,2 µg/kg pf, [MC]eau dissoutes ≈ 1 µg/L, [MC]eau intracellulaires ≈ 10 µg/L
Ruangrit et al. (2011)	<i>Tilapia nilotica</i> : tilapia du Nil	non	-	-	Pas de corrélation entre le nombre de cellules de <i>Microcystis</i> dans l'eau et la [MC]muscle
Ruangsomboon et al. (2014)	<i>Clarias macrocephalus</i> vs. <i>C. gariepinus</i> : poisson-chat	non	-	-	Pas de MC détectées dans le muscle, le foie et l'eau malgré la présence d'une efflorescence avec 10 <sup>6</sup> cellules de <i>Microcystis</i> /L mais LD non précisée.
Sieroslawska et al. (2012)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune	oui	-	↗ de la concentration en MC dans le foie pendant la phase de dépuración de 5 jours (après une exposition de 5 jours).	[MC]muscle < 60 µg/kg pf (LD), [MC]eau dissoutes = 12 µg/L
Singh et Asthana (2014)	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Clarias batrachus</i> : silure grenouille	oui non	-	-	[MC]muscle varie selon l'espèce de poissons d'un facteur 10. Au sein d'une même espèce, concentrations plus élevées chez les poissons de petite taille par rapport à ceux de grande taille.
Smith et Haney (2006)	<i>Lepomis gibbosus</i> : crapet-soleil, perche soleil, perche arc-en-ciel	oui	Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le foie et le muscle (↗ au début puis↘).	Pas de ↘ significative de la concentration en MC dans le foie et le muscle lors d'une période de dépuración de 14 jours.	-
Soares et al. (2004)	<i>Tilapia rendalli</i> : tilapia à poitrine rouge	non	Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le foie et le muscle (↗ au début puis↘).	↗ [MC]muscle pendant la phase de dépuración au 9 <sup>ème</sup> jour (après une exposition de 15 jours). Après 15 jours de dépuración, la concentration en MC ↘ à un niveau très bas (valeur non indiquée).	-
Song et al. (2007)	<i>Carassius auratus auratus</i> : carassin doré	oui	Résultats difficilement interprétables en termes d'information sur la cinétique de dépuración des poissons après une efflorescence ou de la relation avec la concentration en MC dans l'eau		
Vareli et al. (2009)	<i>Carassius gibelio</i> : carassin argenté, aussi appelé carpe prussienne <i>Barbus albanicus</i> : barbus <i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune <i>Rutilus ylikiensis</i> : gardon	oui non oui oui	-	-	Pas de corrélation entre la [MC]eau (dissoutes) et celle dans le muscle

Auteur, Année	Espèces	Présence en France	Cinétique de contamination	Cinétique de dépuración	Relation avec les cyanobactéries/-toxines dans l'eau
Vasconcelos et al. (2013)	<i>Oreochromis niloticus</i> : tilapia du Nil	non	–	–	Etude jugée de faible qualité. [MC]muscle plus élevée chez les poissons pêchés où [MC]eau est plus élevée (intracellulaire).
Williams et al. (1997a)	<i>Salmo salar</i> : saumon atlantique	oui	Travaux montrant que la concentration en MC est largement sous-estimée quand la mesure ne porte que sur les MC libres : 60 à 95% des MC dans le foie sont sous forme liée.	la $\searrow$ de la concentration en <b>MC totales (libres + liées)</b> dans le foie 25h après l'injection ip suggère qu'une partie des MC liées est modifiée, détruite ou éliminée.	–
Williams et al. (1997b)					
Williams et al. (1995)					
Xie et al. (2004)	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> : carpe argentée	oui	muscle : $\nearrow$ régulière de la concentration avec la durée d'exposition ; foie : pas de relation linéaire avec la durée d'exposition ( $\nearrow$ au début puis $\searrow$ ).	La cinétique de dépuración est lente. Après 20 jours de dépuración, [MC]muscle a diminué de moitié par rapport au pic de contamination. <b>L'extension de 20 jours supplémentaires de dépuración ne conduit pas à une <math>\searrow</math> de la contamination.</b>	–

### 3.2 Conclusion et recommandations

Afin de répondre aux questions de la DGAL et de la DGS sur la contamination des poissons par les cyanotoxines, l'Anses a réalisé une revue systématique de la littérature.

Concernant les microcystines, 69 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

L'accumulation des microcystines dans le tissu musculaire des poissons ne semble pas suivre une relation linéaire ni avec la durée ni avec la dose d'exposition dans la majorité des études. Toutefois, un très faible nombre de ces études a pris en compte les microcystines présentes sous forme liée aux protéines, qui peuvent représenter dans le foie de 60% à presque 100% des microcystines totales, et dont la biodisponibilité n'est pas connue.

L'élimination des microcystines libres accumulées dans le muscle des poissons est très lente dans la majorité des études. Si certaines d'entre elles rapportent une élimination rapide dans les heures ou les jours suivant l'arrêt de l'exposition, une grande partie constate que cette élimination n'est pas totale. Des études *in situ* de suivi de poissons sur plusieurs mois montrent d'ailleurs un bruit de fond de la concentration en microcystines dans le muscle, ce qui traduit bien une cinétique de dépuración lente et non totale entre 2 efflorescences de cyanobactéries.

De manière plus préoccupante, plusieurs études rapportent une augmentation de la concentration en microcystines libres dans le muscle après l'arrêt de l'exposition aux microcystines dans l'eau. Certains auteurs suggèrent un transfert des toxines accumulées dans le foie vers le muscle.

D'autre part, la présence de microcystines libres dans les muscles de poissons a été observée dans plusieurs études en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries (ou avec des concentrations en microcystines dans l'eau inférieures à 1  $\mu\text{g/L}$ , correspondant à la concentration maximale dans l'eau de boisson selon le Code de la santé publique).

La concentration en microcystines libres dans le muscle des poissons dépend fortement de l'espèce et peut être expliquée en partie par le régime alimentaire. Ainsi, les poissons phytoplanctonivores sont généralement les plus contaminés et les carnivores les moins contaminés.

Au sein d'une même espèce, les concentrations en microcystines libres dans le muscle sont plus élevées chez les individus de petite taille comparées aux individus de grande taille. Les concentrations sont nettement plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles. Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux microcystines.

Les données collectées dans le cadre de cette analyse conduisent à conclure qu'un délai de 2 semaines après la fin de l'efflorescence de cyanobactéries n'est pas suffisant pour assurer la décontamination des muscles des poissons.

### 3.3 Points particuliers

#### 3.3.1 A propos des microcystines libres et liées

Les microcystines extraites avec du méthanol correspondent seulement à une partie de MC totales présentes dans les tissus des poissons. Selon les travaux de Williams et al. (1997a) chez le saumon *Salmo salar* avec de la MC-LR radiomarquée administrée par injection intrapéritonéale, **60 à 95%** des MC présentes dans le foie sont sous forme liée à des molécules cibles (par exemple, protéines phosphatases, glutathion, cystéine). Certaines études ont suggéré que la liaison des MC aux protéines phosphatases suivrait un mécanisme en deux étapes : la première étape impliquerait une liaison rapide et réversible aux protéines phosphatases, et la seconde étape impliquerait la formation d'une liaison covalente entre les MC et les protéines phosphatases, conduisant à une inactivation irréversible, et cette étape pourrait avoir lieu au cours d'une période de quelques heures (Craig et al., 1996 dans Zhang et al., 2010). Les travaux de Williams et al. (1997a, b) vont dans le sens d'une liaison réversible d'une partie des MC liées dans les heures suivant l'exposition.

Williams et al. (1997b) ont également comparé les résultats obtenus par oxydation de Lemieux (qui donne l'acide 2-méthyl-3-méthoxy-4-phénylbutanoïque, MMPB) et permet de quantifier la part totale de MC (libres + liées) suivi d'une analyse par GC-MS avec les résultats obtenus par extraction méthanolique et analyse par inhibition de la protéine phosphase. Ces travaux ont à nouveau été réalisés avec du foie de saumon après administration de MC-LR par injection intrapéritonéale. Les résultats montrent que seulement 24% de la concentration totale en MC-LR est sous forme libre (extraite avec le méthanol), 76% sont donc sous forme liée.

Bieczynski et al. (2013) ont rapporté une proportion de MC-LR sous forme liée allant de **66% à presque 100%** de la concentration totale dans l'intestin et le foie de poisson patagonien (*Odontesthes hatcheri*) nourris avec des cellules de *Microcystis aeruginosa* pendant 48h. Les MC libres ont été estimées par extraction méthanolique et inhibition de la protéine phosphase. Les MC totales ont été estimées par oxydation de Lemieux et GC-MS.

La biodisponibilité des MC liées n'est pas connue. Le fait de ne prendre en compte que les MC libres extraites par MeOH pourrait conduire à une sous-estimation de l'exposition pour le consommateur si tout ou partie de ces MC liées étaient libérées au cours de la digestion.

Les travaux de Lance et al. (2014) mettent en évidence la contamination des poissons suite à la consommation d'escargots dulçaquicoles *Lymnaea stagnalis* naturellement contaminés par les MC. Ils soulignent l'influence de la forme des MC ingérées (libres ou liées) sur la concentration dans les tissus des poissons. Ainsi, dans le glande digestive de l'escargot, 63% des MC sont sous forme liée lors de la phase d'exposition aux cyanotoxines ; cette proportion monte à 94% en phase de dépuración après l'arrêt de l'exposition. Dans ce cas, la biodisponibilité des MC pour le poisson est plus faible mais les MC restent dans ses tissus plus longtemps puisqu'il n'y a pas de diminution

de la concentration après 5 jours de dépuración (foie, muscle). Ces travaux permettent d'expliquer la grande variabilité constatée dans les résultats des études sur la cinétique de dépuración des poissons (puisque la quasi-totalité d'entre eux ne reposent que sur la mesure des MC libres et ne prennent pas en compte les MC liées)<sup>3</sup>. Ces travaux montrent également une certaine biodisponibilité des MC liées puisque les concentrations mesurées dans les tissus des poissons ne peuvent pas être expliquées par les seules concentrations en MC libres dans la glande digestive des escargots.

### 3.1.2 A propos de l'effet de la cuisson

Certains travaux publiés se sont intéressés à l'effet de la cuisson sur la concentration en MC dans la chair de poisson. Toutefois, les résultats ne sont pas concordants et varient selon les auteurs et le mode de cuisson.

Selon Zhang et al. (2010), les concentrations moyennes de MC sont significativement plus élevées dans le muscle bouilli que dans le muscle non bouilli (par LC-MS) 3h ou 6h après l'injection ip de MC (MC-LR et MC-RR) chez des carpes (*Aristichthys mobilis*).

A l'opposé, Guzmán-Guillén et al. (2011) ont rapporté une diminution de 45,0% (MC- RR), 56,4% (MC-YR) et 59,3% (MC-LR) après l'ébullition du muscle de tilapia (*Oreochromis niloticus*) enrichi avec une solution pure (500 µl) contenant un mélange de trois toxines (MC- LR, MC-RR et MC-YR) (1,5 µg/ml de chaque toxine). Tous les échantillons ont ensuite été lyophilisés et les MC ont été extraites, purifiées et quantifiées par HPLC-MS. Une diminution a également été observée avec les échantillons cuits au four à micro-ondes pendant 5 min pour la MC-LR (36%) et la MC-YR (24,6 %) mais pas pour la MC-RR qui avait une concentration légèrement plus élevée (6-17%).

Bruno et al. (2009) ont testé différents modes de cuisson avec 3 échantillons de muscle naturellement contaminés provenant de 3 espèces de poisson, le mulot (*Mugil cephalus*), le carassin commun (*Carassius carassius*) et la carpe commune (*Cyprinus carpio*). La cuisson au four (15 min à 150 °C) a entraîné une augmentation moyenne de 28% (12 à 65%) des concentrations de MC-LR eq. La cuisson « sauté » à la poêle (7-8 min, feu modéré) a entraîné une diminution moyenne de 36% (8 à 91%). La cuisson « braisé » (10 min, feu modéré) a entraîné une diminution moyenne de 82% (73-93%).

Ces résultats contradictoires suggèrent que d'autres études sont nécessaires pour déterminer les effets des pratiques de cuisson habituelles sur la concentration en MC dans les poissons et permettre *in fine* de pouvoir estimer de manière plus réaliste l'exposition du consommateur.

### 3.1.3 A propos des concentrations en MC dans la chair de poisson

Les concentrations en MC libres dans les muscles des poissons les plus élevées (pour des études environnementales) rapportées dans la littérature à travers le monde sont les suivantes (exprimées en MC-LR eq/kg de poids frais) :

- ▶ 3830 µg/kg chez la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) au Brésil (Oliveira et al., 2013) par HPLC-MS ;
- ▶ 2860 µg/kg chez la carpe argentée (*H. molitrix*) en Chine (Zhang et al., 2007) par LC-MS;
- ▶ 1917 µg/kg chez un poisson (*Haplochromis spp*) en Ouganda (Poste et al., 2011) par ELISA ;
- ▶ 500 µg/kg chez la brème (*Abramis brama*) par HPLC-DAD et 350 µg/kg chez le gardon (*Rutilus rutilus*) par GC-MS en Pologne (Pawlik-Skowrońska et al., 2012, 2013) ;

<sup>3</sup> Voir la grille de lecture de Lance et al. (2014) en annexe 3 pour plus de détails.

- ▶ 340 µg/g chez le pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en Argentine (Cazenave et al. 2005 erratum 2006) par LC-MS ;
- ▶ 337 µg/kg chez le tilapia (*Tilapia rendalli*) au Brésil (Magalhaes et al., 2001) par ELISA ;
- ▶ 119 µg/kg chez la carpe (*Cyprinus carpio*) en Grèce (Papadimitriou et al., 2012b) par ELISA.

Des concentrations élevées ont aussi été rapportées dans le muscle des grenouilles (*Rana epirotica*) avec  $325 \pm 87$  µg/kg et d'écrevisse (*Astacus astacus*) avec 329 µg/kg par ELISA (Papadimitriou et al., 2012b).

Pour ce qui concerne uniquement les pays européens, les fourchettes de concentrations en MC libres dans les muscles des poissons (exprimées en MC-LR eq/kg de poids frais) sont les suivantes :

- ▶ Espagne : de 1,5 à 22,7 µg/kg chez la tanche (*Tinca tinca*) par ELISA (Moreno et al., 2011);  $5,2 \pm 0,6$  µg MC-LR eq/kg chez le mulot (*Liza sp*) par ELISA (Romo et al., 2012); inférieur à la limite de détection par LC-MS chez la tanche (Rios et al., 2013).
- ▶ France : 14 µg/kg en valeur maximale chez la perche (*Perca fluviatilis*) par ELISA (Sotton et al., 2012b).
- ▶ Grèce:  $119 \pm 33$  et  $95 \pm 31$  µg MC-LR eq/kg chez la carpe (*Cyprinus carpio*) (Papadimitriou et al., 2012b) par ELISA ;  $114 \pm 25$  µg MC-LR eq/kg (Mitsoura et al., 2013) par ELISA, 30 µg MC-LR eq/kg (Papadimitriou et al., 2013) par ELISA ;  $19 \pm 2,6$  µg MC-LR eq/kg chez un garon endémique (*Rutilus rutilus*) (Papadimitriou et al., 2012a) par ELISA ; 16 µg MC-LR eq/kg chez la carpe de Prusse (*Carassius gibelio*) (Kagalou et al., 2008) par ELISA ; 7,1 µg MC-LR eq/kg chez la carpe de Prusse (Papadimitriou et al., 2010) par ELISA; jusqu'à 1499 µg MC-LR eq/kg chez l'esturgeon du Danube (*Acipenser gueldenstaedtii*) par ELISA (Gkelis et al., 2006), toutefois l'analyse par HPLC n'a pas confirmé la présence de MC.
- ▶ Italie : de 0,45 à 36,42 µg MC-LR eq/kg chez le mulot cabot (*Mugil cephalus*) par ELISA (Bruno et al., 2009).
- ▶ Pologne : d'inférieur à la limite de détection jusqu'à 500 µg/kg chez la brème (*Abramis brama*) par HPLC-DAD (Pawlik-Skowrońska et al., 2013), 350 µg/kg chez le gardon (*Rutilus rutilus*) et 217 µg/kg chez la perche (*Perca fluviatilis*) par GC-MS (Pawlik-Skowrońska et al., 2012).
- ▶ République tchèque : inférieur à la limite de détection (0,13 µg/kg) chez la carpe (*Cyprinus carpio*), le sandre (*Sander lucioperca*), la perche (*Perca fluviatilis*), le brochet (*Esox Lucius*), l'aspe (*Aspius aspius*), l'anguille (*Anguilla anguilla*) et la carpe de roseau (*Ctenopharyngodon idella*) par HPLC-MS (Kopp et al., 2009, 2013).

Toutefois, si l'on ne considère que les concentrations pour lesquelles les méthodes d'analyse ont été jugées suffisamment fiables, il ne reste qu'un faible nombre de données (exprimées en µg/kg de poids frais), les résultats pour des **pays européens sont signalés en gras** :

Dans le muscle des poissons :

- 2860 µg MC/kg chez la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) en Chine pour la somme de MC-RR et LR par HPLC-MS (Zhang et al., 2007) ;
- 340 µg MC-RR/kg (valeur maximale) et  $130 \pm 180$  µg MC-RR/kg (moyenne  $\pm$  écart-type) chez le pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en Argentine par LC-MS (Cazenave et al., 2005 erratum 2006) ;
- **$119 \pm 33$  µg MC-LR eq/kg (moyenne  $\pm$  écart-type) chez la carpe (*Cyprinus carpio*) en Grèce (Papadimitriou et al., 2012b) par ELISA ;  $114 \pm 25$  µg MC-LR eq/kg (Mitsoura et al., 2013) par ELISA ; 29,83 µg MC-LR eq/kg (moyenne) par ELISA (Papadimitriou et al. 2013) ; 3,5 µg MC-LR/kg (valeur maximale) aux USA par LC-MS/MS (Schmidt et al., 2013) ;**

- 70 µg MC-LR µg/kg (valeur maximale) chez la marigane noire (*Pomoxis nigromaculatus*) aux USA par LC-MS/MS (Schmidt et al., 2013) ;
- **19,03 ± 2,56 µg MC-LR eq/kg (moyenne ± écart-type) chez un gardon endémique (*Rutilus panosi*) en Grèce par ELISA (Papadimitriou et al., 2012a) ;**
- 16,13 µg/kg chez la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) en Chine pour la moyenne de la somme des MC (MC-LR, -RR, -YR) par LC-MS (Chen et al., 2006) ;
- **16,05 ± 11,97 µg MC-LR eq/kg (moyenne ± écart-type) chez la carpe de Prusse (*Carassius gibelio*) en Grèce par ELISA (Kagalou et al., 2008) et 7,1 ± 2,5 µg MC-LR eq/kg (Papadimitriou et al., 2010) ;**
- **14 µg/kg (valeur maximale) chez la perche (*Perca fluviatilis*) en France par ELISA (Sotton et al., 2012b).**
- 3,9 ± 2,2 µg MC/kg chez le pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en Argentine (moyenne ± écart-type) pour la somme des MC (MC-LR,-RR,-YR,-LA) par LC-MS/MS (Ame et al., 2010);
- inférieur à la limite de détection (70 µg/kg) chez le tilapia, le poissons chat, la truite, le saumon au Canada pour la somme des MC (MC-LR,-RR,-YR,-LA) par LC-UV (Niedzwiadek et al., 2012);
- inférieur à la limite de détection (0,24 MC-LR µg/kg) chez le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*), le poisson chat (*Ictalurus punctatus*), l'achigan à grande bouche (*Micropterus salmoides*) aux USA par LC-MS/MS (Schmidt et al., 2013).

Dans le muscle des crustacés d'eau douce :

- **329 ± 95 µg MC-LR eq /kg (moyenne ± écart-type) chez l'écrevisse (*Astacus astacus*) en Grèce par ELISA (Papadimitriou et al., 2012b).**

Dans le muscle des grenouilles :

- 325 ± 87 µg MC-LR eq/kg chez la grenouille (*Rana epirotica*) en Grèce par ELISA (Papadimitriou et al., 2012b).

## 4 Résultats : éléments d'éclairage concernant la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines

### 4.1 Synthèse des grilles de lecture

A l'issue des étapes de sélection des articles menées dans le cadre de la revue systématique, 32 articles ont fait l'objet d'une grille de lecture concernant 7 familles de toxines : anatoxines, aplysiatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, lyngbyatoxines, nodularines, saxitoxines.

#### Concernant les anatoxines

Cette toxine semble pouvoir être retrouvée à des concentrations assez élevées dans les eaux en cas d'efflorescence (jusque 172 mg/L dans le lac Anderson aux Etats-Unis par exemple, Johnson et al. 2010). Une partie peut être retrouvée dans la phase extracellulaire mais les données indiquent que la toxine ne serait pas très stable.

**Concernant la relation entre la concentration de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et la concentration dans le poisson**, les résultats de 4 publications environnementales sont contradictoires. Si 2 publications ne détectent pas d'anatoxine a dans les muscles des poissons malgré un grand nombre d'échantillons de poissons prélevés et des concentrations retrouvées dans l'eau pouvant être très élevées Hardy et al., 2015 et Johnson et al., 2010 utilisant les mêmes données et Al-Sammak et al., 2014), en revanche 2 autres (Pawlik-Skowronska et al., 2011, 2012) signalent l'accumulation dans les muscles des poissons avec même une étroite connection entre la concentration de toxine dans la biomasse phytoplanctonique et celles dans les tissus des poissons (Pawlik-Skowronska et al. 2012)

De manière similaire, 2 études réalisées en laboratoire (Osswald et al., 2007, 2011) concluent à l'accumulation de l'anatoxine a dans les poissons, soit par contact de la toxine dans l'eau soit via la nourriture. Cependant, si le facteur de bioconcentration est largement supérieur à 1 (entre 25 et 47), le calcul des facteurs de bioamplification est critiquable et l'accumulation via la nourriture ne peut donc pas être démontrée par cette étude.

De manière générale, les quelques études *in situ* ne montrent pas beaucoup d'accumulation dans les poissons et les concentrations sont généralement plus élevées dans le foie que dans le muscle. De même, les concentrations sont plus élevées dans les poissons omnivores que dans les prédateurs. Cependant ces éléments ne sont obtenus que sur un nombre très limité de publications et avec des méthodes analytiques souvent peu caractérisées.

Johnson et al. (2010) signalent que, en raison de l'instabilité de la toxine, elle est faiblement récupérée des matrices supplémentées, ce qui peut constituer un biais analytique lors des dosages.

#### Concernant les aplysiatoxines

Aucun article n'a été retenu. Il faut souligner que les aplysiatoxines ont plutôt été rapportées dans des cas de toxicité par contact (cutané en particulier) et dans des eaux marines, plutôt dans des régions sub-tropicales. De plus, elles ont été peu étudiées.

## Concernant la BMAA

Même si le **nombre d'articles reste très limité** également pour cette famille de toxines (seulement 4 articles retenus pour une lecture approfondie), certaines données reposent sur des études apparaissant fiables. Ces 4 études traitent de données environnementales.

En particulier, l'étude de Jiao et al. (2014) réalisée en Chine a le mérite de pouvoir calculer un facteur de bioamplification et ceci à différentes périodes d'une efflorescence. Ainsi, dans cette étude, la BMAA est retrouvée dans tous les échantillons traités et la concentration dans le muscle (BMAA totale) varie de 0,07 à 35,91 mg/kg de poids sec, toute espèce de poisson et date d'échantillonnage confondues. La concentration moyenne de BMAA totale dans les muscles sur l'ensemble des espèces de poissons est plus élevée pendant le pic de l'efflorescence de cyanobactéries ( $9,12 \pm 7,828$  mg/kg de poids sec).

Les données montrent que **la toxine est capable de s'accumuler le long de la chaîne trophique** (facteurs de bioconcentration >1) et se retrouve donc dans les tissus d'organismes à un niveau trophique donné, en concentration plus élevée que celle retrouvée pour les organismes du niveau trophique inférieur. Ainsi, les concentrations sont plus élevées dans l'espèce carnivore (*Erythroculter ilishaeformis*, cyprinidé) que dans les espèces omnivores. Ces toxines seraient donc **capables d'être stockées pendant un temps prolongé, sans forte dépuración**, dans les organismes.

Cependant, l'étude de Lage et al. (2015) réalisée en Suède indique que, sur les 136 individus de brème (*Abramis brama*), perche (*Perca fluviatilis*), brochet (*Esox lucius*), sandre (*Sander lucioperca*) et gardon (*Rutilus rutilus*) collectés, seuls 22 individus contiennent des niveaux quantifiables en BMAA dans leur muscle (concentration maximale atteignant  $0,00642 \pm 0,00253$  mg/kg de poids sec chez le sandre) et que tous les échantillons de foie et de rein se sont révélés négatifs. Pour 6 autres espèces, seuls des individus de tanche (*Tinca tinca*), grémille (*Gymnocephalus cernua*) et anguille (*Anguilla anguilla*) contiennent des pics quantifiables de BMAA dans le cerveau et le muscle (concentration maximale de 0,00561 mg/kg de poids sec chez la tanche).

Ainsi, à la différence de la plupart des autres cyanotoxines, il apparaît que la BMAA ne s'accumule pas particulièrement dans le foie et que **les concentrations retrouvées dans le muscle peuvent donc être plus élevées que celles hépatiques**.

Par ailleurs, l'étude de Al-Sammak et al. (2014) souligne qu'il n'y a **pas forcément de corrélation entre les concentrations de toxine mesurées dans l'eau et celles dans les poissons**. Les concentrations mesurées pour la forme libre (0,057 à 0,416 mg/kg) sont moins élevées et moins variables que celles mesurées pour la forme liée (0,056 à 2,57 mg/kg). La DABA sous forme libre et liée peut également être retrouvée dans les gammes respectives de 0,0216 à 0,364 mg/kg et de 0,129 à 1,53 mg/kg. Cependant, il ne semble pas y avoir de corrélation entre les concentrations retrouvées pour ces 2 molécules, BMAA et DABA.

La BMAA a été détectée dans 5 échantillons de poissons sur 21 prélevés dans des supermarchés suédois (Jiang et al., 2014), chez de l'omble (*Salvelinus alpinus*) et de la plie (*Pleuronectes platessa*) avec des concentrations très faibles de 0,01 à 0,02 mg/kg de poids frais. La BMAA n'a pas été détectée dans les échantillons de perche (*Perca fluviatilis*) et de saumon (*Salmo salar*).

Par ailleurs, une **redistribution semble avoir lieu en fonction du temps entre le foie et le muscle**, la concentration au niveau du foie diminuant au détriment de celle du muscle. Ce comportement n'est pas isolé et est retrouvé pour d'autres types de contaminants.

## Concernant les cylindrospermopsines

Les articles disponibles sur la présence de cylindrospermopsines dans des poissons d'eau douce restent **peu nombreux**, surtout pour des données obtenues avec des méthodes analytiques dont les performances sont spécifiées.

Il ressort de l'ensemble des études analysées que la CYN peut se retrouver dans le muscle de poissons d'eau douce. Les valeurs retrouvées sont généralement **plus faibles dans le muscle que dans le foie**. Par ailleurs, il apparaît que la **CYN peut être retrouvée dans le muscle même**

**si la concentration de toxine dans l'eau est inférieure à la limite de quantification** (Berry et al., 2012).

Seules 2 études rendent compte de concentrations mesurées dans des poissons prélevés dans l'environnement. Celle de Berry et al. (2012) au Mexique rapporte des concentrations dans le muscle atteignant 1,26 µg/kg poids frais. L'autre étude (Niedzwiadek et al., 2012) ne détecte pas de CYN dans les muscles des poissons prélevés sur des marchés au Canada (LQ = 50 µg/kg poids frais).

Quatre autres études ont été réalisées en laboratoire et proviennent toutes de la même équipe de scientifiques ; 2 ne sont pas quantitatives car elles ne contiennent que des résultats d'immunohistologie (Gutiérrez-Praena et al., 2014 ; Guzman-Guillen et al., 2014) et une autre reste peu fiable car la méthode analytique utilisée (ELISA) est peu caractérisée (Guzman-Guillen et al., 2015a). De plus, ces 3 publications ne proposent pas de données sur le muscle. Cependant, elles montrent que cette toxine peut se retrouver dans le système systémique des poissons après ingestion, indiquant qu'elle peut passer la barrière intestinale. Ainsi, elle peut être retrouvée dans l'intestin, dans le foie, dans les branchies, dans le cerveau et dans le rein. L'accumulation semble plus importante après une exposition répétée dans divers organes comme le foie mais comme le muscle n'a pas été investigué dans ces études, il n'est pas possible de conclure sur ce sujet.

Par ailleurs, l'une des études prenant en compte une période de dépuración (Guzman-Guillen et al., 2015a) montre que celle-ci amène à une diminution de la concentration en toxine dans le cerveau ainsi qu'à une disparition progressive des lésions induites dans cet organe. Cette publication rapporte des résultats de validation de la méthode et constitue la seule avec des données obtenues dans le muscle (Guzman-Guillen et al. 2015b). Celles-ci montrent des concentrations atteignant 9,2 µg/kg poids sec même après un temps court (7 jours) de traitement via la nourriture (cyanobactéries lyophilisées).

Il semblerait donc que **l'éviscération** des poissons avant consommation, y compris pour les petits poissons, permettrait de réduire l'exposition aux toxines.

### Concernant les lyngbyatoxines

Aucun article n'a été retenu. Comme les aplysiatoxines, les lyngbyatoxines ont plutôt été rapportées dans des cas de toxicité par contact (cutané en particulier) et dans des eaux marines, plutôt dans des régions sub-tropicales. De plus, elles ont été peu étudiées.

### Concernant les nodularines

Lorsque des cellules de *Nodularia spumigena* sont mixées avec la nourriture des poissons, une accumulation de la toxine dans le foie (0,5%) est observée au cours du temps. Il en est de même dans le muscle mais à un niveau plus faible. Après quelques jours, les concentrations mesurées par ELISA dans le muscle diminuent (de 65% en 4 jours) alors que **celles du foie augmentent** pendant les 8 jours d'observation (Kankaanpaa et al. 2002). Les analyses réalisées par LC-MS n'ont pas confirmé la présence de nodularine ni de métabolites recherchés. Les auteurs suggèrent que les métabolites seraient conjugués à des composés avec des groupements thiol tels que le glutathion, la méthionine, la cystéine et pour lesquels ils n'avaient pas de standard.

Les travaux de Vuorinen et al. (2009) confirment ces résultats sur les capacités d'accumulation de la nodularine à partir de la nourriture. Les auteurs rapportent un processus rapide d'élimination. Cependant, s'ils détectent moins de nodularine par LC-MS dans le foie après administration répétée il semble que cela soit dû aux formes conjuguées qui sont générées, comme le suggèrent les résultats par ELISA dans la bile.

Paakkonen et al. (2008) montrent que les poissons peuvent dépurar la nodularine puisque les concentrations en toxine diminuent fortement après que des poissons prélevés dans une zone d'efflorescence aient été placés 15 jours en aquarium, en absence de nodularine dans leur environnement (de 503,1 ± 353,4 µg/kg à 0-100 µg/kg par ELISA).

Les résultats d'Engstrom-Ost et al. (2002) en laboratoire suggèrent qu'un transfert de la nodularine des proies (copépodes) aux poissons planctivores est possible mais les résultats nécessitent d'être confirmés. Karjalainen et al. (2005) concluent à un phénomène de biodilution le long de la chaîne trophique plutôt qu'à une bioamplification.

**Concernant la relation entre la concentration de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et celle dans les poissons**, 2 études environnementales (Sipia et al., 2007 ; Van Buynder et al., 2001) montrent que, même en présence d'efflorescence de cyanobactéries (*Nodularia*) mais sans dosage des toxines présentes, les poissons accumulent peu de toxine dans leur chair, leur foie et leurs viscères. Seules les épinoches montrent des concentrations relativement élevées dans leurs intestins.

### Concernant les saxitoxines

Beaucoup de données ont été publiées concernant la présence et les effets de la saxitoxine et de ses analogues mais celles-ci sont surtout disponibles pour des organismes marins, coquillages et poissons en majorité.

Les travaux de Bakke & Horsberg (2010) montrent clairement une absorption de STX par les poissons à partir de l'eau, soit via les branchies, soit par ingestion, soit par les 2 voies. Le temps de  $\frac{1}{2}$  vie dans le plasma est court (moins de 2h), la distribution se fait essentiellement dans les fluides extracellulaires. Ainsi, les concentrations retrouvées dans les muscles restent faibles, l'excrétion est rapide via l'urine. Il faut cependant noter que la STX peut être métabolisée dans les organismes et que la recherche de métabolites pourrait montrer une certaine accumulation. En effet, la GTX5 est la toxine prédominante (presque 100%) retrouvée dans les muscles des poissons exposés à un mélange de GTX 2, 3 et 4 en raison de la transformation en un composé moins toxique (Clemente et al., 2010). De plus, l'étude de Bakke & Horsberg (2010) n'a porté que sur un temps de contact très court et avec une seule concentration en toxine dans l'eau. Toutefois, da Silva et al. (2011) ne détectent pas de STX ni de variants dans les muscles des poissons ayant reçu de manière répétée (4 fois) une administration intrapéritonéale d'un extrait de *C. raciborskii*.

**Concernant la relation entre la concentration de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et celle dans le poisson** seule l'étude de Clemente et al. (2010) peut être utilisée pour cette problématique. Elle ne montre pas de relation entre les concentrations en PSP dans les muscles des poissons et les densités en cyanobactéries (*Cylindrospermopsis raciborskii*) ou les concentrations en STX dans l'eau. Les autres études environnementales disponibles (Galvao et al., 2009 ; Hardy et al., 2015 ; Oliveira et al., 2006) ne disposent pas de données sur la présence de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau pour faire le lien. Les résultats divergent puisque certains retrouvent des STX dans les muscles des poissons prélevés dans l'environnement (Oliveira et al., 2006 ; Galvao et al., 2009 ; Clemente et al., 2010) alors que d'autres n'en détectent pas (LD = 0,5 à 0,8 µg/kg poids frais, Hardy et al., 2015).

Les résultats de Galvao et al. (2009) montrent que les concentrations en dcSTX (20 µg/kg) dans les muscles de poissons peuvent être éliminées en 5 jours de dépuración dans une eau sans toxine.

## 4.2 Conclusion et recommandations

Afin de répondre aux questions de la DGAL et de la DGS sur la contamination des poissons par les cyanotoxines, l'Anses a réalisé une revue systématique de la littérature.

**Concernant les toxines autres que les microcystines** (anatoxines, aplysiatoxines,  $\beta$ -N-méthylamino-L-alanine, cylindrospermopsines, lyngbyatoxines, nodularines, saxitoxines), 32 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

Il convient de noter que rares sont les articles comportant des informations à la fois sur les concentrations de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et sur celles dans les tissus des poissons. L'un des problèmes majeurs pour ces cyanotoxines (à l'exception des nodularines) reste l'identification des cyanobactéries à l'origine de leur production.

De plus, le nombre de publications pour chaque cyanotoxine prise séparément reste très faible. Ainsi, certains articles ont été analysés même s'ils ne contenaient pas de données sur les cyanobactéries ou cyanotoxines dans l'eau ou s'ils ne comportaient pas de mesure dans le muscle mais dans d'autres organes comme le foie.

Par ailleurs, certains poissons sont euryhalins ou présentent des phases de vie en milieu marin succédant à des phases en eau douce. La classification en poissons d'eau douce et poissons marins n'est donc pas si stricte.

Les aplysiatoxines et les lymgbyatoxines affectent plus particulièrement le milieu marin et aucun article correspondant aux critères d'inclusion pour cette analyse n'a été identifié.

Pour les autres familles de cyanotoxines (anatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, nodularines et saxitoxines), les données collectées montrent un potentiel d'accumulation dans les tissus des poissons, bien que les méthodes analytiques soient souvent peu caractérisées. Mais ces données sont trop parcellaires pour déterminer si cette accumulation peut être reliée à la concentration dans l'eau ou à la durée d'exposition. Pour la BMAA, un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté (pas pour les autres toxines). Comme les microcystines, la BMAA peut être présente sous formes libre et liée, et très peu d'études ont pris en compte les formes liées. Enfin, certaines études rapportent la présence simultanée de plusieurs familles de cyanotoxines dans les tissus des poissons.

Concernant la dépuración, pour les nodularines, un petit nombre d'études montre une diminution assez rapide (en quelques jours) de la concentration mais la toxine ne semble pas réellement éliminée, elle serait plutôt transformée en métabolites qui restent dans le tissu. Pour les autres toxines (saxitoxines, anatoxines, cylindrospermopsines), le peu de données disponibles (seulement un ou deux articles) semble indiquer une possible dépuración.

Comme pour les microcystines, les concentrations sont plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles (sauf pour la BMAA). Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux cyanotoxines.

A l'exception de la BMAA, pour laquelle un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté, les autres toxines seraient présentes en moindre concentration chez les poissons prédateurs. Cependant, ces conclusions sont à prendre avec beaucoup de précaution compte tenu du faible nombre de publications disponibles et fiables concernant cet aspect.

Les données collectées sur les cyanotoxines autres que les microcystines ne permettent pas de proposer de recommandation basée sur la présence de cyanobactéries ou de toxines dans l'eau.

## 5 Conclusion générale de l'AST

La consultation de l'Anses fait suite à l'observation d'efflorescences de cyanobactéries dans des plans d'eau en 2014 et en 2015 ayant conduit à une interdiction temporaire des activités de pêche professionnelle et de loisir en même temps que les autres activités récréatives (baignade, activités nautiques), compte tenu du risque de contamination des poissons par des cyanotoxines.

Afin de collecter des informations utiles aux gestionnaires du risque sur la contamination des poissons par les cyanotoxines, l'Anses a réalisé une revue systématique de la littérature.

**Concernant les microcystines**, 69 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

L'accumulation des microcystines dans le tissu musculaire des poissons ne semble pas suivre une relation linéaire ni avec la durée ni avec la dose d'exposition dans la majorité des études. Toutefois, un très faible nombre de ces études a pris en compte les microcystines présentes sous forme liée aux protéines, qui peuvent représenter dans le foie de 60% à presque 100% des microcystines totales, et dont la biodisponibilité n'est pas connue.

L'élimination des microcystines libres accumulées dans le muscle des poissons est très lente dans la majorité des études. Si certaines d'entre elles rapportent une élimination rapide dans les heures ou les jours suivant l'arrêt de l'exposition, une grande partie constate que cette élimination n'est pas totale. Des études *in situ* de suivi de poissons sur plusieurs mois montrent d'ailleurs un bruit de fond de la concentration en microcystines dans le muscle, ce qui traduit bien une cinétique de dépuración lente et non totale entre 2 efflorescences de cyanobactéries.

De manière plus préoccupante, plusieurs études rapportent une augmentation de la concentration en microcystines libres dans le muscle après l'arrêt de l'exposition aux microcystines dans l'eau. Certains auteurs suggèrent un transfert des toxines accumulées dans le foie vers le muscle.

D'autre part, la présence de microcystines libres dans les muscles de poissons a été observée dans plusieurs études en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries (ou avec des concentrations en microcystines dans l'eau inférieures à 1 µg/L, correspondant à la concentration maximale dans l'eau de boisson selon le Code de la santé publique).

La concentration en microcystines libres dans le muscle des poissons dépend fortement de l'espèce et peut être expliquée en partie par le régime alimentaire. Ainsi, les poissons phytoplanctonivores sont généralement les plus contaminés et les carnivores les moins contaminés.

Au sein d'une même espèce, les concentrations en microcystines libres dans le muscle sont plus élevées chez les individus de petite taille comparées aux individus de grande taille. Les concentrations sont nettement plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles. Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux microcystines.

Les données collectées dans le cadre de cette analyse conduisent à conclure qu'un délai de 2 semaines après la fin de l'efflorescence de cyanobactéries n'est pas suffisant pour assurer la décontamination des muscles des poissons.

**Concernant les toxines autres que les microcystines** (anatoxines, aplysiatoxines, β-N-méthylamino-L-alanine, cylindrospermopsines, lyngbyatoxines, nodularines, saxitoxines), 32 articles ont été identifiés comme comportant des informations intéressantes à exploiter dans le cadre de cette analyse.

Il convient de noter que rares sont les articles comportant des informations à la fois sur les concentrations de cyanobactéries ou de cyanotoxines dans l'eau et sur celles dans les tissus des poissons. L'un des problèmes majeurs pour ces cyanotoxines (à l'exception des nodularines) reste l'identification des cyanobactéries à l'origine de leur production.

De plus, le nombre de publications pour chaque cyanotoxine prise séparément reste très faible. Ainsi, certains articles ont été analysés même s'ils ne contenaient pas de données sur les cyanobactéries ou cyanotoxines dans l'eau ou s'ils ne comportaient pas de mesure dans le muscle mais dans d'autres organes comme le foie.

Par ailleurs, certains poissons sont euryhalins ou présentent des phases de vie en milieu marin succédant à des phases en eau douce. La classification en poissons d'eau douce et poissons marins n'est donc pas si stricte.

Les aplysiatoxines et les lyngbyatoxines affectent plus particulièrement le milieu marin et aucun article correspondant aux critères d'inclusion pour cette analyse n'a été identifié.

Pour les autres familles de cyanotoxines (anatoxines, BMAA, cylindrospermopsines, nodularines et saxitoxines), les données collectées montrent un potentiel d'accumulation dans les tissus des poissons, bien que les méthodes analytiques soient souvent peu caractérisées. Mais ces données sont trop parcellaires pour déterminer si cette accumulation peut être reliée à la concentration dans l'eau ou à la durée d'exposition. Pour la BMAA, un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté (pas pour les autres toxines). Comme les microcystines, la BMAA peut être présente sous formes libre et liée, et très peu d'études ont pris en compte les formes liées. Enfin, certaines études rapportent la présence simultanée de plusieurs familles de cyanotoxines dans les tissus des poissons.

Concernant la dépuración, pour les nodularines, un petit nombre d'études montre une diminution assez rapide (en quelques jours) de la concentration mais la toxine ne semble pas réellement éliminée, elle serait plutôt transformée en métabolites qui restent dans le tissu. Pour les autres toxines (saxitoxines, anatoxines, cylindrospermopsines), le peu de données disponibles (seulement un ou deux articles) semble indiquer une possible dépuración.

Comme pour les microcystines, les concentrations sont plus élevées dans le foie et les viscères comparativement aux muscles (sauf pour la BMAA). Ainsi, l'éviscération des poissons avant consommation ou congélation est à recommander afin de limiter l'exposition des consommateurs aux cyanotoxines.

A l'exception de la BMAA, pour laquelle un potentiel de bioamplification le long de la chaîne trophique est rapporté, les autres toxines seraient présentes en moindre concentration chez les poissons prédateurs. Cependant, ces conclusions sont à prendre avec beaucoup de précaution compte tenu du faible nombre de publications disponibles et fiables concernant cet aspect.

Les données collectées sur les cyanotoxines autres que les microcystines ne permettent pas de proposer de recommandation basée sur la présence de cyanobactéries ou de toxines dans l'eau.

**Concernant les méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les tissus des poissons**, des recommandations sont formulées en matière de préparation des échantillons et de détection.

La prise d'essai doit être représentative de l'échantillon analysé ce qui suppose que ce dernier doit être homogène. Dans plusieurs études, l'échantillon est lyophilisé avant extraction, ce qui facilite le processus d'extraction en particulier pour la chair de poisson qui est une matrice fibreuse. En contrepartie, il convient de s'assurer des effets éventuels de la lyophilisation sur les toxines et notamment pour les formes libres et liées (dans le cas des microcystines et de la BMAA).

Le choix du protocole d'extraction doit être adapté à la nature des toxines recherchées et tenir compte de la forme des toxines recherchées (toxines libres ou liées).

La purification des extraits n'est pas une étape indispensable mais elle peut s'avérer utile en cas d'effets matrices en éliminant les éventuels interférences ou pour concentrer les toxines.

En matière de détection, une méthode rapide, simple et peu onéreuse telle que l'ELISA peut être mise en œuvre pour une analyse de première intention. Il est important de prendre en compte le niveau de réaction croisé (préférentiellement anti-Adda pour les microcystines). Elle devra être complétée par une analyse de confirmation par LC-MS/MS afin d'identifier les toxines présentes (en veillant à prendre en compte un grand nombre de variants et de formes conjuguées).

Il est fortement recommandé que les méthodes de détection utilisées soient ***a minima*** caractérisées par leurs limites de détection et de quantification ainsi que par le rendement de récupération.

**Date de validation du rapport** : juin 2016

## 4 Bibliographie

### Publications

Afssa/Afsset (2006). Rapport sur l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives, Maisons-Alfort, juillet 2006, [232 p.].

Efsa (2010). European Food Safety Authority. Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making. *EFSA Journal* 2010; 8(6):1637. [90 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1637

#### ► Méthodes analytiques

Abraham, A., E. L. E. Jester, H. R. Granade, S. M. Plakas, and R. W. Dickey. 2012. "Caribbean ciguatera profile in raw and cooked fish implicated in ciguatera." *Food Chemistry* 131 (1):192-198. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.059.

Alfonso, Amparo, María-José Pazos, Andrea Fernández-Araujo, Araceli Tobio, Carmen Alfonso, Mercedes R. Vieytes, and Luis M. Botana. 2014. "Surface Plasmon Resonance Biosensor Method for Palytoxin Detection Based on Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase Affinity." *Toxins* 6 (1):96-107. doi: 10.3390/toxins6010096.

Amzil, Z., M. Sibat, N. Chomerat, H. Grossel, F. Marco-Miralles, R. Lemee, E. Nezan, and V. Sechet. 2012. "Ovatoin-a and Palytoxin Accumulation in Seafood in Relation to *Ostreopsis cf. ovata* Blooms on the French Mediterranean Coast." *Marine Drugs* 10 (2):477-496. doi: 10.3390/md10020477.

Andrýs, Rudolf, Javier Zurita, Nadezda Zguna, Klaas Verschueren, Wim De Borggraeve, and Leopold Ilag. 2015. "Improved detection of  $\beta$ - N-methylamino- L-alanine using N-hydroxysuccinimide ester of N-butylnicotinic acid for the localization of BMAA in blue mussels (*Mytilus edulis*)." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 407 (13):3743-3750. doi: 10.1007/s00216-015-8597-2.

Aráoz, R., H. O. Nghiêm, R. Rippka, N. Palibroda, N. Tandeau de Marsac, and M. Herdman. 2005. "Neurotoxins in axenic oscillatorian cyanobacteria: Coexistence of anatoxin-a and homoanatoxin-a determined by ligand-binding assay and GC/MS." *Microbiology* 151 (4):1263-1273. doi: 10.1099/mic.0.27660-0.

Ben-Gigirey, B., M. L. Rodriguez-Velasco, and A. Gago-Martinez. 2012. "Extension of the validation of AOAC Official Method 2005.06 for dc-GTX2,3: interlaboratory study." *J AOAC Int* 95 (1):111-21.

Berry, J. P., E. Lee, K. Walton, A. E. Wilson, and F. Bernal-Brooks. 2011. "Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in Lago de Patzcuaro (Michoacan, Mexico)." *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (7):1621-1628. doi: 10.1002/etc.548.

Biré, R., S. Trotereau, R. Lemée, C. Delpont, B. Chabot, Y. Aumond, and S. Krys. 2013. "Occurrence of palytoxins in marine organisms from different trophic levels of the French Mediterranean coast harvested in 2009." *Harmful Algae* 28:10-22. doi: 10.1016/j.hal.2013.04.007.

Bláhová, L., O. Adamovský, L. Kubala, L. Švihálková Šindlerová, R. Zounková, and L. Bláha. 2013. "The isolation and characterization of lipopolysaccharides from *Microcystis aeruginosa*, a prominent toxic water bloom forming cyanobacteria." *Toxicon* 76:187-196. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.10.011.

Bogialli, S., M. Bruno, R. Curini, A. Di Corcia, A. Laganá, and B. Mari. 2005. "Simple assay for analyzing five microcystins and nodularin in fish muscle tissue: Hot water extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (17):6586-6592. doi: 10.1021/jf050257m.

Bogialli, Sara, Milena Bruno, Roberta Curini, Antonio Di Corcia, and Aldo Lagana. 2006. "Simple and rapid determination of anatoxin-a in lake water and fish muscle tissue by liquid-chromatography-tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1122 (1-2):180-185. doi: 10.1016/j.chroma.2006.04.064.

Boscolo, S., M. Pelin, M. De Bortoli, G. Fontanive, A. Barreras, F. Berti, S. Sosa, O. Chaloin, A. Bianco, T. Yasumoto, M. Prato, M. Poli, and A. Tubaro. 2013. "Sandwich ELISA assay for the quantitation of

- palytoxin and its analogs in natural samples." *Environmental Science and Technology* 47 (4):2034-2042. doi: 10.1021/es304222t.
- Botelho, M. J., C. Vale, A. M. Mota, S. M. Rodrigues, P. R. Costa, and M. L. S. S. Gonçaves. 2010. "Matrix effect on paralytic shellfish toxins quantification and toxicity estimation in mussels exposed to *Gymnodinium catenatum*." *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 27 (12):1724-1732. doi: 10.1080/19440049.2010.525753.
- Bottein, Marie-Yasmine Dechraoui, Lizabeth Kashinsky, Zhihong Wang, Charles Littnan, and John S. Ramsdell. 2011. "Identification of Ciguatoxins in Hawaiian Monk Seals *Monachus schauinslandi* from the Northwestern and Main Hawaiian Islands." *Environmental Science & Technology* 45 (12):5403-5409. doi: 10.1021/es2002887.
- Brissard, C., C. Herrenknecht, V. Séchet, F. Hervé, F. Pisapia, J. Harcouet, R. Lémée, N. Chomérat, P. Hess, and Z. Amzil. 2014. "Complex toxin profile of French Mediterranean *Ostreopsis cf. ovata* strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification." *Marine Drugs* 12 (5):2851-2876. doi: 10.3390/md12052851.
- Cadel-Six, S., D. Moyenga, S. Magny, S. Trotereau, M. Edery, and S. Krys. 2014. "Detection of free and covalently bound microcystins in different tissues (liver, intestines, gills, and muscles) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Method characterization." *Environmental Pollution* 185:333-339. doi: 10.1016/j.envpol.2013.10.016.
- Caillaud, A., H. Eixarch, P. de la Iglesia, M. Rodriguez, L. Dominguez, K. B. Andree, and J. Diogene. 2012. "Towards the standardisation of the neuroblastoma (neuro-2a) cell-based assay for ciguatoxin-like toxicity detection in fish: application to fish caught in the Canary Islands." *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment* 29 (6):1000-1010. doi: 10.1080/19440049.2012.660707.
- Cañete, E., and J. Diogène. 2010. "Improvements in the use of neuroblastoma x glioma hybrid cells (NG108-15) for the toxic effect quantification of marine toxins." *Toxicol* 55 (2-3):381-389. doi: 10.1016/j.toxicol.2009.08.017.
- Christensen, S. J., T. K. Hemscheidt, H. Trapido-Rosenthal, E. A. Laws, and R. R. Bidigare. 2012. "Detection and quantification of  $\beta$ -methylamino-L-alanine in aquatic invertebrates." *Limnology and Oceanography: Methods* 10 (NOVEMBER):891-898. doi: 10.4319/lom.2012.10.891.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Dello Iacovo, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, R. Rossi, V. Soprano, D. Capozzo, and L. Serpe. 2011. "Palytoxin in seafood by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Investigation of extraction efficiency and matrix effect." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401 (3):1043-1050. doi: 10.1007/s00216-011-5135-8.
- Ciminiello, Patrizia, Carmela Dell'Aversano, Emma Iacovo, Martino Forino, and Luciana Tartaglione. 2015. "Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for palytoxins in mussels." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 407 (5):1463-1473. doi: 10.1007/s00216-014-8367-6.
- Dagnino, D., and J. Schripsema. 2005. "1H NMR quantification in very dilute toxin solutions: Application to anatoxin-a analysis." *Toxicol* 46 (2):236-240. doi: 10.1016/j.toxicol.2005.04.014.
- Dai, M., P. Xie, G. Liang, J. Chen, and H. Lei. 2008. "Simultaneous determination of microcystin-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 862 (1-2):43-50. doi: 10.1016/j.jchromb.2007.10.030.
- Darveau, R.P., and R.E. Hancock. 1983. "Procedure for isolation of bacterial lipopolysaccharides from both smooth and rough *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium* strains." *Journal of bacteriology* 155 (2):831-838.
- Devic, E., D. H. Li, A. Dauta, P. Henriksen, G. A. Codd, J. L. Marty, and D. Fournier. 2002. "Detection of anatoxin-a(s) in environmental samples of cyanobacteria by using a biosensor with engineered acetylcholinesterases." *Applied and Environmental Microbiology* 68 (8):4102-4106. doi: 10.1128/aem.68.8.4102-4106.2002.
- Devlin, Raymond, Katrina Campbell, Kentaro Kawatsu, and Christopher Elliott. 2011. "Studies in the Use of Magnetic Microspheres for Immunoaffinity Extraction of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins from Shellfish." *Toxins* 3 (1):1-16. doi: 10.3390/toxins3010001.
- Dimitrakopoulos, Ioannis K., Triantafyllos S. Kaloudis, Anastasia E. Hiskia, Nikolaos S. Thomaidis, and Michael A. Koupparis. 2010. "Development of a fast and selective method for the sensitive determination of anatoxin-a in lake waters using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and phenylalanine-

- d5 as internal standard." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 397 (6):2245-2252. doi: 10.1007/s00216-010-3727-3.
- Eidhin, D.N., and C. Mouton. 1993. "A rapid method for preparation of rough and smooth lipopolysaccharide from *Bacteroides*, *Porphyromonas* and *Prevotella*." *FEMS Microbiology Letters* 110 (2):133-138.
- Epelboin, L., A. Perignon, V. Hossen, R. Vincent, S. Krys, and E. Caumes. 2014. "Two clusters of ciguatera fish poisoning in Paris, France, related to tropical fish imported from the French Caribbean by travelers." *J Travel Med* 21 (6):397-402. doi: 10.1111/jtm.12161.
- Faassen, E. J., F. Gillissen, and M. Lüring. 2012. "A comparative study on three analytical methods for the determination of the neurotoxin BMAA in cyanobacteria." *PLoS One* 7 (5). doi: 10.1371/journal.pone.0036667.
- Ferrão-Filho, A. d S., M. C. S. Soares, V. F. de Magalhães, and S. M. F. O. Azevedo. 2010. "A rapid bioassay for detecting saxitoxins using a *Daphnia* acute toxicity test." *Environmental Pollution* 158 (6):2084-2093. doi: 10.1016/j.envpol.2010.03.007.
- Furey, A., J. Crowley, B. Hamilton, M. Lehane, and K. J. James. 2005. "Strategies to avoid the mis-identification of anatoxin-a using mass spectrometry in the forensic investigation of acute neurotoxic poisoning." *Journal of Chromatography A* 1082 (1 SPEC. ISS.):91-97. doi: 10.1016/j.chroma.2005.05.040.
- Furey, A., J. Crowley, M. Lehane, and K. J. James. 2003. "Liquid chromatography with electrospray ion-trap mass spectrometry for the determination of anatoxins in cyanobacteria and drinking water." *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 17 (6):583-588. doi: 10.1002/rcm.932.
- Geis-Asteggiante, L., S. J. Lehotay, L. L. Fortis, G. Paoli, C. Wijey, and H. Heinzen. 2011a. "Development and validation of a rapid method for microcystins in fish and comparing LC-MS/MS results with ELISA." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401 (8):2617-2630. doi: 10.1007/s00216-011-5345-0.
- Geis-Asteggiante, Lucía, Steven Lehotay, Laurie Fortis, George Paoli, Chandi Wijey, and Horacio Heinzen. 2011b. "Development and validation of a rapid method for microcystins in fish and comparing LC-MS/MS results with ELISA." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 401 (8):2617-2630. doi: 10.1007/s00216-011-5345-0.
- Guzman-Guillen, Remedios, I. Moreno, Ana I. Prieto Ortega, M. Eugenia Soria-Diaz, Vitor Vasconcelos, and Ana M. Camean. 2015. "CYN determination in tissues from freshwater fish by LC-MS/MS: Validation and application in tissues from subchronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*)." *Talanta* 131:452-459. doi: 10.1016/j.talanta.2014.07.091.
- Harada, K. i, H. Nagai, Y. Kimura, M. Suzuki, H. D. Park, M. F. Watanabe, R. Luukkainen, K. Sivonen, and W. W. Carmichael. 1993. "Liquid chromatography/mass spectrometric detection of anatoxin-a, a neurotoxin from cyanobacteria." *Tetrahedron* 49 (41):9251-9260. doi: 10.1016/0040-4020(93)80011-h.
- Hiller, S., B. Krock, A. Cembella, and B. Luckas. 2007. "Rapid detection of cyanobacterial toxins in precursor ion mode by liquid chromatography tandem mass spectrometry." *Journal of Mass Spectrometry* 42 (9):1238-1250. doi: 10.1002/jms.1257.
- Hitchcock, P.J., and T.M. Brown. 1983. "Morphological heterogeneity among *Salmonella* lipopolysaccharide chemotypes in silver-stained polyacrylamide gels." *Journal of bacteriology* 154 (1):269-277.
- Jiang, Liying, Eric Johnston, K. Magnus Aberg, Ulrika Nilsson, and Leopold L. Ilag. 2013. "Strategy for quantifying trace levels of BMAA in cyanobacteria by LC/MS/MS." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (4):1283-1292. doi: 10.1007/s00216-012-6550-1.
- Kankaanpää, H., A. K. Turunen, K. Karlsson, G. Bylund, J. Meriluoto, and V. Sipiä. 2005. "Heterogeneity of nodularin bioaccumulation in northern Baltic Sea flounders in 2002." *Chemosphere* 59 (8):1091-1097. doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.12.010.
- Karlsson, K. M., L. E. M. Spoo, and J. A. O. Meriluoto. 2005. "Quantitative LC-ESI-MS analyses of microcystins and nodularin-R in animal tissue -Matrix effects and method validation." *Environ Toxicol* 20 (3):381-389. doi: 10.1002/tox.20115.
- Karlsson, K., V. Sipiä, H. Kankaanpää, and J. Meriluoto. 2003. "Mass spectrometric detection of nodularin and desmethylnodularin in mussels and flounders." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 784 (2):243-253. doi: 10.1016/s1570-0232(02)00802-4.
- Karlsson, K., V. Sipiä, E. Krause, J. Meriluoto, and S. Pflugmacher. 2003. "Mass spectrometric detection and quantification of nodularin-R in flounder livers." *Environ Toxicol* 18 (5):284-288. doi: 10.1002/tox.10126.

- Keleti, G., and J. L. Sykora. 1982. "Production and properties of cyanobacterial endotoxins." *Applied and Environmental Microbiology* 43 (1):104-109.
- Kim, Myoung-Ho, and Suk-Jung Choi. 2015. "Immunoassay of paralytic shellfish toxins by moving magnetic particles in a stationary liquid-phase lab-on-a-chip." *Biosensors & Bioelectronics* 66:136-140. doi: 10.1016/j.bios.2014.11.012.
- Kohoutek, J., O. Adamovský, M. Oravec, Z. Šimek, M. Palíková, R. Kopp, and L. Bláha. 2010. "LC-MS analyses of microcystins in fish tissues overestimate toxin levels—critical comparison with LC-MS/MS." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 398 (3):1231-1237. doi: 10.1007/s00216-010-3860-z.
- Konkaanpää, H. T., K. M. Vuorensola, V. O. Sipiä, and J. A. O. Meriluoto. 2002. "Chromatographic and spectral behaviour and detection of hepatotoxic nodularin in fish, clam, mussel and mouse tissues using HPLC analysis." *Chromatographia* 55 (3-4):157-162.
- Lage, S., P. R. Costa, T. Moita, J. Eriksson, U. Rasmussen, and S. J. Rydberg. 2014. "BMAA in shellfish from two Portuguese transitional water bodies suggests the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as a potential BMAA source." *Aquatic Toxicology* 152:131-138. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.03.029.
- Lawrence, J. F., and C. Menard. 2001. "Determination of microcystins in blue-green algae, fish and water using liquid chromatography with ultraviolet detection after sample clean-up employing immunoaffinity chromatography." *Journal of Chromatography A* 922 (1-2):111-117. doi: 10.1016/S0021-9673(01)00924-4.
- Lawrence, J. F., B. Niedzwiadek, and C. Menard. 2005. "Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: Collaborative study." *J. AOAC Int.* 88 (6):1714-1732.
- Laycock, Maurice V., Mary Anne Donovan, and Dorothy J. Easy. 2010. "Sensitivity of lateral flow tests to mixtures of saxitoxins and applications to shellfish and phytoplankton monitoring." *Toxicon* 55 (2-3):597-605. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.10.014.
- Ledreux, A., S. Krys, and C. Bernard. 2009. "Suitability of the Neuro-2a cell line for the detection of palytoxin and analogues (neurotoxic phycotoxins)." *Toxicon* 53 (2):300-308. doi: 10.1016/j.toxicon.2008.12.005.
- Lewis, R. J., A. Yang, and A. Jones. 2009. "Rapid extraction combined with LC-tandem mass spectrometry (CREM-LC/MS/MS) for the determination of ciguatoxins in ciguateric fish flesh." *Toxicon* 54 (1):62-66. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.03.013.
- Lindsay, J., J. S. Metcalf, and G. A. Codd. 2009. "Comparison of four methods for the extraction of lipopolysaccharide from cyanobacteria." *Toxicological and Environmental Chemistry* 91 (7):1253-1262. doi: 10.1080/02772240802607394.
- Liu, H., and P. M. Scott. 2011. "Determination of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in algal food supplements." *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 28 (6):786-790. doi: 10.1080/19440049.2010.501824.
- Mak, Y. L., J. J. Wu, W. H. Chan, M. B. Murphy, J. C. W. Lam, L. L. Chan, and P. K. S. Lam. 2013. "Simultaneous quantification of Pacific ciguatoxins in fish blood using liquid chromatography-tandem mass spectrometry." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (10):3331-3340. doi: 10.1007/s00216-013-6766-8.
- McCarron, Pearse, Alan C. Logan, Sabrina D. Giddings, and Michael A. Quilliam. 2014. "Analysis of beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) in spirulina-containing supplements by liquid chromatography-tandem mass spectrometry." *Aquatic biosystems* 10:5-5. doi: 10.1186/2046-9063-10-5.
- Mekebi, A., G. J. Blondina, and D. B. Crane. 2009. "Method validation of microcystins in water and tissue by enhanced liquid chromatography tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1216 (15):3147-3155. doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.095.
- Metcalf, J. S., S. G. Bell, and G. A. Codd. 2001. "Colorimetric immune-protein phosphatase inhibition assay for specific detection of microcystins and nodularins of cyanobacteria." *Applied and Environmental Microbiology* 67 (2):904-909. doi: 10.1128/aem.67.2.904-909.2001.
- Mohamed, Z.A. 2008. "Toxic cyanobacteria and cyanotoxins in public hot springs in Saudi Arabia." *Toxicon* 51 (1):17-27. doi: 10.1016/j.toxicon.2007.07.007.
- Neffling, Milla-Riina, Lisa Spooft, and Jussi Meriluoto. 2009. "Rapid LC-MS detection of cyanobacterial hepatotoxins microcystins and nodularins-Comparison of columns." *Analytica Chimica Acta* 653 (2):234-241. doi: 10.1016/j.aca.2009.09.015.

- Niedzwiadek, Barbara, Peter M. Scott, and Ben P. Y. Lau. 2012. "Monitoring of Shrimp and Farmed Fish Sold in Canada for Cyanobacterial Toxins." *Journal of Food Protection* 75 (1):160-163. doi: 10.4315/0362-028x.jfp-11-324.
- Oshiro, N., K. Yogi, S. Asato, T. Sasaki, K. Tamanaha, M. Hirama, T. Yasumoto, and Y. Inafuku. 2010. "Ciguatera incidence and fish toxicity in Okinawa, Japan." *Toxicon* 56 (5):656-661. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.05.036.
- Osswald, Joana, Sandra Rellan, Ana Gago-Martinez, and Vitor Vasconcelos. 2009. "Production of anatoxin-a by cyanobacterial strains isolated from Portuguese fresh water systems." *Ecotoxicology* 18 (8):1110-1115. doi: 10.1007/s10646-009-0375-5.
- Osswald, Joana, Sandra Rellan, Ana Gago, and Vitor Vasconcelos. 2008. "Uptake and depuration of anatoxin-a by the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) under laboratory conditions." *Chemosphere* 72 (9):1235-1241. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.05.012.
- Ott, J. L., and W. W. Carmichael. 2006. "LC/ESI/MS method development for the analysis of hepatotoxic cyclic peptide microcystins in animal tissues." *Toxicon* 47 (7):734-741. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.01.025.
- Papageorgiou, J., T. A. Linke, C. Kapralos, B. C. Nicholson, and D. A. Steffensen. 2004. "Extraction of cyanobacterial endotoxin." *Environ Toxicol* 19 (1):82-87. doi: 10.1002/tox.10152.
- Poyer, Salome, Corinne Loutelier-Bourhis, Gael Coadou, Florence Mondeguer, Julien Enche, Anne Bossee, Philipp Hess, and Carlos Afonso. 2015. "Identification and separation of saxitoxins using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to traveling wave ion mobility-mass spectrometry." *Journal of Mass Spectrometry* 50 (1):175-181. doi: 10.1002/jms.3515.
- Preece, E. P., B. C. Moore, M. E. Swanson, and F. J. Hardy. 2015. "Identifying best methods for routine ELISA detection of microcystin in seafood." *Environ Monit Assess* 187 (2). doi: 10.1007/s10661-014-4255-y.
- Rawn, D. F. K., B. Niedzwiadek, B. P. Y. Lau, and M. Saker. 2007. "Anatoxin-a and its metabolites in blue-green algae food supplements from Canada and Portugal." *Journal of Food Protection* 70 (3):776-779.
- Rawn, Dorothea F. K., Barbara Niedzwiadek, Katrina Campbell, H. Cowan Higgins, and Christopher T. Elliott. 2009. "Evaluation of Surface Plasmon Resonance Relative to High Pressure Liquid Chromatography for the Determination of Paralytic Shellfish Toxins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (21):10022-10031. doi: 10.1021/jf902176q.
- Rellan, Sandra, Joana Osswald, Martin Saker, Ana Gago-Martinez, and Vitor Vasconcelos. 2009. "First detection of anatoxin-a in human and animal dietary supplements containing cyanobacteria." *Food and Chemical Toxicology* 47 (9):2189-2195. doi: 10.1016/j.fct.2009.06.004.
- Reveillon, Damien, Eric Abadie, Veronique Sechet, Luc Brient, Veronique Savar, Michele Bardouil, Philipp Hess, and Zouher Amzil. 2014. "Beta-N-Methylamino-L-Alanine: LC-MS/MS Optimization, Screening of Cyanobacterial Strains and Occurrence in Shellfish from Thau, a French Mediterranean Lagoon." *Marine Drugs* 12 (11):5441-5467. doi: 10.3390/md12115441.
- Rosen, Johan, and Karl-Erik Hellenas. 2008. "Determination of the neurotoxin BMAA (beta-N-methylamino-L-alanine) in cycad seed and cyanobacteria by LC-MS/MS (liquid chromatography tandem mass spectrometry)." *Analyst* 133 (12):1785-1789. doi: 10.1039/b809231a.
- Rossi, R., V. Castellano, E. Scalco, L. Serpe, A. Zingone, and V. Soprano. 2010. "New palytoxin-like molecules in Mediterranean *Ostreopsis cf. ovata* (dinoflagellates) and in *Palythoa tuberculosa* detected by liquid chromatography-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry." *Toxicon* 56 (8):1381-1387. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.08.003.
- Roy-Lachapelle, Audrey, Morgan Sollic, Marc Sinotte, Christian Deblois, and Sebastien Sauve. 2015. "High resolution/accurate mass (HRMS) detection of anatoxin-a in lake water using LDTD-APCI coupled to a Q-Exactive mass spectrometer." *Talanta* 132:836-844. doi: 10.1016/j.talanta.2014.10.021.
- Rubio, Fernando, Lisa Kamp, Justin Carpino, Erin Faltin, Keith Loftin, Jordi Molgo, and Romulo Araoz. 2014. "Colorimetric microtiter plate receptor-binding assay for the detection of freshwater and marine neurotoxins targeting the nicotinic acetylcholine receptors." *Toxicon* 91:45-56. doi: 10.1016/j.toxicon.2014.08.073.
- Ruebhart, D. R., W. L. Radcliffe, and G. K. Eaglesham. 2011. "Alternative bioassay for the detection of saxitoxin using the speckled cockroach (*Nauphoeta cinerea*)." *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues* 74 (10):621-637. doi: 10.1080/15287394.2011.534426.

- Scott, Peter M., Barbara Niedzwiadek, Dorothea F. K. Rawn, and Ben P. Y. Lau. 2009. "Liquid Chromatographic Determination of the Cyanobacterial Toxin beta-N-Methylamino-L-Alanine in Algae Food Supplements, Freshwater Fish, and Bottled Water." *Journal of Food Protection* 72 (8):1769-1773.
- Selwood, A. I., R. van Ginkel, D. T. Harwood, P. S. McNabb, L. R. Rhodes, and P. T. Holland. 2012. "A sensitive assay for palytoxins, ovatoxins and ostreocins using LC-MS/MS analysis of cleavage fragments from micro-scale oxidation." *Toxicon* 60 (5):810-820. doi: 10.1016/j.toxicon.2012.05.024.
- Sipia, V., H. Kankaanpaa, K. Lahti, W. W. Carmichael, and J. Meriluoto. 2001. "Detection of Nodularin in flounders and cod from the Baltic Sea." *Environmental Toxicology* 16 (2):121-126. doi: 10.1002/tox.1015.
- Sipia, V., H. Kankaanpaa, H. Peltonen, M. Vinni, and J. Meriluoto. 2007. "Transfer of nodularin to three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.), herring (*Clupea harengus* L.), and salmon (*Salmo salar* L.) in the northern Baltic Sea." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66 (3):421-425. doi: 10.1016/j.ecoenv.2006.02.006.
- Sipia, Vesa O., Olli Sjoval, Terhi Valtonen, Deborah L. Barnaby, Geoffrey A. Codd, James S. Metcalf, Mikael Kilpi, Olli Mustonen, and Jussi A. O. Meriluoto. 2006. "Analysis of nodularin-R in eider (*Somateria mollissima*), roach (*Rutilus rutilus* L.), and flounder (*Platichthys flesus* L.) liver and muscle samples from the western Gulf of Finland, northern Baltic Sea." *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (11):2834-2839. doi: 10.1897/06-185r.1.
- Sommer, H. and Meyer, K.F. (1937). Paralytic shellfish poisoning. *Arch. Path.* 24, 560-598
- Stewart, I., G. K. Eaglesham, S. Poole, G. Graham, C. Paulo, W. Wickramasinghe, R. Sadler, and G. R. Shaw. 2010. "Establishing a public health analytical service based on chemical methods for detecting and quantifying Pacific ciguatoxin in fish samples." *Toxicon* 56 (5):804-812. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.07.028.
- Stewart, Ian, Geoffrey K. Eaglesham, Glenn B. McGregor, Roger Chong, Alan A. Seawright, Wasantha A. Wickramasinghe, Ross Sadler, Lindsay Hunt, and Glenn Graham. 2012. "First Report of a Toxic *Nodularia spumigena* (Nostocales/Cyanobacteria) Bloom in Sub-Tropical Australia. II. Bioaccumulation of Nodularin in Isolated Populations of Mullet (*Mugilidae*)." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 9 (7):2412-2443. doi: 10.3390/ijerph9072412.
- Suchy, P., and J. Berry. 2012. "Detection of total microcystin in fish tissues based on lemieux oxidation and recovery of 2-methyl-3-methoxy-4-phenylbutanoic acid (MMPB) by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC/MS)." *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 92 (12):1443-1456. doi: 10.1080/03067319.2011.620703.
- Suzuki, T., R. Watanabe, R. Matsushima, K. Ishihara, H. Uchida, S. Kikutsugi, T. Harada, H. Nagai, M. Adachi, T. Yasumoto, and M. Murata. 2013. "LC-MS/MS analysis of palytoxin analogues in blue humphead parrotfish *Scarus ovifrons* causing human poisoning in Japan." *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 30 (8):1358-1364. doi: 10.1080/19440049.2013.790085.
- Tippkötter, N., H. Stüeckmann, S. Kroll, G. Winkelmann, U. Noack, T. Scheper, and R. Ulber. 2009. "A semi-quantitative dipstick assay for microcystin." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 394 (3):863-869. doi: 10.1007/s00216-009-2750-8.
- Tsumuraya, T., I. Fujii, and M. Hirama. 2010. "Production of monoclonal antibodies for sandwich immunoassay detection of Pacific ciguatoxins." *Toxicon* 56 (5):797-803. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.06.003.
- Tsumuraya, Takeshi, Ikuo Fujii, and Masahiro Hirama. 2014. "Preparation of Anti-Ciguatoxin Monoclonal Antibodies Using Synthetic Haptens: Sandwich ELISA Detection of Ciguatoxins." *Journal of AOAC International* 97 (2):373-379. doi: 10.5740/jaoacint.SGETsumuraya.
- Turner, A. D., M. Dhanji-Rapkova, C. Baker, and M. Algoet. 2014. "Assessment of a semiquantitative liquid chromatography-fluorescence detection method for the determination of paralytic shellfish poisoning toxin levels in bivalve molluscs from Great Britain." *Journal of AOAC International* 97 (2):492-497. doi: 10.5740/jaoacint.13-381.
- van de Riet, Jeffrey, Ryan S. Gibbs, Patricia M. Muggah, Wade A. Rourke, James D. MacNeil, and Michael A. Quilliam. 2011. "Liquid Chromatography Post-Column Oxidation (PCOX) Method for the Determination of Paralytic Shellfish Toxins in Mussels, Clams, Oysters, and Scallops: Collaborative Study." *Journal of Aoac International* 94 (4):1154-1176.

- Van Dolah, F. M., T. A. Leighfield, G. J. Doucette, L. Bean, B. Niedzwiadek, and D. F. Rawn. 2009. "Single-laboratory validation of the microplate receptor binding assay for paralytic shellfish toxins in shellfish." *J AOAC Int* 92 (6):1705-13.
- Volpe, G., L. Cozzi, D. Migliorelli, L. Croci, and G. Palleschi. 2014. "Development of a haemolytic-enzymatic assay with mediated amperometric detection for palytoxin analysis: Application to mussels." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406 (9-10):2399-2410. doi: 10.1007/s00216-014-7630-1.
- Vuorinen, Pekka J., Vesa O. Sipia, Krister Karlsson, Marja Keinanen, Ambrose Furey, Orla Allis, Kevin James, Ulla Perttila, Eija Rimaila-Parnanen, and Jussi A. O. Meriluoto. 2009. "Accumulation and Effects of Nodularin from a Single and Repeated Oral Doses of Cyanobacterium *Nodularia spumigena* on Flounder (*Platichthys flesus* L.)." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 57 (1):164-173. doi: 10.1007/s00244-008-9258-7.
- Wang, Qin, Kaiqi Su, Liang Hu, Ling Zou, Tianxing Wang, Liuqing Zhuang, Ning Hu, and Ping Wang. 2015. "A novel and functional assay for pharmacological effects of marine toxins, saxitoxin and tetrodotoxin by cardiomyocyte-based impedance biosensor." *Sensors and Actuators B-Chemical* 209:828-837. doi: 10.1016/j.snb.2014.11.150.
- Watanabe, R., T. Harada, R. Matsushima, H. Oikawa, Y. Oshima, M. Kaneniwa, and T. Suzuki. 2014. "Indirect quantitation of saxitoxin by HPLC with post-column oxidation and fluorometric detection." *Analytical Sciences* 30 (9):931-936.
- Weckesser, J., A. Katz, G. Drews, H. Mayer, and I. Fromme. 1974. "Lipopolysaccharide containing L-acofriose in the filamentous blue-green alga *Anabaena variabilis*." *J Bacteriol* 120 (2):672-8.
- Westphal, Otto, Otto Lüderitz, and Fritz Bister. 1952. "Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser." *Zeitschrift für Naturforschung B* 7 (3):148-155.
- Williams, D. E., S. C. Dawe, M. L. Kent, R. J. Andersen, M. Craig, and C. F. B. Holmes. 1997. "Bioaccumulation and clearance of microcystins from salt water mussels, *mytilus edulis*, and in vivo evidence for covalently bound microcystins in mussel tissues." *Toxicon* 35 (11):1617-1625. doi: 10.1016/s0041-0101(97)00039-1.
- Wong, Chun-Kwan, Patricia Hung, and Janice Y. C. Lo. 2014. "Ciguatera fish poisoning in Hong Kong-A 10-year perspective on the class of ciguatoxins." *Toxicon* 86:96-106. doi: 10.1016/j.toxicon.2014.05.006.
- Wood, S. A., N. R. Phillips, M. de Winton, and M. Gibbs. 2012. "Consumption of benthic cyanobacterial mats and nodularin-R accumulation in freshwater crayfish (*Paranephrops planifrons*) in Lake Tikitapu (Rotorua, New Zealand)." *Harmful Algae* 20:175-179. doi: 10.1016/j.hal.2012.10.003.
- Wu, J. J., Y. L. Mak, M. B. Murphy, J. C. W. Lam, W. H. Chan, M. Wang, L. L. Chan, and P. K. S. Lam. 2011. "Validation of an accelerated solvent extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for Pacific ciguatoxin-1 in fish flesh and comparison with the mouse neuroblastoma assay." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 400 (9):3165-3175. doi: 10.1007/s00216-011-4977-4.
- Wu, L., P. Xie, J. Chen, D. Zhang, and G. Liang. 2010. "Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantitation of microcystin-RR and its metabolites in fish liver." *Journal of Chromatography A* 1217 (9):1455-1462. doi: 10.1016/j.chroma.2009.12.068.
- Zhang, D., P. Xie, J. Chen, M. Dai, T. Qiu, Y. Liu, and G. Liang. 2009. "Determination of microcystin-LR and its metabolites in snail (*Bellamya aeruginosa*), shrimp (*Macrobrachium nipponensis*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) from Lake Taihu, China." *Chemosphere* 76 (7):974-981. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.04.034.
- Zhang, Z., Y. Liu, C. Zhang, and W. Luan. 2015. "Horseradish peroxidase and antibody labeled gold nanoparticle probe for amplified immunoassay of ciguatoxin in fish samples based on capillary electrophoresis with electrochemical detection." *Toxicon* 96:88-95. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.01.015.
- Zhou, Yu, Yan-Song Li, Bai-Hui Zhi, Shi-Ying Lu, Hong-Lin Ren, Yuan-Yuan Zhang, Zhao-Hui Li, Qing-Feng Shen, Xian-Mei Meng, Zeng-Shan Liu, Jun-Hui Zhang, Ya-Ming Hao, Wen-Di Liu, Fang Song, and Dong-Ming Yan. 2011. "Detection of nodularin based on a monoclonal antibody in water and aquatic fish samples." *Food Control* 22 (5):797-800. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.08.006.

### ► Microcystines

- Adamovský, O., R. Kopp, K. Hilscherová, P. Babica, M. Palíková, V. Pašková, S. Navrátil, B. Maršálek, and L. Bláha. 2007. "Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in

- common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms." *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (12):2687-2693. doi: 10.1897/07-213.1.
- Al-Kahtani, M. A., and A. A. Fathi. 2008. "Physiological studies on tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the cyanobacterial toxins microcystin." *Journal of Biological Sciences* 8 (7):1226-1230. doi: 10.3923/jbs.2008.1226.1230.
- Amé, M. V., L. N. Galanti, M. L. Menone, M. S. Gerpe, V. J. Moreno, and D. A. Wunderlin. 2010. "Microcystin-LR, -RR, -YR and -LA in water samples and fishes from a shallow lake in Argentina." *Harmful Algae* 9 (1):66-73. doi: 10.1016/j.hal.2009.08.001.
- Amrani, A., H. Nasri, A. Azzouz, Y. Kadi, and N. Bouaicha. 2014. "Variation in cyanobacterial hepatotoxin (microcystin) content of water samples and two species of fishes collected from a shallow lake in Algeria." *Arch Environ Contam Toxicol* 66 (3):379-89. doi: 10.1007/s00244-013-9993-2.
- Bieczynski, F., V. A. Bianchi, and C. M. Luquet. 2013. "Accumulation and biochemical effects of microcystin-LR on the Patagonian pejerrey (*Odontesthes hatcheri*) fed with the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*." *Fish Physiology and Biochemistry* 39 (5):1309-1321. doi: 10.1007/s10695-013-9785-7.
- Bruno, M., S. Melchiorre, V. Messineo, F. Volpi, A. Di Corcia, I. Aragona, G. Guglielmo, C. Di Paolo, M. Cenni, P. Ferranti, and P. Gallo. 2009. "Microcystin detection in contaminated fish from Italian lakes using elisa immunoassays and LC-MS/MS analysis." In *Handbook on Cyanobacteria: Biochemistry, Biotechnology and Applications*, 191-210.
- Cadel-Six, S., D. Moyenga, S. Magny, S. Trotereau, M. Edery, and S. Krys. 2014. "Detection of free and covalently bound microcystins in different tissues (liver, intestines, gills, and muscles) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: method characterization." *Environ Pollut* 185:333-9. doi: 10.1016/j.envpol.2013.10.016.
- Cazenave, J., D. A. Wunderlin, M. D. L. A. Bistoni, M. V. Amé, E. Krause, S. Pflugmacher, and C. Wiegand. 2005. "Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in *Corydoras paleatus*, *Jenynsia multidentata* and *Odontesthes bonariensis*: A field and laboratory study." *Aquatic Toxicology* 75 (2):178-190. doi: 10.1016/j.aquatox.2005.08.002.
- Chellappa, N. T., S. L. Chellappa, and S. Chellappa. 2008. "Harmful phytoplankton blooms and fish mortality in a eutrophicated reservoir of Northeast Brazil." *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51 (4):833-841. doi: 10.1590/S1516-89132008000400022.
- Chen, J., P. Xie, D. Zhang, Z. Ke, and H. Yang. 2006. "In situ studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stocked in Lake Taihu with dense toxic *Microcystis* blooms." *Aquaculture* 261 (3):1026-1038. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.028.
- Chen, J., P. Xie, D. Zhang, and H. Lei. 2007. "In situ studies on the distribution patterns and dynamics of microcystins in a biomanipulation fish - bighead carp (*Aristichthys nobilis*)." *Environmental Pollution* 147 (1):150-157. doi: 10.1016/j.envpol.2006.08.015.
- Dai, M., P. Xie, G. Liang, J. Chen, and H. Lei. 2008. "Simultaneous determination of microcystin-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 862 (1-2):43-50. doi: 10.1016/j.jchromb.2007.10.030.
- Deblois, C. P., R. Aranda-Rodriguez, A. Giani, and D. F. Bird. 2008. "Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs." *Toxicon* 51 (3):435-448. doi: 10.1016/j.toxicon.2007.10.017.
- Deblois, C. P., A. Giani, and D. F. Bird. 2011. "Experimental model of microcystin accumulation in the liver of *Oreochromis niloticus* exposed subchronically to a toxic bloom of *Microcystis* sp." *Aquatic Toxicology* 103 (1-2):63-70. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.02.006.
- Dong, G., X. Zhu, D. Han, Y. Yang, L. Song, and S. Xie. 2009. "Effects of dietary cyanobacteria of two different sources on growth and recovery of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*)." *Toxicon* 54 (3):208-16. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.03.031.
- Dong, G., X. Zhu, D. Han, Y. Yang, L. Song, and S. Xie. 2011. "Response and recovery of hybrid sturgeon from subchronic oral administration of cyanobacteria." *Environmental Toxicology* 26 (2):161-170. doi: 10.1002/tox.20540.
- Dyble, J., D. Gossiaux, P. Landrum, D. R. Kashian, and S. Pothoven. 2011. "A kinetic study of accumulation and elimination of microcystin-LR in yellow perch (*Perca flavescens*) tissue and implications for human fish consumption." *Marine Drugs* 9 (12):2553-2571. doi: 10.3390/md9122553.

- Gkelis, S., T. Lanaras, and K. Sivonen. 2006. "The presence of microcystins and other cyanobacterial bioactive peptides in aquatic fauna collected from Greek freshwaters." *Aquatic Toxicology* 78 (1):32-41. doi: 10.1016/j.aquatox.2006.02.001.
- Guo, L., Q. Wang, P. Xie, M. Tao, J. Zhang, Y. Niu, and Z. Ma. 2015. "A non-classical biomanipulation experiment in Gonghu Bay of Lake Taihu: Control of Microcystis blooms using silver and bighead carp." *Aquaculture Research* 46 (9):2211-2224. doi: 10.1111/are.12375.
- Guzmán-Guillén, R., Prieto, A., Moreno, I., Soria, M.E., Cameán, A.M., 2011. Effects of thermal treatments during cooking, microwave oven and boiling, on the unconjugated microcystin concentration in muscle of fish (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem Toxicol.* 49(9):2060-7.
- Hardy, F. J., A. Johnson, K. Hamel, and E. Preece. 2015. "Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA." *Environmental Monitoring and Assessment* 187 (11). doi: 10.1007/s10661-015-4875-x.
- He, J., J. Chen, P. Xie, D. Zhang, G. Li, L. Wu, W. Zhang, X. Guo, and S. Li. 2012. "Quantitatively evaluating detoxification of the hepatotoxic microcystins through the glutathione and cysteine pathway in the cyanobacteria-eating bighead carp." *Aquatic Toxicology* 116-117:61-68. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.03.004.
- Ibelings, B. W., K. Bruning, J. de Jonge, K. Wolfstein, L. M. Pires, J. Postma, and T. Burger. 2005. "Distribution of microcystins in a lake foodweb: no evidence for biomagnification." *Microb Ecol* 49 (4):487-500. doi: 10.1007/s00248-004-0014-x.
- Jiang, J., Y. Shi, Z. Shan, L. Yang, X. Wang, and L. Shi. 2012. "Bioaccumulation, oxidative stress and HSP70 expression in *Cyprinus carpio* L. exposed to microcystin-LR under laboratory conditions." *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 155 (3):483-490. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.12.008.
- Jiang, Y., P. Xie, and Y. Nie. 2014. "Concentration and bioaccumulation of cyanobacterial bioactive and odorous metabolites occurred in a large, shallow chinese lake." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 93 (5):643-648. doi: 10.1007/s00128-014-1350-2.
- Kagalou, I., T. Papadimitriou, V. Bacopoulos, and I. Leonardos. 2008. "Assessment of microcystins in lake water and the omnivorous fish (*Carassius gibelio*, Bloch) in Lake Pamvotis (Greece) containing dense cyanobacterial bloom." *Environmental Monitoring and Assessment* 137 (1-3):185-195. doi: 10.1007/s10661-007-9739-6.
- Kopp, R., J. Mareš, M. Palíková, S. Navrátil, Z. Kubíček, A. Ziková, J. Hlávková, and L. Bláha. 2009. "Biochemical parameters of blood plasma and content of microcystins in tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.) from a hypertrophic pond with cyanobacterial water bloom: REVIEW ARTICLE." *Aquaculture Research* 40 (15):1683-1693. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02285.x.
- Kopp, R., M. Palikova, O. Adamovsky, A. Zikova, S. Navratil, J. Kohoutek, J. Mares, and L. Blaha. 2013. "Concentrations of microcystins in tissues of several fish species from freshwater reservoirs and ponds." *Environ Monit Assess* 185 (12):9717-27. doi: 10.1007/s10661-013-3285-1.
- Lance, E., A. Petit, W. Sanchez, C. Paty, C. Gérard, and M. Bormans. 2014. "Evidence of trophic transfer of microcystins from the gastropod *Lymnaea stagnalis* to the fish *Gasterosteus aculeatus*." *Harmful Algae* 31:9-17. doi: 10.1016/j.hal.2013.09.006.
- Li, L., P. Xie, and J. Chen. 2007. "Biochemical and ultrastructural changes of the liver and kidney of the phytoplanktivorous silver carp feeding naturally on toxic *Microcystis* blooms in Taihu Lake, China." *Toxicon* 49 (7):1042-1053. doi: 10.1016/j.toxicon.2007.01.013.
- Liang, H., W. Zhou, Y. Zhang, Q. Qiao, and X. Zhang. 2015. "Are fish fed with cyanobacteria safe, nutritious and delicious? A laboratory study." *Scientific Reports* 5. doi: 10.1038/srep15166.
- Magalhães, V. F., M. M. Marinho, P. Domingos, A. C. Oliveira, S. M. Costa, L. O. Azevedo, and S. M. F. O. Azevedo. 2003. "Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ)." *Toxicon* 42 (3):289-295. doi: 10.1016/S0041-0101(03)00144-2.
- Magalhaes, V. F., R. M. Soares, and S. M. Azevedo. 2001. "Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk." *Toxicon* 39 (7):1077-85.
- Mitsoura, A., I. Kagalou, N. Papaioannou, P. Berillis, E. Mente, and T. Papadimitriou. 2013. "The presence of microcystins in fish *Cyprinus carpio* tissues: a histopathological study." *International Aquatic Research* 5 (1). doi: 10.1186/2008-6970-5-8.

- Mohamed, Z. A., W. W. Carmichael, and A. A. Hussein. 2003. "Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom." *Environmental Toxicology* 18 (2):137-141. doi: 10.1002/tox.10111.
- Mohamed, Z. A., and A. A. Hussein. 2006. "Depuration of microcystins in tilapia fish exposed to natural populations of toxic cyanobacteria: A laboratory study." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63 (3):424-429. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.02.006.
- Moreno, I. M., M. Á Herrador, L. Atencio, M. Puerto, A. G. González, and A. M. Cameán. 2011. "Differentiation between microcystin contaminated and uncontaminated fish by determination of unconjugated MCs using an ELISA anti-adda test based on receiver-operating characteristic curves threshold values: Application to *Tinca tinca* from natural ponds." *Environmental Toxicology* 26 (1):45-56. doi: 10.1002/tox.20528.
- Nchabeleng, T., P. Cheng, P. J. Oberholster, A. M. Botha, W. J. Smit, and W. J. Luus-Powell. 2014. "Microcystin-LR equivalent concentrations in fish tissue during a postbloom *Microcystis* exposure in Loskop Dam, South Africa." *African Journal of Aquatic Science* 39 (4):459-466. doi: 10.2989/16085914.2014.973830.
- Ni, W., J. Zhang, and Y. Luo. 2015. "Microcystin accumulation in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during a *Microcystis*-dominated bloom and risk assessment of the dietary intake in a fish pond in China." *Environmental Science and Pollution Research*. doi: 10.1007/s11356-015-4974-9.
- Oliveira, N. B., C. A. Schwartz, C. Bloch Jr, L. Paulino, and O. R. Pires Jr. 2013. "Bioaccumulation of cyanotoxins in hypophthalmichthys molitrix (silver carp) in paranoá lake, Brasilia-DF, Brazil." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90 (3):308-313. doi: 10.1007/s00128-012-0873-7.
- Palikova, M., J. Mares, R. Kopp, J. Hlavkova, S. Navratil, O. Adamovsky, L. Chmelar, and L. Blaha. 2011. "Accumulation of microcystins in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., and effects of a complex cyanobacterial bloom on the dietetic quality of muscles." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87 (1):26-30. doi: 10.1007/s00128-011-0279-y.
- Papadimitriou, T., I. Kagalou, V. Bacopoulos, and I. D. Leonardos. 2010. "Accumulation of microcystins in water and fish tissues: An estimation of risks associated with microcystins in most of the Greek Lakes." *Environmental Toxicology* 25 (4):418-427. doi: 10.1002/tox.20513.
- Papadimitriou, T., I. Kagalou, and I. D. Leonardos. 2012. "Seasonally Accumulation of Microcystins in the Various Tissues of an Endemic and Protected Fish Species (*Rutilus panosi*) with Different Sizes." *Clean - Soil, Air, Water* 40 (4):402-407. doi: 10.1002/clen.201000242.
- Papadimitriou, T., I. Kagalou, C. Stalikas, G. Pilidis, and I. D. Leonardos. 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* 21 (4):1155-1166. doi: 10.1007/s10646-012-0870-y.
- Papadimitriou, T., M. Katsiapi, K. A. Kormas, M. Moustaka-Gouni, and I. Kagalou. 2013. "Artificially-born "killer" lake: Phytoplankton based water quality and microcystin affected fish in a reconstructed lake." *Science of the Total Environment* 452-453:116-124. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.02.035.
- Pawlik-Skowrońska, B., R. Kalinowska, and T. Skowroński. 2013. "Cyanotoxin diversity and food web bioaccumulation in a reservoir with decreasing phosphorus concentrations and perennial cyanobacterial blooms." *Harmful Algae* 28:118-125. doi: 10.1016/j.hal.2013.06.002.
- Pawlik-Skowrońska, B., M. Toporowska, and J. Rechulicz. 2012. "Simultaneous accumulation of anatoxin-a and microcystins in three fish species indigenous to lakes affected by cyanobacterial blooms." *Oceanological and Hydrobiological Studies* 41 (4):53-65. doi: 10.2478/s13545-012-0039-6.
- Poste, A. E., R. E. Hecky, and S. J. Guildford. 2011. "Evaluating microcystin exposure risk through fish consumption." *Environmental Science and Technology* 45 (13):5806-5811. doi: 10.1021/es200285c.
- Rios, V., I. Moreno, A. I. Prieto, M. Puerto, D. Gutierrez-Praena, M. E. Soria-Diaz, and A. M. Camean. 2013. "Analysis of MC-LR and MC-RR in tissue from freshwater fish (*Tinca tinca*) and crayfish (*Procambarus clarkii*) in tench ponds (Caceres, Spain) by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)." *Food Chem Toxicol* 57:170-8. doi: 10.1016/j.fct.2013.03.025.
- Romo, S., F. Fernández, Y. Ouahid, and Á Barón-Sola. 2012. "Assessment of microcystins in lake water and fish (*Mugilidae*, *Liza* sp.) in the largest Spanish coastal lake." *Environmental Monitoring and Assessment* 184 (2):939-949. doi: 10.1007/s10661-011-2011-0.
- Ruangrit, K., N. Whangchai, J. Pekkoh, W. Ruangyuttikarn, and Y. Peerapornpisal. 2011. "First report on microcystins contamination in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and Nile tilapia

- (*Tilapia nilotica*) cultured in earthen ponds." *International Journal of Agriculture and Biology* 13 (6):1025-1028.
- Ruangsomboon, S., W. Yongmanitchai, P. Taveekijakarn, and M. Ganmanee. 2014. "Cyanobacterial composition and microcystin accumulation in catfish pond." *Chiang Mai Journal of Science* 41 (1):27-38.
- Schmidt, J. R., M. Shaskus, J. F. Estenik, C. Oesch, R. Khidekel, and G. L. Boyer. 2013. "Variations in the microcystin content of different fish species collected from a Eutrophic Lake." *Toxins* 5 (5):992-1009. doi: 10.3390/toxins5050992.
- Sieroslawska, A., A. Rymuszka, J. Velisek, B. Pawlik-Skowrońska, Z. Svobodova, and T. Skowroński. 2012. "Effects of microcystin-containing cyanobacterial extract on hematological and biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.)." *Fish Physiology and Biochemistry* 38 (4):1159-1167. doi: 10.1007/s10695-011-9601-1.
- Singh, S., and R. K. Asthana. 2014. "Assessment of microcystin concentration in carp and catfish: A case study from Lakshmikund Pond, Varanasi, India." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 92 (6):687-692. doi: 10.1007/s00128-014-1277-7.
- Smith, J. L., and J. F. Haney. 2006. "Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin, in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*)." *Toxicon* 48 (5):580-589. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.07.009.
- Soares, R. M., V. F. Magalhães, and S. M. F. O. Azevedo. 2004. "Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions." *Aquatic Toxicology* 70 (1):1-10. doi: 10.1016/j.aquatox.2004.06.013.
- Song, L., W. Chen, L. Peng, N. Wan, N. Gan, and X. Zhang. 2007. "Distribution and bioaccumulation of microcystins in water columns: a systematic investigation into the environmental fate and the risks associated with microcystins in Meiliang Bay, Lake Taihu." *Water Res* 41 (13):2853-64. doi: 10.1016/j.watres.2007.02.013.
- Sotton, B., O. Anneville, S. Cadel-Six, I. Domaizon, S. Krys, and J. Guillard. 2011. "Spatial match between *Planktothrix rubescens* and whitefish in a mesotrophic peri-alpine lake: Evidence of toxins accumulation." *Harmful Algae* 10 (6):749-758. doi: 10.1016/j.hal.2011.06.006.
- Sotton, B., A. Devaux, N. Givaudan, J. Guillard, I. Domaizon, S. Bony, and O. Anneville. 2012. "Short-term uptake of microcystin-LR by *Coregonus lavaretus*: GST activity and genotoxicity." *Ecotoxicology* 21 (7):1788-1796. doi: 10.1007/s10646-012-0913-4.
- Sotton, B., J. Guillard, S. Bony, A. Devaux, I. Domaizon, N. Givaudan, F. Crespeau, H. Huet, and O. Anneville. 2012. "Impact of Toxic Cyanobacterial Blooms on Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*): Experimental Study and In Situ Observations in a Peri-Alpine Lake." *PLoS ONE* 7 (12). doi: 10.1371/journal.pone.0052243.
- Trinchet, I., S. Cadel-Six, C. Djediat, B. Marie, C. Bernard, S. Puiseux-Dao, S. Krys, and M. Edery. 2013. "Toxicity of harmful cyanobacterial blooms to bream and roach." *Toxicon* 71:121-127. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.05.019.
- Vasconcelos, J. F., J. E. L. Barbosa, W. Lira, and S. M. F. O. Azevedo. 2013. "Microcystin bioaccumulation can cause potential mutagenic effects in farm fish." *Egyptian Journal of Aquatic Research* 39 (3):185-192. doi: 10.1016/j.ejar.2013.11.002.
- Vareli et al. (2009). Molecular characterization of cyanobacterial diversity and yearly fluctuations of microcystin loads in a suburban Mediterranean Lake (Lake Pamvotis, Greece). *Journal of Environmental Monitoring*, 11, 1506–1512.
- Vasconcelos, V. M. 1999. "Cyanobacterial toxins in Portugal: Effects on aquatic animals and risk for human health." *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32 (3):249-254.
- Williams, D. E., M. Craig, S. C. Dawe, M. L. Kent, R. J. Andersen, and C. F. B. Holmes. 1997. "<sup>14</sup>C-Labeled microcystin-LR administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection provides in vivo evidence for covalent binding of microcystin-LR in salmon livers." *Toxicon* 35 (6):985-989. doi: 10.1016/S0041-0101(96)00196-1.
- Williams, D. E., M. Craig, T. L. McCready, S. C. Dawe, M. L. Kent, C. F. Holmes, and R. J. Andersen. 1997. "Evidence for a covalently bound form of microcystin-LR in salmon liver and Dungeness crab larvae." *Chem Res Toxicol* 10 (4):463-9. doi: 10.1021/tx9601519.

- Williams, D. E., M. L. Kent, R. J. Andersen, H. Klix, and C. F. B. Holmes. 1995. "Tissue distribution and clearance of tritium-labeled dihydromicrocystin-LR epimers administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection." *Toxicon* 33 (2):125-131. doi: 10.1016/0041-0101(94)00154-Z.
- Wilson et al. (2008). Evaluation of the human health threat associated with the hepatotoxin microcystin in the muscle and liver tissues of yellow perch (*Perca flavescens*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 65: 1487-1497
- Wood, J. D., R. B. Franklin, G. Garman, S. McIninch, A. J. Porter, and P. A. Bukaveckas. 2014. "Exposure to the cyanotoxin microcystin arising from interspecific differences in feeding habits among fish and shellfish in the James River estuary, Virginia." *Environmental Science and Technology* 48 (9):5194-5202. doi: 10.1021/es403491k.
- Wu, L., Q. Wang, M. Tao, J. Chen, Z. Ma, and P. Xie. 2013. "Preliminary study of the distribution and accumulation of GSH/Cys metabolites of hepatotoxic microcystins-RR in common carp from a lake with protracted cyanobacterial bloom (Lake Taihu, China)." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90 (3):382-386. doi: 10.1007/s00128-012-0947-6.
- Xie, L., P. Xie, K. Ozawa, T. Honma, A. Yokoyama, and H. D. Park. 2004. "Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment." *Environmental Pollution* 127 (3):431-439. doi: 10.1016/j.envpol.2003.08.011.
- Xie, L., A. Yokoyama, K. Nakamura, and H. Park. 2007. "Accumulation of microcystins in various organs of the freshwater snail *Sinotaia histrica* and three fishes in a temperate lake, the eutrophic Lake Suwa, Japan." *Toxicon* 49 (5):646-652. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.11.004.
- Zhang, D., X. Deng, P. Xie, J. Chen, and L. Guo. 2013. "Risk assessment of microcystins in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) from eight eutrophic lakes in China." *Food Chemistry* 140 (1-2):17-21. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.01.124.
- Zhang, D., P. Xie, J. Chen, M. Dai, T. Qiu, Y. Liu, and G. Liang. 2009. "Determination of microcystin-LR and its metabolites in snail (*Bellamya aeruginosa*), shrimp (*Macrobrachium nipponensis*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) from Lake Taihu, China." *Chemosphere* 76 (7):974-981. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.04.034.
- Zhang, D., Chen, J., Xie, P., 2010. Effects of Temperature on the Stability of Microcystins in Muscle of Fish and Its Consequences for Food Safety. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 84, 202-207.
- Zhang, D., P. Xie, Y. Liu, and T. Qiu. 2009. "Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risks to human health." *Science of the Total Environment* 407 (7):2191-2199. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.12.039.
- Zhang, D., Q. Yang, P. Xie, X. Deng, J. Chen, and M. Dai. 2012. "The role of cysteine conjugation in the detoxification of microcystin-LR in liver of bighead carp (*Aristichthys nobilis*): A field and laboratory study." *Ecotoxicology* 21 (1):244-252. doi: 10.1007/s10646-011-0783-1.

#### ► Cyanotoxines autres que les microcystines

##### Anatoxines

- Al-Sammak MA, Hoagland KD, Cassada D and Snow DD, 2014. "Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants." *Toxins (Basel)* 6, 488-508.
- Hardy FJ, Johnson A, Hamel K, Preece E, 2015. "Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA," *Environ. Monit. Assess.* 187, 667.
- Johnson A. 2010, "Blue-Green Algae Toxins in Washington Lakes: Screening Fish Tissues for Microcystins and Anatoxin-A" – Washington State Department of Ecology, 47pp.
- Osswald J., Azevedo J., Vasconcelos V., Guilhermino L. 2011, "Experimental determination of the bioconcentration factor for anatoxin A in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 1(2) :77-86
- Osswald J, Rellan S, Carvalho AP, Gago A and Vasconcelos V, 2007. "Acute effects of an anatoxin-a producing cyanobacterium on juvenile fish-*Cyprinus carpio* L.," *Toxicon* 49, 693-698.
- Pawlik-Skowrońska B, Kalinowska R and Skowroński T. 2013. "Cyanotoxin diversity and food web bioaccumulation in a reservoir with decreasing phosphorus concentrations and perennial cyanobacterial blooms," *Harmful Algae* 28, 118-125.
- Pawlik-Skowrońska B, Toporowska M and Rechulicz J. 2012. "Simultaneous accumulation of anatoxin-a and

microcystins in three fish species indigenous to lakes affected by cyanobacterial blooms,” *Oceanological and Hydrobiological Studies* 41 (4), 53-65.

### **BMAA**

Al-Sammak MA, Hoagland KD, Cassada D and Snow DD, 2014. “Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants,” *Toxins* 6, 488-508.

Jiang L, Kiselova N, Rosen J and Ilag LL, 2014. “Quantification of neurotoxin BMAA (beta-N-methylamino-L-alanine) in seafood from Swedish markets,” *Scientific Reports* 4, 6931.

Jiao Y, Chen Q, Chen X, Wang X, Liao X, Jiang L, Wu J and Yang L, 2014. “Occurrence and transfer of a cyanobacterial neurotoxin beta-methylamino-L-alanine within the aquatic food webs of Gonghu Bay (Lake Taihu, China) to evaluate the potential human health risk,” *Science of the Total Environment* 468-469, 457-463.

Jonasson S, Eriksson J, Berntzon L, Spacil Z, Ilag LL, Ronnevi LO, Rasmussen U and Bergman B, 2010. “Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure,” *PNAS* 107, 9252-9257.

Lage S, Annadotter H, Rasmussen U and Rydberg S, 2015. “Biotransfer of beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) in a eutrophicated freshwater lake,” *Marine Drugs* 13, 1185-1201.

### **Cylindrospermopsines**

Berry JP, Jaja-Chimedza A, Davalos-Lind L and Lind O, 2012. “Apparent bioaccumulation of cylindrospermopsin and paralytic shellfish toxins by finfish in Lake Catemaco (Veracruz, Mexico),” *Food Additives and Contaminants - Part A* 29, 314-321.

Gutiérrez-Praena D, Rivalde MA, Pichardo S, Jos A, Moyano R, Blanco A, Vasconcelos V and Cameán AM, 2014. “Histopathological and immunohistochemical analysis of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to cylindrospermopsin and the effectiveness of N-Acetylcysteine to prevent its toxic effects,” *Toxicon* 78, 18-34.

Guzman-Guillen R, Gutierrez-Praena D, Rivalde Mde L, Moyano R, Prieto AI, Pichardo S, Jos A, Vasconcelos V and Camean AM, 2014. “Immunohistochemical approach to study cylindrospermopsin distribution in tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different exposure conditions,” *Toxins* 6, 283-30

Guzmán-Guillén R, Manzano IL, Moreno IM, Ortega AIP, Moyano R, Blanco A and Cameán AM, 2015. “Cylindrospermopsin induces neurotoxicity in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) exposed to *Aphanizomenon ovalisporum*,” *Aquatic Toxicology* 161, 17-24.

Guzmán-Guillén R, Moreno I, Prieto Ortega AI, Eugenia Soria-Díaz M, Vasconcelos V and Cameán AM, 2015. “CYN determination in tissues from freshwater fish by LC-MS/MS: Validation and application in tissues from subchronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*),” *Talanta* 131, 452-459.

Niedzwiedek B, Scott PM and Lau BPY, 2012. “Monitoring of shrimp and farmed fish sold in Canada for cyanobacterial toxins,” *Journal of Food Protection* 75, 160-163.

### **Nodularines**

Barda I, Kankaanaa H, Purina I, Balode M, Sjøvall O and Meriluoto J, 2015. “Bioaccumulation of hepatotoxins - a considerable risk in the Latvian environment,” *Environmental Pollution* 196, 313-320.

Engström-Öst J, Lehtiniemi M, Green S, Kozłowski-Suzuki B and Viitasalo M, 2002. “Does cyanobacterial toxin accumulate in mysid shrimps and fish via copepods?” *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 276, 95-107.

Kankaanpaa H, Vuorinen PJ, Sipia V and Keinanen M, 2002. “Acute effects and bioaccumulation of nodularin in sea trout (*Salmo trutta m. trutta* L.) exposed orally to *Nodularia spumigena* under laboratory conditions,” *Aquatic Toxicology* 61, 155-168.

Karjalainen M, Reinikainen M, Spoof L, Meriluoto JA, Sivonen K and Viitasalo M, 2005. “Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: consequences for pike larvae and mysid shrimps,” *Environmental Toxicology* 20, 354-362.

Pääkkönen JP, Rönkkönen S, Karjalainen M and Viitasalo M, 2008. “Physiological effects in juvenile three-spined sticklebacks feeding on toxic cyanobacterium *Nodularia spumigena*-exposed zooplankton,” *Journal of Fish Biology* 72, 485-499.

Sipia V, Kankaanpaa H, Peltonen H, Vinni M and Meriluoto J, 2007. “Transfer of nodularin to three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.), herring (*Clupea harengus* L.), and salmon (*Salmo salar* L.) in the northern Baltic Sea,” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66, 421-425.

Van Buynder PG, Oughtred T, Kirkby B, Phillips S, Eaglesham G, Thomas K and Burch M, 2001. “Nodularin

uptake by seafood during a cyanobacterial bloom,” *Environmental Toxicology* 16, 468-471.

Vuorinen PJ, Sipia VO, Karlsson K, Keinanen M, Furey A, Allis O, James K, Perttila U, Rimaila-Parnanen E and Meriluoto JA, 2009. “Accumulation and effects of nodularin from a single and repeated oral doses of cyanobacterium *Nodularia spumigena* on flounder (*Platichthys flesus* L.),” *Arch Environ Cotam Toxicol* 57, 164-173.

### Saxitoxines

Bakke MJ and Horsberg TE, 2010. “Kinetic properties of saxitoxin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*),” *Comparative Biochemistry and Physiology, part C* 152, 444-450

Clemente Z, Busato RH, Oliveira Ribeiro CA, Cestari MM, Ramsdorf WA, Magalhaes VF, Wosiack AC and Silva de Assis HC, 2010. “Analyses of paralytic shellfish toxins and biomarkers in a southern Brazilian reservoir,” *Toxicon* 55, 396-406.

da Silva CA, Oba ET, Ramsdorf WA, Magalhães VF, Cestari MM, Oliveira Ribeiro CA and Silva de Assis HC, 2011. “First report about saxitoxins in freshwater fish *Hoplias malabaricus* through trophic exposure,” *Toxicon* 57, 141-147

Galvao JA, Oetterer M, Bittencourt-Oliveira Mdo C, Gouvea-Barros S, Hiller S, Eler K, Luckas B, Pinto E and Kujbida P, 2009. “Saxitoxins accumulation by freshwater tilapia (*Oreochromis niloticus*) for human consumption,” *Toxicon* 54, 891-894.

Hardy FJ, Johnson A, Hamel K and Preece E, 2015. “Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA,” *Environ Monitor Assess* 187, 667.

Oliveira JS, Fernandes SCR, Schwartz CA, Bloch Jr C, Taquita Melo JA, Rodrigues Pires Jr O and Carlos de Freitas J, 2006. « Toxicity and toxin identification in *Colomesus asellus*, an Amazonian (Brazil) freshwater puffer fish,” *Toxicon* 48, 55-63.

## Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

---

# ANNEXES

---

## Annexe 1 : Lettre de la demande

2015 -SA- 0 2 0 6

2015 -SA- 0 2 0 7



COURRIER ARRIVE

29 SEP. 2015

DIRECTION GENERALE

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE  
L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET

Direction Générale de l'Alimentation

Service de l'Alimentation

Sous-direction de la Sécurité Sanitaire des  
Aliments

Bureau des produits de la mer et d'eau douce

251, rue de Vaugirard  
75732 Paris cedex 15Dossier suivi par : Virginie Hossen  
Tél. : 01 49 55 84 95  
Mél : bamed.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr  
Réf. : 15-046 N-018MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES, DE LA SANTÉ  
ET DES DROITS DES FEMMES

Direction générale de la santé

Sous-direction de la prévention des risques liés à  
l'environnement et à l'alimentation

Bureau de l'alimentation et de la nutrition

14, avenue Duquesne  
75350 Paris 07 SPDossier suivi par : Claire Provini  
Tél. : 01 40 56 71 98  
Mél : claire.provini@sante.gouv.frLe Directeur Général de l'Alimentation  
Le Directeur Général de la Santé  
àMonsieur le Directeur Général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de  
l'environnement et du travail  
4 rue Pierre et Marie Curie  
94701 Maisons-Alfort Cedex

Paris, le 22 SEP 2015

**Objet : demande d'AST sur l'état des connaissances concernant la contamination des  
poissons d'eau douce par les cyanotoxines**

Conformément à l'article R. 1313-1 du code de la santé publique, vous trouverez ci-après une saisine de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, en vue d'établir l'état des connaissances concernant la contamination des poissons d'eau douce par les cyanotoxines.

Depuis début 2014, la DGAL a été informée de deux cas d'efflorescences de cyanobactéries toxigènes dans des plans d'eau dans lesquels une activité de pêche (professionnelle et de loisir) est présente en plus d'activités de baignade pour lesquels les ARS assurent un suivi, conformément aux prescriptions de la note d'information N° DGS/EA4/2014/166 du 23 mai 2014 *relative aux modalités de recensement, d'exercice du contrôle sanitaire et de classement des eaux de baignade pour chaque saison balnéaire à compter de l'année 2014*. Cette note d'information a été actualisée en juin 2015<sup>1</sup>.

L'agence sera sollicitée par la Direction générale de la santé, d'ici le début de l'année 2016, afin d'actualiser l'expertise de 2006<sup>2</sup> en ce qui concerne les eaux de baignade et l'eau potable, à la lumière des nouvelles connaissances scientifiques et des données d'exposition accumulées par les ARS. Ainsi, il conviendra de tenir compte des conclusions de ces travaux pour le traitement de la présente saisine.

Si les eaux de baignade sont surveillées de manière harmonisée, se pose la question du suivi des poissons potentiellement contaminés par ces cyanotoxines. Un arbre de décision a été proposé par la DGAL et la DGS afin de gérer au cas par cas, dans les situations dans lesquelles les taux de cyanobactéries dans des lacs ou étangs ont dépassé 50000 cellules / ml, l'interdiction de pêche, de

<sup>1</sup> Note d'information n°DGS/EA4/2015/181 du 2 juin 2015 relative aux échéances de la saison balnéaire 2015, aux modalités de prévention et de gestion des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries ou d'amibes, à l'information du public à proximité des sites de baignades et à la mise à disposition du manuel pour l'utilisation de l'application SISE-Eaux baignade

<sup>2</sup> Rapport AFSSA/AFSSET de juillet 2006 relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et aux autres activités récréatives

commercialisation le cas échéant et de consommation et sa levée (cf. *annexe 1 et 2 – cas de l'étang du Rousset et cas du lac du Drennec*).

Dans ce contexte, nous souhaiterions que l'Agence puisse apporter des éléments d'éclairage, dans un premier temps sous forme d'AST, aux questions suivantes:

- 1) Quel est l'état des connaissances concernant la toxicocinétique des différentes cyanotoxines chez les poissons d'eau douce susceptibles d'être consommés par l'Homme, notamment :
  - capacité de bioaccumulation, le cas échéant, à quelle proportion dans les différents organes / tissus ?
  - est-il possible d'établir un lien entre les concentrations en toxines mesurées dans l'eau et/ou les cyanobactéries et celles mesurées dans les poissons ?
  - quelle est la vitesse d'élimination des toxines ?
- 2) Sur la base des avantages et des inconvénients des différentes méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons, quelle(s) seraient celle(s) à recommander ?
- 3) Sur la base des informations recueillies en réponse à la question 1 sur la cinétique de contamination/décontamination, quels éléments d'éclairage peuvent être apportés concernant la levée d'une interdiction de consommation des poissons suite à un épisode d'efflorescence de cyanobactéries (retour sous un seuil de cyanobactéries dans l'eau par exemple) ?

Nous vous remercions de bien vouloir nous apporter une réponse à ces questions d'ici fin mars 2016, dans la mesure du possible.

Dans un deuxième temps et de manière coordonnée avec la saisine annoncée d'ici début 2016 par la DGS pour une actualisation de l'expertise de 2006 concernant les eaux de baignade et l'eau potable, il est demandé à l'Agence de répondre aux questions suivantes :

- 1) 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, est-il possible d'établir des seuils sanitaires dans les poissons (au niveau de la chair, et pour les poissons entiers, notamment pour les petits poissons consommés en friture) ?
- 2) Y-a-t-il des données permettant de corréliser les seuils de gestion des risques sanitaires pour la baignade qui auront été actualisés par un groupe ad hoc, à un risque lié à la consommation de poissons ?
- 3) Quelles pourraient être les modalités de suivi à mettre en place spécifiquement pour couvrir le risque alimentaire en complément du suivi des eaux de baignade indépendamment des seuils de cyanobactéries actuels ?

Pour cette 2ème série de questions, dépendante de l'instruction de la saisine de la DGS susmentionnée, nous vous remercions de bien vouloir nous apporter une réponse d'ici fin 2016, dans la mesure du possible. A défaut, un point d'avancement sera réalisé avec établissement d'un nouveau calendrier.

Le Directeur Général de la Santé,

Professeur-Benoît VALLET

Le Directeur Général de l'Alimentation,  
Patrick DEHAUMONT

## Annexe 2 : Etat de l'art concernant les méthodes d'analyse des cyanotoxines dans les poissons

### 1 Anatoxines

#### 1.1 Traitement de l'échantillon

##### Extractions

Bogialli et al. (2006) ont extrait l'anatoxine-a (ANTX-a) de différents poissons (truite, mulot, perche, poisson rouge) en utilisant une colonne en acier inoxydable comme cellule d'extraction. Les tissus de poisson mélangés avec du sable sont introduits dans la cellule d'extraction et la toxine est extraite avec de l'eau acidifiée à pH 2 (HCl) qui passe à travers la cellule à un débit constant. Le pH final est ajusté à 3,1.

Les ANTX peuvent également être extraites des huîtres et palourdes en utilisant du MeOH pur et de l'acétonitrile (ACN). Les extraits sont dilués dans l'eau avant purification sur cartouche (SPE) (Rubio et al., 2014).

L'extraction de l'ANTX de moules *Mytilus galloprovincialis* décrite par Osswald et al. (2008) a été réalisée sur les tissus lyophilisés et broyés, à l'aide de MeOH acidifié (1% HCl, 1 M), en suivant la même procédure que celle décrite par Rellán et al. (2009) pour les compléments alimentaires à base d'algues bleues-vertes.

##### Purification

Bogialli et al. (2006) n'ont pas appliqué de procédure de purification particulière aux extraits de poissons qu'ils ont obtenus ; les auteurs rapportent simplement avoir passé les extraits sur filtres de cellulose de 0,2 µm. Dans ces conditions analytiques, les rendements de récupération en ANTX-a rapportés pour les échantillons de poissons analysés sont compris entre 71% et 78%.

Les extraits obtenus par Oswald et al. (2008) à partir de moules ont été purifiés sur cartouche WCX (weak cation exchange) selon la procédure appliquée par Rellán et al. (2009) pour les compléments alimentaires à base d'algues bleues-vertes.

Pour ce qui est des extraits d'huîtres et de palourdes, la purification en SPE se fait sur cartouche en phase reverse (C18) et les toxines sont éluées avec une solution méthanolique aqueuse à 60% (Rubio et al., 2014).

##### Dérivation

Aucune procédure de dérivation n'a été utilisée par Bogialli et al. (2006) pour l'analyse LC-MS/MS des extraits de poissons. En revanche, l'analyse des extraits de *M. galloprovincialis* par LC-FLD requière une étape de dérivation utilisant du NBD-F (4-fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole) (Osswald et al., 2008).

#### 1.2 Méthodes de détection

##### Méthodes chimiques

##### *Chromatographie liquide (LC)*

Différents types de détecteurs peuvent être couplés à la LC pour l'analyse des ANTX ; c'est le cas des détecteurs ultraviolet (UV), fluorimétriques (FLD) ou encore des spectromètres de masse (MS).

Les ANTX doivent subir une étape de dérivation afin de les rendre fluorescentes et analysables par LC-FLD. Comme en GC, l'agent de dérivation utilisé est le NBD-F (Osswald et al., 2009;

Osswald et al., 2008; Rawn et al., 2007; Rellan et al., 2009). La forme dérivée des toxines peut être analysée par spectrométrie de masse en suivant la masse correspondante (Rawn et al., 2007) mais une étape de dérivation préliminaire est pas nécessaire.

De même, les ANTX peuvent être analysées par LC-UV sans aucune étape de dérivation préalable. (Aráoz et al., 2005; Dimitrakopoulos et al., 2010; Harada et al., 1993).

La séparation des ANTX se fait généralement sur colonnes en phase inverse (C18) avec des phases mobiles de différentes compositions utilisant du MeOH ou de l'ACN comme solvant organique, en mode gradient ou isocratique (Bogialli et al., 2006; Furey et al., 2005; Furey et al., 2003; Harada et al., 1993; Osswald et al., 2009; Osswald et al., 2008; Rawn et al., 2007; Rellan et al., 2009). Comme la phénylalanine (Phe) a la même masse nominale que l'ANTX-a (composés isobares) les conditions LC doivent permettre de séparer ces 2 composés; ceci est particulièrement important en LC-MS basse résolution puisque la résolution étant trop basse elle ne permet pas les différencier. En revanche, en haute résolution il est possible de distinguer l'ANTX-a de la Phe sur la base de leurs masses exactes (ANTX-a: 165.11536 Da; Phe: 165.07898 Da) (Furey et al., 2005). Une autre approche consiste à ajouter une étape de méthylation au diazométhane lors du traitement de l'échantillon avant l'analyse LC-MS ; en effet, cette étape a pour effet d'éliminer l'interférence à la Phe (Furey et al., 2005).

En UV, la longueur d'onde suivie est 227 nm (Dimitrakopoulos et al., 2010; Harada et al., 1993) ce qui correspond à l'optimum d'absorbance tandis qu'une longueur d'onde de 250 nm conviendrait davantage à la Phe (Dimitrakopoulos et al., 2010).

En FLD, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont respectivement  $\lambda_{exc} = 470$  nm et  $\lambda_{em} = 530$  nm (Osswald et al., 2009; Rellan et al., 2009).

Plusieurs types de spectromètres de masse ont été utilisés pour l'analyse des ANTX ; des simples quadripôles (Harada et al., 1993), des triples quadripôles (Bogialli et al., 2006; Rawn et al., 2007), des trappes d'ions (Furey et al., 2005; Furey et al., 2003), des hybrides quadripôle – temps de vol (Furey et al., 2005) et des orbitraps (Roy-Lachapelle et al., 2015).

#### *Autres méthodes chimiques*

Roy-Lachapelle et al. (2015) ont développé une méthode pour l'analyse d'échantillons d'eau par désorption thermique par diode laser – ionisation chimique à pression atmosphérique (LDTD–APCI) couplée à un spectromètre haute résolution (HRMS). Cette méthode ne nécessite aucune étape de traitement de l'échantillon (ni extraction ni purification) et permet de distinguer les composés isobares que sont l'ANTX-a et la Phe.

La résonance magnétique nucléaire (RMN) a également été utilisée pour l'analyse quantitative des ANTX (Dagnino & Schripsema, 2005).

#### Méthodes biologiques

Les ANTX peuvent également être détectées au moyen de méthodes biologiques telles que le test d'inhibition de l'acétylcholine (ACh) estérase (Devic et al., 2002) ou encore le test ligand-récepteur réalisé sur les membranes issues de l'organe électrique de la torpille qui est riche en récepteurs nicotiques à l'ACh [nAChR] (Aráoz et al., 2005). Lors de ce test ligand-récepteur, l'ANTX-a et l'homo-ANTX-a inhibent la fixation de la <sup>125</sup>I-bungarotoxine à des concentrations qui sont inférieures de deux degrés de magnitude à celle de la nicotine. De plus, ces deux toxines de cyanobactéries sont des agonistes de même potentiel des nAChRs.

La LQ rapportée pour le test d'inhibition de l'ACh estérase pour l'analyse d'échantillons d'eau est de 0,5 nM.

## 2 $\beta$ -N-méthylamino-L-alanine (BMAA)

### 2.1 Traitement de l'échantillon

La BMAA peut être extraite de différentes matrices sous une **forme libre ou liée** à des protéines. Les protocoles d'extraction variant donc en fonction de la stratégie analytique choisie. Ainsi, la toxine libre peut être extraite en premier de la matrice ; puis ce même échantillon est extrait une nouvelle fois mais avec une autre solution qui va hydrolyser la matrice, permettant ainsi la libération de la forme liée de la BMAA. Cette approche permet d'obtenir deux fractions distinctes contenant respectivement les formes libre et liée de la BMAA. La teneur en BMAA totale (libre et liée) peut être déterminée en hydrolysant directement la matrice.

#### Extraction

Scott et al. (2009) rapportent avoir extrait les formes libre et liée de la BMAA de poissons (doré jaune, doré noir, corégone) en utilisant respectivement 0,1M d'acide trichloro-acétique (TCA) et 6M de HCl.

La BMAA a également été extraite d'autres matrices dont des coquillages et crustacées. Ainsi, Réveillon et al. (2014) ont extrait les formes libre et liée de la BMAA de moules (*Mytilus galloprovincialis*) et d'huitres (*Crassostrea gigas*) en 2 fractions, en utilisant respectivement des solutions de 0,1M TCA et 6M HCl. Différentes études font état de l'extraction de la fraction totale de la BMAA de coques *Cerastoderma edule* (Lage et al., 2014), d'huitres *Crassostrea virginica* (Christensen et al., 2012), du crabe bleu *Callinectes sapidus*, de l'hyppocampe *Stylocheilus striatus* (2012) avec 6M HCl. Andrys et al. (2015) ont utilisé une solution plus acide (12M HCl) pour extraire la fraction totale de BMAA de moules *Mytilus edulis*.

#### Purification

Pour la matrice poisson, la fraction contenant la BMAA libre peut être purifiée en SPE sur cartouche échangeuse de cations (SCX) tandis que la fraction contenant la BMAA liée est d'abord passée sur C18 puis sur SCX (Scott et al., 2009).

Réveillon et al. (2014) ont testé deux types de cartouches polymériques échangeuses de cations, Bond Elut® Plexa PCX et Oasis® MCX, pour la purification d'extraits de moules et d'huitres contenant la forme libre ou liée de la BMAA. Ces auteurs rapportent que la Bond Elut® Plexa PCX est la plus indiquée puisqu'elle permet d'obtenir de meilleurs rendements de récupération.

Andrys et al. (2015) ont utilisé des cartouches Isolute HXC-3 SPE possédant un mode rétentif mixte (phase inverse et échange de cations) pour purifier des extraits de moules avant l'analyse de la teneur en BMAA totale.

### 2.2 Méthodes de détection

#### LC-FLD

Il est possible d'analyser la BMAA en LC-FLD mais cela nécessite une étape préalable de dérivation afin de rendre la toxine fluorescente. Deux procédures de dérivation différentes ont été rapportées dans la littérature ; elles reposent sur l'utilisation de composés distincts, le 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (ACQ) (Faassen et al., 2012) ou le 9-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOC) (Scott et al., 2009).

Lors de l'analyse chromatographique les constituants de l'extrait sont séparés sur colonne C18 au moyen d'un gradient de phases mobiles de composition différente selon les études. L'ACN et l'eau sont les solvants utilisés mais avec différents additifs tels que le formate d'ammonium, l'acétate de sodium ou encore la triéthylamine (Faassen et al., 2012; Scott et al., 2009).

La LQ rapportée par Scott et al. (2009) pour l'analyse de poissons est de 0,22 µg/g. Les rendements de récupération sont compris entre 67% et 85% pour la BMAA libre et 66% et 67% pour la forme liée (après hydrolyse).

### LC-MS/MS

Les analyses LC-MS/MS peuvent être réalisées avec (Andrýs et al., 2015; Christensen et al., 2012; Faassen et al., 2012; Jiang et al., 2013; Lage et al., 2014; McCarron et al., 2014) ou sans dérivation (Faassen et al., 2012; Reveillon et al., 2014; Rosen and Hellenas, 2008) d'extraits de différentes matrices. Les procédés de dérivation reposent sur l'utilisation d'ACQ (Andrýs et al., 2015; Christensen et al., 2012; Faassen et al., 2012; Lage et al., 2014; McCarron et al., 2014) ou d'ester N-hydroxysuccinimide d'acide N-butylnicotinique (C4-NA-NHS) (Andrýs et al., 2015) comme réactif de dérivation. L'ion parent de la BMAA suivi en mode d'ionisation positif a un rapport masse sur charge m/z 119 pour la forme non dérivée ou m/z 221 (BMAA-C4-NA) et m/z 459 (BMAA-ACQ) pour les formes dérivées de la toxine, selon le réactif utilisé.

Dans le cas du couplage LC-MS/MS, la séparation des analytes avant analyse se fait sur des colonnes de différentes natures et différentes tailles : C18 (Andrýs et al., 2015; Christensen et al., 2012; Jiang et al., 2013; Lage et al., 2014; McCarron et al., 2014), ZIC HILIC (Faassen et al., 2012; Reveillon et al., 2014; Rosen & Hellenas, 2008), TSK gel amide-80 (McCarron et al., 2014), Zorbax Eclipse AAA (Faassen et al., 2012).

Pour la séparation sur colonnes C18, le solvant organique utilisé est le MeOH ou l'ACN mélangé à de l'eau. D'autres additifs entrent dans la composition des phases mobiles : acide acétique, acide formique, formate d'ammonium formate et/ou ammoniacque (Andrýs et al., 2015; Christensen et al., 2012; Jiang et al., 2013; Lage et al., 2014; McCarron et al., 2014).

Les phases mobiles utilisées pour les colonnes ZIC HILIC sont composées d'eau et d'ACN avec de l'acide formique dans les deux phases. La séparation se fait en mode isocratique (Rosen & Hellenas, 2008) ou en mode gradient (Faassen et al., 2012; Reveillon et al., 2014).

En ce qui concerne les colonnes TSK gel amide-80 et Zorbax Eclipse AAA, la séparation s'est faite en conditions de gradient de phases mobiles, ces dernières étant composées d'ACN, d'eau et d'acide formique (Faassen et al., 2012; McCarron et al., 2014).

Les performances des différentes méthodes utilisées pour l'analyse de la BMAA sont résumées dans le Tableau 15.

**Tableau 14: informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de la BMAA dans différentes matrices**

Auteurs	Matrices	Technique de détection	LD	LQ	Fidélité (%)		Rendement de recup (R) / Exactitude (E)	Effets matrice
					Répétabilité	Reproductibilité		
Scott et al. 2009	Poissons	LC-FLD	-	0,22 µg/g	-	-	67-85% (R)* 66-67% (R)**	-
Andrýs et al. 2015	Coquillages	LC-MS/MS	Meilleure sensibilité avec dérivation C4-NA-NHS plutôt que ACQ		-	-	-	-
Reveillon et al. 2014	Coquillages	HILIC-MS/MS	-	0,15 µg/g	-	-	56-79% (R)* 64-81% (R)**	-6,3 à +7,3% -5,5 à +15,7%
Christensen et al. 2012	Invertébrés	LC-MS/MS	0,5 µg/g	1,7 µg/g	2,4%	-	92% (R)	≈ +10%

(\* Extractions non hydrolysés (BMAA libre); (\*\* Extractions hydrolysés (BMAA liée ou totale)

## 3 Cylindrospermopsine

### 3.1 Traitement de l'échantillon

#### Extraction

Guzman-Guillen et al. (2015) ont optimisé et développé une méthode pour l'analyse de la CYN dans différents tissus de poissons : le muscle et le foie du *Tilapia Oreochromis niloticus*. La CYN est extraite avec un mélange d'eau et d'ACN (30:70, v/v), contenant 0,5% de TFA.

La CYN peut également être extraite de filets de poissons (truite, poisson chat, saumon, char) et de crevettes en utilisant la méthode officielle de l'AOAC 2005.06 (Lawrence et al., 2005), initialement développée pour l'analyse des toxines du groupe de la saxitoxine. La CYN est extraite de la matrice avec une solution d'acide acétique à 1% et l'extrait est passé au travers d'un filtre 0,22 µm. L'extrait peut ensuite être analysé tel quel, sans aucune étape de purification, par LC-UV ou par ELISA après dilution dans de l'eau déionisée (Niedzwiadek et al., 2012).

#### Purification

L'extrait obtenu selon la méthode développée par Guzman-Guillen et al. (2015) est d'abord purifié sur cartouche SPE Bakerbond C18 (500 mg, 6 mL) puis l'éluat est passé sur cartouche en carbone graphite poreux Bond Elute PGC (500 mg, 6 mL). La CYN est éluée avec une solution de MeOH contenant 0,1% de TFA ; l'éluat final est évaporé à sec et repris dans l'eau, filtré et analysé par LC-MS/MS.

### 3.3 Traitement de l'échantillon

#### Méthodes chimiques

La CYN peut être analysée par LC-UV (Liu & Scott, 2011; Niedzwiadek et al., 2012) ou par LC-MS/MS (Guzman-Guillen et al., 2015).

Les analytes sont séparés sur colonnes en phase réverse avant d'être analysés ; les phases stationnaires utilisées sont de chimie classique type C18 (Niedzwiadek et al., 2012) mais il peut également s'agir de phases inverses prévues spécialement pour retenir les composés hydrophiles tout en permettant l'utilisation de phases mobiles très aqueuses (Zorbax Sb-Aq, Genesis® AQ) (Guzman-Guillen et al., 2015; Liu & Scott, 2011).

Les phases mobiles utilisées avec des colonnes classiques C18 sont composées d'eau, de formate d'ammonium et d'ACN. Dans le cas des colonnes type Zorbax Sb-Aq et Genesis® AQ, on préfère l'utilisation du MeOH comme solvant organique plutôt que l'ACN. L'eau et le MeOH composant les phases mobiles contiennent du TFA (Guzman-Guillen et al., 2015) ou de l'acétate d'ammonium (Liu & Scott, 2011).

Les performances des méthodes LC-UV et LC-MS/MS sont présentées dans le Tableau 16. La méthode LC-UV utilisée pour l'analyse de poissons et crevettes est bien moins sensible que la LC-MS/MS et ce, quels que soit les tissus analysés (foie ou muscle).

#### Méthodes biologiques

Les détails du test ELISA Abraxis utilisé par Niedzwiadek et al. (2012) ne sont pas mentionnés dans l'article mais sont disponibles à l'adresse suivante : <http://www.abraxiskits.com/wp-content/uploads/2015/02/Cylindrospermopsin-Insert-R021215.pdf>

Le test ELISA Abraxis a une LQ de 0,05 µg/g pour les filets de poissons et les crevettes ; cette limite est 40 fois inférieure à celle de la méthode LC-UV (Niedzwiadek et al., 2012).

**Tableau 15: informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de CYN dans différentes matrices**

Auteurs	Matrices	Technique de détection	LD	LQ	Fidélité (%)		Rendement de récup (R) / Exactitude (E)	Effets matrice
					Répétabilité	Reproductibilité		
Guzman-Guillen et al. 2015	Poissons	LC-MS/MS	F: 0,07 µg/g M: 0,002 µg/g	F: 0,12 µg/g M: 0,007 µg/g	-	-	F: 80%-110% (R) M: 94%-104% (R)	-
Niedzwiadek et al. 2012	Crevettes, poissons	LC-UV	-	C, P : 2 µg/g	-	-	P: 67,8-89,3%	-
Niedzwiadek et al. 2012	Crevettes, poissons	ELISA	-	C, P: 0,05 µg/g	-	-	C: 75-99,0% P: 65,7-75,6%	-

F = foie; M = muscle; P = poissons ; C = crevettes

## 4 Nodularine

### 4.1 Traitement de l'échantillon

#### Extraction

Sipia et al. (2001) extraient la NOD de foies lyophilisés du Flet commun *Platichthys flesus* et du cabillaud *Gadus morhua* par sonication avec un mélange d'eau/MeOH/n-butanol (BuOH) (75:20:5; v/v/v). Les extraits analysés par LC-UV sont préalablement purifiés sur C18 tandis que ceux destinés à être analysés par ELISA ou test d'inhibition de la protéine phosphatase 1 (PP1) sont simplement dilués dans de l'eau afin d'abaisser la teneur en solvant organique.

Konkaanpää et al. (2002) ont testé quatre solvants différents sur les moules *Mytilus edulis*, les tellines *Macoma balthica* et flets *Platichthys flesus*, pour l'extraction de la NOD: (i) eau/MeOH/n-BuOH (75:20:5 ; v/v/v), (ii) eau/MeOH/n-BuOH (65:30:5, v/v/v), (iii) ACN/dihydrogénophosphate de potassium 0,1 M (pH 4,8 ; 15/85; v/v ), et (iv) du MeOH. Le mélange d'eau/MeOH/n-BuOH (75:20:5; v/v/v) a été sélectionné comme solvant d'extraction, car générant moins d'interférences lors de l'analyse. Ce mélange de solvants a été appliqué sur différentes matrices telles que des foies de flets *Platichthys flesus* (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Vuorinen et al., 2009), des moules *Mytilus edulis* (Karlsson et al., 2003a), les foies et muscles de flet (*Platichthys flesus*), de gardon (*Rutilus rutilus*), ainsi que sur d'autres poissons, l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*), le hareng (*Clupea harengus membras*), et le saumon (*Salmo salar*) (Sipia et al., 2007).

D'autres méthodes d'extraction ont été utilisées pour extraire la NOD de tissus biologiques, certaines d'entre elles utilisant du MeOH en différentes concentrations. Ainsi, une solution aqueuse de MeOH à 75% a été testée pour extraire cette toxine de lyophilisats de moules (*Mytilus edulis*) entières, de foies de flets (*Platichthys flesus*) (Karlsson et al., 2003a) et de foies de truites arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Karlsson et al., 2005).

Une solution de MeOH à 70% contenant 1% d'acide trifluoroacétique a été utilisée sur des foies lyophilisés de flets avant analyse des extraits par LC-MS ou Maldi-TOF-MS (Karlsson et al., 2003b).

Des tissus (foies, muscles) de mulot *Mugil cephalus* ont subi une double extraction avec une solution méthanolique à 80% (Stewart et al., 2012).

Wood et al. (2012) ont extrait la NOD d'écrevisses d'eau douce *Paranephrops planifrons* avec une solution méthanolique à 90%.

Avant d'être analysés par ELISA, des échantillons lyophilisés de bile de flet (*Platichthys flesus*) ont été extraits avec 100% de MeOH et dilués dans l'eau (Vuorinen et al., 2009).

Geis-Asteggianti et al. (2011b) ont extrait la NOD de tissus de poissons (poisson chat, Swai et basa) avec une solution ACN/eau (75/25) contenant 1% d'acide formique. Les extraits ont été analysés tels quels par LC-MS/MS mais pour une analyse par ELISA, le solvant a été évaporé et l'acide formique neutralisé avec un tampon (1M Tris-HCl, pH 8.0). Ces auteurs ont également testé d'autres procédures d'extraction : (i) de type Quechers, (ii) avec ACN/eau (4:1, v/v), (iii) avec une solution acidifiée de MeOH/eau (75:25, v/v) mais elles n'étaient pas aussi efficaces.

Avant d'être analysés par ELISA, des tissus de filets (*Platichthys flesus*) et de moules (*Mytilus edulis*) ont été émiettés dans l'eau, centrifugés puis filtrés. La moyenne des rendements d'extraction était de 90.7% et 86.9%, respectivement (Zhou et al., 2011).

Ces méthodes d'extraction ont été appliquées avant analyse par différentes techniques, soit chimiques (LC-UV, LC-MS, Maldi-TOF-MS...) soit biologiques (ELISA, PPI, CIPPIA...). Pour ce qui est de l'analyse chimique, les extraits sont analysés avec ou sans purification (extraction liquide-liquide, SPE) ; les extraits destinés à des méthodes biologiques sont généralement analysés sans purification et après dilution afin de réduire la quantité de solvant organique qui perturberait la détection du test biologique.

### Purification

La SPE est la procédure de purification qui a été la plus utilisée et appliquée à des extraits obtenus à partir de matrices biologiques diverses. Les cartouches en phase inverse ont été largement utilisées sur des extraits obtenus à partir d'un mélange eau/MeOH/n-BuOH (75:20: 5; v/v/v) (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Konkaanpää et al., 2002; Sipia et al., 2001; Sipia et al., 2007; Vuorinen et al., 2009). Konkaanpää et al. (2002) ont testé deux types de cartouches C18 (Bakerbond & Sep Pak).

Karlsson et al. (2005) ont également eu recours à des cartouches SPE en phase inverse (C18) afin de purifier des extraits méthanoliques de truites arc-en-ciel et de moules. Ces auteurs ont rapporté avoir observé des effets matrices en LC-MS/MS pour des extraits bruts (non purifiés) : +30% pour des moules, -20% à -40% pour des foies de poissons. En revanche, aucun effet matrice n'a été observé après SPE, à l'exception des foies de poissons avec environ -40%.

Geis-Asteggianti et al. (2011b) ont utilisé la partition liquide-liquide avec l'hexane afin de réduire le contenu lipidique des extraits de poissons obtenus avec un mélange ACN/eau (75/25) contenant 1% d'acide formique.

## **4.2 Méthodes de détection**

### Méthodes chimiques

#### *LC-UV*

Pour l'analyse de la NOD par LC-UV, les analytes sont séparés sur une colonne en phase inverse C18 avec des phases mobiles de différentes compositions : (A) 0.01 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 2.0 et (B) ACN (70.5:29.5, v/v) en mode isocratique (Konkaanpää et al., 2002; Sipia et al., 2001) ; (A) eau et (B) ACN les deux phases contenant 0,05% d'acide formique, en mode gradient d'élution (Karlsson et al., 2003a).

La longueur d'onde pour la détection de la NOD est de 238 nm (Karlsson et al., 2003a; Konkaanpää et al., 2002; Sipia et al., 2001). Konkaanpää et al. (2002) rapportent des LQ comprises entre 120 et 150 ng/g selon la matrice analysée (tableau 17). Ces auteurs font également état de rendements de récupération bas (54-58%).

## LC-MS/MS

Comme pour les méthodes LC-UV, la séparation avant l'analyse LC-MS/MS se fait généralement sur colonne en phase inverse de différentes tailles (Geis-Asteggianti et al., 2011b; Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Karlsson et al., 2003b; Karlsson et al., 2005; Sipia et al., 2007; Sipia et al., 2006; Stewart et al., 2012).

Les phases mobiles sont généralement composée de (A) eau acidifiée avec 0,1% ou 0,5% d'acide formique et (B) ACN (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Karlsson et al., 2003b; Karlsson et al., 2005; Sipia et al., 2007; Sipia et al., 2006); (A) eau et (B) ACN, les deux phases contenant 0,1% d'acide formique (Geis-Asteggianti et al., 2011b).

D'autres phase mobiles ont également été utilisées : 10% ACN et 90% ACN, contenant toutes les deux 50 mM acide formique et 2 mM d'ammoniaque (Wood et al., 2012); (A) 1% MeOH aqueux, (B) 95% MeOH aqueux, les deux phases contenant 0,1% d'acide formique (Stewart et al., 2012).

Quelles que soient les phases mobiles utilisées, les analytes sont séparés en mode gradient.

Différents types de spectromètres de masse ont été utilisés : triples quadripôles (Geis-Asteggianti et al., 2011b; Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Karlsson et al., 2003b; Karlsson et al., 2005), trappes d'ions (Karlsson et al., 2003a), Maldi-TOF-MS (Karlsson et al., 2003b).

La détection se fait en mode positif avec les ions précurseurs  $m/z$  825,5 et  $m/z$  811,5 correspondant à la NOD et la desmethyl NOD respectivement, tandis que l'ion fragment  $m/z$  135,1 est commun aux deux toxines (Karlsson et al., 2003a; Karlsson et al., 2003b; Karlsson et al., 2005; Wood et al., 2012). Stewart et al. (2012) ont suivi l'ion précurseur  $m/z$  825.5 (NOD ; M + H)<sup>+</sup> et les ions fragments (ou fils)  $m/z$  135 et  $m/z$  163. Les conjugués glutathion (GSH) de la NOD ont un rapport  $m/z$  de 1132,5 (Karlsson et al., 2003b). Les conjugués cystéine (NOD-CYS) ( $m/z$  946,5) peuvent également être détectés avec les conjugués NOD-GSH ( $m/z$  1132,5) mais les conditions analytiques utilisées par Karlsson et al. (2005) n'ont pas permis la séparation des quatre isomères correspondants aux conjugués NOD-CYS et NOD-GSH.

Geis-Asteggianti et al. (2011b) ont eu recours à une ionisation en mode négatif pour l'analyse de la NOD, en suivant l'ion précurseur  $m/z$  823,6.

## Méthodes biologiques

### ELISA

Des méthodes ELISA ont été utilisées pour l'analyse de la NOD dans différentes matrices. Puisque la NOD et la MC sont de structure similaire, les kits ELISA ont généralement une bonne réactivité croisée pour ces deux toxines ; c'est le cas notamment du kit EnviroGard™ pour les MC, qui permet d'obtenir des rendements de récupération de l'ordre de 84% pour un étalon de NOD dissout dans de l'eau (Sipia et al., 2001).

Le kit ELISA EnviroLogix™ présente également une bonne réaction croisée entre les MC et la NOD (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a) et a été utilisé dans de nombreuses études pour l'analyse de la NOD (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a; Sipia et al., 2006; Vuorinen et al., 2009).

Le kit EnviroLogix a une LD de 0,2 g/L pour la NOD (Kankaanpää et al., 2005) et présente une réactivité croisée pour les formes conjuguées des hépatotoxines, telles que les conjugués glutathion (Kankaanpää et al., 2005; Karlsson et al., 2003a).

Geis-Asteggianti et al. (2011b) ont eu recours au test ELISA de la société Abraxis qui utilise un anticorps dirigé contre l'acide aminé Adda commun à la NOD et aux MC, tandis que Zhou et al. (2011) ont développé un test ELISA qui utilisent un anticorps monoclonal spécifique de la NOD sans réaction croisée avec d'autres toxines (<0.4%).

Les résultats du test ELISA et du test d'inhibition de la PP1 utilisés en parallèle par Sipia et al. (2001) sont généralement concordants sauf pour les muscles de poissons. Des différences de résultats entre méthodes ELISA et LC-MS/MS ont été rapportés ; ainsi Karlsson et al. (2003a) ont obtenu des résultats supérieurs avec la méthode ELISA comparés à ceux de la LC-MS/MS, bien que la même procédure d'extraction ait été utilisée. Les auteurs expliquent ces différences par le fait que les extraits analysés par ELISA n'ont pas été purifiés en SPE contrairement à ceux analysés par LC-MS/MS, ce procédé de purification ayant pu entraîner des pertes de toxines. De plus l'ELISA peut détecter les conjugués GSH et CYS, ce qui n'était pas le cas en LC-MS/MS.

Kankaanpää et al. (2005) ont également rapporté que les résultats de l'ELISA sont bien supérieurs (jusqu'à un facteur 10) à ceux de la LC-MS ; cette différence étant due à l'utilisation de différentes procédures d'extraction, aux effets matrices ainsi qu'aux conjugués CYS et GSH détectés par l'ELISA mais pas en LC-MS (transitions non suivies).

Contrairement aux travaux cités précédemment, Sipia et al. (2006) ont obtenu des résultats plus faibles avec le test ELISA qu'en LC-MS/MS pour l'analyse de foies et muscles de flets et gardons.

#### *Test d'inhibition de la protéine phosphatase (PPIA)*

Le principe du PPIA est basé sur la capacité de la NOD et des MC à inhiber les protéines phosphatases, mais ce test détecte également d'autres composés ayant la même activité biologique comme l'acide okadaïque par exemple. Sipia et al. (2001) ont utilisé un test PPIA basé sur une sous-unité catalytique de la protéine phosphatase 1 recombinante d'*Escherichia coli*. Le test a été réalisé à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 2 h, et l'absorbance lue à 405 nm. Le rendement de récupération de l'étalon de la NOD dissout dans l'eau est de 63%. Cette méthode ne détecte que la NOD libre.

Les résultats du test ELISA et du test d'inhibition de la PP1 utilisés en parallèle par Sipia et al. (2001) sont généralement concordants sauf pour les muscles de poissons.

#### *Test d'inhibition de la protéine phosphatase immuno colorimétrique (CIPPIA)*

Contrairement au test PPIA classique, le CIPPIA cible de manière spécifique l'activité inhibitrice des MC et de la NOD vis-à-vis des PP. La capacité d'un antisérum de la MC-LR à protéger la PP1 de l'action de cette même toxine et d'autres toxines de cyanobactéries est utilisée comme principe de base du test CIPPIA (Metcalf et al., 2001). Ce test utilise la sous-unité catalytique de la protéine recombinante PP1 du muscle squelettique de lapin, exprimé chez *Escherichia coli*. Le Para-Nitrophenylphosphate est un réactif qui sous l'action de la PP1 est transformé en un produit coloré, le para-nitrophenol (p-NP) détecté à 410 nm. L'action spécifique des MCs et de la NOD est détectée en comparant les résultats après pré-incubation en présence du sérum pré-immun ou de l'antisérum de la MC-LR.

La LD pour la NOD est de 20 nM et elle est comprise entre 10 et 40 nM pour les variants de la MC (10 nM pour la MC-LR). Le test CIPPIA est environ 40 fois plus sensible que la LC-UV ; les LD sans étape de concentration sont respectivement de 10 et 400 µg/L (Metcalf et al., 2001).

**Tableau 16: informations relatives aux méthodes utilisées pour l'analyse de NOD dans différentes matrices**

Auteurs	Matrices	Technique de détection	LD	LQ	Fidélité (%)		Rendement de récup (R) / Exactitude (E)	Effets matrice
					Répétabilité	Reproductibilité		
Geis-Asteggiante et al. 2011	Poisson	LC-MS/MS	<10 ng/g	-	-	10-20%	94±10% (R)	-2±12%
	Poisson	ELISA	1.7 ng/g	-	-	-	-	-

Auteurs	Matrices	Technique de détection	LD	LQ	Fidélité (%)		Rendement de récup (R) / Exactitude (E)	Effets matrice
					Répétabilité	Reproductibilité		
Karlsson et al. 2005	Poisson (F), Moules (CE)	LC-MS/MS	S: 4 pg EP: 13 pg EB: 16 pg	-	-	-	-	≈ +30% (M)* -20 à -40% (P)*
Konkaanpää et al. 2002	Poisson (F), Moules (CE), Clams (CE)	LC-UV		F: 150 ng/g M: 140 ng/g C: 120 ng/g	-	-	P: 54% (R) M: 58% (R) C: -	-
Sipia et al. 2001	Poisson (F)	PP1		<10 ng/g	-	-	Eau: 63% (R) P: 32% (R)	-
	Poisson (F)	ELISA		<10 ng/g	-	-	Eau: 84% (R) P: 29% (R)	-
Metcalf et al. 2001	Eau	CIPPIA	10 nM	-	-	-	-	-
Zhou et al. 2011	Poisson	ELISA	0.16 µg/L	-	-	-	P: 90.7% (R) M: 86.9% (R)	-

(\*) Effets matrices mesurés sans étape de purification ; C=clams ; M = moules ; P = poissons ; CE = chair entière; F = foie ; EP = extrait purifié; EB= extrait brut ; S = solvant.

## 5 Microcystines

### 5.1 Traitement de l'échantillon

#### Extraction

Différents procédés ont été appliqués à différents types d'échantillons pour extraire les MC, que ce soit sous forme libre ou totale (somme des MC liées aux protéines et des MC libres).

Williams et al. (1997) ont extrait des MC libres de moules avec 100% de MeOH. Les surnageants, une fois combinés ont été évaporés à sec et le résidu « huileux » a été testé par PPIA. Lawrence et al. (2001) ont utilisé une solution de MeOH à 75% pour extraire les MC d'échantillons de saumon, truite arc-en-ciel et brochet. Berry et al. (2011) et Suchy & Berry (2012) ont utilisé une approche similaire en extrayant les MC de différentes espèces de poissons (capucettes, *Chirostoma* spp.; *Goodea* sp.; et carpes, *Cyprinus carpio*) avec du MeOH 75%, puis avec du MeOH 75% contenant 0,05% d'acide acétique, par homogénéisation mécanique.

Preece et al. (2015) ont testé et comparé quatre protocoles d'extraction utilisant différents mélanges de solvants : 75% ACN ; 75%, 90% ou 100% MeOH, sur des tissus de muscles dorsaux de truite arc-en-ciel dopés avec un mélange de MC-LR, RR, YR et LW. Les meilleurs rendements de récupération ont été obtenus avec 75% de MeOH. Cependant, appliqué à des échantillons de moules, ce protocole a entraîné des résultats faux-positifs avec les tests ELISA anti-Adda. Selon les auteurs, ces résultats pourraient être dus à la longueur du processus d'extraction (quelques heures), susceptible d'entraîner la co-extraction de composés interférents.

Cadel-Six et al. (2014) ont rapporté l'extraction de MC à partir de différents tissus de truites juvéniles (branchies, foie, intestin, muscles) en utilisant un mélange eau : MeOH : BuOH (75:20:5) avec un rapport échantillon - solvant de 10 mg de tissu lyophilisé/1 ml de mélange de solvants.

La MC-LR et ses conjugués glutathion (MC-LR-GSH) peuvent être extraits de poissons (foie et reins) avec une solution de 0,01 M EDTA-Na2 (0,01 M) – 5% acide acétique (Dai et al., 2008). La même procédure d'extraction a été appliquée à des escargots d'eau douce (*Bellamya aeruginosa*)

et crevettes (*Macrobrachium nipponensis*) afin d'extraire la MC-LR-GSH, la MC-LR et ses conjugués cysteine (MC-LR-Cys) (Zhang et al., 2009).

L'utilisation de solvants organiques n'est pas nécessaire puisque Bogialli et al. (2005) ont extrait les MC et la NOD à partir d'échantillons de truite, mulot, perche et poisson rouge en utilisant une colonne en acier inoxydable comme cellule d'extraction. Les tissus de poisson mélangés avec du sable ont été introduits dans la cellule d'extraction et les toxines ont été extraites avec de l'eau acidifiée à pH 2 (HCl) et chauffée à 80°C, passée à travers la cellule à un débit constant.

Pour l'extraction des MC totales de différentes matrices, une procédure spécifique a été décrite dans la littérature; il s'agit de l'oxydation de Lemieux, qui permet la libération d'une partie de la fraction Adda, l'acide 2-méthyl-3-méthoxy-4-phénylbutanoïque (MMPB).

Cadel-Six et al. (2014) ont utilisé cette procédure sur des juvéniles de truites qui ont été digérés par de la trypsine dans du tampon phosphate de Sorensen puis oxydés avec une solution de KMnO<sub>4</sub> à 0,1 M et 0,1 M NaIO<sub>4</sub>, à pH 9,0 pendant 4 heures, avant d'être analysés par LC-MS/MS.

Suchy & Berry (2012) ont extrait les MC totales en ayant recours à l'oxydation de Lemieux, à l'aide de KHCO<sub>3</sub>, KMnO<sub>4</sub> et NaIO<sub>4</sub>, suivie d'une étape d'estérification, pour volatiliser les analytes et permettre une microextraction en phase solide (SPME) et l'analyse par GC-MS.

Williams et al. (1997) ont déterminé la teneur en MC totales dans des moules en utilisant la procédure d'oxydation avant l'analyse GC-MS. Les auteurs ont rapporté des différences importantes entre les MC libres et totales avec moins de 0,1% de la charge en MC totales dans les moules susceptible d'être extraite avec du MeOH.

### Purification

Des cartouches SPE ont été utilisées pour nettoyer différents extraits avant leur analyse par diverses méthodes. Ainsi Cadel-Six et al. (2014) ont testé les cartouches Strata X et Oasis hydrophilic-lipophilic balance (HLB) (60 et 30 mg, respectivement) et sélectionné les cartouches Strata X. Ces auteurs ont également testé les cartouches Oasis HLB (200 mg) et SampliQ OPT (150 mg) pour l'analyse des MC totales et ont indiqué que les SampliQ OPT ont été plus efficaces.

Différents types de cartouches peuvent être utilisés en combinaison pour augmenter l'efficacité du nettoyage ; ce fut le cas pour les cartouches Oasis HLB et silice Sep-Pak utilisées pour purifier les extraits obtenus à partir de poissons, d'escargots et crevettes (Dai et al., 2008; Zhang et al., 2009).

Lawrence & Menard (2001) ont choisi une approche quelque peu différente puisqu'ils ont purifié les échantillons de poissons sur des colonnes d'immunoaffinité sur lesquelles étaient immobilisés des anticorps polyclonaux anti-MC-LR. La moyenne des rendements de récupération était de 73% (MC-RR) à 87% (NOD).

## **5.2 Méthodes de détection**

### Méthodes chimiques

#### *LC-MS*

Plusieurs publications font mention de l'utilisation de la LC-MS pour l'analyse d'extraits afin d'en déterminer le contenu en MC (Bogialli et al., 2005; Cadel-Six et al., 2014; Dai et al., 2008; Geis-Asteggiant et al., 2011a; Hiller et al., 2007; Karlsson et al., 2005; Kohoutek et al., 2010; Mekebri et al., 2009; Neffling et al., 2009; Ott & Carmichael, 2006; Wu et al., 2010).

Les toxines sont généralement séparées sur des colonnes en phase inverse de différentes caractéristiques (Bogialli et al., 2005; Cadel-Six et al., 2014; Dai et al., 2008; Preece et al., 2015). Bien que la composition de la phase mobile varie, l'ACN est le solvant préféré et une voire même les deux phases mobiles utilisées en mode gradient sont acidifiées avec de l'acide formique.

Les MC sont analysées en mode d'ionisation positif et peuvent être détectées sous la forme d'un précurseur mono- ou doublement chargé. Ainsi Cadel-Six et al. (2014) ont suivi l'ion précurseur  $m/z$  995,8 pour la MC-LR ( $[M+H]^+$ ) et deux fragments caractéristiques,  $m/z$  135,3 (caractéristique du fragment of ADDA) et  $m/z$  213,3.

Dai et al. (2008) ont également choisi de suivre l'ion précurseur de la MC-LR  $[M+H]^+$   $m/z$  995,5. Les fragments rapportés comprennent notamment les ions  $m/z$  599,3, 553,2, 866,4, 967,4, et 977,4. L'ion précurseur de la MC-LR-GSH a un rapport  $m/z$  de 1302,8. L'ion doublement chargé ( $[M+2H]^{2+}$ ,  $m/z$  652,0) était également présent.

Bogialli et al. (2005) ont suivi plusieurs analogues de la MC et l'ion précurseur de certains d'entre eux était doublement chargé ( $m/z$  498 pour la MC-LR,  $m/z$  520 pour la MC-RR).

Après l'oxydation de Lemieux, le MMPB peut être détecté par LC-MS/MS sous la forme de l'ion précurseur  $[MMPB+H]^+$   $m/z$  209,3, et trois fragments caractéristiques  $m/z$  91,1,  $m/z$  131,1 et  $m/z$  191,1 sont observés (Cadel-Six et al., 2014).

#### *LC-DAD*

Lawrence et Menard (2001) ont analysé des échantillons de poissons purifiés sur IAC et analysés par LC-DAD. La séparation des analytes a été réalisée sur une colonne C18 avec un gradient de phases mobiles composées d'eau et d'ACN, acidifiées avec du TFA. La longueur d'onde pour la détection était de 238 nm.

#### *GC-MS*

Suchy & Berry (2012) ont analysé par GC-MS les fibres SPME après oxydation de Lemieux et estérification méthylique d'échantillons de poisson. La fragmentation de l'ester méthylique du MMPB en impact électronique (EI)-MS ne présente pas de pic correspondant à l'ion moléculaire ( $M + 222$ ), mais les fragments  $m/z$  190, 135, 131, 91 et 75. Les résultats GC-MS correspondant aux MC totales étaient naturellement beaucoup plus élevés que ceux par ELISA correspondant à la forme libre des toxines.

Williams et al. (1997) ont également analysé des extraits de moules par GC-MS après oxydation de Lemieux et ils ont suivi les ions fragments  $m/z$  176 et 117 détectés en EI.

### Méthodes Biologiques

#### *Méthodes immunologiques*

Berry et al. (2011) ainsi que Preece et al. (2015) ont rapporté avoir utilisé le kit ELISA Abraxis qui cible de manière spécifique un acide aminé C20, l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-décadiénoïque également appelé motif Adda. Ce test ELISA basé sur l'utilisation d'un anticorps polyclonal anti-Adda a une bonne réactivité croisée avec au moins 80% des MC connues parce que l'anticorps est dirigé contre ce motif Adda présent chez toutes les MC ainsi que chez la NOD.

Un test ELISA utilisant un anticorps monoclonal est également disponible dans le commerce ; il a une très bonne réactivité croisée avec tous les analogues de MC testés à ce jour, y compris le motif Adda (Preece et al., 2015). Ces auteurs rapportent que toutes les MC détectées par l'ELISA anti-Adda dans leur étude étaient des faux positifs. En revanche l'ELISA utilisant un anticorps monoclonal a significativement réduit les faux positifs par rapport à l'ELISA anti-Adda.

Tippkötter et al. (2009) ont développé un test immunochromatographique en flux latéral sur bandelette pour la détection rapide de la MC-LR grâce à un anticorps anti-MC-LR. Des particules d'or colloïdales avec des diamètres de 40 nm ont été utilisées comme marqueurs de couleur rouge pour les anticorps afin de permettre la détection visuelle de l'antigène. La LD atteinte est de 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de chair de moules.

### Test d'inhibition de la protéine phosphatase (PPIA)

Le test d'inhibition de la protéine phosphatase est basé sur la capacité des MC à inhiber les protéines phosphatases de la sérine/thréonine.

Williams et al. (1997) ont utilisé un test d'inhibition de la PP1c sur des extraits de moules afin de déterminer la quantité de MC dans les échantillons testés.

Le potentiel d'inhibition des protéines phosphatases sérine/thréonine par les MC dans des extraits de poissons a été évalué au moyen d'une méthode fluorimétrique, comme décrit par Berry et al. (2011). Le produit fluorescent, ou 4-méthylumbellifère, a été mesuré après 60 min d'incubation, à l'aide du lecteur de microplaques Biotek Synergy HT ( $\lambda_{ex} = 360 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{em} = 460 \text{ nm}$ ).

Le test CIPPIA déjà présenté pour la NOD a également été utilisé pour la détection des MC. Contrairement à un essai classique d'inhibition des PP, le test CIPPIA cible spécifiquement l'activité inhibitrice des MC et de la NOD envers les PP et n'est pas sujet à des interférences avec d'autres inhibiteurs des PP tels que l'acide okadaïque, la calyculine A ou encore la tautomycine (Metcalf et al., 2001).

## 6 Saxitoxines

### 6.1 Traitement de l'échantillon

#### Extraction

Le protocole d'extraction décrit dans la méthode officielle AOAC 2005.06 (Lawrence et al., 2005) a été utilisé pour extraire les saxitoxines (STX) de diverses matrices : palourdes *Venerupis pullastra*, *Meretrix lyrata* ; mactres *Spisula solida* ; moules *Mytilus galloprovincialis* (Ben-Gigirey et al 2012) ; moules *Mytilus galloprovincialis* (Botelho et al., 2010); moules *Mytilus sp.*, huîtres du Pacifique *Crassostrea gigas*, huîtres *Ostrea edulis*, coques *Cerastoderma edule*, coquilles St Jacques *Pecten maximus*, pétoncles *Aequipecten opercularis*, mactres *Spisula solida* et couteaux *Ensis sp.* (Turner et al., 2014).

En bref, d'après la méthode officielle, les STX sont extraites des matrices avec une solution à 1% d'acide acétique dans un bain d'eau bouillante (100°C). Ben-Gigirey et al. (2012) ont introduit une étape d'hydrolyse pour convertir la GTX6 en néosaxitoxine (NEO) pour laquelle un étalon est disponible. La fraction 2 recueillie après passage sur cartouche SPE COOH est hydrolysée avec une solution de HCl, dans un bain d'eau, et la réaction est stoppée avec du NaOH.

D'autres méthodes d'extraction ont été rapportées dans la littérature. Ainsi Laycock et al. (2010) et Watanabe et al. (2014) ont respectivement extrait les STX de moules et coquilles St Jacques *Patinopecten yessoensis*, en utilisant la méthode AOAC 959.08. Dans cette dernière, les toxines sont extraites de la matrice à chaud (100°C) avec une solution d'HCl à 0,1M.

Van de Riet et collaborateurs (2011) ont développé et validé une méthode LC-FLD, baptisée méthode PCOX (pour « post-column oxidation »), pour l'analyse des STX dans les moules *Mytilus edulis*, les myes *Mya arenaria*, les coquilles St Jacques *Placopecten magellanicus* et les huîtres *Crassostrea virginicus*, après extraction des toxines dans bain-marie (100°C) avec une solution d'HCl à 0,1 M. La déprotéinisation des extraits est réalisée au moyen de TCA et de NaOH.

Rawn et al. (2009) ont extrait les STX de crustacés en utilisant une solution d'EtOH à 90% ; les extraits ont ensuite été dilués dans un tampon avant d'être analysés par résonance plasmonique de surface (SPR). Devlin et al. (2011) ont utilisé un tampon PBS (pH 7,2) pour extraire les toxines de moules avant de purifier les extraits en utilisant un anticorps monoclonal (mAb) fixé sur des microsphères.

## Purification

Dans le cadre de la méthode officielle AOAC 2005.06, deux étapes SPE consécutives sont appliquées. La première nécessite l'utilisation d'une cartouche C18 pour purifier l'extrait acide obtenu à partir des matrices. Le passage sur cartouche échange d'ions SPE-COOH est utilisé uniquement pour les extraits préalablement passés sur C18 qui s'avèrent contenir des toxines N-1-hydroxylées. Trois fractions sont collectées à partir de la cartouche SPE-COOH ; elles contiennent respectivement (i) les toxines C, (ii) les GTX avec les B1 et B2, et (iii) NEO, STX, et dcSTX (Ben-Gigirey et al., 2012; Botelho et al., 2010; Turner et al., 2014).

Watanabe et al. (2014) ont également rapporté l'utilisation de cartouches C18 pour purifier un extrait acide de coquilles St Jacques avant analyse par LC-FLD.

Devlin et al. (2011) ont utilisé une approche différente pour la purification. Le STX ont été piégées par un anticorps monoclonal dirigé contre les GTX 2,3 (GT-13A) et couplé à des microsphères. Le complexe mAb-microsphère est réutilisable ; un rendement de récupération de 92% a été rapporté pour la STX en solution dans du tampon PBS, après 35 utilisations des microsphères. Les rendements obtenus pour les extraits de moules ont montré une bonne récupération de la STX (jusqu'à 84%), 62% pour les GTX 2,3 et moins de 1% pour la NEO et les GTX 1,4 indiquant un faible niveau de réactivité croisée.

## Oxydation

Les STX doivent être oxydées avant l'analyse LC-FLD pour les rendre fluorescentes et détectables. Dans le cadre de la méthode officielle AOAC 2005.06, les extraits purifiés sur cartouche SPE sont ensuite oxydés en utilisant une solution de périodate ou de peroxyde avant analyse (Ben-Gigirey et al., 2012; Botelho et al., 2010; Turner et al., 2014).

Le protocole d'oxydation de la méthode AOAC 2011.02 (van de Riet et al., 2011) est réalisé en ligne, post-colonne, en présence d'un agent oxydant (périodate) et arrêté à la sortie du tube de réaction à l'intérieur duquel se déroule l'oxydation en ajoutant de l'acide nitrique.

Watanabe et al. (2014) ont également utilisé un système d'oxydation en ligne, post-colonne, légèrement différent de celui de van de Riet et al. (2011) ; le réactif d'oxydation est l'acide périodique et la réaction est stoppée en ajoutant de l'acide acétique.

## **6.2 Méthodes de détection**

### Méthodes chimiques

#### *LC-FLD*

Plusieurs auteurs rapportent avoir utilisé la méthode Lawrence (méthode officielle AOAC 2005.06) (Ben-Gigirey et al., 2012; Botelho et al., 2010; Devlin et al., 2011; Rawn et al., 2009; Turner et al., 2014). Les toxines sont séparées sur une colonne en phase inverse (C18) en utilisant un gradient de phases mobiles (A : formate d'ammonium 0,1 M; B : formate d'ammonium 0,1 M dans 5% ACN, les deux phases étant ajustées à pH 6) et détectées par fluorescence ( $\lambda_{exc} = 340$  nm,  $\lambda_{em} = 395$  nm).

Ben-Gigirey et al. (2012) ont signalé que la moyenne des rendements de récupération obtenus pour les dcGTX2,3 étaient, en général, faibles (53,1 à 58,6%). Le coefficient de variation de reproductibilité pour les dcGTX2,3 dans tous les échantillons analysés variait de 28,2 à 45,7%, et les valeurs HorRat variaient de 1,5 à 2,8.

Les extraits de moules peuvent entraîner une suppression du signal de fluorescence pour les dcGTX2,3, GTX2,3 et GTX1,4, tandis qu'une augmentation peut être notée pour les C1,2, STX, dcSTX, B1, dcNEO et NEO (Botelho et al., 2010), indiquant que l'utilisation d'une gamme étalon en matrice est recommandée afin de minimiser ces effets préjudiciables pour la quantification des toxines.

Turner et al. (2014) ont adopté une approche semi quantitative de la méthode de Lawrence en réalisant une oxydation périodate après la purification des extraits sur cartouches SPE C18 ; cela a pour effet d'entraîner une surestimation des teneurs en toxines d'un facteur proche de deux en moyenne, par rapport aux niveaux toxiques obtenus en utilisant la méthode quantitative.

Dans le cadre de la méthode PCOX (van de Riet et al., 2011), deux types de conditions chromatographiques sont utilisées pour la séparation/détection de la STX et des GTX d'une part et des toxines C de l'autre. Les deux sets de conditions nécessitent l'utilisation de colonnes en phase inverse, bien que présentant des caractéristiques différentes. La phase mobile utilisée pour les STX/GTX est composée d'heptane sulfonate contre du phosphate de tétrabutylammonium pour les toxines C. Les deux phases mobiles sont utilisées dans des conditions de gradient. Les longueurs d'ondes de détection sont de 330 nm pour l'excitation et 390 nm pour l'émission.

Dans la méthode LC-FLD de Watanabe et al. (2014), la séparation a été réalisée sur une colonne en phase inverse avec une phase mobile (30 mM de tampon de phosphate d'ammonium contenant 2 mM d'heptane sulfonate à pH 7,1 / ACN; 96/4 v/v) dans des conditions isocratiques. Les longueurs d'onde de détection sont de 330 nm pour l'excitation et 390 nm pour l'émission. Cette méthode permet de détecter et quantifier la STX en utilisant dcSTX comme étalon externe.

### LC-MS

Poyer et al. (2015) ont développé une méthode LC-MS basée sur les principes de chromatographie liquide d'interaction hydrophile (HILIC) et la mobilité ionique (IM) pour séparer et analyser les STX. Toutes les toxines sont analysées en mode d'ionisation positive mais les GTX peuvent également être analysées en mode négatif pour une meilleure sensibilité. Le couplage complémentaire HILIC-IM-MS permet la différenciation de tous les analogues étudiés ; la séparation des isomères des GTX est réalisée dans la dimension HILIC tandis que les analogues non sulfatés sont séparés en IM-MS.

### Méthodes biologiques

#### *Méthodes immunologiques*

Kim & Choi (2015) ont développé un dispositif de phase stationnaire liquide sur puce, composé d'une chambre de dépôt d'échantillon reliée à une chambre de détection par l'intermédiaire d'un canal. Les différents réactifs (tampons, anticorps anti-STX, STX-péroxydase de raifort (STX-HRP) et protéine G couplée à des particules magnétiques (G-MP)) et l'échantillon contenant les STX sont ajoutés à la chambre d'échantillon. Un aimant est placé sous le dispositif et déplacé de la chambre d'échantillon vers la chambre de détection remplie de solution substrat de HRP (3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine). L'absorbance de la solution est lue à 650 nm avec le lecteur de plaque.

La STX-HRP et la STX présentes dans l'échantillon se fixent de manière compétitive à l'anticorps anti-STX attaché au complexe G-MP, qui est utilisé comme phase solide. Par conséquent, la quantité de STX-HRP liée aux particules magnétiques est inversement proportionnelle à la concentration de l'échantillon en STX. La limite de détection du procédé est inférieure à 800 µg STX eq/kg.

Le kit Jellet Rapid Testing pour STX est un test immunologique compétitif dans lequel les toxines dans l'échantillon sont en concurrence avec la toxine fixée sur la ligne test de la bandelette. En l'absence de toxines dans l'échantillon, des particules d'or et leurs anticorps associés se lient à la toxine sur la ligne test et forment une ligne rouge visible (Laycock et al., 2010). La LD de la STX est de 250 µg STX 2HCl eq/kg. Certains congénères de la STX ont une réactivité croisée faible avec l'anticorps (GTX1,4: 3%; NEO: 21%; dcSTX: 40%) ce qui rend leur détection difficile et entraîne une sous-estimation du contenu toxinique.

Rawn et al. (2009) ont rapporté l'utilisation de la méthode SPR pour l'analyse des STX. Les LD (0,55 à 71,3 ng/mL) étaient supérieures à celles déterminées par HPLC (0,16 à 1,29 ng/mL). En outre, les analyses SPR ont généralement donné des niveaux en STX plus élevés que ceux obtenus par HPLC ainsi que des faux positifs et faux négatifs.

## Bioassais

Un bioessai sur souris (BES) a été développé par Sommer et Meyer (1937) pour l'analyse des toxines du groupe de la STX. Ce BES devenu méthode officielle de l'AOAC (réf. AOAC method 959.08) est pour l'instant la méthode de référence au niveau européen pour l'analyse des mollusques (règlements (CE) N°2074/2005 et N°1664/2006). Ce test quantitatif a une limite de détection de 370 µg équivalent STX/Kg de chair. Il a été utilisé pour l'analyse de cyanobactéries *Cylindrospermopsis raciborskii*, productrices de toxines du groupe de la STX.

Des cultures de cladocères *Daphnia pulex* Leydig et *Moina micrura* Kurs sont utilisées dans le cadre du test conçu pour détecter l'immobilisation des cladocères exposés aux STX en se nourrissant de cyanobactéries toxiques (Ferrão-Filho et al., 2010). Les STX paralysent les muscles de la seconde antenne, qui est responsable des mouvements de natation des animaux. Le nombre de cladocères actifs, immobiles ou morts est comptabilisé. Le niveau de sensibilité du bioessai avec *D. pulex* est de l'ordre de 0,3 à 10,0 ng STX eq/L et dans la gamme de 2,7 à 10,7 ng STX eq/L pour *M. micrura*.

Un bioessai sur cafard moucheté peut être utilisé pour détecter les STX (Ruebhart et al., 2011). Les animaux de l'espèce *Nauphoeta cinerea* Olivier ont été utilisés pour ce bioessai. Avant l'injection, les cafards sont anesthésiés en induisant un état de torpeur (coma froid). La solution est ensuite injectée dans l'hémocèle abdominale de 10 animaux. Le critère de fin évalué dans ce bioessai est le "knock down" (KD) (animaux incapables de se remettre dans une posture normale lorsque retournés). La valeur KD50, à savoir la dose qui affecte 50% des animaux testés, est de 31,2 ng/g de poids corporel à 60 min.

## Tests cellulaires

Un biocapteur à impédance utilisant des cardiomyocytes a été développé par Wang et al. (2015) ; ce test utilise des cardiomyocytes de rats Sprague-Dawley (SD) et un capteur d'impédance pour suivre les battements des cardiomyocytes. La STX n'a aucun effet sur l'amplitude de battement des cardiomyocytes mais inhibe la fréquence des battements. L'inhibition de la fréquence des battements par la STX est temps et concentration-dépendante. La LD rapportée est de 0,087 ng/ml pour la STX.

Le principe du test de ligand-récepteur (RBA) est la compétition entre la STX marquée ( $[^3\text{H}]$ STX) et la STX non marquée présente sous forme d'étalon ou dans l'échantillon, pour la liaison à un canal sodium voltage dépendant présent dans la membrane de cerveau de rat (Van Dolah et al., 2009).

La LQ rapportée par ces auteurs est de 53 µg STX équivalents/kg de coquillages. Le rendement de récupération de la STX dans des moules dopées est en moyenne de 121%. Les deux procédés d'extraction utilisés (HCl 0,1 M et acide acétique à 1%) ont montré une corrélation entre les résultats obtenus, sachant que la méthode d'extraction à l'HCl donne des valeurs de toxicité légèrement plus élevées. Les résultats du RBA et de l'HPLC sont également bien corrélés avec toutefois des résultats un peu plus élevés pour le RBA, quelle que soit la méthode d'extraction.

# 7 Ciguatoxines

## 7.1 Traitement de l'échantillon

### Extraction

Différentes conditions ont été utilisées pour l'extraction de CTX de la chair de poisson. Certains protocoles comprennent un traitement thermique à 60-70°C de la matrice avant l'extraction (Caillaud et al., 2012; Lewis et al., 2009; Stewart et al., 2010; Wong et al., 2014).

Wu et al (2011) ont validé un protocole d'extraction accélérée par solvant (ASE) appliqué aux poissons des récifs coralliens pour extraire les CTX. Les toxines ont été extraites avec du MeOH dans des conditions de pression et de chaleur (1500 psi, 75°C) et l'extrait final est dans 50% de MeOH aqueux.

Les solvants ou mélanges de solvants utilisés pour l'extraction des CTX de la chair de poissons sont l'acetone (Abraham et al., 2012; Caillaud et al., 2012; Oshiro et al., 2010), le MeOH (Epelboin et al., 2014) ou MeOH : n-hexane (3:1, v/v) (Lewis et al., 2009; Stewart et al., 2010; Wong et al., 2014).

### Purification

Des étapes de purification ne sont pas nécessairement requises pour l'analyse des matrices étudiées; deux types de procédures de purification ont été signalées : le partitionnement liquide-liquide et la SPE.

Des étapes de partition liquide-liquide utilisant du n-hexane et de l'éther diéthylique ont été utilisées pour éliminer les interférences lipophiles et extraire les toxines d'intérêt, à partir d'extraits de poissons (Abraham et al., 2012; Caillaud et al., 2012; Epelboin et al., 2014; Oshiro et al., 2010).

Concernant la purification en SPE, des cartouches C18 et silice (Si) ont été utilisées seules ou en combinaison sur des extraits de différentes natures : chair de poissons (Abraham et al., 2012; Lewis et al., 2009; Stewart et al., 2010; Wong et al., 2014; Wu et al., 2011) ; échantillons de sang de poissons coralliens (Mak et al., 2013).

## **7.2 Méthodes de détection**

### Méthodes chimiques

La LC-MS/MS est une technique très couramment utilisée pour l'analyse des CTX dans différentes matrices dont les poissons (Abraham et al., 2012; Lewis et al., 2009; Mak et al., 2013; Oshiro et al., 2010; Wong et al., 2014; Wu et al., 2011).

Les toxines sont séparées sur colonnes en phase inverse (C6, C8, C18) de différentes caractéristiques avec des phases mobiles composées d'eau, d'ACN, d'acide formique et parfois de formate d'ammonium, avec une élution en mode gradient. Toutefois, la séparation peut également avoir lieu en mode isocratique, comme l'ont montré Oshiro et al (2010) avec une phase mobile composée d'eau, de MeOH et d'acide formique.

Les CTX sont détectées en mode d'ionisation positif. L'ion précurseur suivi peut être l'ion pseudo moléculaire MH<sup>+</sup> ou sous forme d'un adduit NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ou Na<sup>+</sup>, ce dernier étant moins souvent rapporté. Les ions fragments généralement suivis correspondent à la perte successive de molécules d'eau. L'adduit peut également être perdu lors du processus de fragmentation.

### Méthodes biologiques

#### *Méthodes immunologiques*

Zhang et al. (2015) ont mis au point un test immunologique à base de peroxydase de raifort et d'anticorps couplés à des nanoparticules d'or, ce dispositif étant lui-même couplé à une électrophorèse capillaire (CE), avec une détection électrochimique (EC). Cette technique est un procédé chimique et biologique hybride. La limite de détection pour la CTX-1B en utilisant l'analyse immunologique CE-EC (0,045 ng/mL) est beaucoup plus faible que celle de la LC-MS utilisée pour la comparaison (1,72 ng/ml). De bons rendements de récupération (89,4 à 107,5%) ont été obtenus pour l'analyse d'échantillons de poissons dopés avec de la CTX-1B.

Tsumuraya et al. (2010; 2014) ont mis au point un test ELISA sandwich utilisant deux anticorps monoclonaux (mAb) anti CTX préparés à partir d'haptènes synthétiques plutôt que de toxines naturelles. Ces mAb se lient de manière spécifique à l'une des deux ailes des CTXS. Selon les

mAb utilisés, cet ELISA permet de détecter les 51-hydroxy CTX3C, CTX1B et CTX3C d'une manière dose-dépendante à moins de 0,01, 0,28 et 0,8 ng/ml, respectivement. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec d'autres toxines telles que brevéttoxines, maïtotoxine et acide okadaïque.

### *Bioassais*

Le bioessai sur souris (BES) a été utilisé pour l'analyse de chair de poissons (Epelboin et al., 2014; Oshiro et al., 2010). Des différences ont été observées entre les résultats du BES et de la LC-MS/MS ; cela pourrait être dû au fait que davantage d'analogues des CTX sont détectés par le BES et pas par la LC-MS /MS en raison du manque d'étalons (Oshiro et al., 2010).

### *Tests cellulaires*

Le test de cytotoxicité Neuro-2a a été utilisé pour l'analyse de chair de poissons (Abraham et al., 2012; Caillaud et al., 2012; Wu et al., 2011). La LQ de ce test est estimée à 0,32 ng/kg d'équivalents tissus (Bottein et al., 2011) et les résultats concordent avec ceux de la LC-MS/MS (Wu et al., 2011).

Une autre lignée cellulaire peut être utilisée pour la détection des CTX ; il s'agit de cellules hybrides neuroblastome x gliome NG108-15 (Cañete & Diogène, 2010). Dans les conditions de test, une EC50 de 0.006 nM a été rapportée pour un étalon de P-CTX-1.

## **8 Palytoxines**

### **8.1 Traitement de l'échantillon**

#### Extraction

La palytoxine (PLTX) et ses analogues (ovatoxines [OVTX], ostreocine-D [OST-D]) ont été extraits d'une grande variété d'organismes marins : poissons, mollusques, échinodermes, gastéropodes, crustacées, céphalopodes (Amzil et al., 2012; Biré et al., 2013; Brissard et al., 2014; Ciminiello et al., 2011; Suzuki et al., 2013).

Les toxines sont extraites des différentes matrices avec du MeOH en concentrations variables allant de 50% (eau:MeOH; 1:1, v/v) à 100% (Amzil et al., 2012; Biré et al., 2013; Brissard et al., 2014; Ciminiello et al., 2015; Selwood et al., 2012; Suzuki et al., 2013). Amzil et al. (2012) ont testé différentes concentrations en MeOH et les meilleurs rendements d'extraction ont été obtenus avec 90% de MeOH aqueux. Ciminiello et al. (2011) ont également testé différents types de solvants dont le MeOH, l'acétone et l'ACN, et ont rapporté que les meilleurs résultats en termes de rendement de récupération et effets matrices ont été obtenus pour 80% de MeOH.

#### Purification

Le procédé de partition liquide-liquide a été utilisé pour la purification d'extraits contaminés en PLTX. Les solvants utilisés sont le dichloromethane (Ciminiello et al., 2011), l'hexane et le chloroforme (Suzuki et al., 2013).

La SPE a également été utilisée comme étape de purification avant analyse des extraits. Différents types de cartouches ont été testés : cartouches en phase inverse (Strata-X (Biré et al., 2013; Ciminiello et al., 2015; Selwood et al., 2012), Oasis HLB LP (Ciminiello et al., 2015)) et cartouches HILIC (PolyLC (Ciminiello et al., 2015)). Ciminiello et al. (2015) ont comparé ces différents types de cartouches et identifié la Strata-X 500 mg comme celle ayant les meilleures performances.

Selwood et al. (2012) ont introduit une étape d'oxydation miniaturisée dans le procédé de traitement des échantillons. Le processus d'oxydation est réalisé en passant une solution d'acide

périodique à travers la cartouche SPE retenant les toxines piégées ; les produits d'oxydation sont ensuite élués de la cartouche et analysés par LC-MS/MS.

## 8.2 Méthodes de détection

### Méthodes chimiques

La LC-MS/MS a été utilisée pour l'analyse de la PLTX et de ses analogues dans une grande variété d'organismes marins dont les poissons, mollusques, échinodermes, gastéropodes, crustacées, et céphalopodes.

Les toxines sont généralement séparées sur des colonnes en phase inverse de différentes caractéristiques mais Rossi et al. (2010) ont utilisé une colonne HILIC à la place. Les phases mobiles sont composées d'eau et d'ACN, acidifiés avec de l'acide formique ou de l'acide acétique ; elles peuvent parfois contenir du formate d'ammonium. La séparation des toxines se fait en mode gradient d'élution.

En LC-MS/MS les toxines sont détectées en mode positif. La PLTX et ses analogues peuvent être multi-chargées, par conséquent l'ion précurseur suivi peut être de différentes formes :  $[M+H]^+$ ,  $[M+2H]^{2+}$  ou  $[M+3H]^{3+}$ . En ce qui concerne la présence d'éventuels adduits, Ciminiello et al. (2015) ont rapporté que dans leurs conditions analytiques l'adduit calcium  $[M+H+Ca]^{3+}$  est l'ion précurseur le plus intense.

### Méthodes biologiques

#### *Méthodes immunologiques*

Boscolo et al. (2013) ont développé un test ELISA sandwich indirect pour l'analyse de la PLTX. Trois types d'anticorps sont utilisés : (i) un mAb-PLTX pour piéger l'antigène, la PLTX (mAb immobilisé dans les puits de la plaque 96 puits), (ii) un anticorps polyclonal anti-PLTX (pAb-PLTX) utilisé comme réactif de détection et (iii) un pAb dirigé contre le pAb-PLTX et conjugué à la HRP. La présence de PLTX dans l'extrait est évaluée par l'apparition d'un produit coloré formé sous l'action de la HRP sur le substrat liquide, le 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine. L'absorbance est lue à 450 nm. Cet ELISA sandwich a une LQ de 11 µg PLTX/kg de chair de coquillages et ne réagit pas en présence d'autres toxines telles que l'acide okadaïque, l'acide domoïque, la STX, la brevététoxine-3, ou encore les yessotoxines.

#### *Test de cytotoxicité*

Le test Neuro-2a peut être utilisé pour l'analyse d'échantillons contaminés en PLTX (Ledreux et al., 2009). La spécificité de détection de la PLTX par le test Neuro-2a est accrue en utilisant de l'ouabaïne, un composé qui agit également sur la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase. L'analyse d'extraits de moules dopés avec de la PLTX a donné des résultats cohérents avec les niveaux de dopage en étalon, bien que l'EC50 soit plus élevée pour les extraits de moules que pour l'étalon.

Le potentiel hémolytique de la PLTX sur les globules rouges est exploité comme principe de base du test hémolytique. L'utilisation d'érythrocytes de souris ou de mouton dans le cadre du test de cytotoxicité a été rapportée, respectivement, par Biré et al. (2013) et Brissard et al. (2014). Le test hémolytique est plus sensible que la LC-MS/MS avec une LQ de 1,2 µg PLTX eq./kg (Biré et al., 2013), et comme pour le test Neuro-2a, l'ouabaïne est utilisée afin de confirmer la présence de PLTX et ainsi s'assurer que l'activité hémolytique n'est pas due à d'autres composés interférents. Ce test a été appliqué à une grande diversité d'organismes marins et les résultats concordent avec ceux de la LC-MS/MS (Biré et al., 2013).

Volpe et al. (2014) ont développé une autre approche reposant sur l'utilisation d'un capteur électrochimique pour mesurer le niveau de relargage de lactate déshydrogénase comme indicateur du potentiel hémolytique de la PLTX sur les érythrocytes de mouton.

### Test de fixation sur récepteur (RBA)

Alfonso et al. (2014) ont développé un test sur biocapteur SPR dont le principe de fonctionnement est basé sur l'interaction de la PLTX et l'ouabaine avec la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase de rein canin.

## 9 Lipopolysaccharides (LPS)

### 9.1 Traitement de l'échantillon

Lindsay et al. (2009) ont testé et comparé quatre méthodes d'extraction des lipopolysaccharides (LPS) de cyanobactéries (*Microcystis sp.*, *Planktothrix sp.*, *Aphanizomenon sp.* et *Cylindrospermopsis raciborskii*) : l'extraction à base de mélange chaud de phénol/eau (HPW) (Westphal et al., 1952), deux procédures d'extraction à base de protéinase K (Eidhin & Mouton, 1993; Hitchcock & Brown, 1983) et un protocole d'extraction à l'EDTA (Darveau & Hancock, 1983). La méthode donnant les meilleurs résultats est celle d'Eidhin et al. (1993), basée sur l'utilisation de protéinase K et ribonucléase A pour l'extraction des endotoxines.

La procédure HPW est la plus couramment utilisée pour l'extraction des LPS et a été utilisée sur des échantillons de cyanobactéries (Bláhová et al., 2013; Keleti & Sykora, 1982; Mohamed, 2008; Papageorgiou et al., 2004; Weckesser et al., 1974). Cependant, en raison du potentiel toxique du phénol et des risques associés à son utilisation lors de la procédure HPW, d'autres mélanges de solvants lui sont préférés : mélange chaud de BuOH-eau ou de N,N'-diméthylformamide-eau (Mohamed, 2008; Papageorgiou et al., 2004). L'efficacité d'extraction de ces mélanges de solvants a été testée sur différentes souches de cyanobactéries et il est apparu que l'extractabilité est dépendante de la composition de la membrane cellulaire (Papageorgiou et al., 2004). Ces auteurs ont conclu qu'il n'est pas possible d'appliquer une méthode universelle pour l'extraction des endotoxines de cyanobactéries.

### 9.2 Méthodes de détection des LPS de cyanobactéries

#### Lysat d'amibocyte de limule (LAL)

La méthode de choix utilisée pour l'analyse des LPS est le test de lysat d'amibocytes de limule *Limulus polyphemus* (LAL). Différentes approches peuvent être utilisées pour la détection : le principe de gélification, basé sur la capacité des LPS à faire coaguler l'amibocyte de limule; ou la méthode chromogénique basée sur l'activation par les LPS d'une protéase qui catalyse le clivage d'un substrat chromogène, résultant en un produit coloré mesuré par fluorescence ou UV.

Le principe de gélification a été utilisé par Keleti et Sykora (1982) et Mohamed (2008).

L'approche chromogénique a été mise en application avec détection UV (Bláhová et al., 2013; Lindsay et al., 2009; Papageorgiou et al., 2004) ou par fluorescence, dans le cadre du système de détection des endotoxines PyroGene rFC (Bláhová et al., 2013).

#### Bioessai sur souris

Keleti & Sykora (1982) ont rapporté avoir utilisé un BES pour évaluer l'effet létal d'endotoxine purifiée administrée par voie intrapéritonéale à des souris femelles Swiss-Webster de 20g.

## Annexe 3 : Grilles de lecture des articles relatifs à la contamination des poissons par les microcystines

Le cartouche en haut de chaque grille concernant :

$C_{\text{contam}}$ ,  $C_{\text{depur}}$ ,  $R_{\text{eau}}$

indique si des informations sont disponibles

$C_{\text{contam}}$  : la cinétique d'accumulation des MC chez les poissons

$C_{\text{depur}}$  : la cinétique de dépuraction des MC chez les poissons

$R_{\text{eau}}$  : la relation entre la concentration en MC dans les tissus des poissons et celle dans l'eau.

### Articles éligibles

$R_{\text{eau}}$

<b>Référence</b>	Amé et al. (2010) Microcystin-LR, -RR, -YR and -LA in water samples and fishes from a shallow lake in Argentina. Harmful Algae 9(1): 66-73.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac argentin et du lien avec les concentrations en microcystines dans l'eau
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Argentine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Odontesthes bonariensis</i> : pejerrey <sup>4</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI (introduit en Europe)
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	20 poissons d'un poids moyen de 58 g ont été prélevés dans le lac Los Padres (station 1) en 2007 au cours de la saison sèche (juillet/août) et de la saison humide (novembre/décembre).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS-MS MC libres uniquement : MC-LR, RR, YR et LA
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 LD = 0,5 µg/kg de poids frais dans le muscle, 0,15 µg/kg dans le foie LQ = 1,5 µg/kg dans le muscle, 0,45 µg/kg dans le foie Rendement > 80% pour les 4 variants de MC
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau d'au moins 1 L (en triplicat) en surface ont été réalisés sur 2 stations pour la mesure de MC intra et extracellulaires, la somme des 2 donnant la concentration en MC totales.
<b>Résultats</b>	Dans l'eau de la station 1, la concentration en MC totales était de 0,43 ± 0,32 µg/L en saison humide et 0,22 ± 0,05 µg/L en saison sèche. Dans le muscle, la concentration en MC était de 2,2 ± 1,3 µg/kg pf en saison humide et de 4,9 ± 2,0 µg/kg pf en saison sèche (valeur max = 8,0 µg/kg pf). Dans le foie, la concentration en MC était de 67,3 ± 18,3 µg/kg pf en saison humide et < LD en saison sèche. Une analyse statistique de corrélation (Pearson) a montré une <b>corrélation entre la concentration en MC dans l'eau (totales ou dissoutes) et celle dans le foie des poissons. En revanche, pas de corrélation pour le muscle (ni avec l'eau ni avec le foie).</b> Dominance de MC-RR dans l'eau et dans le muscle. Les profils en MC dans le muscle et le foie sont différents selon la saison. <b>Les auteurs signalent des modifications temporelles et spatiales des profils en MC et recommandent la mise en place d'un programme de surveillance intensive dans le lac.</b>

<sup>4</sup>[http://fishbase.mnhn.fr/country/CountrySpeciesSummary.php?id=4678&c\\_code=032](http://fishbase.mnhn.fr/country/CountrySpeciesSummary.php?id=4678&c_code=032) ;

[https://www.fws.gov/injuriouswildlife/pdf\\_files/Odontesthes\\_bonariensis\\_WEB-7-14-2014.pdf](https://www.fws.gov/injuriouswildlife/pdf_files/Odontesthes_bonariensis_WEB-7-14-2014.pdf)

**Table 1**  
Water quality parameters, total MC, MC-LR, -RR, -LA and -YR concentrations in water from Los Padres Lake, evaluated during both dry and wet season of 2007.

Parameter	Station 1			Station 2		
	Wet	Dry	Average	Wet	Dry	Average
DO (mgL <sup>-1</sup> )	8.94 ± 0.23	8.48 ± 0.15	8.81 ± 0.30	15.40 ± 0.00	14.26 ± 1.24	14.69 ± 1.12
Nitrites (mgL <sup>-1</sup> )	0.070 ± 0.004	0.056 ± 0.002	0.067 ± 0.007	0.082 ± 0.004	0.049 ± 0.003	0.062 ± 0.017
pH	9.03 ± 0.13	8.80 ± 0.00	8.97 ± 0.15	8.27 ± 0.10	9.24 ± 0.05	8.88 ± 0.49
Phosphates (mg L <sup>-1</sup> )	0.029 ± 0.005	0.031 ± 0.001	0.029 ± 0.004	0.037 ± 0.000	0.039 ± 0.000	0.038 ± 0.001
Total MC (µg L <sup>-1</sup> )	0.43 ± 0.32	0.22 ± 0.05	0.37 ± 0.29	0.23 ± 0.01	14.96 ± 0.72	7.60 ± 8.08
MC-LR (µg L <sup>-1</sup> )	0.01 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.03 ± 0.03	0.00 ± 0.01	0.32 ± 0.09	0.16 ± 0.18
MC-RR (µg L <sup>-1</sup> )	0.39 ± 0.32	0.00 ± 0.00	0.29 ± 0.33	0.21 ± 0.02	12.37 ± 1.16	6.29 ± 6.70
MC-LA (µg L <sup>-1</sup> )	0.02 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.04 ± 0.04	0.02 ± 0.01	2.14 ± 0.85	1.08 ± 1.28
MC-YR (µg L <sup>-1</sup> )	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.01	0.13 ± 0.00	0.07 ± 0.07

**Table 2**  
MC concentration in liver and muscle of *O. bonariensis* collected in station 1, Los Padres Lake, during both dry and wet season of 2007.

	Concentration of microcystin (µg kg <sup>-1</sup> fresh weight)					
	Liver			Muscle		
	Wet	Dry	Average	Wet	Dry	Average
MC-LR	2.4 ± 0.9	<LOD	1.2 ± 1.4	<LOQ	1.0 ± 1.0	0.7 ± 0.9
MC-RR	49.2 ± 15.8	<LOD	24.6 ± 27.8	1.6 ± 1.	3.0 ± 2.6	2.5 ± 2.2
MC-LA	13.7 ± 1.6	<LOD	6.9 ± 7.3	0.5 ± 0.3	0.8 ± 0.8	0.7 ± 0.6
MC-YR	1.9 ± 0.7	<LOD	0.9 ± 1.1	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Total MC	67.3 ± 18.3	<LOD	33.6 ± 37.2	2.2 ± 1.3	4.9 ± 2.0	3.9 ± 2.2

<LOD, below detection limit; <LOQ, below quantification limit.

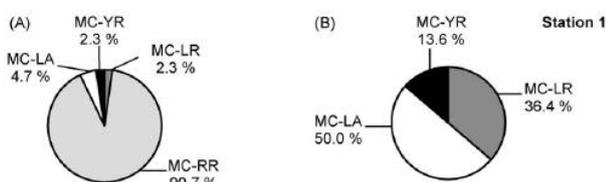


Fig. 1. Relative distribution of MC-LR, -RR, -LA and -YR in water samples from Los Padres Lake sorted by station and season: (A) wet season, (B) dry season.

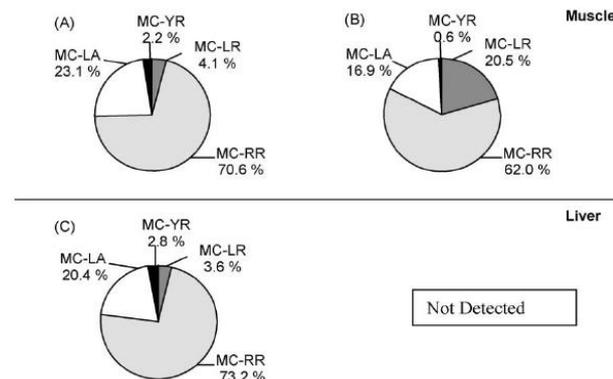


Fig. 2. Relative distribution of MC-LR, -RR, -LA and -YR in liver and muscle of *O. bonariensis* from Los Padres Lake separated by season: (A) muscle, wet season; (B) muscle, dry season; (C) liver, wet season.

<b>Conclusion</b>	<p><b>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans l'eau (totales ou dissoutes) et celle dans le muscle.</b></p> <p>Pas de corrélation entre le muscle et le foie.</p> <p>Corrélation entre la concentration en MC dans l'eau (totales ou dissoutes) et celle dans le foie.</p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>contam</sub>

<b>Référence</b>	Bieczynski et al. (2013) Accumulation and biochemical effects of microcystin-LR on the Patagonian pejerrey ( <i>Odontesthes hatcheri</i> ) fed with the toxic cyanobacteria <i>Microcystis aeruginosa</i> . Fish Physiology and Biochemistry 39(5): 1309-1321.
<b>Objectifs</b>	Etude de cinétique de la décontamination d'une espèce de poisson
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Argentine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Odontesthes hatcheri</i> pas de nom commun <sup>5</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<p><u>Expérience 1</u> : 3 poissons (13 g) ont été nourris avec des cellules intactes de <i>Microcystis aeruginosa</i> (culture produisant uniquement de la MC-LR) et 3 autres poissons avec des cellules éclatées. Les cellules ont été mélangées à la nourriture pour poissons pour correspondre à la dose de 1,3 µg MC-LR/kg pc. Les poissons ont été sacrifiés 12h après l'exposition.</p> <p><u>Expérience 2</u> : 90 poissons ont été répartis en 3 groupes : 1) nourris avec la nourriture pour poissons, 2) nourris avec la nourriture pour poissons + des cellules non toxiques éclatées de <i>M. aeruginosa</i>, 3) nourris avec la nourriture pour poissons + des cellules toxiques éclatées de <i>M. aeruginosa</i> à la dose de 1,3 µg MC-LR/kg pc ; 6 poissons ont été sacrifiés à 6, 12, 24 et 48h après l'exposition.</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, intestin
<b>Voie d'exposition</b>	Orale,
<b>Méthode d'analyse</b>	GC-MS et inhibition de la protéine phosphatase (PPIA) Oxydation de Lemieux et GC/MS pour les <b>MC totales (libres + liées)</b>
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ). Rendement d'extraction = 67,25 ± 26% (Lemieux GC/MS), 72 ± 6% (PPIA)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié, 1 seule dose testée.
<b>Résultats</b>	<p><u>Expérience 1</u> :</p> <p>La concentration en MC totales (oxydation de Lemieux) dans le foie des poissons était de 334 ± 34 µg MC/kg chez ceux ayant consommé des cellules intactes de <i>M. aeruginosa</i> et de 349 ± 1394 µg MC/kg chez ceux ayant consommé des cellules éclatées. Cela montre que les poissons sont capables de digérer les cellules de <i>M. aeruginosa</i>.</p> <p><u>Expérience 2</u> :</p> <p>Les foies ont été analysés par PPIA (MC-LReq libres) et par oxydation de Lemieux et GC-MS (MC totales). <b>Les profils de cinétique d'accumulation sont différents selon la méthode d'analyse.</b></p> <p>Par PPIA, la concentration diminue entre 3h et 6h après l'exposition puis elle remonte à 12h et 24h (où elle atteint son pic à <b>5,95 µg MC-LReq/kg</b>) et diminue à 48h (2,62 µg MC-LReq/kg).</p> <p>Par GC-MS, la concentration augmente entre 3h et 6h après l'exposition (où elle atteint son pic à <b>9400 µgMCtot/kg</b>) puis diminue à 12h, 24h et 48h (75 µg MCtot/kg).</p> <p>Les auteurs concluent que <b>66% à presque 100% des MC dans le foie sont sous forme liée.</b></p> <p>Les résultats suggèrent que les MC liées aux protéines sont dégradées ou excrétées puisque les concentrations diminuent avec le temps.</p>

<sup>5</sup> <http://www.fishbase.org/summary/50822>

	<p>Pas de mortalité de poissons.</p> <p><b>Table 1</b> MCLR accumulated in <i>O. hatcheri</i> liver and intestine, measured by Lemieux oxidation-GC/MS and Protein phosphatase inhibition assay</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Sample</th> <th colspan="2">Pellet-GC/MS</th> <th colspan="2">Supernatant-GC/MS</th> <th colspan="2">Supernatant-PPIA</th> </tr> <tr> <th>ng MCLR/g tissue<sup>a</sup></th> <th>% Of dose detected</th> <th>ng MCLR/g tissue</th> <th>% Of dose detected</th> <th>ng MCLR/g tissue<sup>b</sup></th> <th>% Of dose detected</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Intestine 3 h</td> <td>22,881</td> <td>31.7</td> <td>–</td> <td>–</td> <td>13.63 ± 6</td> <td>0.019</td> </tr> <tr> <td>6 h</td> <td>4,658</td> <td>6.5</td> <td>105</td> <td>0.15</td> <td>5.47 ± 2</td> <td>0.008</td> </tr> <tr> <td>12 h</td> <td>3,385</td> <td>4.7</td> <td>79</td> <td>0.11</td> <td>12.55 ± 5</td> <td>0.017</td> </tr> <tr> <td>24 h</td> <td>710</td> <td>1.0</td> <td>–</td> <td>–</td> <td>7.50</td> <td>0.010</td> </tr> <tr> <td>48 h</td> <td>–</td> <td>–</td> <td>84</td> <td>0.12</td> <td>4.90</td> <td>0.007</td> </tr> <tr> <td>Liver 3 h</td> <td>1,943</td> <td>2.2</td> <td>1,021</td> <td>1.18</td> <td>3.3</td> <td>0.004</td> </tr> <tr> <td>6 h</td> <td>9,400</td> <td>10.9</td> <td>186</td> <td>0.21</td> <td>1.3</td> <td>0.002</td> </tr> <tr> <td>12 h</td> <td>1,284</td> <td>1.5</td> <td>107</td> <td>0.12</td> <td>2.62 ± 1</td> <td>0.003</td> </tr> <tr> <td>24 h</td> <td>384</td> <td>0.4</td> <td>66</td> <td>0.08</td> <td>5.95 ± 5</td> <td>0.007</td> </tr> <tr> <td>48 h</td> <td>75</td> <td>0.1</td> <td>–</td> <td>–</td> <td>2.62 ± 1</td> <td>0.003</td> </tr> </tbody> </table> <p>A dash indicates points were MCLR could not be detected  <sup>a</sup> Values correspond to pools of 3 individuals  <sup>b</sup> Values are mean ± SE obtained from 3 individuals</p>	Sample	Pellet-GC/MS		Supernatant-GC/MS		Supernatant-PPIA		ng MCLR/g tissue <sup>a</sup>	% Of dose detected	ng MCLR/g tissue	% Of dose detected	ng MCLR/g tissue <sup>b</sup>	% Of dose detected	Intestine 3 h	22,881	31.7	–	–	13.63 ± 6	0.019	6 h	4,658	6.5	105	0.15	5.47 ± 2	0.008	12 h	3,385	4.7	79	0.11	12.55 ± 5	0.017	24 h	710	1.0	–	–	7.50	0.010	48 h	–	–	84	0.12	4.90	0.007	Liver 3 h	1,943	2.2	1,021	1.18	3.3	0.004	6 h	9,400	10.9	186	0.21	1.3	0.002	12 h	1,284	1.5	107	0.12	2.62 ± 1	0.003	24 h	384	0.4	66	0.08	5.95 ± 5	0.007	48 h	75	0.1	–	–	2.62 ± 1	0.003
Sample	Pellet-GC/MS		Supernatant-GC/MS		Supernatant-PPIA																																																																															
	ng MCLR/g tissue <sup>a</sup>	% Of dose detected	ng MCLR/g tissue	% Of dose detected	ng MCLR/g tissue <sup>b</sup>	% Of dose detected																																																																														
Intestine 3 h	22,881	31.7	–	–	13.63 ± 6	0.019																																																																														
6 h	4,658	6.5	105	0.15	5.47 ± 2	0.008																																																																														
12 h	3,385	4.7	79	0.11	12.55 ± 5	0.017																																																																														
24 h	710	1.0	–	–	7.50	0.010																																																																														
48 h	–	–	84	0.12	4.90	0.007																																																																														
Liver 3 h	1,943	2.2	1,021	1.18	3.3	0.004																																																																														
6 h	9,400	10.9	186	0.21	1.3	0.002																																																																														
12 h	1,284	1.5	107	0.12	2.62 ± 1	0.003																																																																														
24 h	384	0.4	66	0.08	5.95 ± 5	0.007																																																																														
48 h	75	0.1	–	–	2.62 ± 1	0.003																																																																														
<b>Conclusion</b>	<p><b>La proportion de MC-LR sous forme liée représente de 66% à presque 100% de la concentration totale en MC dans l'intestin et le foie.</b></p> <p><b>Relation non-linéaire entre la concentration dans le foie et la durée d'exposition que ce soit pour les MC libres ou pour les MC totales</b></p>																																																																																			
<b>Qualité de l'étude</b>	Très bonne																																																																																			
<b>Commentaires</b>																																																																																				
<b>Informations complémentaires</b>																																																																																				

C<sub>contam</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Cazenave et al. (2005 <i>erratum</i> 2006) Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in <i>Corydoras paleatus</i> , <i>Jenynsia multidentata</i> and <i>Odontesthes bonariensis</i> : A field and laboratory study. <i>Aquatic Toxicology</i> 75(2): 178-190.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un réservoir et en laboratoire
<b>Type d'étude</b>	Environnemental et en laboratoire
<b>Pays</b>	Argentine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Corydoras paleatus</i> corydoras poivré <sup>6</sup> <i>Jenynsia multidentata</i> pas de nom commun <sup>7</sup> <i>Odontesthes bonariensis</i> pejerrey <sup>8</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON (sauf pour le pejerrey introduit en Europe)
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<u>Laboratoire :</u> 10 <i>J. multidentata</i> et 10 <i>C. paleatus</i> prélevés dans un site non contaminé par MC ont été exposés 24h dans une eau à 50 µg MC-RR/L sous forme dissoute (MC-RR synthétique). Les poissons étaient répartis en 2 groupes de 5 individus, ils ont été mis à jeun 24h avant l'exposition et n'ont pas été nourris pendant l'exposition. Un groupe témoin de chaque espèce comportait 5 individus. Les poids moyens étaient respectivement de 1,9 et 1,5 g. Les tissus ont été analysés par pool.  <u>In situ :</u> 30 <i>O. bonariensis</i> (poids moyen 61 g) ont été prélevés en 2004 à 2 saisons (sèche et humide) dans un réservoir (San Roque) avec une haute incidence d'efflorescence de cyanobactéries. Les tissus ont été analysés par pool de 5 individus, il y avait 3 pools pour la saison sèche et 3 pools pour la saison humide.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, cerveau, branchies, vésicule biliaire, sang
<b>Voie d'exposition</b>	Orale ou milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-UV et LC/TOF-MS (MC-LR) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2. <i>J. multidentata</i> et <i>C. paleatus</i> LD muscle = 11 µg MC-RR/kg de poids frais, LQ = 34 µg/kg. LD foie = 400 µg/kg et LQ = 1200 µg/kg <i>O. bonariensis</i> LD muscle = 1,6 µg MC-RR/kg de poids frais, LQ = 4,8 µg/kg. LD foie = 16 µg/kg et LQ = 48 µg/kg. Rendement d'extraction > 80%.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau et d'efflorescence de cyanobactéries ont été réalisés au cours des 2 saisons en 2004 pour la mesure des MC-RR extra et intracellulaire par HPLC-UV.
<b>Résultats</b>	<u>Laboratoire :</u> Dans le muscle, la concentration moyenne de MC-RR était plus élevée chez <i>J. multidentata</i> que chez <i>C. paleatus</i> avec des valeurs respectivement de 110 ± 40 µg/kg pf et 40 ± 180 µg/kg pf.  Dans le foie, c'est l'inverse, la concentration moyenne était de 1620 ± 730 µg/kg pf chez <i>J. multidentata</i> et de 19630 ± 10010 µg/kg pf chez <i>C. paleatus</i> .  <b>Les résultats montrent donc une différence d'accumulation de la MC-RR dans le muscle et le foie ainsi que dans le ratio muscle/foie selon</b>

<sup>6</sup> <http://www.fishbase.org/summary/Corydoras-paleatus.html>

<sup>7</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Jenynsia-multidentata.html>

<sup>8</sup> [http://fishbase.mnhn.fr/country/CountrySpeciesSummary.php?id=4678&c\\_code=032](http://fishbase.mnhn.fr/country/CountrySpeciesSummary.php?id=4678&c_code=032) ;  
[https://www.fws.gov/injuriouswildlife/pdf\\_files/Odontesthes\\_bonariensis\\_WEB-7-14-2014.pdf](https://www.fws.gov/injuriouswildlife/pdf_files/Odontesthes_bonariensis_WEB-7-14-2014.pdf)

**les espèces.**

*In situ :*

Dans l'eau, la concentration moyenne en MC-RR intracellulaire a varié entre 9650 µg/kg de poids sec durant la saison sèche et 41590 µg/kg de poids sec durant la saison humide. En revanche, la concentration en MC-RR extracellulaire est toujours restée < LQ (valeur non précisée).

Dans le muscle d'*O. bonariensis* la concentration moyenne en MC-RR a varié entre 10 ± 10 µg/kg pf durant la saison sèche et 130 ± 180 µg/kg pf durant la saison humide.

Dans le foie, les concentrations étaient respectivement de 50 ± 50 et 380 ± 550 µg/kg pf.

**La concentration en MC-RR dans le muscle et le foie des poissons suit donc l'augmentation de MC-RR intracellulaire dans l'eau.**

Table 1. Presence of MC-RR in different tissues experimentally exposed to dissolved toxin (*J. multidentata* and *C. paleatus*) or naturally exposed to toxic cyanobacterial blooms (*O. bonariensis*)

Fish species	MC-RR in fish tissue (µg/g fw) (accumulation factor)				
	Liver	Gill	Brain	Muscle	Intestine
<i>J. multidentata</i>	1.62 ± 0.73 (32.4)	0.56 ± 0.15 (11.2)	Traces (<LOQ)	0.11 ± 0.04 (2.2)	<LOD
<i>C. paleatus</i>	19.63 ± 10.03 (392.6)	1.40 ± 0.50 (28.0)	<LOD	0.04 ± 0.01 (0.8)	2.09 ± 0.40 (41.8)
<i>O. bonariensis</i>	ds: 0.05 ± 0.05 ws: 0.38 ± 0.55 year: 0.16 ± 0.32 Min.: <LOD Max.: 1.01	ds: 0.02 ± 0.03 ws: 0.04 ± 0.05 year: 0.03 ± 0.03 Min.: <LOD Max.: 0.10	<LOD	ds: 0.01 ± 0.01 ws: 0.13 ± 0.18 av: 0.05 ± 0.11 Min.: <LOD Max.: 0.34	ds: cyan. cells ws: cyan. cells

Accumulation factor is given within parentheses

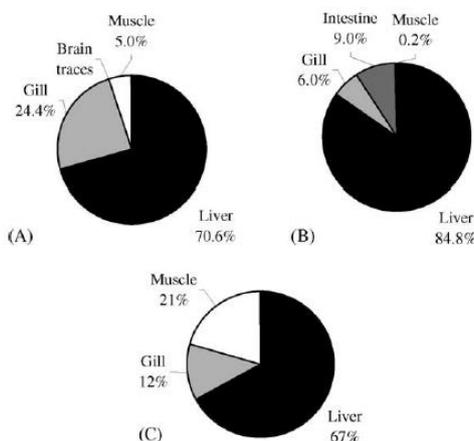
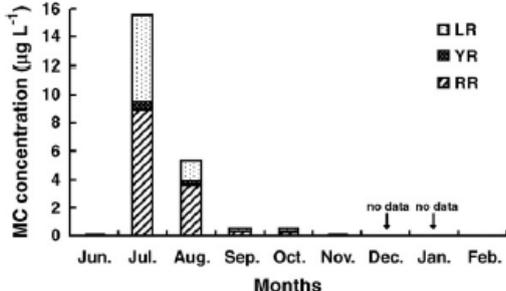


Fig. 1. Relative distribution of MC-RR in different tissues of fish: (A) *Jenynsia multidentata*, (B) *Corydoras paleatus* (C) *Odontesthes bonariensis*.

Les auteurs ont estimé l'exposition à la MC-RR par la consommation de 100g de muscle par un individu de 70 kg et ont conclu que cela conduirait à des dépassements de la DJT proposée par l'OMS pour la MC-LR.

<b>Conclusion</b>	<p><b>La concentration en MC-RR dans le muscle des poissons est plus élevée lorsque la concentration en MC-RR intracellulaire dans l'eau est plus élevée.</b></p> <p>Des concentrations importantes de MC-RR dans les muscles sont détectées dès 24h après le début de l'exposition.</p> <p><b>L'accumulation de la MC-RR dans le muscle et le foie est différente selon les espèces de poisson (non seulement sur la concentration mais aussi sur la répartition entre les 2 organes).</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	<b>Attention, l'étude ne s'est intéressée qu'à MC-RR pas aux autres variants de MC ce qui peut biaiser les conclusions pour la partie environnementale de l'étude.</b>
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Chen et al. (2006) <i>In situ</i> studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> ) stocked in Lake Taihu with dense toxic <i>Microcystis</i> blooms. <i>Aquaculture</i> 261(3): 1026-1038.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant un an
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	Hypophthalmichthys molitrix carpe argentée <sup>9</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des carpes ont été placées d'avril 2004 à mars 2005 dans de très larges filets dans la baie Meiliang du lac Taihu dans l'objectif de lutter contre les efflorescences de cyanobactéries. 5 carpes ont été prélevées chaque mois et les tissus ont été analysés par pool de 5.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, reins, branchies, rate, vésicule biliaire, sang
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (LR, YR, RR et leurs métabolites Cys et GSH). MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction de 78% pour MC RR et 81% pour MC LR
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau intégrés (surface et fond) ont été réalisés sur 2 sites à l'intérieur du filet chaque mois de juin 2004 à février 2005 pour la mesure de MC intracellulaires LC-MS.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, le pic de MC intracellulaires a été observé en juillet avec 15,58 µg/L (somme MC-LR, RR et YR). La concentration a rapidement diminué en août vers 5,5 µg/L puis est restée &lt; 1 µg/L le reste de l'année.</p>  <p>Fig. 2. Seasonal changes of intracellular MC-LR, -YR and -RR concentrations (µg/L) in the water column of the large net cage where silver carp were stocked. Each value was the mean of two sampling sites.</p> <p>Dans le muscle des carpes, l'augmentation progressive de la concentration en MC ne suit pas celle des MC dans l'eau. Dès juin, elle atteint 500 µg/kg de poids sec. Le pic est aussi en juillet avec 1244 µg/kg ps puis la concentration diminue très fortement en août à moins de 100 µg/kg ps alors que la concentration de MC dans l'eau est encore élevée. MC-RR était la forme dominante, suivie de MC-LR.</p> <p>Les auteurs suggèrent que les carpes mangent préférentiellement les colonies de <i>Microcystis</i> pour expliquer les résultats de juin.</p>

<sup>9</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

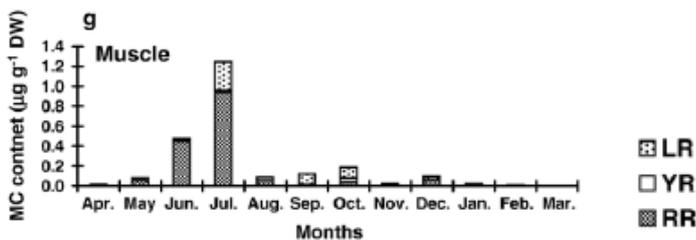


Fig. 5. The seasonal changes of MC-LR, -YR and -RR concentrations in muscle of silver carp collected from a large net cage in the Meiliang Bay of Lake Taihu detected by ESI LC/MS2. Each value represents a mean of five individuals.

Dans le foie, un 1<sup>er</sup> pic est observé en mai, un autre en juillet (pendant le pic d'efflorescence) suivi d'une rapide diminution en août et septembre et un 3<sup>ème</sup> pic survient en octobre. Comme pour le muscle, à l'exception de juillet, le profil d'accumulation ne semble pas corrélé à la concentration en MC dans l'eau. MC-RR était aussi la forme dominante.

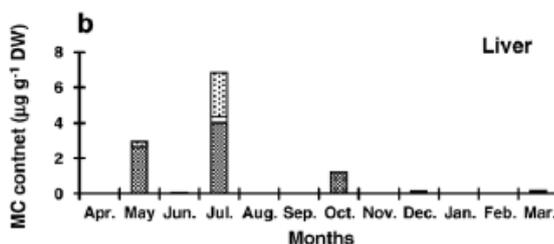


Fig. 5. The seasonal changes of MC-LR, -YR and -RR concentrations in liver

Les proportions entre les différents variants de MC sont variables en fonction de l'organe.

Les mesures ont aussi porté sur les métabolites LR-GSH; YR-GSH, RR-GSH; LR-Cys; YR-Cys et RR-Cys. Seule la MC-LR-Cys a été détectée dans des échantillons de rein et d'intestin.

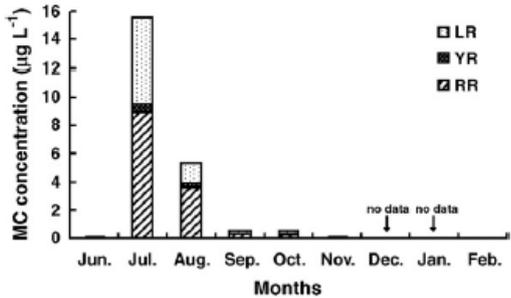
Par ailleurs, l'analyse de la première partie de l'intestin (fore gut) montre qu'il y a une ingestion proportionnelle à la concentration de MC dans l'eau. Mise en évidence aussi de l'excrétion des MC via le système biliaire.

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>En juillet, le pic de concentration en MC dans le muscle correspond au pic de concentration en MC intracellulaires dans l'eau mais en juin et août il n'y a pas de corrélation entre les 2 paramètres</b> (en juin, forte concentration dans le muscle mais pas de MC dans l'eau et en août, forte concentration dans l'eau et faible concentration dans le muscle).</p> <p>La concentration en MC dans le muscle diminue rapidement après le pic (dès le mois suivant) mais on observe un bruit de fond pendant plusieurs mois.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les échantillons d'eau n'ont été prélevés qu'une fois par mois ce qui peut ne pas être représentatif de la concentration en MC tout au long de ce mois. Il aurait été préférable de faire un prélèvement par semaine. Il aurait également été souhaitable de mesurer les MC extracellulaires.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe argentée est phytoplanctonivore. <i>Microcystis</i> représentait 84% de la biomasse de phytoplancton dans l'intestin de la carpe au mois d'août.</p>

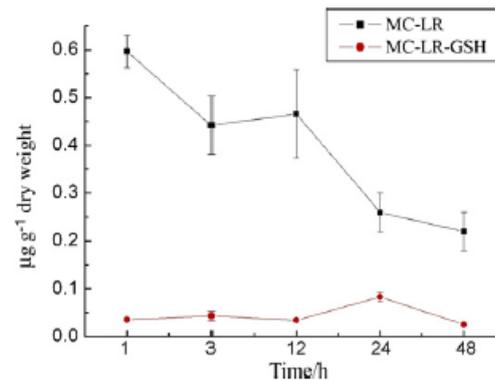
C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Chen et al. (2007) <i>In situ</i> studies on the distribution patterns and dynamics of microcystins in a biomanipulation fish - bighead carp ( <i>Aristichthys nobilis</i> ) Environmental Pollution 147(1): 150-157
<b>Objectifs</b>	Etude de contamination des poissons d'un lac pendant 1 an
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> carpe à grosse tête <sup>10</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des carpes ont été placées d'avril 2004 à mars 2005 dans de très larges filets dans la baie Meiliang du lac Taihu dans l'objectif de lutter contre les efflorescences de cyanobactéries. 20 carpes (poids moyen 264 g en avril à 2811 g en octobre) ont été prélevées chaque mois et les tissus ont été analysés par pool de 5.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, branchies, rate, reins, sang, vésicule biliaire
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-UV et LC-MS/MS (MC-RR, MC-LR et MC-YR et leurs métabolites Cys et GSH). MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 pour HPLC-UV (LD= 20 µg/kg de poids sec, LQ= 70 µg/kg de poids sec) 3 pour LC-MS/MS (pas LD ni LQ). Rendement d'extraction = 63% pour MC-RR et 71% pour MC-LR.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Pas étudié dans cet article mais il est possible d'utiliser les résultats de Chen et al. (2006).
<b>Résultats</b>	<p>Dans le muscle des carpes, un pic de concentration est observé en juillet (début d'augmentation en juin et rapide diminution en août). 2 autres petits pics sont observés en octobre et décembre.</p> <p>Fig. 5. Seasonal changes of MC concentrations in tissues of bighead carp collected from a large net cage in the Meiliang Bay of Lake Taihu detected by LC/MS</p> <p>Si l'on rapproche ces résultats de ceux de Chen et al. (2006) qui ont mesuré les MC intracellulaires dans l'eau du filet, on observe que le pic de concentration en MC dans le muscle correspond au pic de concentration en MC intracellulaires. En revanche, la concentration dans le muscle diminue très fortement en août alors que la concentration de MC dans l'eau est encore élevée. De plus, le petit pic de concentration dans le</p>

<sup>10</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67277/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67277/tab/rep/METROP)

	<p>muscle en octobre ne correspond pas à une concentration élevée dans l'eau.</p>  <p>Fig. 2. Seasonal changes of intracellular MC-LR, -YR and -RR concentrations (µg/L) in the water column of the large net cage where silver carp were stocked. Each value was the mean of two sampling sites.</p> <p>Dans le foie, un pic de concentration est observé en juillet (correspondant au pic de concentration dans l'eau). La diminution est plus lente que dans le muscle, elle se poursuit jusqu'en novembre. Pas de pic en décembre.</p> <p>Les mesures ont aussi porté sur les métabolites LR-GSH; YR-GSH, RR-GSH; LR-Cys; YR-Cys et RR-Cys. Seule la MC-LR-Cys a été détectée (fréquemment) dans des échantillons de rein.</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>En juillet, le pic de concentration en MC dans le muscle correspond au pic de concentration en MC intracellulaires dans l'eau mais en août et octobre il n'y a pas de corrélation entre les 2 paramètres</b> (août, forte concentration dans l'eau et faible concentration dans le muscle, en octobre pic de concentration dans le muscle et faible concentration dans l'eau).</p> <p>La concentration en MC dans le muscle diminue rapidement après le pic (dès le mois suivant) mais on observe des fluctuations les mois suivants sans lien avec les MC dans l'eau.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Dans Chen et al. (2006), les échantillons d'eau n'ont été prélevés qu'une fois par mois ce qui peut ne pas être représentatif de la concentration en MC tout au long de ce mois. Il aurait été préférable de faire un prélèvement par semaine. Il aurait également été souhaitable de mesurer les MC extracellulaires.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe à grosse tête est phytoplanctonivore.</p>

C<sub>depur</sub>

<b>Référence</b>	Dai et al. (2008). Simultaneous determination of microcystin-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. <i>Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences</i> 862(1-2): 43-50.
<b>Objectifs</b>	Développement d'une méthode dosage à la fois de MC-LR et de MC-LR-GSH avec une étude de cinétique de décontamination
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius auratus</i> carassin doré, poisson rouge mais les auteurs font référence à « crucian carp » qui correspond au carassin commun <i>Carassius carassius</i> il y a peut-être une erreur d'attribution du nom latin
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	15 carpes (poids moyen 265 g) provenant d'une pêcherie ont reçu une dose unique de 100 µg/kg pc de MC-LR synthétique par injection intrapéritonéale. 3 carpes ont été sacrifiées à 1, 3, 12, 24 et 48h post injection. Les carpes ont été mises à jeun 48h avant l'injection. Des poissons non traités ont été utilisés comme témoins.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, rein
<b>Voie d'exposition</b>	ip
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS (MC-LR et MC-LR-GSH). MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1 (méthode validée en interne). LD = 7 µg/kg de poids sec, LQ = 20 µg/kg de poids sec. Rendement d'extraction = 91 à 103% pour MC-LR et 65 à 75,7% pour MC-LR-GSH
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié, une seule dose testée.
<b>Résultats</b>	<p>Pas de MC-LR ni MC-LR-GSH détectées dans les poissons témoins.</p> <p>Dans le foie, la concentration maximale en MC-LR a été observée 1h après injection suivie d'une diminution à 3h et après un plateau à 12h une nouvelle diminution à 24 et 48h. La MC-LR-GSH ne représente qu'une faible concentration dont le pic est observé à 24h post injection, suivi d'une diminution à 48h.</p>  <p>Fig. 5. The mean (n = 3) liver concentration-time profiles for MC-LR and MC-LR-GSH after the intraperitoneal injection of single dose of MC-LR (100 µg MC-LR/kg bw) to crucian carps.</p>
<b>Conclusion</b>	Après injection ip de MC-LR, la concentration dans le foie diminue rapidement mais l'élimination n'est pas totale 48h post injection puisqu'il reste 35% de la concentration observée 1h post injection. La MC-LR-GSH ne représente qu'une faible concentration (moins de 10% de celle de MC-LR).
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Dong et al. (2009) Effects of dietary cyanobacteria of two different sources on growth and recovery of hybrid tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. aureus</i> ) <i>Toxicon</i> 54(3): 208-216
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination/décontamination
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	Hybride <i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i> tilapia OUI, <i>O. niloticus</i> en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>11</sup> NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des tilapias provenant d'une pêcherie (poids moyen initial 2,2 g) ont été répartis en 3 groupes : 1) témoin recevant une alimentation normale, 2) nourris avec un régime enrichi de cellules séchées de cyanobactéries provenant du lac Taihu (correspondant à une dose de 80 mgMC/kg de poids sec), 3) nourris avec un régime enrichi de cellules séchées de cyanobactéries provenant du lac Dianchi (correspondant à une dose de 410 mg MC/kg de poids sec). Après 60 jours d'exposition, tous les poissons ont reçu un régime sans cyanobactérie pendant 55 jours. Les aquariums comportaient 8 poissons, il y avait 2 aquarium/dose. 3 poissons de chaque aquarium ont été prélevés à 30, 60, 90 et 115 j. Les cyanobactéries du lac Taihu étaient composées de 50% de <i>Microcystis aeruginosa</i> and 50% de <i>M. wesenbergii</i> . Celles du lac Dianchi étaient à 95% des <i>M. aeruginosa</i> . A la fin de l'étude les poissons pesaient en moyenne entre 64 et 83 g.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, viscères, reins
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa (kit de l'Institute of hydrobiology, Wuhan, Chine) MC libres uniquement ? (les auteurs indiquent que leur méthode leur permet de mesurer les MC liées aux protéines phosphatases 1 et 2)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction : 89 à 95%.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	La concentration dans l'eau n'est pas mesurée, 2 doses de MC ont été testées. L'identité des variants de MC dans les extraits des 2 lacs n'a pas été recherchée.
<b>Résultats</b>	Pendant la phase d'accumulation, les concentrations dans le muscle ont augmenté entre J30 et J60 mais pas de manière dose-dépendante. En effet, malgré la différence de dose (80 vs 410 mg MC/kg ps d'aliment) les concentrations dans les muscles sont très proches à J30 et J60. A J60, l'exposition aux MC a été arrêtée. <b>Après 30 jours de dépuración</b> , la concentration dans le muscle des poissons exposés aux cyanobactéries du lac Taihu (la faible dose) a <b>augmenté très fortement</b> pour atteindre un pic à 2500 µg/kg de poids sec. Selon les auteurs, il y aurait un transfert de MC du foie vers le muscle. Pour la forte dose, il n'y a pas d'augmentation mais une diminution très lente pour rejoindre la valeur observée avec la faible dose à 55 jours de dépuración autour de 700 µg/kg ps qui correspond à la concentration observée après 30 jours d'exposition. <b>Dans les 2 cas, après 55 jours de dépuración, la concentration dans le muscle est toujours élevée.</b>

<sup>11</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ; <http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

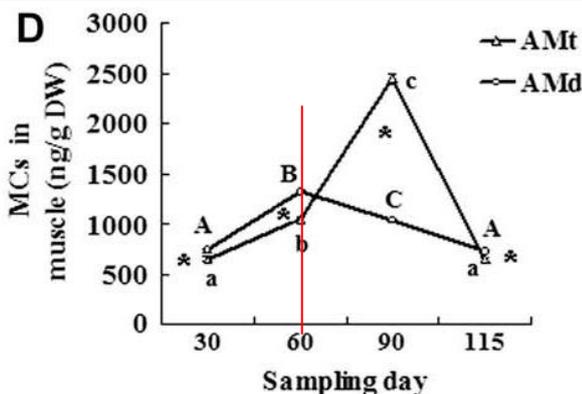


Fig. 10. Microcystin accumulation and depuration in muscle of hybrid tilapia. Mean values with different lowercase letters represent the significance of AMt diet at each sampling (P < 0.05); mean values with different capital letters represent the significance of AMd diet at each sampling (P < 0.05); asterisks (\*) represent significance between AMt and AMd diets at each sampling (P < 0.05). AMt = lac Taihu, AMd = lac Dianchi

Dans le foie, la concentration à J30 et J60 suit une relation dose-réponse. Après l'arrêt de l'exposition aux MC, la concentration a diminué lentement pour rejoindre après 55 jours de dépuración la valeur correspondant à 30 jours d'exposition.

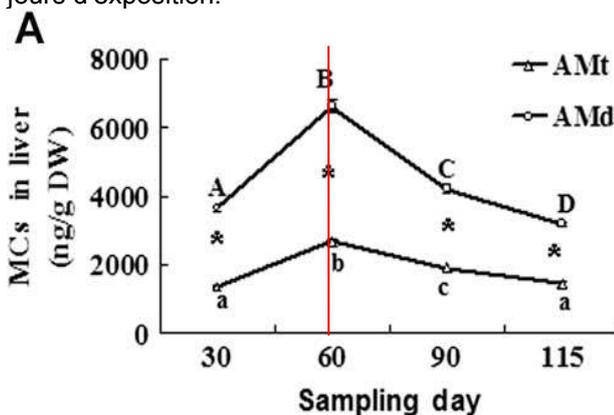


Fig. 10. Microcystin accumulation and depuration in liver of hybrid tilapia.

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>La cinétique de dépuración des MC dans le muscle est différente selon la dose. Pour la faible dose, une augmentation de la concentration en MC est observée pendant la phase de dépuración (à 30 jours) suivie d'une diminution (à 60 jours).</b> Pour la forte dose, il n'y a pas d'augmentation mais une diminution très lente pour rejoindre la valeur observée avec la faible dose à 55 jours de dépuración autour de 700 µg/kg ps qui correspond à la concentration observée après 30 jours d'exposition.</p> <p><b>Dans les 2 cas, après 55 jours de dépuración, la concentration dans le muscle est toujours élevée.</b></p> <p>Concernant la cinétique d'accumulation, augmentation de la concentration dans le muscle et le foie en fonction de la durée d'exposition (après 30j et 60 j d'exposition) mais pas de relation dose-réponse dans le muscle, les concentrations sont très proches à J30 et J60 malgré la différence de dose de MC.</p> <p>La dépuración des MC dans le muscle et le foie est donc très lente.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Poissons juvéniles au début de l'étude.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

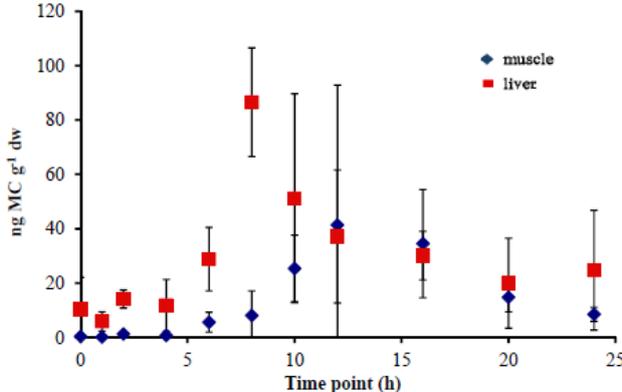
<b>Référence</b>	Dong et al. (2011). Response and recovery of hybrid sturgeon from sub-chronic oral administration of cyanobacteria. Environ Tox 26(2):161-170.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique contamination/décontamination des poissons
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	Hybride <i>Acipenser baeri x gueldenstaedtii</i> esturgeon <sup>12 et 13</sup> OUI OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des jeunes esturgeons (poids moyen 12 g) provenant d'un élevage ont été nourris pendant 47 jours avec une alimentation enrichie en cellules de cyanobactéries séchées provenant du lac Dianchi (90% <i>Microcystis aeruginosa</i> ) à la dose de 0, 26 600, 78 820 ou 201 030 µg MC/kg de poids sec d'aliment. Les poissons ont ensuite été nourris pendant 43 jours avec une alimentation sans cyanobactérie. Les poissons ont été mis à jeun 24h avant le début de l'exposition. Chaque groupe comportait 30 poissons. Chaque dose a été testée en 5 réplicats. 3 poissons par aquarium ont été prélevés à 24, 47, 69 ou 90 j.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, viscères
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa (kit de l'Institute of hydrobiology, Wuhan, Chine) MC libres uniquement ? (les auteurs indiquent que leur méthode leur permet de mesurer les MC liées aux protéines phosphatases 1 et 2)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction : 89 à 95%.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	La concentration dans l'eau n'a pas été mesurée, 3 doses de MC ont été testées. L'identité des variants de MC dans l'extrait de cyanobactéries n'a pas été recherchée.
<b>Résultats</b>	Pendant la phase d'accumulation, les concentrations dans le muscle ont augmenté entre J24 et J47 de manière dose-dépendante. A J47, l'exposition aux MC a été arrêtée. <b>Après 22 jours de dépuraton</b> , la concentration dans le muscle des poissons exposés aux doses faible et moyenne a <b>augmenté très fortement</b> pour atteindre un pic à 550 et 650 µg MC-LReq/kg de poids sec. Puis elle a diminué au 43 <sup>ème</sup> jour de dépuraton pour rejoindre la valeur observée après 24 jours d'exposition. Selon les auteurs, il y aurait un transfert de MC du foie vers le muscle. A la forte dose, la concentration a diminué lentement pendant les 22 jours de dépuraton puis semble stabilisée 21 j plus tard. <b>Dans tous les cas, après 43 jours de dépuraton, la concentration dans le muscle est toujours élevée.</b>

<sup>12</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/200254/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/200254/tab/rep/METROP)

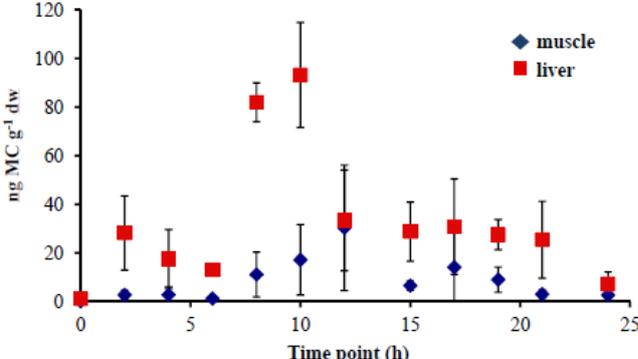
<sup>13</sup> [http://sturia.com/the\\_different\\_types\\_of\\_caviar.html](http://sturia.com/the_different_types_of_caviar.html)

	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 60%;"> <p style="text-align: center;">(C) Sampling time (day)</p> <p style="text-align: center;">Microcystins in muscle (ng/g DW)</p> <p style="text-align: center;">Sampling time (day)</p> </div> <div style="width: 35%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Low dose, Median dose, High dose</p> <p>Fig. 7. MC accumulation and depuration in muscle of hybrid sturgeon. Means with different letters (a–d) represent the significance of LCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Means with different letters (A–D) represent the significance of MCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Means with different letters (H–K) represent the significance of HCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Asterisk (*) represent significance between diets at each sampling time (P&lt;0.05).</p> </div> </div> <p>Dans le foie, la concentration a augmenté entre J24 et J47 de manière dose-dépendante pendant la phase d'accumulation puis elle a diminué lentement pendant les 43 jours de dépuration.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 60%;"> <p style="text-align: center;">(A) Sampling time (day)</p> <p style="text-align: center;">Microcystins in liver (ng/g DW)</p> <p style="text-align: center;">Sampling time (day)</p> </div> <div style="width: 35%;"> <p>Fig. 7. MC accumulation and depuration in liver of hybrid sturgeon. Means with different letters (a–d) represent the significance of LCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Means with different letters (A–D) represent the significance of MCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Means with different letters (H–K) represent the significance of HCD diet at each sampling time (P&lt;0.05); Asterisk (*) represent significance between diets at each sampling time (P&lt;0.05).</p> </div> </div>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>La cinétique de dépuration des MC dans le muscle est différente selon la dose. Pour les 2 faibles doses, une augmentation de la concentration en MC est observée pendant la phase de dépuration (à 22 jours) suivie d'une diminution (à 43 jours).</b> Pour la forte dose, il n'y a pas d'augmentation mais une diminution très lente.</p> <p><b>Dans tous les cas, après 43 jours de dépuration, la concentration dans le muscle est toujours élevée</b> (proche de celle observée après 24 jours d'exposition).</p> <p>Concernant la cinétique d'accumulation, augmentation de la concentration dans le muscle et le foie en fonction de la durée d'exposition et dose-dépendante.</p> <p>La dépuration des MC dans le muscle et le foie est donc très lente.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Poissons juvéniles au début de l'étude.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

$C_{\text{contam}}$ ,  $C_{\text{depur}}$ ,  $R_{\text{eau}}$ 

<b>Référence</b>	Dyble et al. (2011) A kinetic study of accumulation and elimination of microcystin-LR in yellow perch ( <i>Perca flavescens</i> ) tissue and implications for human fish consumption. Marine Drugs 9(12): 2553-2571.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination et de décontamination
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	USA
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Perca flavescens</i> perchaude <sup>14</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des perches juvéniles (9-14 cm, 5-29 g) provenant d'un élevage ont été exposées oralement avec une paillette de nourriture pour poisson traitée avec de la MC-LR synthétique à la dose de 5 ou 20 µg. 4 poissons de chaque dose ont été prélevés 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 17, 19, 21 et 24h après exposition. 2 groupes de 4 poissons ont été utilisés comme témoins : 4 poissons ont été sacrifiés à 0h et les 4 autres à 24h.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa polyclonal (Envirologix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction = 89,3% dans le muscle, 77,0% dans le foie.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	2 doses de MC-LR ont été étudiées. Des prélèvements d'eau de l'aquarium ont été réalisés pour mesurer les concentrations de MC excrétées par les poissons.
<b>Résultats</b>	 <p>Fig 1. Concentrations of MC (ng MC/ g dw fish tissue) in yellow perch liver and muscle tissue for time points 0–24 h after given a single oral dose of 5 µg MC-LR. Error is expressed as standard deviation of four replicate fish.</p> <p>Dans le foie, le pic de concentration est observé entre 8 et 10h suivi d'une diminution jusqu'à 20h et un plateau à 24h.</p> <p>Dans le muscle, le pic de concentration est observé entre 12 et 16h suivi d'une diminution jusqu'à 24h mais sans atteindre une dépuratation totale (les concentrations sont de <math>8,54 \pm 2,58 \mu\text{g}</math> et <math>2,75 \pm 2,14 \mu\text{g}</math> MC-LReq/kg ps pour les doses de 5 et 20 µg).</p> <p>Les auteurs suggèrent un transfert des MC du foie vers le muscle pour expliquer le décalage des pics.</p> <p>Les profils de concentration dans les 2 organes sont similaires pour les 2</p>

<sup>14</sup> <http://www.fishbase.se/summary/359>

	<p>doses testées et les concentrations sont du même ordre de grandeur. Il n'y a donc <b>pas de relation dose-réponse</b>. Le pic de concentration dans le foie est de <math>86,58 \pm 20,01 \mu\text{g MC-LReq/kg}</math> de poids sec pour la dose de <math>5 \mu\text{g}</math> et de <math>96,19 \pm 21,56 \mu\text{g MC-LReq/kg}</math> ps à la dose de <math>20 \mu\text{g}</math>.</p> <p>Dans le muscle, les valeurs sont respectivement de <math>41,38 \pm 51,49 \mu\text{g}</math> et <math>30,35 \pm 25,75 \mu\text{g MC-LReq/kg}</math> ps pour les doses de <math>5</math> et <math>20 \mu\text{g}</math>.</p> <p>Dans le foie des poissons témoins, les concentrations moyennes étaient comprises entre <math>0,7</math> et <math>9,0 \mu\text{g MC-LReq/kg}</math> ps. Pour le muscle, elles sont comprises entre <math>0,08</math> et <math>1,81 \mu\text{g MC-LReq/kg}</math> ps.</p> <p>Les auteurs signalent que les poissons traités à <math>5 \mu\text{g}</math> avaient un poids moyen plus faible que ceux traités à <math>20 \mu\text{g}</math>, ce qui peut avoir un impact sur les cinétiques (<math>12,6 \pm 4,8 \text{ g}</math> et <math>17,6 \pm 5,6 \text{ g}</math> respectivement).</p> <p>Dans l'eau de l'aquarium, les MC dissoutes ont été détectées à partir de 6h après l'exposition des poissons et la concentration en MC a augmenté progressivement jusqu'à 24h. Les auteurs ont estimé que 60 à 70% de la dose de MC-LR administrée aux poissons étaient retrouvées dans l'eau après 24h.</p>  <p>Fig 2. Concentrations of MC (ng MC/ g dw fish tissue) in yellow perch liver and muscle tissue for time points 0–24 h after given a single oral dose of <math>20 \mu\text{g MC-LR}</math>. Error is expressed as standard deviation of four replicate fish</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Dans le foie, la phase d'accumulation atteint un pic de concentration entre 8 et 10h après l'exposition, suivie d'une diminution jusqu'à 20h et un plateau à 24h à la faible dose.</p> <p>Dans le muscle, le pic de concentration est observé entre 12 et 16h suivi d'une diminution jusqu'à 24h mais sans atteindre une dépuratation totale.</p> <p>Les profils de d'accumulation/dépuratation sur 24h dans le foie et le muscle sont similaires pour les 2 doses testées et les concentrations sont du même ordre de grandeur. Il n'y a donc <b>pas de relation dose-réponse</b>.</p> <p>Les auteurs concluent à une rapide absorption de la MC-LR par les poissons et une rapide élimination des MC libres en 24h.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Hardy et al. (2015) Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA. Environmental Monitoring and Assessment 187(11).
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de 7 lacs lors d'efflorescences de cyanobactéries
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	USA
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	truite arc en ciel (présente en France) crapet-soleil = perche soleil = achigan à petite bouche (présente en France) perchaude (NON présente en France, <a href="https://inpn.mnhn.fr">https://inpn.mnhn.fr</a> ) poisson chat = barbotte brune (présente en France) achigan à grande bouche (présente en France) crapet de roche, (présente en France) truite fardée (NON présente en France) meunier à grandes écailles (NON présente en France) sauvagesse du Nord (NON présente en France)
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons de diverses espèces ont été prélevés entre mai et octobre 2010 puis entre juillet et septembre 2011 dans 7 lacs de l'état de Washington régulièrement affectés par des efflorescences de cyanobactéries (Waughop, Ketchum, Cassidy, Pattison, Black, Anderson, Spokane). Le prélèvement des poissons a été déclenché dès que les résultats de la surveillance de l'eau étaient > 6 µg/L pour les MC intracellulaires. Seuls les poissons de taille comestible ont été analysés. Les analyses de MC dans les tissus des poissons ont été réalisées sur des pools de 5 individus (ou moins).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa (Enviroligix anti-MC-LR et Abraxis anti-Adda) et LC-MS/MS (MC-LR, MC-desmethyl-LR, MC-RR, MC-desmethyl-RR, MC-YR, MC-LA, MC-LW, MC-LF, MC-LY)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1 pour LC-MSM/S (validée en interne), LD = 0,5 µg/kg de poids frais 3 pour ELISA (pas LD ni LQ, rendement d'extraction de 31-34% pour ELISA anti-MC-LR et de 65% pour ELISA anti-Adda). Un échantillon de muscle a été analysé 2 fois par ELISA anti-Adda et les résultats ont varié d'un facteur 2. Les auteurs concluent que la précision de cette méthode est faible. Le rendement d'extraction anti-MC-LR est très faible.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié.
<b>Résultats</b>	7 échantillons de muscle de 2010 ont été analysés par les 2 ELISA. Les concentrations estimées par ELISA anti-Adda étaient comprises entre 6,3 et 11 µg MC-LReq/kg de poids frais et celles estimées par ELISA anti-MC-LR entre 0,25 et 2,4 µg MC-Req/kg de poids frais. Mais l'analyse par LC-MS n'a pas confirmé ces mesures car aucun des 9 variants recherchés n'a été détecté (dans 20 échantillons de muscle analysés). En 2011, seule l'analyse par ELISA anti-Adda a été réalisée du fait du faible rendement d'extraction par ELISA anti-MC-LR. Les concentrations dans les muscles étaient comprises entre 2,0 et 5,9 µg MC-LReq/kg de poids frais et dans les foies entre 35 et 132 µg MC-LReq/kg de poids frais. L'analyse par LC-MS/MS du foie a identifié la MC-LA comme seul variant présent avec des concentrations entre 2,5 et 14 µg/kg pf. Aucune MC détectée dans les échantillons de muscle.

	<p>Table 6 ELISA results for MC in selected fish fillet samples from 2010 (µg/kg, wet weight)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Site/Lake</th> <th>Species</th> <th>Date</th> <th>Anti-Adda</th> <th>Anti-MC-LR</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Arlington hatchery</td> <td>Rainbow trout</td> <td>19 Apr</td> <td>7.0</td> <td>1.0</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Cassidy</td> <td>Pumpkinseed</td> <td>26 Aug</td> <td>8.7</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>Yellow perch</td> <td>26 Aug</td> <td>7.7</td> <td>0.8</td> </tr> <tr> <td></td> <td>21 Sep</td> <td>8.0</td> <td>0.5</td> </tr> <tr> <td>Pattison</td> <td>Largemouth bass</td> <td>8 Sep</td> <td>8.2</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Anderson</td> <td>Rainbow trout</td> <td>27 Aug</td> <td>6.3</td> <td>2.2</td> </tr> <tr> <td>Rainbow trout (dup.)</td> <td></td> <td>11</td> <td>2.4</td> </tr> <tr> <td>Rainbow trout</td> <td>28 Aug</td> <td>9.6</td> <td>0.4</td> </tr> </tbody> </table>	Site/Lake	Species	Date	Anti-Adda	Anti-MC-LR	Arlington hatchery	Rainbow trout	19 Apr	7.0	1.0	Cassidy	Pumpkinseed	26 Aug	8.7	0.3	Yellow perch	26 Aug	7.7	0.8		21 Sep	8.0	0.5	Pattison	Largemouth bass	8 Sep	8.2	0.3	Anderson	Rainbow trout	27 Aug	6.3	2.2	Rainbow trout (dup.)		11	2.4	Rainbow trout	28 Aug	9.6	0.4
Site/Lake	Species	Date	Anti-Adda	Anti-MC-LR																																						
Arlington hatchery	Rainbow trout	19 Apr	7.0	1.0																																						
Cassidy	Pumpkinseed	26 Aug	8.7	0.3																																						
	Yellow perch	26 Aug	7.7	0.8																																						
		21 Sep	8.0	0.5																																						
Pattison	Largemouth bass	8 Sep	8.2	0.3																																						
Anderson	Rainbow trout	27 Aug	6.3	2.2																																						
	Rainbow trout (dup.)		11	2.4																																						
	Rainbow trout	28 Aug	9.6	0.4																																						
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Les auteurs recommandent d'utiliser une méthode ELISA anti-Adda pour les mesures de première intention mais attirent l'attention sur la faible précision et sur le fait que les concentrations sont surestimées.</p> <p>Les échantillons positifs doivent ensuite être confirmés par LC-MS/MS.</p> <p>Les concentrations dans le muscle de poissons de diverses espèces prélevées lors d'efflorescence de cyanobactéries étaient faibles (2 à 11 µg MC-LReq/kg pf par ELISA anti-Adda et &lt; LD par LC-MS/MS)</p>																																									
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>																																									
<p><b>Commentaires</b></p>																																										
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La saxitoxine ont été recherchées dans quelques échantillons de muscle de poissons de 2010 et n'a pas été détectée (poissons de 2 lacs uniquement pour la saxitoxine, analyse par ELISA avec un LD = 0,5-0,8 µg/kg).</p> <p>L'anatoxine-a a été recherchée dans 20 échantillons de muscle de 2010 et dans les foies de 2011 et n'a pas été détectée (LC-MS/MS, LD = 5 µg/kg)</p>																																									

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	He et al. (2012). Quantitatively evaluating detoxification of the hepatotoxic microcystins through the glutathione and cysteine pathway in the cyanobacteria-eating bighead carp." <i>Aquatic Toxicology</i> 116-117: 61-68.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination/décontamination chez le poisson
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> , carpe à grosse tête <sup>15</sup> OUI OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des carpes (poids moyen 250 g) provenant d'un élevage ont été réparties en 3 groupe de 54 et ont reçu par injection intrapéritonéale soit 1) une dose de 50 µg MC-LReq/kg pc, soit 2) une dose de 200 µg MC-LReq/kg pc, soit 3) une solution saline (groupe témoin). Dans chaque groupe, 9 carpes ont été prélevées à 1, 3, 12, 24, 48 et 72h post injection. La dose de MC a été préparée avec des MC-LR et RR extraites et purifiées à partir d'un échantillon d'efflorescence collecté au lac Dianchi. Les poissons ont été mis à jeun 48h avant l'exposition et n'ont pas été nourris ensuite. Les analyses de MC ont été réalisées sur des pools de 3.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, reins
<b>Voie d'exposition</b>	ip
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS (MC-LR et RR et leurs métabolites Glutathion et Cystéine) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 LD MC LR, LR-Cys et LR-GSH : 7 µg/kg de poids sec LD MC RR, RR-Cys et RR-GSH : 5 µg/kg de poids sec Rendement d'extraction dans le foie : 87%, 85% et 72% pour MC-LR, LR-Cys, LR-GSH ; 95%, 91% et 64% pour MC-RR, RR-Cys, RR-GSH
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	2 doses de MC ont été testées.
<b>Résultats</b>	Pas de MC détectée dans les poissons du groupe témoin. Les résultats des concentrations de MC dans les tissus sont présentés <i>séparément</i> pour MC-LR (et ses conjugués) et pour MC-RR (et ses conjugués). <u>MC-LR</u> Dans le muscle des poissons traités avec la forte dose, la MC-LR est présente en forte concentration dès 1h post injection (autour de 18 µg/kg ps) et la concentration reste stable pendant 48h avant de diminuer légèrement à 72h. MC-LR-GSH n'est détectée qu'une seule fois à 24h (très faible concentration). MC-LR-Cys apparaît 3h post injection en concentration > à celle de MC-LR puis chute à 12h pour remonter à 24h. Dans le foie, une faible concentration est observée 1h post injection et cela reste stable pendant 48h avant d'atteindre un pic à 72h. MC-LR-Cys apparaît à 24h post injection et augmente jusqu'à 72h où sa concentration dépasse celle de MC-LR. A faible dose, les profils de concentrations sont très différents. La MC-LR est détectée dans le muscle 1h post injection puis disparaît à 3h pour revenir à 12h, disparaître à 24h et atteindre un pic 72h post injection à plus de 20 µg/kg ps. La concentration dans le muscle à 72h est donc plus élevée avec la faible dose qu'avec la forte dose.

<sup>15</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67277/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67277/tab/rep/METROP)

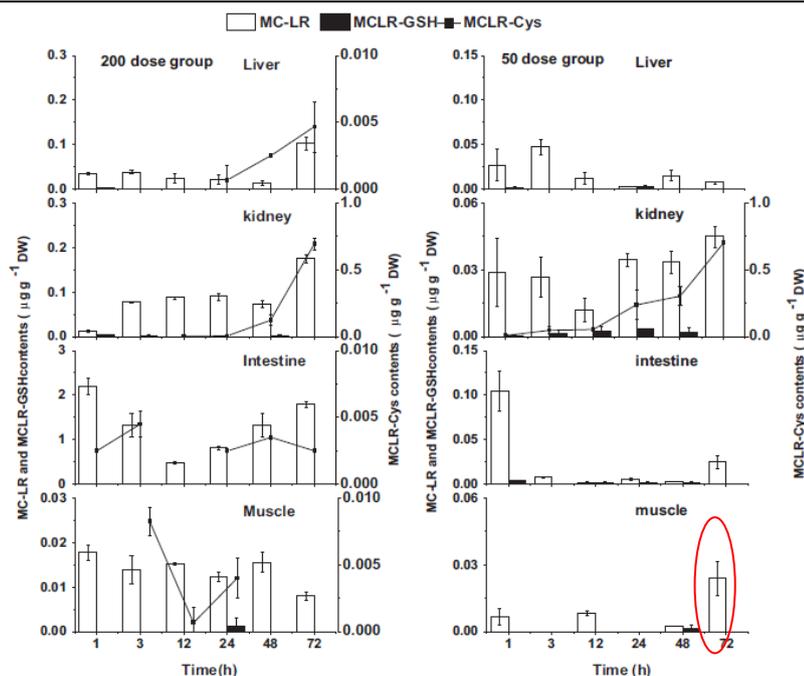


Fig. 3. MC-LR, MCLR-GSH and MCLR-Cys content in liver, kidney, intestine and muscle of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) with 200 and 50 µg MC-LReq/kg bw Values are expressed as means ± standard errors for three replicates;

**MC-RR**

Comme pour MC-LR, la MC-RR est détectée dans le muscle dès 1h post injection aux 2 doses. La concentration dans le muscle est 10 fois plus faible que celle de MC-LR.

Les concentrations fluctuent selon les temps de prélèvement entre 1 et 72h ainsi que les toxines détectées parfois majoritairement MC-RR et parfois MC-RR-GSH ou MC-RR-Cys. Pas de nette diminution à 72h post injection. **Pas de relation dose-réponse.**

Dans le foie, à forte dose le pic de concentration apparaît 1h post injection alors qu'à faible dose il apparaît 72h post injection.

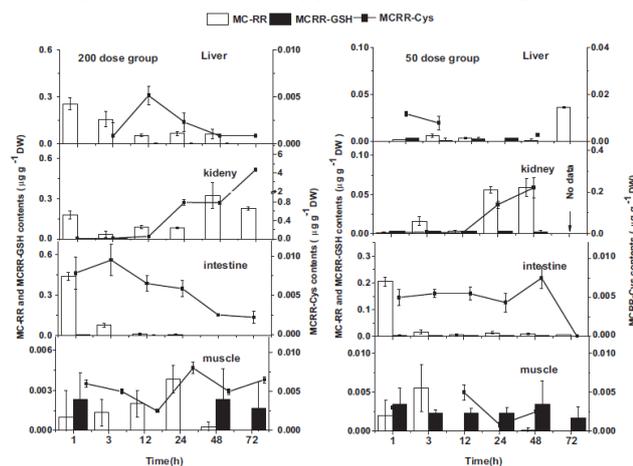


Fig. 4. MC-RR, MCRR-GSH and MCRR-Cys content in liver, kidney, intestine and muscle of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) with 200 and 50 µg MC-LReq/kg bw Values are expressed as means ± standard errors for three replicates;

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Pas de relation dose-réponse de l'accumulation / dépurcation de MC-LR et RR dans le muscle.</b>  <b>Pas de nette diminution de la concentration 72h post injection, au contraire c'est à ce moment que la concentration de MC-LR atteint son pic à la faible dose testée.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>

<b>Référence</b>	Ibelings et al. (2005) Distribution of microcystins in a lake foodweb: no evidence for biomagnification. <i>Microb Ecol</i> 49(4): 487-500.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons dans un lac pendant 3 mois
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Pays Bas
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	Noms latins non précisés perche gremille éperlan
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	25 poissons de chaque espèce ont été prélevés dans le lac IJsselmeer entre juin et septembre 1999 sur 3 sites (Nord, Sud et milieu du lac).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-UV MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction de 68%. Les concentrations présentées ont été corrigées par le rendement d'extraction.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau ont été réalisés 2 fois par semaine entre mai et octobre en 1997, 1998 et 1999 sur 6 sites pour la mesure de MC intra et extracellulaires par HPLC-UV.
<b>Résultats</b>	Les auteurs ont analysés les MC dans l'eau, le phytoplancton, le zooplancton, des moules d'eau douce et des poissons.  Dans l'eau, une efflorescence de cyanobactéries a été observé chaque année en septembre avec $10^6$ particules/mL, dominé par <i>Microcystis</i> en 1997 et 1998 et par <i>Planktothrix</i> en 1999. Les concentrations en MC intracellulaires en 1999 ont varié entre 0,21 et 10 µg MC-LReq/L pour les moyennes des 3 sites au nord et des 3 sites au sud du lac.  Dans le foie des poissons, la concentration en MC était comprise entre 9 à 874 mg MC-LReq/kg AFDW (ash-free dry weight contents) avec une forte variation selon l'espèce. La concentration moyenne était plus faible chez la perche qui est carnivore (24 mg/kg) et plus élevée chez l'éperlan qui est phytoplanctonivore (218 mg/kg).
<b>Conclusion</b>	Une forte variabilité de la concentration en MC dans le foie est observée selon l'espèce de poisson pendant une efflorescence. La concentration est plus élevée chez les phytoplanctonivores que chez les carnivores.  Pas de preuve de biomagnification des MC le long de la chaîne alimentaire.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Des résultats sont présentés sur la concentration en MC dans le zooplancton (57 à 192 mg MC-LReq/kg de poids sec) et dans des moules d'eau douce.
<b>Informations complémentaires</b>	

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Jiang et al. (2014) Concentration and bioaccumulation of cyanobacterial bioactive and odorous metabolites occurred in a large, shallow Chinese lake. <i>Bulletin of Environmental Contamination &amp; Toxicology</i> 93(5): 643-48.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius auratus</i> carassin doré, poisson rouge <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée <sup>16</sup> <i>Coilia ectenes</i> ( <i>Coilia nasus</i> ) anchois <sup>17</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour <i>C. auratus</i> et <i>H. molitrix</i> , NON pour <i>C. ectenes</i>
<b>Présente en France</b>	OUI pour <i>C. auratus</i> et <i>H. molitrix</i> , NON pour <i>C. ectenes</i>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des carpes (poids moyen 216 g), des carassins (poids moyen 167 g) et des anchois (poids moyen 25 g) ont été prélevés en août et en décembre 2012 dans le lac Chaohu (nombre d'animaux non précisé sauf pour l'anchois n=15).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (MC-LR, YR, LF, RR, LW)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction : 85,4% dans l'eau, 78,5% dans le muscle
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (0-0,5 m) ont été réalisés sur 5 sites en août et en décembre 2012 pour la mesure des MC intra et extracellulaires.
<b>Résultats</b>	Dans l'eau, la concentration maximale en MC extracellulaires était de 1 µg MC-LReq/L et celle de MC intracellulaire de 3,4 µg MC-LReq/L en août. Les résultats détaillés ne sont pas présentés.  Dans le muscle des poissons, les concentrations en MC étaient comprise entre : 16,6 et 27,9 µg MC-LReq/kg de poids sec chez le carassin (omnivore) 4,4 et 8,8 µg MC-LReq/kg de poids sec chez la carpe (phytoplanctonivore) <LD et 6,7 µg MC-LReq/kg de poids sec chez l'anchois (carnivore). Les concentrations moyennes étaient très proches pour les poissons pêchés en août et ceux pêchés en décembre.  <b>L'analyse statistique n'a pas mis en évidence de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et celle dans l'eau. Pour l'anchois, pas de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la taille des poissons (pois ou longueur).</b>
<b>Conclusion</b>	Forte variabilité de la concentration en MC dans le muscle selon l'espèce de poisson pendant une efflorescence : omnivores > phytoplanctonivores > carnivores.  <b>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et celle dans l'eau.</b>  <b>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la taille des poissons.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<sup>16</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

<sup>17</sup> <http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchList.php?Genus=Coilia>

<b>Référence</b>	Kagalou et al. (2008) Assessment of microcystins in lake water and the omnivorous fish ( <i>Carassius gibelio</i> , Bloch) in Lake Pamvotis (Greece) containing dense cyanobacterial bloom. Environmental Monitoring and Assessment 137(1-3): 185-195.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Grèce
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Carassius gibelio</i> carpe de Prusse, carassin argenté
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	10 carpes femelles (poids entre 716 et 1080 g) ont été prélevées dans le lac Pamvotis en octobre 2005 ; 6 carpes provenant d'un élevage ont été maintenues en aquarium pendant 16 mois pour servir de témoin.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reins, gonades, intestins
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel,
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa anti-Adda (Abraxis) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction : 54%
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (10-20 cm) ont été réalisés chaque mois sur 2 stations de mars à octobre 2005 pour la mesure de MC intra et extracellulaires par ELISA.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, une efflorescence de cyanobactéries (<math>10^4</math> cellules/mL) a été observé en juillet dominé par <i>Anabaena</i> et en août dominé par <i>Microcystis</i>.</p> <p>La concentration en MC extracellulaires a varié entre 0,31 et 2,4 µg MC-LReq/L à la station 1 et entre 0,40 et 1,8 µg MC-LReq/L à la station 2.</p> <p>La concentration en MC intracellulaires a varié entre 3,1 et 11,6 µg/L à la station 1 et entre 3,2 et 11,3 µg/L à la station 2.</p> <p>Le pic de MC intracellulaires a été observé en août.</p> <p>En octobre (date de prélèvement des poissons), la concentration en MC extracellulaires était de 2 µg/L et celle de MC intracellulaires de 4 µg/L (pas de différence entre les 2 stations).</p> <p>Dans les poissons, la concentration dans le foie était de <math>275,1 \pm 84,5</math> µg MC-LReq/kg de poids frais et celle dans le muscle de <math>16,05 \pm 11,97</math> µg MC-LReq/kg de poids frais</p> <p>Pas de MC détectées dans les poissons témoins.</p>
<b>Conclusion</b>	Lors d'une efflorescence de cyanobactéries, la concentration en MC dans le muscle de carpe était de $16 \pm 12$ µg MC-LReq/kg de poids frais.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	La carpe de Prusse est omnivore. Les auteurs recommandent une surveillance des MC dans les poissons comestibles des lacs eutrophes et en aquaculture.
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>

<b>Référence</b>	Lance et al. (2014) Evidence of trophic transfer of microcystins from the gastropod <i>Lymnaea stagnalis</i> to the fish <i>Gasterosteus aculeatus</i> . Harmful Algae 31: 9-17
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination des poissons par ingestion d'escargot d'eau douce contaminés
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	France
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> épinouche
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<p>Des épinouches provenant d'un élevage de laboratoire ont été réparties en 3 groupes de 21 individus, chaque poisson étant placé individuellement dans un aquarium. Les poissons ont été nourris pendant 5 jours avec des glandes digestives d'escargots d'eau douce (la grande limnée) contaminées, non contaminés ou décontaminés. Les poissons ont ensuite été suivis pendant 5 jours de dépuración (nourris avec des glandes digestives non contaminées).</p> <p>Les escargots (n=200) ont été nourris avec une suspension de <i>Planktothrix agardhii</i> (en culture) à la concentration de 33 µg MC-LReq/L (dmMC-LR, dmMC-RR, MC-YR). Après 28 jours d'exposition, les glandes digestives de 100 escargots ont été extraites pour servir de nourriture aux épinouches. Les 100 escargots restants ont été placés dans de l'eau sans MC et nourris avec de la salade pendant 28 jours pour dépuración leur glande digestive. Après 28 jours, celles-ci ont été extraites pour servir de nourriture aux épinouches.</p> <p>6 échantillons de foie et 2 échantillons de muscle ont été prélevés.</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reins, branchies
<b>Voie d'exposition</b>	Orale (glande digestive d'escargots)
<b>Méthode d'analyse</b>	Elisa (Enviroligix) pour les MC libres et LC-MS/MS pour les MC totales (libre + liées) par MMBP
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	<p>3 (pas LD ni LQ)</p> <p>ELISA : rendement d'extraction de 72±5,3% chez l'escargot, effet matrice négligeable (de 0,05 à 4,8% de différence entre les résultats avec matrice et ceux avec méthanol, moyenne de 1,7±0,4%).</p> <p>LC-MS/MS : rendement d'oxydation de 29-40% et rendement d'extraction de 62-97% pour MMBP chez l'escargot</p>
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non car apport des MC par l'alimentation
<b>Résultats</b>	<p>Dans la glande digestive de l'escargot, la concentration en MC libres étaient de 6,82 ±0,24 mg/kg de poids sec et pour les MC liées de 11,61 ± 1,63 mg/kg ps après 28 jours d'exposition.</p> <p>Après 28 jours de dépuración, les concentrations étaient respectivement de 0,44 ± 0,05 et 6,25 ± 0,85 mg/kg ps.</p> <p>Dans les épinouches, les concentrations en MC libres sont plus élevées dans le groupe nourri avec les glandes digestives d'escargot contaminées (3,9 ± 0,1 mg/kg ps dans le foie et 1,05 mg/kg ps dans le muscle) dont 63% des MC étaient sous forme liée.</p> <p>Le groupe nourri avec les glandes digestives d'escargot décontaminées a une concentration en MC libres dans le foie et le muscle beaucoup plus faible (0,3 mg/kg ps et 0,2 mg/kg), 94% des MC étaient sous forme liées dans la glande digestive de l'escargot.</p>

Les auteurs concluent que les résultats montrent qu'une partie des MC liées a été séparée des protéines PPases et absorbée par les poissons.

Après 5 jours de dépuración, la concentration dans le foie et le muscle du groupe nourri avec les glandes digestives d'escargot contaminées a fortement diminué (vers 0,3 µg/kg ps dans le foie et 0,4 mg/kg ps dans le muscle). Les concentrations sont du même ordre de grandeur pour l'autre groupe nourri avec des glandes digestives décontaminées.

Il n'y a pas eu de dépuración dans le foie de ce groupe de poissons.

Les auteurs n'ont pas réussi à analyser les MC liées dans le foie des poissons (problèmes analytiques dus à la teneur en lipides hépatiques).

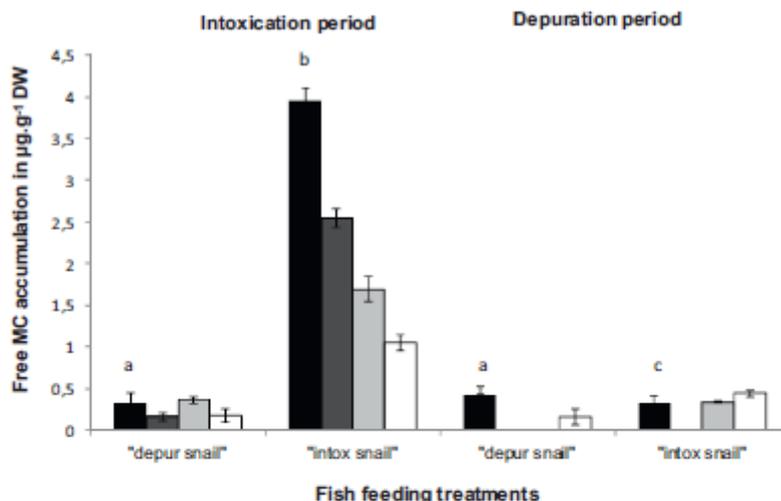


Fig. 1. Free MC accumulation (µg g<sup>-1</sup> DW) in different organs (liver, n = 6, black color; gills, n = 2, deep grey; kidney, n = 2, light grey; muscle, n = 2, white) of *G. aculeatus* fed during a 5-day intoxication periods on snail digestive glands: (1) highly MC-intoxicated ("intox snail", 4-week exposure to MC-producing cyanobacteria) or (2) low MC-intoxicated ("depur snail", 4-week exposure to MC-producing cyanobacteria followed by 4 weeks of depuration), and fed on MC-free snail digestive glands during the 5-day depuration periods. Two different letters (a, b or c) indicate significant differences in MC accumulation in liver between groups analysed using the Mann-Whitney U-test.

<b>Conclusion</b>	<p>Ces travaux mettent en évidence <b>la contamination des poissons suite à la consommation d'escargots naturellement contaminés par les MC</b>. Ils soulignent <b>l'influence de la forme des MC ingérées (libres ou liées) sur la concentration dans les tissus des poissons</b>. Ainsi, dans le glande digestive de l'escargot, 63% des MC sont sous forme liée lors de la phase d'exposition aux cyanotoxines cette proportion monte à 94% en phase de dépuración après l'arrêt de l'exposition. Dans ce cas, la biodisponibilité des MC pour le poisson est plus faible mais les MC restent dans ses tissus plus longtemps puisqu'il n'y a pas de diminution de la concentration après 5 jours de dépuración (foie, muscle).</p> <p><b>Ces travaux montrent une certaine biodisponibilité des MC liées.</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	<b>Ces travaux permettent d'expliquer la grande variabilité constatée dans les résultats des études sur la cinétique de dépuración des poissons (puisque la quasi-totalité d'entre eux ne reposent que sur la mesure des MC libres et ne prennent pas en compte les MC liées).</b>
<b>Informations complémentaires</b>	

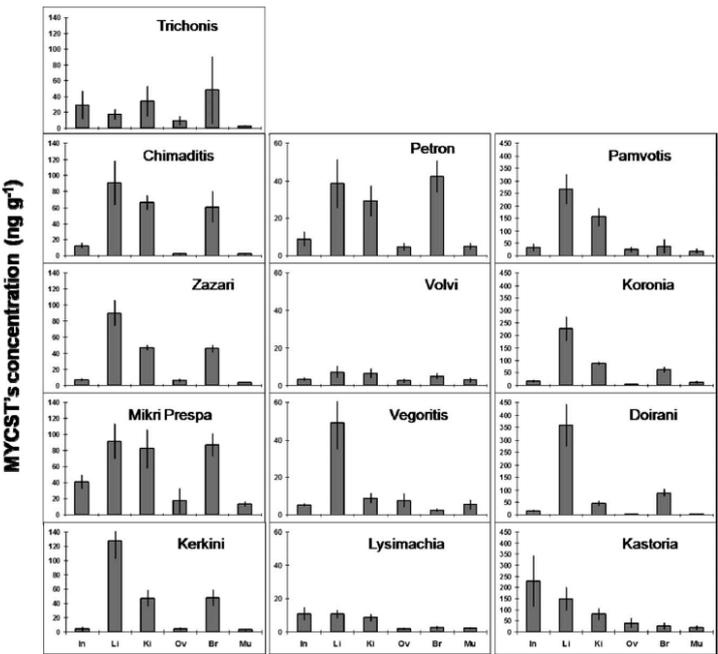
C<sub>contam</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Mitsoura et al. (2013) The presence of microcystins in fish <i>Cyprinus carpio</i> tissues: a histopathological study. International Aquatic Research 5(1).																		
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant une efflorescence																		
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																		
<b>Pays</b>	Grèce																		
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> : carpe commune																		
<b>Présente en Europe</b>	OUI																		
<b>Présente en France</b>	OUI																		
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																		
<b>Protocole expérimental</b>	30 carpes d'un poids moyen de 1 kg ont été prélevées dans le lac Karla durant une efflorescence de cyanobactéries en mai et juin 2011. 10 carpes ont été obtenues d'une ferme aquacole pour servir de témoins.																		
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reins																		
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																		
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Abraxis) MC libres uniquement																		
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ). Rendement de $72,6 \pm 2,12\%$ pour le muscle, $77 \pm 2,5\%$ pour le foie. L'effet matrice est négligeable (0,08% à 5,2% de différence entre les résultats dans la matrice et ceux avec le méthanol, avec une moyenne de $1,9 \pm 0,7\%$ ).																		
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Les MC intra et extracellulaires ont été mesurées dans l'eau du lac par ELISA, au cours des mêmes mois que ceux auxquels les poissons ont été prélevés. Le protocole des prélèvements d'eau n'est pas précisé.																		
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, durant l'efflorescence, les concentrations en MC intracellulaires étaient comprises entre 4,2 et 5,5 µg MC-LReq/L et celles en MC extracellulaires entre 2 et 3 µg MC-LReq/L</p> <p>Des MC ont été détectées dans tous les échantillons de poissons (20 poissons analysés). Pas de MC détectées dans des poissons témoins.</p> <p>Dans le muscle, les concentrations moyennes étaient de <math>114 \pm 25</math> µg MC-LR eq/kg de poids frais en mai et de <math>108 \pm 33</math> µg MC-LR eq/kg de poids frais en juin.</p> <p><b>Table 1 MCYST concentrations in <i>C. carpio</i> tissues (ng/g), extracellular MCYST(µg/l) and intracellular MCYST (µg/l) in May and June 2011</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>May 2011</th> <th>June 2011</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>C. carpio</i> liver</td> <td>732 ± 350</td> <td>346 ± 156</td> </tr> <tr> <td><i>C. carpio</i> kidney</td> <td>362 ± 207</td> <td>696 ± 258</td> </tr> <tr> <td><i>C. carpio</i> muscle</td> <td>114 ± 25</td> <td>108 ± 33</td> </tr> <tr> <td>Extracellular</td> <td>2.03 ± 0.32</td> <td>3.01 ± 0.41</td> </tr> <tr> <td>Intracellular</td> <td>4.19 ± 0.33</td> <td>5.5 ± 0.29</td> </tr> </tbody> </table> <p>Values are given as mean ± SD. In all of the control <i>C. carpio</i> individuals' examined tissues, there were zero levels of MCYST.</p>		May 2011	June 2011	<i>C. carpio</i> liver	732 ± 350	346 ± 156	<i>C. carpio</i> kidney	362 ± 207	696 ± 258	<i>C. carpio</i> muscle	114 ± 25	108 ± 33	Extracellular	2.03 ± 0.32	3.01 ± 0.41	Intracellular	4.19 ± 0.33	5.5 ± 0.29
	May 2011	June 2011																	
<i>C. carpio</i> liver	732 ± 350	346 ± 156																	
<i>C. carpio</i> kidney	362 ± 207	696 ± 258																	
<i>C. carpio</i> muscle	114 ± 25	108 ± 33																	
Extracellular	2.03 ± 0.32	3.01 ± 0.41																	
Intracellular	4.19 ± 0.33	5.5 ± 0.29																	
<b>Conclusion</b>	<p>Lors d'une efflorescence de cyanobactéries caractérisé par une concentration de 2-3 µg/L en MC dissoutes et 4-5 µg/L en MC intracellulaires, la concentration moyenne dans le muscle de carpes était de 108 à 114 µg MC-LR eq/kg de poids frais.</p> <p>La concentration dans le muscle est restée stable entre les 2 dates de prélèvement entre mai et juin 2011 (la concentration n'a pas augmentée alors que les poissons ont été exposés plus longtemps).</p>																		
<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Très bonne</b>																		
<b>Commentaires</b>																			
<b>Informations complémentaires</b>																			

<b>Référence</b>	Ni et al. (2015) Microcystin accumulation in bighead carp ( <i>Aristichthys nobilis</i> ) during a <i>Microcystis</i> -dominated bloom and risk assessment of the dietary intake in a fish pond in China. Environmental Science and Pollution Research.																																																							
<b>Objectifs</b>	Etude de contamination des poissons lors d'une efflorescence																																																							
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																							
<b>Pays</b>	Chine																																																							
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> carpe à grosse tête <sup>18</sup> OUI OUI																																																							
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																																							
<b>Protocole expérimental</b>	5 carpes (poids moyen 1528 g) ont été prélevées dans un plan d'eau lors d'une efflorescence de cyanobactéries dominées par <i>Microcystis aeruginosa</i> de juin à août 2009. Les mesures de MC ont porté sur des échantillons poolés des 5 individus pour chaque tissu.																																																							
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reins, rate, vésicule biliaire, intestins																																																							
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel,																																																							
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-LR, RR, YR, LF, LY, LA, LW) MC libres uniquement.																																																							
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (pas LD ni LQ) Rendement d'extraction dans le muscle: 67,2% pour MC-LR, 72,9% pour MC-RR, 64,7% pour MC-YR, 70,8 % pour MC-LF, 66,7% pour MC-LA, 70,1% pour MC-LW et 65,8% pour MC-LY																																																							
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (0-0,5 m) ont été réalisés en 4 points durant l'efflorescence entre juin et août 2009.																																																							
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, 10 variants de MC ont été détectés pendant l'efflorescence, MC-LR était le variant majoritaire. La concentration maximale était de 12,24 µg/L (pour la somme de tous les variants).</p> <p><b>Table 3</b> MC contents (µg L<sup>-1</sup>) of four sampling sites in the fish pond, China</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>MC variants</th> <th>Site 1</th> <th>Site 2</th> <th>Site 3</th> <th>Site 4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MCLR</td> <td>4.08</td> <td>3.26</td> <td>1.52</td> <td>2.87</td> </tr> <tr> <td>MCRR</td> <td>1.52</td> <td>n.d.</td> <td>1.36</td> <td>n.d.</td> </tr> <tr> <td>MCYR</td> <td>0.83</td> <td>n.d.</td> <td>0.74</td> <td>n.d.</td> </tr> <tr> <td>MCLF</td> <td>2.26</td> <td>1.79</td> <td>1.08</td> <td>1.65</td> </tr> <tr> <td>MCLA</td> <td>0.69</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> </tr> <tr> <td>MCLW</td> <td>0.45</td> <td>0.38</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> </tr> <tr> <td>MCLY</td> <td>2.41</td> <td>2.18</td> <td>1.57</td> <td>1.83</td> </tr> <tr> <td>MCFR</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> <td>√</td> </tr> <tr> <td>1-MCLR</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> <td>√</td> </tr> <tr> <td>MCWR</td> <td>n.d.</td> <td>√</td> <td>n.d.</td> <td>√</td> </tr> </tbody> </table> <p><i>n.d.</i> not detected, √ detected but unknown concentration, 1-MCLR [D-Glu-OC<sub>2</sub>H<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)OH<sup>δ</sup>]MCLR</p> <p>Dans les poissons, 10 variants ont également été détectés dans les différents organes mais les profils différent selon les organes. Dans le muscle, MC-LR et MC-LW ont été détectés avec une concentration de 200 et 380 µg/kg de poids sec. Dans le foie MC-LR et MC-LY dominant avec chacun une concentration autour de 400 µg/kg ps.</p> <p>La concentration maximale dans le muscle pour la somme des variants détectés était de 880 µg/kg de poids sec (et de 780 µg/kg dans le foie).</p>	MC variants	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	MCLR	4.08	3.26	1.52	2.87	MCRR	1.52	n.d.	1.36	n.d.	MCYR	0.83	n.d.	0.74	n.d.	MCLF	2.26	1.79	1.08	1.65	MCLA	0.69	n.d.	n.d.	n.d.	MCLW	0.45	0.38	n.d.	n.d.	MCLY	2.41	2.18	1.57	1.83	MCFR	n.d.	n.d.	n.d.	√	1-MCLR	n.d.	n.d.	n.d.	√	MCWR	n.d.	√	n.d.	√
MC variants	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4																																																				
MCLR	4.08	3.26	1.52	2.87																																																				
MCRR	1.52	n.d.	1.36	n.d.																																																				
MCYR	0.83	n.d.	0.74	n.d.																																																				
MCLF	2.26	1.79	1.08	1.65																																																				
MCLA	0.69	n.d.	n.d.	n.d.																																																				
MCLW	0.45	0.38	n.d.	n.d.																																																				
MCLY	2.41	2.18	1.57	1.83																																																				
MCFR	n.d.	n.d.	n.d.	√																																																				
1-MCLR	n.d.	n.d.	n.d.	√																																																				
MCWR	n.d.	√	n.d.	√																																																				

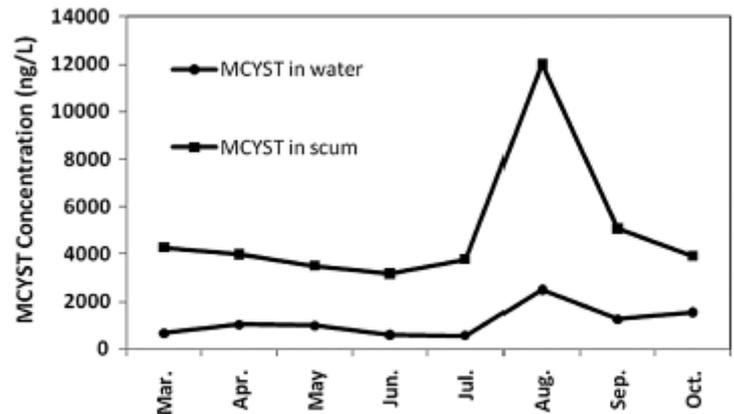
<sup>18</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67277/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67277/tab/rep/METROP)

	<p>Fig. 1 MC variant accumulation in different organs of bighead carps in the fish pond</p>
<b>Conclusion</b>	Lors d'une efflorescence avec une concentration en MC dans l'eau de 12,24 µg/L, la concentration en MC dans les muscles a atteint une concentration maximale de 880 µg/kg de poids sec.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Papadimitriou et al. (2010). Accumulation of microcystins in water and fish tissues: an estimation of risks associated with microcystins in most of the Greek Lakes. <i>Environmental Toxicology</i> 25(4): 418-427.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons dans 13 lacs en Grèce.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Grèce
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Carassius gibelio</i> carpe de Prusse, carassin argenté
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons ont été prélevés dans 13 lacs grecs (10 poissons/lac) au printemps 2005. 6 poissons provenant d'une pêcherie ont été maintenus 16 mois dans un aquarium avec de l'eau sans MC pour servir de témoin.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Intestin, foie, reins, ovaires, cerveau, muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (Abraxis-Microcystin 520011) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LQ = 0.02–0.07 µg MC-LR eq/L (pas LD), rendement d'extraction = 54%
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau intégrés (500 mL) et d'écume ont été réalisés dans chaque lac à des sites utilisés pour des activités récréatives ou pour l'irrigation. Les MC ont été analysées par ELISA sous forme dissoute dans l'eau ou associées aux cyanobactéries dans l'écume.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau et l'écume, les concentrations les plus élevées ont été mesurées dans le lac Koronia avec respectivement 3,7 et 15,9 µg MC-LR eq/L. Les concentrations les plus basses ont été mesurées dans le lac Volvi avec respectivement 0,2 et 1,1 µg MC-LR eq/L.</p>  <p>Fig. 3. Microcystin concentrations (ng/g) in the tissues of <i>Carassius gibelio</i>, collected from 13 lakes in Greece. (In): Intestine, (Li): Liver, (Ki): Kidneys, (Ov): Ovaries, (Br): Brain, (Mu): Muscle.</p> <p>Chez les carpes, des MC ont été détectées dans les muscles des poissons des 13 lacs. Ni les valeurs individuelles ni les moyennes par lac ne sont présentées. Les concentrations moyennes les plus élevées sont trouvées dans le foie (<math>124,4 \pm 23,4</math> µg/kg de poids frais). La concentration moyenne dans le muscle est de <math>7,1 \pm 2,5</math> µg/kg de poids frais.</p> <p>Pas de MC détectées dans les poissons témoins.</p>

	Les auteurs ont estimé l'exposition aux MC par la consommation de 300g de muscle par un individu de 60 kg et ont conclu que cela conduirait à des dépassements de la DJT proposée par l'OMS pour 4 des 13 lacs.
<b>Conclusion</b>	Les résultats ne sont présentés que sous forme de figures. En l'absence de données chiffrées pour les concentrations dans les muscles et dans l'eau, il n'est pas possible de conclure sur une possible relation entre ces 2 paramètres.
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	<p>Cette étude met en évidence des concentrations élevées de MC dans des lacs utilisés pour la pêche, l'eau de consommation, d'irrigation et d'usage récréatif. Les concentrations en MC dans le muscle des poissons pourraient conduire à des expositions alimentaires pouvant présenter un risque pour la santé du consommateur.</p> <p>De plus, le rendement d'extraction des MC n'est que de 54%, ce qui peut induire une sous-estimation des niveaux réels de contamination des muscles de poisson.</p>
<b>Informations complémentaires</b>	La carpe de Prusse est omnivore.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Papadimitriou et al. (2012a). Seasonally accumulation of microcystins in the various tissues of an endemic and protected fish species ( <i>Rutilus panos</i> ) with different sizes. Clean – Soil, Air, Water 40(4): 402-407																											
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac grec																											
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																											
<b>Pays</b>	Grèce																											
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Rutilus panosi</i> , gardon																											
<b>Présente en Europe</b>	OUI mais très rare (liste rouge), endémique de quelques lacs grecs <sup>19</sup>																											
<b>Présente en France</b>	NON																											
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																											
<b>Protocole expérimental</b>	160 poissons ont été prélevés dans le lac Pamvotis au cours des 4 saisons de l'année 2005 et ont été répartis en classes de taille de 10 individus/saison. 10 gardons de différentes tailles provenant du lac Trichonis ont été utilisés comme témoins. De plus, 6 carpes ( <i>Carassius gibelio</i> ) provenant d'une pêcherie ont été maintenus 16 mois dans un aquarium avec de l'eau sans MC pour servir de témoin.																											
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle, rein, cerveau																											
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																											
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (Abraxis-Microcystin 520011) MC libres uniquement																											
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LQ = 0,02–0,07 µg/L, rendement d'extraction = 74% dans le foie et 70,6% dans le muscle. L'effet matrice était négligeable (de 0,08 à 5,2% de différence entre les essais avec matrices et ceux dans le méthanol avec une moyenne de 1,9%).																											
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface et d'écume ont été réalisés chaque mois entre mars et octobre 2005. Les MC ont été analysées par ELISA sous forme dissoute dans l'eau ou associées aux matières en suspension dans l'écume																											
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, la concentration a varié entre 0,57 et 2,5 µg MC-LReq/L pour les MC dissoutes.</p> <p>Présence de <i>Microcystis</i> et <i>Anabaena</i> entre juin et mi-automne, avec efflorescence visible en surface.</p> <p>Dans l'écume, la concentration a varié entre 3,17 et 12 µg MC-LReq/L</p>  <table border="1"> <caption>Data for Figure 1: Variation of MCYST concentrations in water and scum of Lake Pamvotis during the period March–October, 2005.</caption> <thead> <tr> <th>Month</th> <th>MCYST in water (ng/L)</th> <th>MCYST in scum (ng/L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mar.</td> <td>~500</td> <td>~4000</td> </tr> <tr> <td>Apr.</td> <td>~1000</td> <td>~3500</td> </tr> <tr> <td>May</td> <td>~1000</td> <td>~3000</td> </tr> <tr> <td>Jun.</td> <td>~500</td> <td>~3000</td> </tr> <tr> <td>Jul.</td> <td>~500</td> <td>~3500</td> </tr> <tr> <td>Aug.</td> <td>~2500</td> <td>~12000</td> </tr> <tr> <td>Sep.</td> <td>~1000</td> <td>~5000</td> </tr> <tr> <td>Oct.</td> <td>~1500</td> <td>~3500</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Figure 1.</b> Variation of MCYST concentrations in water and scum of Lake Pamvotis during the period March–October, 2005.</p>	Month	MCYST in water (ng/L)	MCYST in scum (ng/L)	Mar.	~500	~4000	Apr.	~1000	~3500	May	~1000	~3000	Jun.	~500	~3000	Jul.	~500	~3500	Aug.	~2500	~12000	Sep.	~1000	~5000	Oct.	~1500	~3500
Month	MCYST in water (ng/L)	MCYST in scum (ng/L)																										
Mar.	~500	~4000																										
Apr.	~1000	~3500																										
May	~1000	~3000																										
Jun.	~500	~3000																										
Jul.	~500	~3500																										
Aug.	~2500	~12000																										
Sep.	~1000	~5000																										
Oct.	~1500	~3500																										

<sup>19</sup> <http://www.iucnredlist.org/details/135630/0>

Dans le poisson, des MC ont été détectées dans tous les échantillons de tissus des poissons. Les échantillons témoins ne contenaient aucune concentration détectable de MC.

La plus forte concentration moyenne a été trouvée dans le foie ( $407,97 \pm 32,53 \mu\text{g MC-LReq/kg}$  de poids frais). Dans le muscle, la concentration moyenne était de  $19,03 \pm 2,56 \mu\text{g MC-LReq/kg}$  de poids frais. La concentration moyenne la plus élevée est au printemps alors que le pic de cyanotoxines dans l'eau et l'écume est en août.

L'analyse statistique (modèle linéaire généralisé, corrélation de Pearson) a montré des différences significatives de la concentration en MC selon les saisons, **sauf pour les muscles** et des différences significatives selon la taille des poissons. **Les individus de petite taille ont des concentrations en MC dans le muscle significativement plus élevées que les poissons de grande taille.**

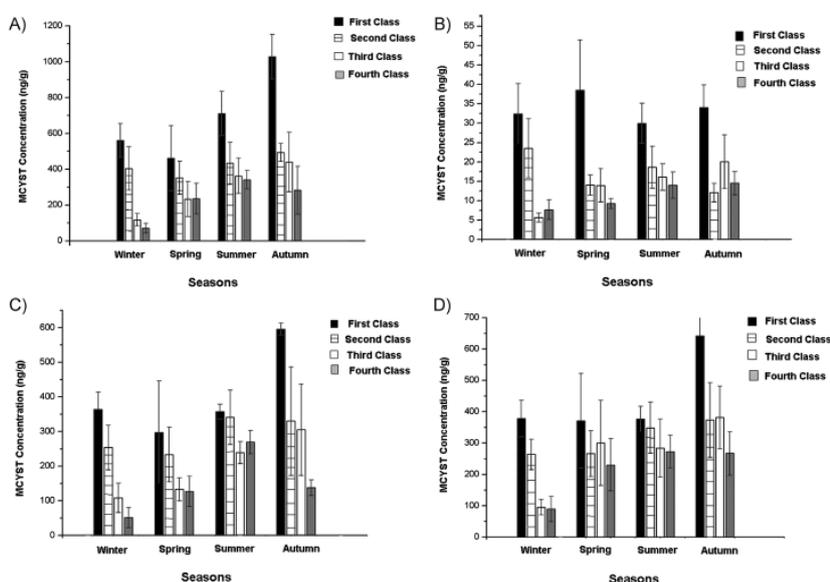
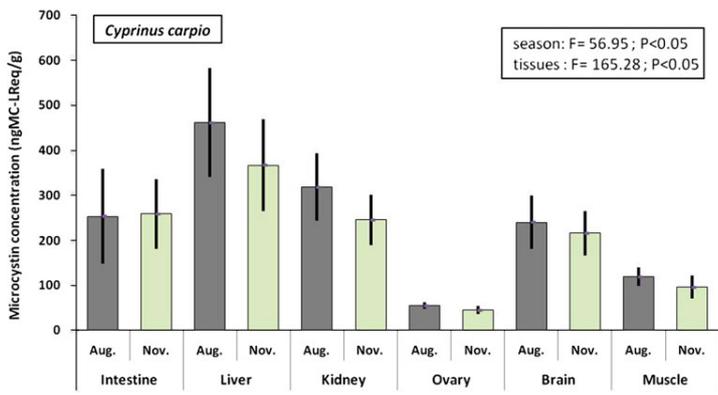
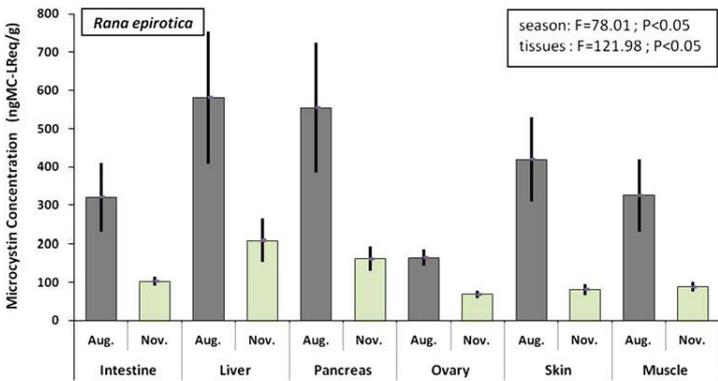
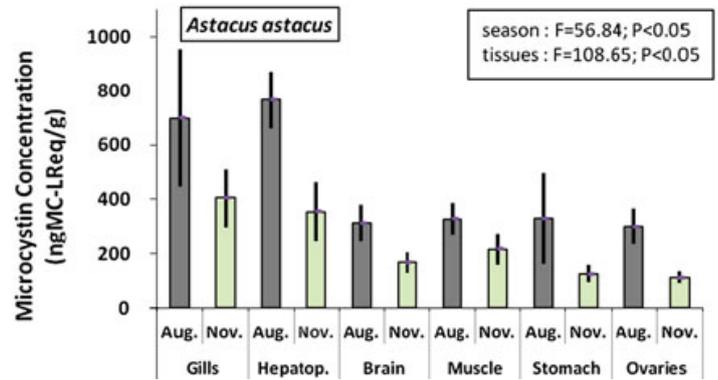


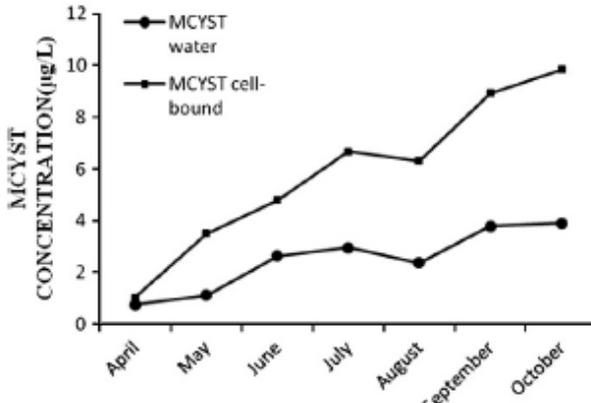
Figure 2. MCYST concentration (ng/g) in (A) liver, (B) muscle, (C) kidney, and (D) brain of *R. panosi*, belonging to different length classes, during winter, spring, summer, and autumn.

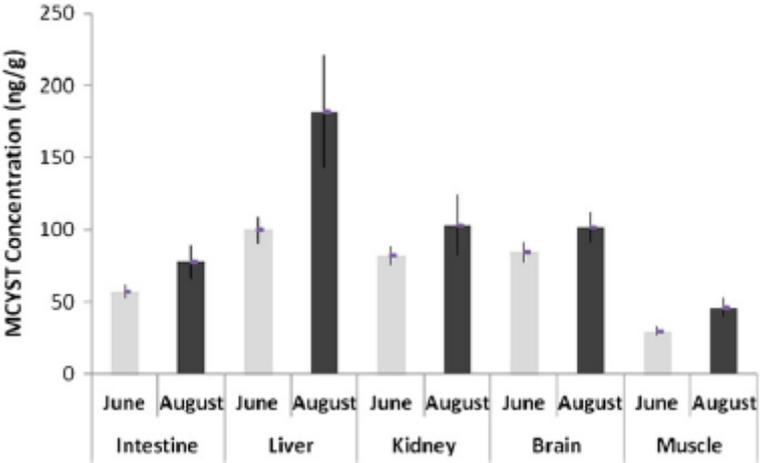
Les auteurs ont estimé l'exposition aux MC par la consommation de 300g de muscle par un individu de 60 kg et ont conclu que cela conduirait à des dépassements de la DJT proposée par l'OMS pour les poissons de grande taille.

<b>Conclusion</b>	<p><b>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et la concentration en MC dans l'eau (dissoute ou dans l'écume).</b></p> <p><b>Au sein d'une même espèce, les individus de petite taille ont des concentrations en MC dans le muscle significativement plus élevées que les poissons de grande taille.</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction est de 74% dans le foie, 71% dans les reins et 72.5% dans le cerveau et 70.6% dans les muscles ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.
<b>Informations complémentaires</b>	Pour expliquer les concentrations en MC plus élevées dans les tissus des poissons de petite taille par rapport à eux de grande taille les auteurs avancent 2 hypothèses : i) des régimes alimentaires différents, les petits poissons se nourrissant plus d'algues et les gros poissons plus de zooplancton et de larves de mollusques ; ii) une capacité de détoxification et/ou d'extraction des MC moins efficace chez les petits poissons.

<b>Référence</b>	Papadimitriou et al. (2012b). 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. <i>Ecotoxicology</i> 21(4): 1155-1166.																					
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination de la chaîne alimentaire d'un lac grec (phytoplancton, zooplancton, écrevisses, crevettes, moules, gastéropodes, poissons, grenouilles).																					
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																					
<b>Pays</b>	Grèce																					
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune OUI OUI																					
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																					
<b>Protocole expérimental</b>	Entre août et novembre 2008, 10 individus de chaque espèce ont été prélevés dans le lac Pamvotis. Pour les poissons il s'agissait de la carpe avec un poids moyen de 850 g. 6 carpes ( <i>C. carpio</i> ) provenant d'une pêcherie ont été maintenues 16 mois dans un aquarium avec de l'eau sans MC pour servir de témoins.																					
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, intestin, muscle, rein, cerveau, ovaires																					
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																					
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (Abraxis-Microcystin 520011). MC libres uniquement																					
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LQ = 0,02–0,07 µg/L, rendement d'extraction = 74% dans le foie et 70,6% dans le muscle. L'effet matrice était négligeable (de 0,08 à 5,2% de différence entre les essais avec matrices et ceux dans le méthanol avec une moyenne de 1,9%).																					
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (1L, 1 m de profondeur) ont été réalisés chaque mois en 2008. Les MC intra et extracellulaires ont été analysés par ELISA.																					
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, la concentration en MC dissoutes a varié entre 0,32 MC-LReq/L en décembre et 4,12 µg MC-LReq/L en octobre. Pour les MC intracellulaires, elle a varié entre 0,29 MC-LReq/L en mars et 15,83 µg MC-LReq/L en septembre.</p> <p>Dans le muscle des carpes, la concentration en MC a varié entre 119,07 ± 32,99 µg et 95,78 ± 30,79 MC-LReq/kg de poids frais.</p> <p>Dans le foie, la concentration en MC a varié entre 462,09 ± 125,54 µg et 367,09 ± 89,58 MC-LReq/kg de poids frais.</p> <p>Les échantillons témoins ne contenaient aucune concentration détectable de MC.</p>  <table border="1"> <caption>Approximate data from Figure 4: Microcystin concentrations (ng MC-LReq/g) in tissues of fish (Cyprinus carpio)</caption> <thead> <tr> <th>Tissue</th> <th>Aug. 2008</th> <th>Nov. 2008</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Intestine</td> <td>~250</td> <td>~250</td> </tr> <tr> <td>Liver</td> <td>~460</td> <td>~360</td> </tr> <tr> <td>Kidney</td> <td>~320</td> <td>~240</td> </tr> <tr> <td>Ovary</td> <td>~50</td> <td>~40</td> </tr> <tr> <td>Brain</td> <td>~240</td> <td>~210</td> </tr> <tr> <td>Muscle</td> <td>~120</td> <td>~90</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fig. 4 Microcystin concentrations (ng MC-LReq/g) in tissues of fish (<i>Cyprinus carpio</i>) originated from Lake Pamvotis, during August and November 2008</p>	Tissue	Aug. 2008	Nov. 2008	Intestine	~250	~250	Liver	~460	~360	Kidney	~320	~240	Ovary	~50	~40	Brain	~240	~210	Muscle	~120	~90
Tissue	Aug. 2008	Nov. 2008																				
Intestine	~250	~250																				
Liver	~460	~360																				
Kidney	~320	~240																				
Ovary	~50	~40																				
Brain	~240	~210																				
Muscle	~120	~90																				

<b>Conclusion</b>	Pas de preuve de biomagnification des MC le long de la chaîne alimentaire. Les auteurs déconseillent la consommation d'animaux aquatiques du lac Pamvotis, en raison des concentrations en MC.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction est de 74% dans le foie, 71% dans les reins et 72.5% dans le cerveau et 70.6% dans les muscles, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.
<b>Informations complémentaires</b>	<p>La carpe commune est omnivore.</p>  <p>Fig. 4 Microcystin concentrations (ng MC-LReq/g) in tissues of frogs (<i>Rana epirotica</i>) originated from Lake Pamvotis, during August and November 2008</p> <p><b>Dans le muscle des grenouilles, la concentration en MC a varié entre 325,49 ± 87,01 µg et 88,12± 20,85 MC-LReq/kg de poids frais.</b></p>  <p>Fig. 3 Microcystin concentrations (ng MC-LReq/g) in crayfish originated from Lake Pamvotis, during August and November 2008</p> <p><b>Dans le muscle des écrevisses, la concentration en MC a varié entre 368,61 ± 95,29 µg et 216,41± 65,71 MC-LReq/kg de poids frais.</b></p>

<b>Référence</b>	Papadimitriou et al. (2013). Artificially-born "killer" lake: Phytoplankton based water quality and microcystin affected fish in a reconstructed lake. <i>Science of the total environment</i> 452-453:116-z124																								
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac grec																								
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																								
<b>Pays</b>	Grèce																								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> , carpe commune																								
<b>Présente en Europe</b>	OUI																								
<b>Présente en France</b>	OUI																								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																								
<b>Protocole expérimental</b>	10 carpes femelles d'un poids moyen de 533 g ont été prélevées dans le lac Karla en juin et août 2010. 6 carpes communes ( <i>C. carpio</i> ) provenant d'une pêcherie ont été maintenues 16 mois dans un aquarium avec de l'eau sans MC pour servir de témoin.																								
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, intestin, muscle, rein, cerveau																								
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																								
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (ABRAXIS-Microcystin 520011) MC libres uniquement																								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LQ = 0,02–0,07 µg/L, rendement d'extraction = 74% dans le foie et 70,6% dans le muscle. L'effet matrice était négligeable (de 0,08 à 5,2% de différence entre les essais avec matrices et ceux dans le méthanol avec une moyenne de 1,9%).																								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (50 cm de profondeur) ont été réalisés chaque mois entre avril à octobre 2010, dans 3 stations. Les MC intra et extracellulaires ont été analysées par ELISA.																								
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, la concentration en MC dissoutes a varié entre 0,75 et 3,9 µg MC-LReq/L et celle en MC intracellulaires entre 1,01 et 9,83 µg MC-LReq/L.</p>  <table border="1"> <caption>Data for Figure 5: Variation of MCYST concentration in water and seston of Lake Karla</caption> <thead> <tr> <th>Month</th> <th>MCYST water (µg/L)</th> <th>MCYST cell-bound (µg/L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>April</td> <td>0,75</td> <td>1,01</td> </tr> <tr> <td>May</td> <td>1,0</td> <td>3,5</td> </tr> <tr> <td>June</td> <td>2,5</td> <td>4,8</td> </tr> <tr> <td>July</td> <td>2,8</td> <td>6,5</td> </tr> <tr> <td>August</td> <td>2,2</td> <td>6,2</td> </tr> <tr> <td>September</td> <td>3,8</td> <td>8,8</td> </tr> <tr> <td>October</td> <td>3,9</td> <td>9,83</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fig. 5. Variation of MCYST concentration in water and seston of Lake Karla.</p> <p>Dans le poisson, des MC ont été détectées dans tous les échantillons de tissus des poissons. Les échantillons témoins ne contenaient aucune concentration détectable de MC.</p> <p>Les concentrations en MC étaient significativement plus élevées en août qu'en juin dans le foie et le muscle.</p> <p>Dans le foie, la concentration en MC en août était de 181,91 µg MC-LReq/kg de poids frais).</p> <p>Dans le muscle, elle était de 29,83 ± 32,53 µg MC-LReq/kg de poids frais en juin.</p>	Month	MCYST water (µg/L)	MCYST cell-bound (µg/L)	April	0,75	1,01	May	1,0	3,5	June	2,5	4,8	July	2,8	6,5	August	2,2	6,2	September	3,8	8,8	October	3,9	9,83
Month	MCYST water (µg/L)	MCYST cell-bound (µg/L)																							
April	0,75	1,01																							
May	1,0	3,5																							
June	2,5	4,8																							
July	2,8	6,5																							
August	2,2	6,2																							
September	3,8	8,8																							
October	3,9	9,83																							

	<p>La concentration de MC musculaire est corrélée à celle du foie et dans l'intestin.</p>  <table border="1" data-bbox="555 300 1315 763"> <caption>Estimated data from Figure 6: MCYST concentrations (ng/g)</caption> <thead> <tr> <th>Tissue</th> <th>June (ng/g)</th> <th>August (ng/g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Intestine</td> <td>~55</td> <td>~80</td> </tr> <tr> <td>Liver</td> <td>~100</td> <td>~185</td> </tr> <tr> <td>Kidney</td> <td>~85</td> <td>~105</td> </tr> <tr> <td>Brain</td> <td>~85</td> <td>~105</td> </tr> <tr> <td>Muscle</td> <td>~30</td> <td>~45</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fig. 6. MCYST concentrations in the tissues of <i>Cyprinus carpio</i> collected from Lake Karla during June and August 2010.</p> <p>Les auteurs ont estimé l'exposition aux MC par la consommation de 300g de muscle par un individu de 60 kg et ont conclu que cela conduirait à des dépassements de la DJT proposée par l'OMS.</p>	Tissue	June (ng/g)	August (ng/g)	Intestine	~55	~80	Liver	~100	~185	Kidney	~85	~105	Brain	~85	~105	Muscle	~30	~45
Tissue	June (ng/g)	August (ng/g)																	
Intestine	~55	~80																	
Liver	~100	~185																	
Kidney	~85	~105																	
Brain	~85	~105																	
Muscle	~30	~45																	
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>La concentration en MC dans le muscle des carpes est plus élevée lorsque la concentration en MC dans l'eau intra et extracellulaires est aussi plus élevée.</b></p>																		
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>																		
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Le rendement d'extraction est de 74% dans le foie, 71% dans les reins et 72.5% dans le cerveau et 70.6% dans les muscles, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>																		
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe commune est omnivore.</p>																		

<b>Référence</b>	Rios et al. (2013). Analysis of MC-LR and MC-RR in tissue from freshwater fish ( <i>Tinca tinca</i> ) and crayfish ( <i>Procambarus clarkii</i> ) in tench ponds (Cáceres, Spain) by liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS). Food and Chemical Toxicology 57: 170–178
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination d'une espèce de poisson et de l'écrevisse.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Espagne
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Tinca tinca</i> tanche
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	60 poissons ont été prélevés dans 3 étangs (Barruecos de Abajo, Lugar, et Albufera), 4 spécimens par étang et par période de prélèvement (5 entre juillet et septembre 2009), avec des poids compris entre 17 et 255 g. Des poissons prélevés dans des eaux dépourvues de MC ont été utilisés comme témoins.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	QTRAP LC-MS/MS pour MC-RR, MC-LR et MC-YR MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1. Les auteurs indiquent que leur méthode a été validée. LD = 30 µg/kg poids sec pour le foie et 6 µg/kg pour les muscles. LQ entre 30 et 40 µg/kg de poids sec pour le foie et 8 µg/g pour les muscles. Les rendements d'extraction sont supérieurs à 93% pour les différents tissus examinés, et pour chacune des trois toxines
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (2 L, 10-20 cm de profondeur) ont été réalisés dans les 3 sites en juillet (1 prélèvement), août (3 prélèvements) et septembre 2009 (1 prélèvement).
<b>Résultats</b>	Dans l'eau, une efflorescence de cyanobactéries (> 10 <sup>7</sup> cellules/ml) a été observé au mois d'août dans les 3 sites avec les espèces suivantes : <i>M. aeruginosa</i> , <i>A. spiroides</i> , <i>A. inaequalis</i> , <i>A. flos aquae</i> , <i>A. tanganykae</i> , <i>A. issatchenkoi</i> .  Les concentrations en MC intracellulaires ont varié de < LD à 51,75 µg MC/L (pour la somme de MC-RR, MC-LR et MC-YR).  Dans la tanche, pas de MC détectées dans le foie ni dans le muscle des 60 poissons prélevés.
<b>Conclusion</b>	Pas de MC détectées dans le muscle de tanches (LD = 6 µg/kg de poids sec) malgré la présence d'une efflorescence de cyanobactéries et de fortes concentrations en MC dans l'eau (jusqu'à 51,75 µg/L).
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Une méthode LC-MS a été développée et validée pour la détermination des toxines MC-RR, MC-YR et MC-LR dans les tissus de poisson et d'écrevisse. Cette technique semble sélective, sensible et reproductible.
<b>Informations complémentaires</b>	La tanche est omnivore.  20 écrevisses ( <i>Procambarus clarkii</i> ) ont été prélevées, la concentration en MC dans la partie comestible (hors tête) était en moyenne de 48,7 ± 38,5 µg MC/kg de poids sec pour la somme de MC-RR, MC-LR et MC-YR (min 7,2 et max 85,7 µg MC/kg de poids sec). MC-LR était dominante, le reste était sous forme de MC-RR. Pas de Mc-YR détectée.  La perte de poids par lyophilisation était de 78-80% dans le muscle de poisson et d'écrevisse.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Schmidt et al. (2013). Variations in the microcystin content of different fish species collected from a eutrophic lake. <i>Toxins</i> 5: 992-1009
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons dans un lac.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Etats-Unis
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Pomoxis nigromaculatus</i> marigane noire <sup>20</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Présente en Europe</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	<i>Micropterus salmoide</i> achigan à grande bouche <sup>21</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Présente en Europe</b>	<i>Lepomis macrochirus</i> crapet arlequin
<b>Présente en France</b>	OUI ? (introduit)
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	<i>Ictalurus punctatus</i> barbue de rivière <sup>22</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	129 poissons ont été prélevés dans un lac de l'Ohio (Grand Lake St. Marys) en juin et août 2011, juin et juillet 2012, dont 69 mariganes noires et 15 individus pour chacune des 4 autres espèces.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Non précisé dans l'article (mais muscle probablement)
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS (MC-LR) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD fournies pour chaque état de transition de la MC-LR (0.05 à 0.24 µg/kg de poids frais). Le rendement d'extraction dans le muscle était en moyenne de 68,5% (54 à 106%).
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	4 prélèvements d'eau ont été réalisés entre avril et septembre 2012 et analysés par LC-MS/MS.
<b>Résultats</b>	Dans l'eau, l'analyse par LC-MS /MS n'a pas détecté de MC-LR (LD = 0,01 µg/L). Malgré l'absence de MC dans l'eau, 8 des 129 poissons avaient des concentrations en MC-LR dans le muscle supérieures à la LQ : 7 mariganes noires et 1 carpe. Chez la marigane noire, les concentrations étaient de 1 à 70 µg/kg de poids frais. Chez la carpe, la concentration de MC-LR était de 3.5 µg/kg.
<b>Conclusion</b>	<b>Les résultats mettent en évidence une forte variabilité de la contamination en MC-LR selon l'espèce de poisson. Seules 2 espèces sur 5 étudiées au total avaient des concentrations quantifiables. Cependant, cela ne représentait que 10% des échantillons de <i>Pomoxis nigromaculatus</i> et 6,6% des échantillons de <i>Cyprinus carpio</i>.</b> <b>Présence de MC dans les tissus des poissons en absence de MC dans l'eau.</b>

<sup>20</sup> <http://www.fishbase.org/summary/Pomoxis-nigromaculatus.html>

<sup>21</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/69346/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/69346/tab/rep/METROP)

<sup>22</sup> [http://www.gt-ibma.eu/wp-content/uploads/2013/01/INVAQUA\\_rapport\\_annexe\\_Octobre2011.pdf](http://www.gt-ibma.eu/wp-content/uploads/2013/01/INVAQUA_rapport_annexe_Octobre2011.pdf)

<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	<p>Les auteurs ne mentionnent pas précisément dans quels tissus sont effectués les dosages de toxines, ce qui peut altérer grandement les résultats, et fausser l'interprétation.</p> <p>Les auteurs ne précisent pas le lieu de prélèvement d'eau ni les lieux de prélèvement des poissons.</p> <p>Le rendement d'extraction de MC-LR est de 88.8% dans l'eau, 68.5% dans les muscles de poisson, en moyenne, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>
<b>Informations complémentaires</b>	

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Sotton et al. (2011). Spatial match between <i>Planktothrix rubescens</i> and whitefish in a mesotrophic peri-alpine lake: evidence of toxins accumulation. Harmful Algae 10: 749–758																																																										
<b>Objectifs</b>	Etude de corrélation entre les distributions spatiales d'une cyanobactérie ( <i>Planktothrix rubescens</i> ) et d'une espèce de poisson dans un lac.																																																										
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																										
<b>Pays</b>	France																																																										
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Coregonus lavaretus</i> , lavaret																																																										
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																										
<b>Présente en France</b>	OUI																																																										
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																																										
<b>Protocole expérimental</b>	8 poissons ont été prélevés dans le lac du Bourget en septembre 2009 lors d'une efflorescence de <i>Planktothrix rubescens</i> . La distribution des cyanobactéries a été suivie par une sonde fluoroprobe BBE et celle des poissons par une sonde acoustique.																																																										
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle, intestin, branchies																																																										
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																										
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC/PDA pour les MC intracellulaires et par LC-MS pour les MC dans les tissus des poissons (MC-LR, MC-RR)																																																										
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD = 0.5 µg/kg et LQ = 1.6 µg/kg de poids sec. Une courbe de calibration a été réalisée.																																																										
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (2 L) ont été réalisés au milieu de 6 transepts et sur 3 profondeurs (6, 12m et au pic de densité cellulaire).																																																										
<b>Résultats</b>	<p>De la MC-LR a été détectée dans 5 des 8 lavarets analysés dans leur intestin et/ou le foie.</p> <p>Dans le foie, les concentrations étaient de: 15,40, 6,05 et 4,25 µg/kg de poids sec. Dans 2 des 5 poissons contaminés, seul l'intestin présentait de la MC-LR, à 1,61 et 5,18 µg/kg de poids sec. Ces résultats suggèrent une ingestion de <i>P. rubescens</i> par les lavarets. En revanche, la <b>MC-LR n'a été détectée dans aucun échantillon de muscle</b> ni de branchie.</p> <p><b>Table 2</b> Concentration of MC in different tissues of <i>C. lavaretus</i> naturally exposed to toxic cyanobacterial blooms of <i>P. rubescens</i> in the lake Bourget.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Fish weight (g ww)<sup>a</sup></th> <th rowspan="2">MC-LR (ng)<sup>b</sup></th> <th colspan="4">MC-LR (ng/g dw) in:</th> </tr> <tr> <th>Liver</th> <th>Gill</th> <th>Intestine</th> <th>Muscle</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>280</td> <td>4.11</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>1.61</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>300</td> <td>95.11</td> <td>15.40</td> <td>nd</td> <td>5.16</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>340</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>350</td> <td>26.39</td> <td>6.05</td> <td>nd</td> <td>2.78</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>380</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>450</td> <td>15.67</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>5.18</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>550</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>590</td> <td>31.08</td> <td>4.25</td> <td>nd</td> <td>3.95</td> <td>nd</td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>a</sup> Weight without tip. <sup>b</sup> Concentration in MC-LR equivalent (MC-LR and MC-RR) in organs. nd: not detectable, below detection limit of 0.5 ng/g; quantification limit of 1.6 ng/g.</p> <p>La distribution spatiale des lavarets montre que ceux-ci n'ont pas un comportement d'évitement ou de préférences des zones avec une forte densité cellulaire de cyanobactéries.</p>	Fish weight (g ww) <sup>a</sup>	MC-LR (ng) <sup>b</sup>	MC-LR (ng/g dw) in:				Liver	Gill	Intestine	Muscle	280	4.11	nd	nd	1.61	nd	300	95.11	15.40	nd	5.16	nd	340	nd	nd	nd	nd	nd	350	26.39	6.05	nd	2.78	nd	380	nd	nd	nd	nd	nd	450	15.67	nd	nd	5.18	nd	550	nd	nd	nd	nd	nd	590	31.08	4.25	nd	3.95	nd
Fish weight (g ww) <sup>a</sup>	MC-LR (ng) <sup>b</sup>			MC-LR (ng/g dw) in:																																																							
		Liver	Gill	Intestine	Muscle																																																						
280	4.11	nd	nd	1.61	nd																																																						
300	95.11	15.40	nd	5.16	nd																																																						
340	nd	nd	nd	nd	nd																																																						
350	26.39	6.05	nd	2.78	nd																																																						
380	nd	nd	nd	nd	nd																																																						
450	15.67	nd	nd	5.18	nd																																																						
550	nd	nd	nd	nd	nd																																																						
590	31.08	4.25	nd	3.95	nd																																																						
<b>Conclusion</b>	<p><b>Les résultats indiquent que la présence de <i>P. rubescens</i> n'exerce pas une pression importante sur le modèle de distribution spatiale du lavaret. Ce poisson était présent dans les mêmes zones que <i>P. rubescens</i> pendant la journée, et il ne cherchait pas à éviter la zone de présence abondante de cette cyanobactérie.</b></p> <p>Pas de MC détectée dans le muscle malgré l'efflorescence de <i>P. rubescens</i>.</p>																																																										

<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Bonne</b>
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction n'est pas indiqué. Seule la MC-LR a été recherchée. Les résultats de concentrations en MC dans l'eau ne sont pas présentés.
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>contam</sub>

<b>Référence</b>	Sotton et al. (2012a). Short-term uptake of microcystin-LR by <i>Coregonus lavaretus</i> : GST activity and genotoxicity. <i>Ecotoxicology</i> 21: 1788–1796
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 96h
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	France
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Coregonus lavaretus</i> , lavaret
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	MC-LR
<b>Protocole expérimental</b>	<p>Des lavarets juvéniles de 2 g (œufs provenant du lac du Bourget) ont été exposés individuellement par gavage à de la MC-LR synthétique (dose unique de 0,05 ou 0,5 µg/poisson) après un jeûne de 24h. Les animaux ont été sacrifiés à différents temps (6, 12, 24, 48 ou 96 h) pour prélever le foie, les muscles et le sang. Les mesures comprenaient l'activité GST et le test des comètes.</p> <p>Les essais ont été réalisés en triplicat. Chaque essai comportait 200 poissons : 20 poissons/dose/temps de prélèvement. + 100 poissons témoins gavés avec la solution sans MC + 100 poissons non gavés. Les mesures ont été réalisées sur les muscles poolés (n=20).</p> <p>Le taux de survie des poissons pendant l'expérimentation est compris entre 80 et 100% (sauf à 96 h sur un réplicat où une mortalité élevée a été observée quel que soit le traitement). Les poissons n'ont pas été nourris pendant l'expérience. Ils étaient 20 par aquarium.</p> <p>Avant le gavage, les poissons étaient anesthésiés (propiscine).</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle, sang (hématies)
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda(Abraxis LLC) MC-libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD = 0.15 µg MC-LReq/L Le rendement d'extraction de MC-LR est de 87% pour le foie et 78% pour les muscles,
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	2 doses testées en gavage : 0,5 et 0,05 µg MC-LR/poisson.
<b>Résultats</b>	<p>Pas de MC-LReq détectée dans les échantillons de poissons témoins.</p> <p>Les profils de cinétique d'accumulation dans le muscle (jusqu'à 96h après administration unique par gavage) sont différents pour les 2 doses testées. Il en est de même pour le foie. A la forte dose, une tendance à une plus forte accumulation est observée après 48h alors qu'un plateau apparaît à la faible dose. En raison du faible nombre de valeurs (n=3 pour 3 réplicats car les 20 individus par point ont été poolés) l'analyse statistique ne montre pas de différence significative.</p> <p>A la fin de l'expérience, la concentration en MC-LReq dans le foie est de 120 et 40 µg/kg de poids frais à la forte et faible dose. Dans le muscle, elle est respectivement de 40 et 15 µg/kg de poids frais.</p>

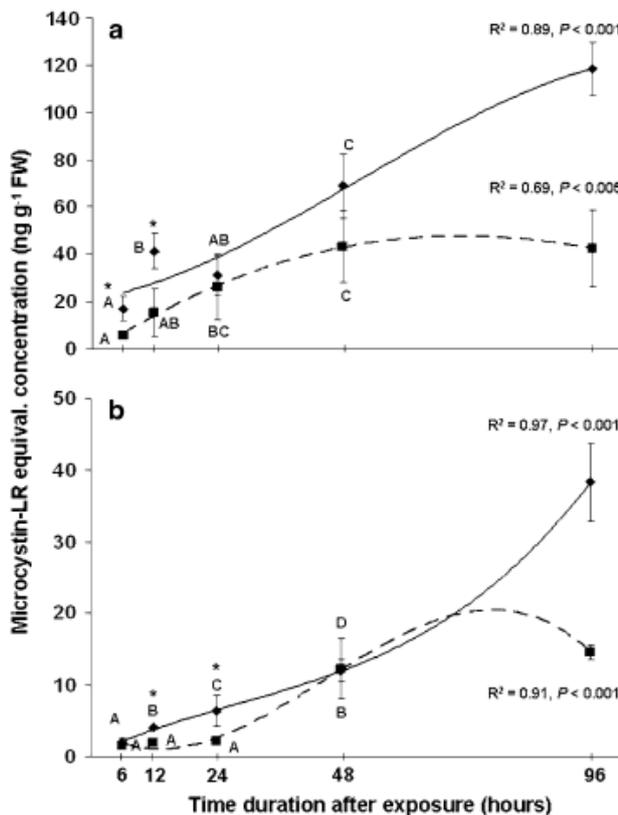


Fig. 1 Accumulation of MC-LR in liver (a) and muscle (b) of whitefish (*Coregonus lavaretus*) under two relevant doses, 0.5 lg/fish (diamond, full line) and 0.05 lg/fish (square, dotted line). Mean values (n = 3 tanks/treatment) are presented on the figure with error bars indicating standard deviations. Regression curves were done using raw data at each sampling points. \* correspond to significant differences (Mann–Whitney, P\0.05) observed for the comparison between microcystin treatments. Different letters correspond to significant differences between sampling times for each dose (Kruskal–Wallis followed by a multiple pairwise comparisons of Conover–Iman, P\0.05). Concentrations of MC-LR eq are expressed as ng g<sup>-1</sup> of liver and muscle fresh weigh

<b>Conclusion</b>	<b>Les concentrations en MC-LR augmentent dans le muscle et le foie pendant 48h après une exposition unique (orale par gavage). Au-delà de 48h, les profils de cinétique d'accumulation (jusqu'à 96h après administration) sont différents selon la dose de MC-LR (forte ou faible) que ce soit pour le foie ou pour le muscle. L'augmentation continue pour la forte dose mais stagne pour la faible dose.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction de MC-LR est de 87% pour le foie et 78% pour les muscles, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.  Poissons juvéniles. Poissons non nourris pendant l'expérience.
<b>Informations complémentaires</b>	Le lavaret est omnivore.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Sotton et al. (2012b). Impact of toxic cyanobacterial blooms on eurasian perch ( <i>Perca fluviatilis</i> ): experimental study and <i>in situ</i> observations in a peri-alpine lake. PLoS ONE 7(12): e52243
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac et en laboratoire
<b>Type d'étude</b>	Environnemental et laboratoire
<b>Pays</b>	France
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Perca fluviatilis</i> , perche commune
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<p><u>In situ</u> : 27 jeunes perches de l'année ont été prélevées dans le lac du Bourget en 2009 (11 et 27 août, 7 et 29 septembre, 22 octobre). Les muscles et les foies ont été analysés par pool de 3. La distribution des cyanobactéries a été suivie par une sonde fluoroprobe BBE et celle des poissons par une sonde acoustique.</p> <p><u>En laboratoire</u> :</p> <p>Des perches juvéniles de 3,3 g (œufs provenant du lac de Genève) ont été exposés individuellement par gavage à de la MC-LR synthétique (dose unique de 0,05 ou 0,5 µg/poisson) après un jeûne de 24h. Les animaux ont été sacrifiés à différents temps (6, 12, 24, 48 ou 96 h) pour prélever le foie, les muscles et le sang. Les mesures comprenaient l'activité GST et le test des comètes.</p> <p>Les essais ont été réalisés en triplicat. Chaque essai comportait 220 poissons : 22 poissons/dose/temps de prélèvement. + 110 poissons témoins gavés avec la solution sans MC + 110 poissons non gavés.</p> <p>Les muscles et les foies ont été analysés par pool de 10.</p> <p>Le taux de mortalité n'a jamais dépassé 10% dans les groupes expérimentaux..</p> <p>Les poissons n'ont pas été nourris pendant l'expérience. Ils étaient 22 par aquarium. Avant le gavage, les poissons étaient anesthésiés (propiscine).</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel ou orale
<b>Méthode d'analyse</b>	Identification par HPLC-PDA, quantification par ELISA anti-Adda (Abraxis LLC). MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD = 0.15 µg MC-LReq/L (d'après Sotton et al., 2012a). Le rendement d'extraction de MC-LR est de 87% pour le foie et 78% pour les muscles,
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p><u>In situ</u> : des prélèvements d'eau (2 L) ont été réalisés au milieu de 6 transepts et sur 3 profondeurs (6, 12m et au pic de densité cellulaire) 2 fois par mois en août et septembre 2009 et 1 fois en octobre 2009..</p> <p><u>En laboratoire</u> : 2 concentrations de MC-LR testées par gavage.</p>
<b>Résultats</b>	<p><u>In situ</u>. Pas de corrélation spatiale entre l'abondance de la perche et la cyanobactérie <i>P. rubescens</i>.</p> <p>Des MC ont été détectées dans le foie et le muscle de la perche d'août à octobre. Les concentrations maximales (34 µg MC-LReq/kg de poids frais dans le foie; 14 µg MC-LReq/kg de poids frais dans les muscles) ont été mesurés le 27 août 2009, ce qui correspond au pic de MC dans la colonne d'eau (3,4 µg MC-LReq/L pour les MC intracellulaires, moyenne des 3 profondeurs). La concentration en MC dans les daphnies (proies de jeunes perches) était de 422 µg MC-LReq/kg de poids frais.</p> <p>Par la suite, une diminution significative de concentration de MC a été mesurée dans l'eau et dans les 2 organes. L'analyse statistique a montré une <b>corrélation positive entre la concentration de MC dans le seston et celle dans le foie et le muscle</b> (corrélation de Pearson). Quelle que</p>

soit la date, les concentrations de MC sont plus élevées dans le foie que dans le muscle.

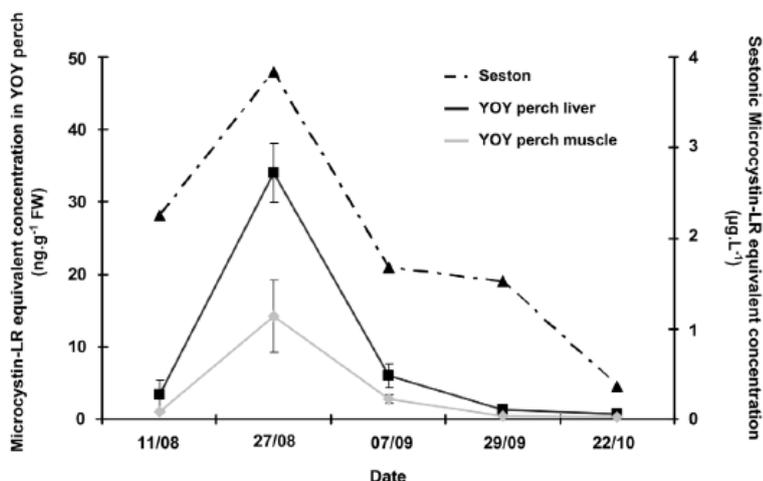


Fig 4. MC concentrations in liver and muscle of YOY perch and in seston during summer 2009 in Lake Bourget. Sestonic MC-LR eq concentrations are expressed as µg/L and correspond to the sum of average concentrations found at the 3 depths sampled (6 m, 12 m, *P. rubescens* peak depth). MC-LR eq concentrations measured in organs are expressed as ng/g fresh weight.

#### **En laboratoire.**

Pas de MC-LReq détectée dans les échantillons de poissons témoins.

Pour les 2 doses de MC-LR, la toxine a été détectée dans les échantillons de foie et de muscle des perches de la 1<sup>ère</sup> période d'échantillonnage (6h) jusqu'à la fin de l'expérience (96h). Les concentrations dans le foie sont supérieures à celles dans le muscle.

A 6h, les concentrations dans les 2 organes sont dose-dépendantes (concentration dans le tissu plus élevée avec la forte dose de MC-LR).

#### **Dans le foie, les profils de la cinétique d'accumulation sont différents selon la dose de MC-LR (faible ou forte).**

Pour la plus forte dose, une augmentation significative de MC-LR est observée 12h après administration, la concentration passant de 22 à 37 µg MC-LReq/kg de poids frais. Puis la concentration a chuté rapidement pour atteindre une valeur proche de 10 µg/kg à 24h.

Pour la plus faible dose, il n'y a pas de pic à 12h, mais au contraire une baisse vers 5-6 µg/kg, puis une légère augmentation pour retrouver une valeur de 10 µg/kg (comme à 6h) suivi d'une stagnation jusqu'à 48h et une diminution à 96h pour retrouver 6 µg/kg.

**Dans le muscle, les profils de la cinétique d'accumulation sont similaires pour les 2 doses testées :** une augmentation entre 6 et 24 après administration, une diminution à 48h puis une nouvelle augmentation à 96h pour atteindre une valeur 2 à 4 fois supérieure à celle observée à 6h. A la fin de l'expérience, la concentration en MC-LR était d'environ 7 µg/kg pour la forte dose et 4 µg/kg pour la faible dose.

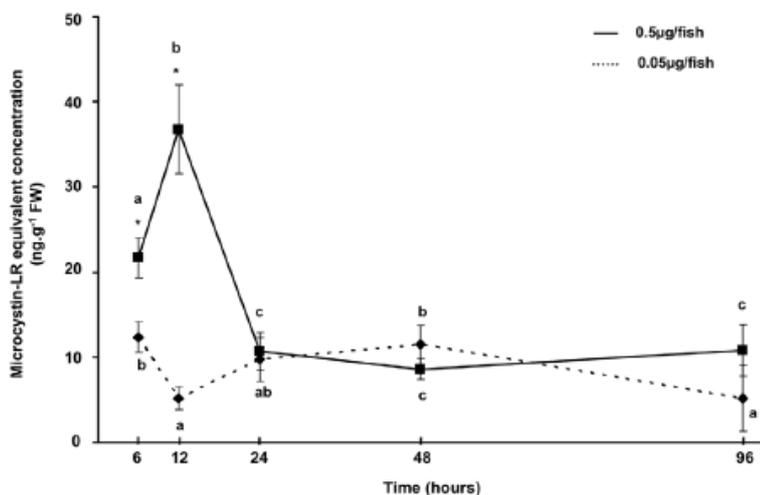


Fig 5. MC-LR accumulation in liver of YOY perch exposed to 0.5 or 0.05 mg/fish. \* corresponds to a significant difference observed between MC treatments (Mann-Whitney, p<0.05). MC-LR eq concentrations are expressed as ng/g fresh weight. Different letters correspond to a significant difference between sampling times (Mann-Whitney, p<0.05)

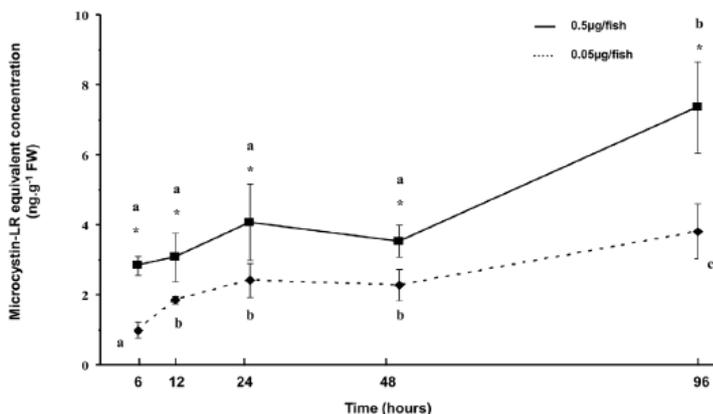


Fig 6. MC-LR accumulation in muscle of YOY perch exposed to 0.5 or 0.05 mg/fish. \* corresponds to a significant difference observed between MC treatments (Mann-Whitney, p<0.05). MC-LR eq concentrations are expressed as ng/g fresh weight. Different letters correspond to a significant difference between sampling times (Mann-Whitney, p<0.05).

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Pas de relation linéaire avec la durée d'exposition dans le muscle et le foie</b> (en laboratoire).</p> <p><b>Dans le foie, les profils de la cinétique d'accumulation sont différents selon la dose de MC-LR</b> (faible ou forte).</p> <p><b>Dans le muscle, les profils de la cinétique d'accumulation sont similaires pour les 2 doses testées. La concentration 96h après l'administration est supérieure à celle obtenue à 6h mais l'augmentation n'est pas linéaire car elle passe par une baisse à 48h.</b></p> <p><b>Corrélation entre la concentration en MC intracellulaires et celle dans le foie et le muscle (<i>in situ</i>).</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Poissons juvéniles</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La perche juvénile se nourrit de zooplancton et principalement de daphnies dans le lac du Bourget or ces daphnies sont très contaminées par Mc et représentent une source de contamination.</p>

<b>Référence</b>	Trinchet et al. (2013). Toxicity of harmful cyanobacterial blooms to bream and roach. <i>Toxicon</i> 71 : 121–127.																			
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de plusieurs lacs																			
<b>Type d'étude</b>	Environnement																			
<b>Pays</b>	France																			
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Rutilus rutilus</i> gardon <i>Abramis brama</i> brème <i>Lepomis gibbosus</i> perche-soleil <i>Perca fluviatilis</i> perche <i>Sander lucioperca</i> sandre <i>Esox lucius</i> brochet <i>Gymnocephalus cernua</i> grémille <i>Cyprinus carpio carpio</i> carpe miroir <i>C. carpio</i> carpe commune																			
<b>Présente en Europe</b>	OUI																			
<b>Présente en France</b>	OUI																			
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																			
<b>Protocole expérimental</b>	93 poissons de 9 espèces ont été prélevés dans 3 lacs (lac d'Enghien, lac de La Grande Paroisse et lac de la base de Loisir de Champs-sur-Marne, Ile-de-France) concernés par des efflorescences de cyanobactéries au cours de 8 campagnes de prélèvements sur 2 années au moment des pics de cyanobactéries (septembre et octobre). Années non précisées. Résultats montrés pour deux espèces représentatives : la brème (n= 4) et le gardon (n=6).																			
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, intestin, muscle, branchies, gonades																			
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																			
<b>Méthode d'analyse</b>	Eau : identification par LC/MS-MS et quantification par ELISA anti-Adda (Abraxis) ou inhibition de la protéine phosphatase. Poissons : LC-MS (MC-LR et RR). MC libres uniquement.																			
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1. Méthode validée en interne selon la procédure AFNOR NF V03 110. MC <sub>libres</sub> muscle LD = 0,21 µg/kg de poids frais et LQ = 0,7 µg/kg. MC <sub>tot</sub> muscle LD = 0,67 µg/kg de poids frais et LQ = 2,07 µg/kg.																			
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Pas de résultats détaillés de MC dans l'eau bien que le protocole mentionne le suivi des MC intracellulaires dans les 3 lacs.																			
<b>Résultats</b>	<p>Au moment du prélèvement des <b>brèmes</b>, la concentration dans l'eau en MC intracellulaires était de 5 µg MC-LR eq/L.</p> <p>Dans les tissus, pas de MC-LR détectée, seulement de la MC-RR avec une concentration de 0,31 ± 0,19 µg/kg de poids frais dans le foie et 0,01 ± 0,02 µg/kg de poids frais (&lt; LQ !).</p> <p>Au moment du prélèvement des <b>gardons</b>, la concentration dans l'eau en MC intracellulaires était de 2,88 µg MC-LR eq/L.</p> <p>Dans les tissus, les MC-LR et MC-RR ont été détectées, majoritairement MC-RR. Les concentrations étaient similaires à ceux de la brème, notamment une faible concentration dans les muscles : 0.04 ± 0,001µg MC-RR/kg de poids frais (&lt; LQ !).</p> <p><b>Table 1</b> Concentrations in ng g<sup>-1</sup> wet weight of MC-LR and MC-RR in liver, intestine, gills and muscles of bream. nd: not detectable.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">MC variant</th> <th colspan="4">Tissue content in bream (ng g<sup>-1</sup>)</th> </tr> <tr> <th>Liver</th> <th>Intestine</th> <th>Gill</th> <th>Muscle</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MC-LR</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> </tr> <tr> <td>MC-RR</td> <td>0.31 ± 0.19</td> <td>1.07 ± 0.83</td> <td>0.18 ± 0.14</td> <td>0.01 ± 0.02</td> </tr> </tbody> </table>	MC variant	Tissue content in bream (ng g <sup>-1</sup> )				Liver	Intestine	Gill	Muscle	MC-LR	nd	nd	nd	nd	MC-RR	0.31 ± 0.19	1.07 ± 0.83	0.18 ± 0.14	0.01 ± 0.02
MC variant	Tissue content in bream (ng g <sup>-1</sup> )																			
	Liver	Intestine	Gill	Muscle																
MC-LR	nd	nd	nd	nd																
MC-RR	0.31 ± 0.19	1.07 ± 0.83	0.18 ± 0.14	0.01 ± 0.02																

<b>Conclusion</b>	<b>Les concentrations en MC dans les muscles de plusieurs espèces de poisson sont faibles (&lt; LQ = 0,7 µg/kg de poids frais) malgré une efflorescence de cyanobactéries avec des concentrations en MC intracellulaires de 2,88 à 5 µg MC-LR eq/L</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	Les concentrations en MC quantifiées dans les muscles sont < LQ ! Les résultats relatifs aux concentrations en MC dans les tissus des poissons auraient mérité d'être présentés de manière exhaustive.
<b>Informations complémentaires</b>	La brème et le gardon sont omnivores.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Wilson et al. (2008). Evaluation of the human health threat associated with the hepatotoxin microcystin in the muscle and liver tissues of yellow perch ( <i>Perca flavescens</i> ). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 65: 1487-1497
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac pendant 3 mois au cours d'une efflorescence de cyanobactéries.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Etats-Unis
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Perca flavescens</i> perchaude <sup>23</sup> NON NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	68 poissons sont été prélevés sur 11 sites du bassin ouest du lac Erié les 22 juin, 18 juillet et 22 août 2006, au cours d'une efflorescence de cyanobactéries dominé par <i>Microcystis aeruginosa</i> .
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (EP-022, EnviroLogix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD = 0,16 µ MC-LReqq/L, rendement = 64% dans le foie et le muscle, 92% dans les cyanobactéries. .
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau intégrés (de la surface au fond, entre 5 et 10m de profondeur) ont été réalisés sur les 11 sites les mêmes jours que les prélèvements des poissons pour la mesure de MC intracellulaires.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, les concentrations en MC intracellulaires étaient comprises entre 34 et 767 760 µg/kg de poids sec.</p> <p>Dans le foie, les concentrations de MC étaient comprises entre 17 et 1182 µg/kg de poids sec. L'analyse statistique (ANOVA) a montré une différence significative entre les sites en juillet, mais pas en juin ni août. Pas de différence significative au cours du temps. Pas de corrélation avec la taille ou le poids des poissons (corrélation de Pearson). <b>Pas de corrélation entre les concentrations en MC du foie des perchaudes de chaque site et les concentrations de MC intracellulaires dans l'eau.</b></p> <p>Dans le muscle, les concentrations en MC étaient comprises entre 0,12 et 4,02 µg/kg de poids sec. L'analyse statistique (ANOVA) a montré une différence significative entre les sites en août, mais pas en juin ni en juillet. En général, les concentrations musculaire de MC étaient relativement faibles, et ne représentaient que 0,8% de la concentration mesurée dans le foie. De grandes différences ont été observées entre les concentrations en fonction du temps pour tous les sites de prélèvement. En revanche, contrairement à la tendance à l'augmentation observée pour la concentration en MC dans le seston au cours du temps, les concentrations en MC ont diminué. <b>Les concentrations musculaires de MC sont négativement corrélées à la longueur totale des poissons, leur poids, et la concentration en MC dans le foie.</b></p> <p><b>Pas de corrélation (corrélation négative) entre les concentrations en MC dans le muscle et les concentrations de MC intracellulaires dans l'eau.</b></p>

<sup>23</sup> <http://www.fishbase.se/summary/359>

	<p>Fig. 3. Mean (<math>\pm</math>SE) (a) liver and (b) muscle MC concentrations measured as MC-LR eq (ng/g DW) for yellow perch collected at 11 sampling stations during the summer of 2006. Left panels contain monthly site averages (<math>n = 0-3</math> per site). Right panels contain monthly averages across sites, <math>n = 22</math> (for June and August) or <math>24</math> (for July) per date. Sampling dates: solid bars, 22 June 2006; shaded bars, 18 July 2006; open bars, 22 August 2006.</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Pas de MC détectées dans les tissus de poissons témoins.  <b>Pas de corrélation entre les concentrations en MC dans le muscle et le foie et les concentrations de MC intracellulaires dans l'eau.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Moyenne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les auteurs recommandent de mieux comprendre le transfert trophique des cyanotoxines et d'étudier la biodisponibilité des MC liées chez l'Homme.</p> <p>Le rendement d'extraction est de 64% dans les muscles et le foie des poissons, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La perchaude est omnivore. Dans l'intestin, les auteurs ont trouvé des invertébrés benthiques et du zooplancton.</p>

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Wood et al. (2014). Exposure to the cyanotoxin microcystin arising from interspecific differences in feeding habits among fish and shellfish in the James river estuary, Virginia. <i>Environ. Sci. Technol.</i> 2014, 48, 5194–5202
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons dans un estuaire
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Etats-Unis
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Dorosoma cepedianum</i> alose à gésier <sup>24</sup> <i>Dorosoma petenense</i> alose fil <sup>25</sup> <i>Ictalurus furcatus</i> poisson-chat bleu <sup>26</sup> <i>Brevoortia tyrannus</i> alose tyran <sup>27</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	10 à 15 poissons par espèce ont été prélevés chaque mois de mai à octobre 2012 et en mai 2013. La salinité était < à 0,15 ppt (‰).  Les poissons chats ont été répartis en 4 classes de taille : < 20 cm ou 20-40 cm, > 40 cm. Pour les poissons juvéniles, les muscles ont été analysés par pool de 2 ou 3.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Abraxis). MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. LD = 0,05 µg MC-LR eq/L, rendement d'extraction = 89 ± 12% dans le muscle, 74 ± 15% dans le foie.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des échantillons d'eau de surface (1m) ont été réalisés chaque semaine de mai à novembre 2012 sur 3 sites de l'estuaire de la rivière, James (Virginie, USA) en trois points de mai à novembre 2012 (20 relevés). La densité de cyanobactéries a été estimée par la mesure en continu d'un pigment (phycocyanine) et du gène <i>mcyD</i> par qPCR. Des sédiments superficiels ont également été prélevés (à 2m de profondeur).
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, 6 pics de concentration en MC ont été observés entre mai et octobre 2012. La valeur maximale de 0,92 µg/L était le 29 août (MC intra et extracellulaires, moyenne des échantillons pris sur 3 sites, faible variation entre les sites). En novembre, la concentration était &lt; LD.</p> <p>Fig 1. Seasonal patterns in phycocyanin fluorescence, Microcystin concentrations, and genes specific to Microcystis and Microcystin (<i>mcyD</i>) in the tidal freshwater segment of the James River Estuary during 2012.</p> <p>Les concentrations tissulaires de MC les plus élevées ont été observées en juillet-et août. Les aloses à gésier juvéniles présentent un pic précoce et exceptionnellement élevé en MC dans le foie (1000 µg/kg de poids sec) par rapport aux poissons (&lt; 300 µg/kg de poids sec).</p>

<sup>24</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Dorosoma-cepedianum.html>

<sup>25</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Dorosoma-petenense.html>

<sup>26</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Ictalurus-furcatus.html>

<sup>27</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Brevoortia-tyrannus.html>

Pour toutes les espèces, la proportion de poissons avec des concentrations mesurables de MC dans le foie a généralement augmenté au cours de la période suivant les pics de cyanobactéries. **Les échantillons obtenus en mars 2013 ont montré une concentration faible, mais mesurable dans le foie alors que dans l'eau, la concentration de MC était < LD.**

Dans le muscle, les concentrations moyennes étaient comprises entre 0,4 et 5,3 µg MC-LReq/kg de poids sec selon les espèces, les valeurs maximales étaient comprises entre 10 et 70 µg MC-LReq/kg de poids sec.

**Au sein d'une même espèce (poisson chat), les individus de grande taille (>40 cm) sont moins contaminés (foie et muscle) que ceux de petite taille (< 20 ou 20-40 cm). La même tendance est observé chez l'alose à gésier entre les adultes et les juvéniles.**

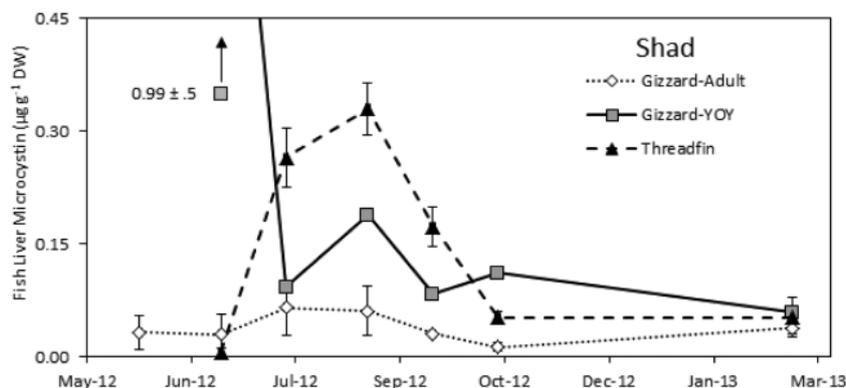


Fig 2. Seasonal variation in concentrations of MC in the tissues of threadfin shad, and gizzard shad (adults and young-of-the-year, YOY) from the tidal freshwater segment of the James River Estuary, May 2012 to March 2013 (mean ± SE; some error bars not visible).

<b>Conclusion</b>	<p>Les niveaux de toxines les plus élevés dans les tissus animaux ont coïncidé avec les concentrations les plus élevées de MC dans l'eau. Cependant, les toxines dans les tissus ont persisté au-delà de l'hiver, suggérant que leur impact potentiel sur la santé ne peut pas être limité aux efflorescences estivales. Les différences interspécifiques dans les concentrations tissulaires de MC sont liées au régime alimentaires et aux sources de matières organiques : les poissons ingérant une plus grande quantité d'algues, leur foie et muscles contiennent plus de MC.</p> <p><b>Corrélation entre la concentration en MC dans l'eau et celle dans les tissus pour 1 espèce (alose fil) mais pas pour les 3 autres espèces.</b></p> <p><b>Présence de MC dans les tissus même en absence de MC dans l'eau depuis plusieurs mois.</b></p> <p><b>L'étude montre une accumulation de MC dans les tissus (foie, muscle) de plusieurs espèces de poisson alors que la concentration en MC n'a pas dépassé 1 µg/L (intra et extracellulaires).</b></p> <p><b>Au sein d'une même espèce (poisson chat, alose à gésier), les concentrations en MC dans le foie et le muscle sont moins élevées chez les individus de grande taille que chez ceux de petite taille (juvéniles).</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction est de 74% dans le foie des poissons et de 89% dans le muscle, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.
<b>Informations complémentaires</b>	<p>Le poisson-chat bleu est piscivore (adulte) et planctonivore (juvénile). L'alose tyran, l'alose à gésier (juvénile) et l'alose-fil des poissons filtreurs. L'alose à gésier (adulte) est planctonivore.</p> <p>Des palourdes (<i>Rangia cuneata</i>) et des crabes bleus (<i>Callinectes sapidus</i>) ont également été prélevés. Les palourdes ont été placées 48h dans de</p>

l'eau déionisée avant analyse.

L'étude montre une accumulation de MC dans les tissus (viscères, muscle) du crabe et de la palourde alors que la concentration en MC n'a pas dépassé 1 µg/L.

**Corrélation entre la concentration en MC dans l'eau pour la palourde mais pas pour le crabe.**

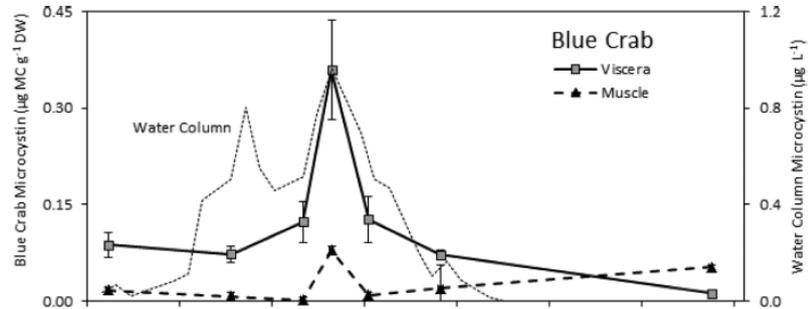


Fig 2. Seasonal variation in concentrations of MC in water and the tissues of Blue Crabs, from the tidal freshwater segment of the James River Estuary during May 2012 to March 2013 (mean ± SE; some error bars not visible).

La concentration moyenne dans le muscle de crabe est 20 µg MC-LReq/kg de poids sec, la valeur maximale a atteint 340 µg MC-LReq/kg de poids sec.

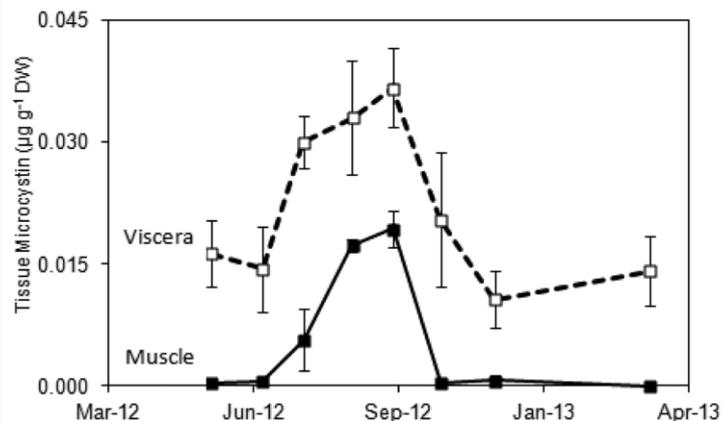


Fig 3. Seasonal variation in MC content in tissues of the common wedge clam in the tidal freshwater segment of the James River Estuary during May 2012 to March 2013 (mean ± SE; some error bars not visible).

La concentration moyenne dans le muscle de palourde est 5,8 µg MC-LReq/kg de poids sec.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Wu et al. (2013). Preliminary study of the distribution and accumulation of GSH/cys metabolites of hepatotoxic Microcystins-RR in common carp from a lake with protracted cyanobacterial bloom (Lake Taihu, China). Bull Environ Contam Toxicol 90: 382-386
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac par MC-RR et ses métabolites
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> (carpe commune)
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	3 carpes (poids moyen de 520g) ont été prélevées mensuellement, au cours de l'année 2008 (de janvier à décembre) dans le lac Taihu.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle, rein
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS (MC-RR et ses métabolites MC-RR-Cys et MC-RR-GSH).
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1. Méthode validée en interne (Wu et al. 2010). Rendement d'extraction : 93,6-99%, pour MC-RR, 68,1-73,6% pour MC-RR-GSH et 90,0-95,2% pour MC-RR-Cys. LD = 4, 7 µg/kg de poids sec pour MC-RR et 5 µg/kg de poids sec pour MC-RR-GSH et MC-RR-Cys, LQ = 10 µg/kg de poids sec pour MC-RR, 18 pour MC-RR-GSH et 13 pour MC-RR-Cys.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Les auteurs indiquent qu'ils ont réalisé un suivi des cyanobactéries et de la concentration en MC dans l'eau au cours de l'année 2008 mais ne détaillent pas le protocole.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, la concentration en MC intra/extracellulaires au cours de l'année a varié entre 1 et 32 100 µg/L. La concentration en MC-RR intracellulaire a varié entre 0,001 et 6,94 µg/L. Le pic a été observé en octobre avec une concentration à 0,925 µg/L en MC dissoutes et 6,94 µg/L en MC intracellulaires.</p> <p>Chez le poisson, les pics de concentration en MC-RR ou ses métabolites ont été observés entre avril et octobre dans le muscle, en novembre et décembre dans le foie et en décembre dans le rein.</p> <p><b>Les pics de concentration en MC-RR ou ses métabolites dans les tissus des poissons ne correspondent pas au pic de concentration en MC-RR dans l'eau.</b></p> <p>La MC-RR et son métabolite la MC-RR-Cys ont été présents dans le foie et les reins la plupart des mois de l'année, et uniquement d'avril à octobre dans le muscle. La MC-RR-GSH a été détecté à une seule occasion en décembre dans le foie.</p> <p>La proportion de MC-RR et de MC-RR-Cys a varié selon les mois de l'année et selon les organes (foie, rein, muscle). Dans le rein, la quasi-totalité est sous forme de MC-RR-Cys. Dans le foie et le rein, certains mois c'est MC-RR qui domine, d'autres mois c'est MC-RR-Cys.</p> <p>La concentration de MC-RR-Cys était plus élevée dans les reins (253 µg/kg de poids sec) et le foie (63 µg/kg ps), de 5,3 et 39,8 plus que la concentration de MC-RR, respectivement. Les auteurs suggèrent que la MC-RR est métabolisée en MC-RR-Cys dans le rein avant son excrétion.</p> <p>Dans le muscle, la moyenne mensuelle la plus élevée était en septembre avec 20 µg/kg de poids sec sous forme de MC-RR-Cys.</p>

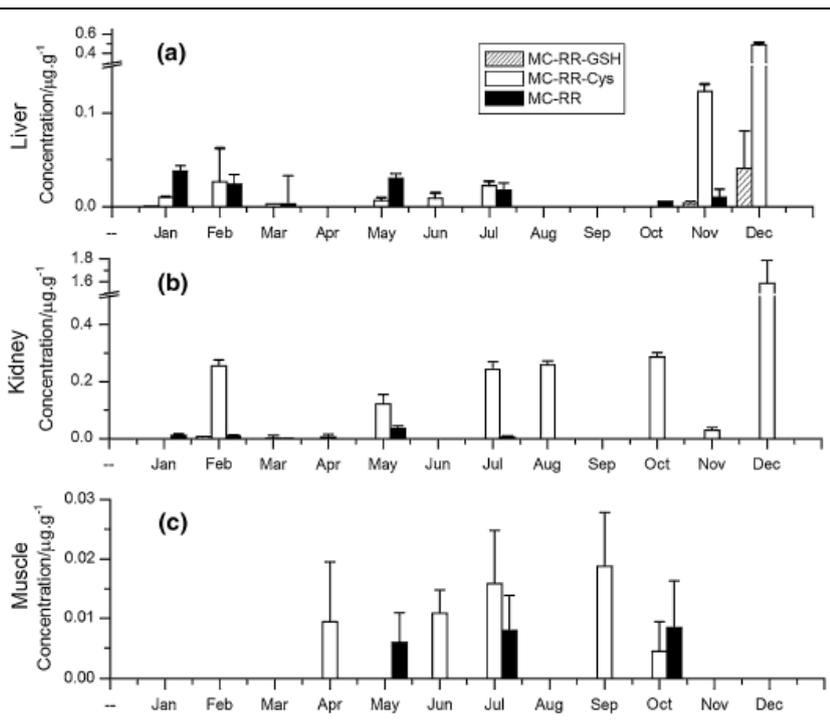


Fig. 2 Seasonal changes for MC-RR, MC-RR-GSH, and MC-RR-Cys contents in a liver, b kidney, c muscle of common carp (*C. carpio*) in Gonghu Bay, Lake Taihu, China, from January to December 2008.

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Les pics de concentration en MC-RR ou ses métabolites dans les tissus des poissons ne correspondent pas au pic de concentration en MC-RR dans l'eau.</b></p> <p>Des concentrations importantes de MC-RR-Cys ont été trouvées dans les tissus, dans des proportions jusqu'à 40 fois plus importantes que le parent MC-RR</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Moyenne.</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les auteurs ne sont intéressés qu'aux MC-RR et ses métabolites, pas à l'ensemble des variants potentiellement présents (par ex MC-LR) ce qui peut biaiser les résultats et leur interprétation au regard de la problématique des MC dans son ensemble.</p> <p>Le risque associé à la consommation de poissons contaminés par des MC peut être sous-estimé si l'on ne prend pas en compte les métabolites tels que la MC-RR-Cys qui peut être présente en quantité 2 fois plus importante que le parent MC-RR.</p> <p>L'étude porte sur un échantillonnage de 3 carpes chaque mois, cela peut être insuffisant pour en conclure sur des tendances robustes.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe commune est omnivore</p>

<b>Référence</b>	Xi et al. (2007). Accumulation of microcystins in various organs of the freshwater snail <i>Sinotia histrica</i> and three fishes in a temperate lake, the eutrophic Lake Suwa, Japan. <i>Toxicon</i> 49: 646-652.																																						
<b>Objectifs</b>	Evaluer la distribution de MC-RR et MC-LR dans les tissus d'un gastéropode d'eau douce et la dynamique saisonnière, dans un lac tempéré, le lac Suwa, soumis à l'eutrophisation. L'accumulation de microcystines dans certains poissons a également été étudiée.																																						
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																						
<b>Pays</b>	Japon																																						
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Carassius auratus</i> carassin doré, poisson rouge <i>Silurus glanis</i> silure glane <i>Cyprinus carpio</i> carpe commune																																						
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																						
<b>Présente en France</b>	OUI																																						
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																						
<b>Protocole expérimental</b>	3 poissons de chacune des 3 espèces provenant lac Suwa ont été collectés auprès de pêcheurs locaux le 16 novembre 2005.																																						
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscle, rein																																						
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																						
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-PDA (MC-RR et MC-LR) MC libres uniquement																																						
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3. Pas de LD, ni de LQ. Le rendement d'extraction est toujours supérieur à 80%.																																						
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau ont été réalisés au centre du lac Suwa le même jour que celui des prélèvements de poissons.																																						
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, les concentrations en MC intracellulaires ont varié entre 37000 et 58 600 µg/kg de poids sec pour la somme de MC-RR et LR, présentes en proportions équivalentes. Le pic a été observé en juillet. L'efflorescence de cyanobactéries était dominé par <i>Microcystis aeruginosa</i>, <i>M. wesenbergii</i>, <i>M. ichthyoblabe</i> et <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>.</p> <p>Dans le foie des poissons, la MC-RR a atteint 820 et 2060 µg/kg de poids sec chez le carassin doré et la carpe commune, respectivement. Elle n'a pas été détectée chez le silure.</p> <p>Dans le muscle, la MC-RR a été détectée chez les 3 espèces à des concentrations moyennes de 140 µg/kg ps pour le silure, 270 µg/kg ps pour la carpe et 490 µg/kg ps pour le carassin doré.</p> <p>La MC-LR n'a été détectée dans aucun organe des 3 espèces (malgré sa présence dans les cyanobactéries). Les auteurs suggèrent qu'elle pourrait être présente sous forme liée.</p> <p>Les MC n'ont pas été détectées dans les reins.</p> <p>Table 2 MC contents in the different organs of fish in Lake Suwa</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Fish name</th> <th rowspan="2">Wet weight (g)</th> <th colspan="2">Liver (µg g<sup>-1</sup> DW)</th> <th colspan="2">Kidney (µg g<sup>-1</sup> DW)</th> <th colspan="2">Muscle (µg g<sup>-1</sup> DW)<sup>a</sup></th> </tr> <tr> <th>MC-RR</th> <th>MC-LR</th> <th>MC-RR</th> <th>MC-LR</th> <th>MC-RR</th> <th>MC-LR</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Silurus glanis</i></td> <td>1180</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.14</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td><i>Carassius auratus</i></td> <td>120</td> <td>0.82</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.49</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td><i>Cyprinus carpio</i></td> <td>1818</td> <td>2.06</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.27</td> <td>ND</td> </tr> </tbody> </table>	Fish name	Wet weight (g)	Liver (µg g <sup>-1</sup> DW)		Kidney (µg g <sup>-1</sup> DW)		Muscle (µg g <sup>-1</sup> DW) <sup>a</sup>		MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR	<i>Silurus glanis</i>	1180	ND	ND	ND	ND	0.14	ND	<i>Carassius auratus</i>	120	0.82	ND	ND	ND	0.49	ND	<i>Cyprinus carpio</i>	1818	2.06	ND	ND	ND	0.27	ND
Fish name	Wet weight (g)			Liver (µg g <sup>-1</sup> DW)		Kidney (µg g <sup>-1</sup> DW)		Muscle (µg g <sup>-1</sup> DW) <sup>a</sup>																															
		MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR																																
<i>Silurus glanis</i>	1180	ND	ND	ND	ND	0.14	ND																																
<i>Carassius auratus</i>	120	0.82	ND	ND	ND	0.49	ND																																
<i>Cyprinus carpio</i>	1818	2.06	ND	ND	ND	0.27	ND																																
<b>Conclusion</b>	Durant une efflorescence de cyanobactéries, des concentrations élevées en MC intracellulaires-RR et LR ont été mesurées. La MC-LR n'a été détectée dans aucun organe de 3 espèces de poissons. Les auteurs suggèrent qu'elle pourrait être présente sous forme liée. La MC-RR a été détectée dans le muscle des 3 espèces de 140 à 490 µg/kg de poids sec en moyenne.																																						
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne																																						

<b>Commentaires</b>	Les auteurs recommandent le suivi régulier des MC dans l'eau et dans les animaux comestibles du lac.  La concentration en MC totales est très certainement sous-estimée, il est surprenant que la MC-LR n'ait pas été détectée dans les tissus des poissons. Il aurait été intéressant de confronter ces résultats à ceux obtenus par ELISA anti-Adda.
<b>Informations complémentaires</b>	La carpe commune et le carassin doré sont omnivores. Le silure glane est carnivore.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Zhang et al. (2009a). Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risks to human health. <i>Sci Total Environ</i> 407(7): 2191-2199
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac pendant 6 mois
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée <sup>28</sup> <i>Carassius auratus</i> carassin doré, poisson rouge <sup>29</sup> <i>Cyprinus carpio</i> carpe commune <i>Culter ilishaeformis</i> ( <i>Chanodichthys erythropterus</i> ) carpe <sup>30</sup> <i>Neosalanx taihuensis</i> (pas de nom commun) <sup>31</sup> , <i>Coilia ectenes</i> ( <i>Coilia nasus</i> ) anchois <sup>32</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour <i>H. molitrix</i> , <i>C. carpio</i> , <i>C. auratus</i> , NON pour <i>C. ilishaeformis</i> , <i>N. taihuensis</i> , <i>C. ectenes</i>
<b>Présente en France</b>	OUI pour <i>H. molitrix</i> , <i>C. carpio</i> , <i>C. auratus</i> , NON pour <i>C. ilishaeformis</i> , <i>N. taihuensis</i> , <i>C. ectenes</i>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons de 6 espèces (nombre non précisé) ont été prélevés chaque mois de juin à novembre 2005 dans le lac Taihu, Les poissons étaient maintenus dans un très large filet utilisé pour minimiser les efflorescences de cyanobactéries. Les poissons représentaient 3 régimes alimentaires : phytoplanctonivore (carpe argentée), omnivores (carassin doré, carpe commune), carnivores ( <i>C. ilishaeformis</i> , <i>N. taihuensis</i> , <i>C. ectenes</i> ).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, muscles, intestin (paroi intestinale et contenu intestinal), gonades
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-RR, MC-YR, MC-LR) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2. LD = 3 µg/kg de poids sec dans les tissus de poissons. Le rendement d'extraction dans le foie et les muscles est en moyenne respectivement de 61,5% et 74% pour MC-RR, 83,7% et 86,8% pour MC-YR, 85,7% et 91,4% pour MC-LR.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (5 L) ont été réalisés chaque mois de juin à novembre 2005 en mélangeant un échantillon à la surface et un en profondeur pour la mesure de la concentration totale de MC dans l'eau et dans les efflorescences algales (intracellulaires et extracellulaires) par LC-MS.
<b>Résultats</b>	Dans l'eau du filet, la biomasse maximale de cyanobactéries a été observée en juillet (dominé par <i>Miscrocystis aeruginosa</i> ). La concentration intracellulaire de MC (somme des 4 variants) a beaucoup fluctué au cours des 6 mois avec 2 pics en juillet et septembre (1,37 µg/L). Elle était minimale en juin et novembre (0,31 µg/L). La concentration extracellulaire de MC a aussi beaucoup fluctué mais pas de manière similaire aux MC intracellulaires. Le pic de 0,0042 µg/L a été observé en juillet. Dans la biomasse de cyanobactéries, la concentration de MC était de 328 000 à 780 000 µg/kg de poids sec.

<sup>28</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

<sup>29</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67208](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67208)

<sup>30</sup> <http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchList.php?Genus=Culter>

<sup>31</sup> <http://www.fishbase.se/summary/55418>

<sup>32</sup> <http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchList.php?Genus=Coilia>

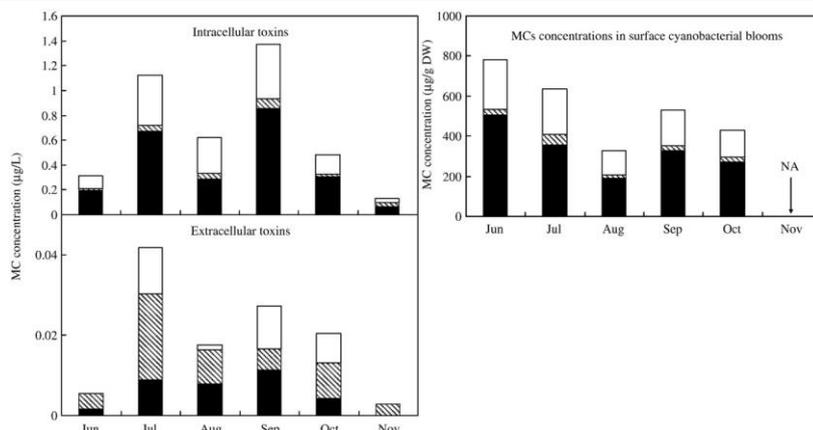


Fig. 2 – Intracellular toxins and extracellular toxins concentration in the water column, and MCs concentration in surface cyanobacterial blooms in fish pen of Lake Taihu.

□ - LR; ▨ - YR; ■ - RR, NA = not analysed.

Poissons carnivores

**La concentration en MC (uniquement MC-RR, autres variants non détectés) était faible, pas de corrélation avec les MC dans l'eau.**

*C. ilishaeformis*, muscle <LD en octobre à 27 µg/kg ps, en juin

*N. taihuensis*, corps entier <LD en octobre à 7 µg/kg ps en juin

*C. ectenes* muscle <LD en septembre et octobre à 7,4 µg/kg de ps en juin et novembre.

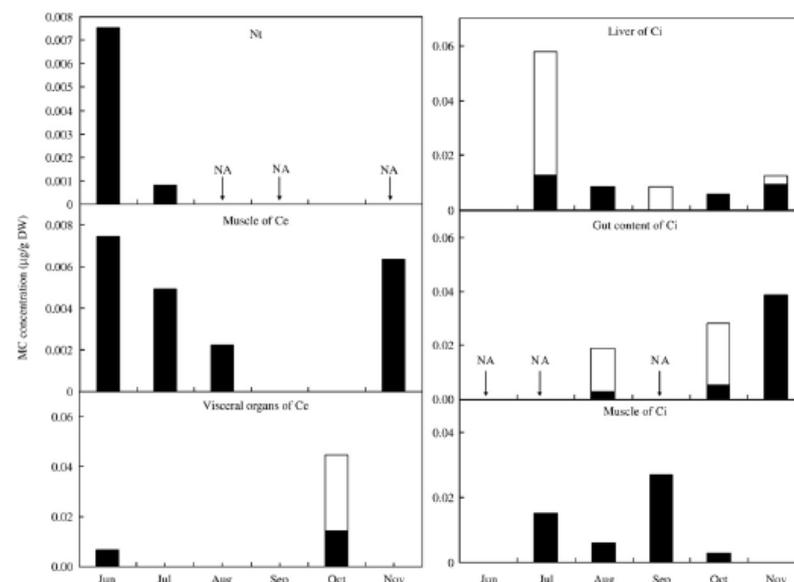


Fig. 3 Seasonal variations of MCs concentration in whole tissue of *N. taihuensis* (Nt), visceral organs and muscle of *C. ectene* (Ce)s, gut content, liver, and muscle of *C. ilishaeformis* (Ci) from Lake Taihu. NA = not analysed

Poisson phytoplanctonivore

La concentration en MC dans l'intestin, le foie, les muscles de la carpe argentée a montré de grandes variations selon les mois.

Pic en juillet dans le foie à 550 µg/kg de ps (présence des 3 variants majoritairement MC-LR).

Dans le muscle, le pic était en septembre à 75 µg/kg ps puis diminution en octobre et novembre. Pas de pic en juillet pendant le 1<sup>er</sup> pic de MC intra et extracellulaire dans l'eau.

**Donc, pas de corrélation avec les MC dans l'eau**

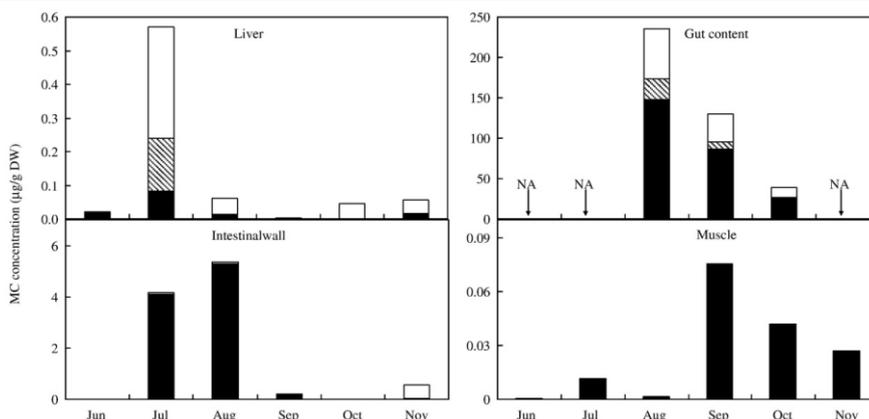


Fig. 4 Seasonal variations of MC concentration in gut content, liver, muscle, intestine of *H. molitrix*

Poissons omnivores : carassin doré et carpe commune.

**Les profils de concentration en MC dans le foie et le muscle des 2 espèces sont différents, pas de corrélation avec les MC dans l'eau.**

Chez la carpe, la concentration dans le muscle augmente de septembre à novembre pour atteindre son pic à 170 µg/kg ps (majoritairement MC-LR). Dans le foie, le pic est en juillet à 42 µg/kg ps puis la concentration reste faible avec une petite remontée en novembre.

Chez le carassin doré, la concentration dans le muscle est faible sauf en octobre où elle atteint un pic à 130 µg/kg ps.

Dans le foie, le pic est en août à 150 µg/kg ps, suivi d'une forte diminution en septembre et une remontée en septembre/octobre.

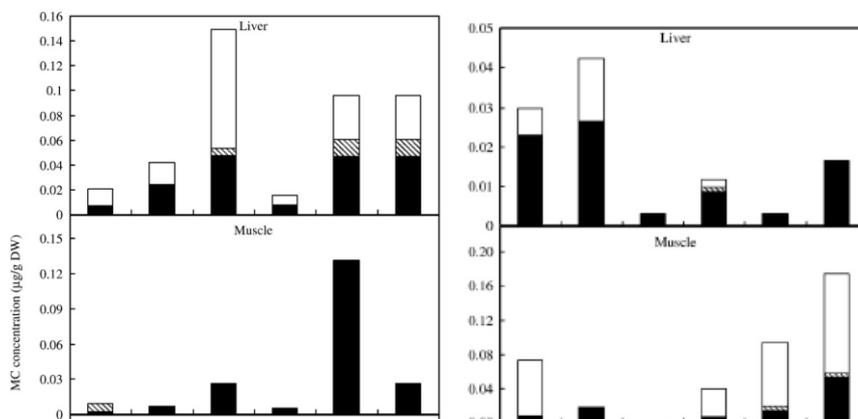


Fig. 5 Seasonal variations of MC conc. in *C. auratus* and *C. carpio*

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><u>Poissons carnivores</u>  <b>La concentration en MC (uniquement MC-RR, autres variants non détectés) était faible, pas de corrélation avec les MC dans l'eau.</b></p> <p><u>Poisson phytoplanctonivore</u>  <b>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et celle dans l'eau (intra et extracellulaire).</b> Le pic dans l'eau en septembre s'accompagne d'un pic dans le muscle de la carpe mais pas pour le pic en juillet où la concentration dans le muscle est restée très faible.</p> <p><u>Poissons omnivore</u>  <b>Les profils de concentration en MC dans le foie et le muscle des 2 espèces sont différents, pas de corrélation avec les MC dans l'eau.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les concentrations en MC dans le foie et l'intestin étaient les plus élevées chez les poissons phytoplanctonivores, suivie des poissons omnivores, et étaient les plus faibles chez les poissons carnivores.</p>

	<p>Les concentrations dans le muscle donnent des résultats différents : elles sont plus élevées chez les poissons omnivores, suivies par les phytoplanctonivores et sont plus faibles chez les carnivores.</p> <p>Les MC dans le foie peuvent constituer un réservoir de contamination pour les muscles.</p> <p>Les rendements d'extraction selon les variants de MC et les organes peuvent induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Zhang et al. (2009b). Determination of microcystin-LR and its metabolites in snail ( <i>Bellamya aeruginosa</i> ), shrimp ( <i>Macrobrachium nipponensis</i> ) and silver carp ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> ) from Lake Taihu, China. Chemosphere 76: 974–981
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac pendant 6 mois
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée <sup>33</sup> OUI OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des carpes argentées (poids moyen 1 kg) ont été placées dans un enclos artificiel dans le lac Taihu en janvier 2005 ; 2 carpes ont été prélevées mensuellement de juillet à décembre 2005.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, rein, intestin
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-LR et ses métabolites MC-LR-GSH et MC-LR-Cys) Mc libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2. LD = 5 µg/kg de poids sec dans les tissus de poissons. Rendement d'extraction dans le foie : 87,0% pour MC-LR, 62,9% pour MC-LR-GSH et 83,5% pour MC-LR-Cys
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié
<b>Résultats</b>	<p>Dans le foie, <b>la concentration le plus élevée est observée sous forme de MC-LR-Cys</b> avec des valeurs entre 3170 et 1470 µg/kg de poids sec. La concentration en MC-LR est 10 fois plus faible : de 27 à 110 µg/kg de poids sec. MC-LR-GSH n'a été détecté que dans un seul échantillon en août.</p> <p>Le pic de concentration en MC-LR est observé en juillet, celui de MC-LR-Cys en août.</p> <p><b>Aucune relation significative n'a été établie entre les concentrations de MC-LR et de MC-LR-Cys.</b></p> <p>Dans le rein, <b>la concentration le plus élevée est aussi observée sous forme de MC-LR-Cys</b> avec des valeurs entre 1850 et 7930 µg/kg de poids sec. La concentration en MC-LR a varié entre 29 et 100 µg/kg de poids. MC-LR-GSH a été n'a pas été détecté dans le rein au cours de la période d'étude.</p> <p>Une corrélation significative a été trouvée entre les concentrations de MC-LR et MC-LR-Cys.</p>

<sup>33</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

	<p><b>Fig. 4.</b> Seasonal changes of MC-LR, MC-LR-GSH, and MC-LR-Cys concentrations in liver, kidney, and intestinal content of silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>) in Meiliang Bay, Lake Taihu, China, from July to December 2005. Values are expressed as means <math>\pm</math> standard deviations for two replicates; DW = dry weight; ND = not detected; LOD (limit of detection) = 0.005 <math>\mu\text{g g}^{-1}</math> DW.</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Chez la carpe argentée, le métabolite principal de MC-LR est la MC-LR-Cys, mais pas MC-LR-GSH. Les concentrations en MC-LR-Cys dans le foie sont 10 plus élevées que celles de la MC-LR.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Le risque pour la santé humaine peut être sous-estimé, car la toxicité de MC-LR-Cys est importante (DL50 de MC-LR-Cys 7 fois supérieure à celle de MC-LR chez la souris). La concentration de métabolites doit donc être évaluée. Par ailleurs, la teneur en toxines dans le foie peut constituer un réservoir de contamination pour les muscles.</p> <p>Le rendement d'extraction est de 62,9%, 83,5% et 87,0% pour les MC-LR-GSH, MC-LR-Cys, et MC-LR, en moyenne dans le foie, ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe argentée est phytoplanctonivore.</p>

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Zhang et al. (2012). The role of cysteine conjugation in the detoxification of microcystin-LR in liver of bighead carp ( <i>Aristichthys nobilis</i> ): a field and laboratory study. <i>Ecotoxicology</i> 21:244–252
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons par la MC-LR et ses métabolites dans des conditions naturelles et contrôlées en laboratoire.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental et laboratoire
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> carpe à grosse tête <sup>34</sup>
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<u>In situ.</u> 3 carpes à grosse tête (poids moyen de 876 g) ont été prélevées en juillet et août 2008 dans 5 lacs chinois concernés par des efflorescences estivales de cyanobactéries (Maoli, Huanggai, Dianshan, Bajiao, et Gehu). <u>Laboratoire</u> Des carpes à grosse tête (poids moyen 899 g) ont été achetées à une pêcherie et placées dans un aquarium sans nourriture. Elles ont reçu une dose unique de 500 µg/kg pc de MC-LR synthétique par injection intra-péritonéale et 3 carpes ont été sacrifiées à 1, 3, 6 ou 12h après injection.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel (environnement) et intra-péritonéale (laboratoire)
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-LR et ses métabolites MC-LR-GSH et MC-LR-Cys) Mc libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2. LD = 5 µg/kg de poids sec dans les tissus de poissons, pour MC-LR MC-LR-GSH, MC-LR-Cys ; rendement d'extraction de 60,5%, 81,6% et 86,2% pour MC-LR-GSH, MC-LR-Cys, et MC-LR
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau intégrés (50 cm sous la surface et 50 cm du fond) ont été réalisés dans chacun des 5 lacs pour mesurer la concentration en MC intra et extracellulaires par LC-MS.
<b>Résultats</b>	<u>In situ.</u> Dans l'eau, la concentration en MC-LR était de Huanggai = 5,58 µg/L Bajiao = 2,97 µg/L Maoli = 2,27 µg/L Gehu = 1,19 µg/L Dianshan = 0,24 µg/L.  Dans le foie des carpes, la plus forte concentration de MC-LR a été mesurée dans le lac Bajiao (67 µg/kg ps), et celle de MC-LR-Cys dans le lac Huanggai (410 µg/kg ps). De faibles concentrations de MC-LR-GSH ont été mesurées dans les lacs Dianshan (6,3 µg/kg ps) et Bajiao (6,4 µg/kg ps). <b>La forme majoritaire est donc MC-LR-Cys dans le foie des carpes des 5 lacs.</b>  Aucune relation significative n'a été trouvée entre MC-LR et MC-LR-Cys ou MC-LR-GSH, tandis <b>qu'une corrélation positive a été trouvée entre les concentrations de MC-LR-Cys dans le foie des carpes et de MC-LR dans le seston des cinq lacs.</b>

<sup>34</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67277/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67277/tab/rep/METROP)

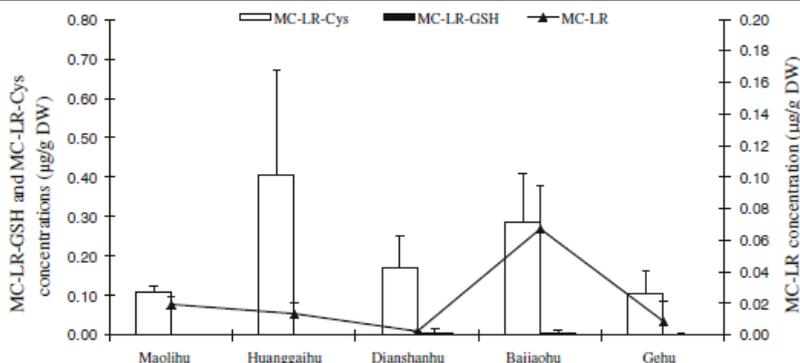


Fig. 3 The concentration of MC-LR and its conjugates (LRCys and LR-GSH) in the liver of bighead carp collected from the five eutrophic lakes, China

Laboratoire.

Pas de MC-LR, MC-LR-GSH, MC-LR-Cys détectées chez les carpes témoins.

La MC-LR et ses 2 métabolites (MC-LR-Cys et MC-LR-GSH) ont été détectés dans le foie des carpes tout au long de la période de l'étude, et les pics des 3 toxines ont été observés 3h après l'injection : 2890 µg MC-LR/kg ps, 350 µg MC-LR-Cys/kg ps, 64 MC-LR-GSH µg/kg ps, puis les concentrations ont diminué à 6h et 12h. **La forme majoritaire est donc MC-LR.**

L'analyse statistique (corrélation de Pearson) a montré une corrélation significative entre les concentrations de MC-LR-Cys et MC-LR ou MC-LR-GSH, mais pas entre les concentrations MC-LR-GSH et MC-LR.

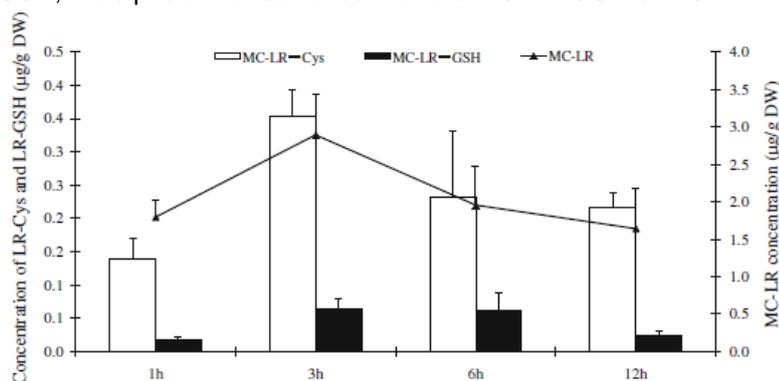


Fig. 2 The mean (n = 3) liver concentration–time profiles for MC-LR/MC-LR-Cys, MC-LR-GSH after the ip injection of a single dose of purified MC-LR (500 lg/kg bw) to bighead carps

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Corrélation entre la concentration en MC-LR-Cys dans le foie et la concentration en MC-LR dans le seston.</b></p> <p><b>La forme majoritaire est MC-LR-Cys dans le foie des carpes les 5 lacs. Alors qu'après injection ip la forme majoritaire est MC-LR.</b></p> <p>Les résultats suggèrent que MC-LR-Cys est le métabolite principal, par rapport à MC-LR-GSH, comme produit de détoxification de MC-LR dans le foie de la carpe à grosse tête.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>la concentration en MC-LR et MC-LR-Cys dans le foie des carpes intoxiqués ip tend à diminuer 6h après l'exposition mais la cinétique aurait dû être plus longue afin de vérifier que cette tendance se confirme. La teneur en MC-LR et ses métabolites est assez hétérogène selon les lacs étudiés, et les écarts-types sont importants.</p> <p>Le rendement d'extraction de 60,5%, 81,6% et 86,2% pour les MC-LR-GSH, MC-LR-Cys, et MC-LR, en moyenne dans le foie peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe à grosse tête est phytoplanctivore.</p>

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Zhang et al. (2013). Risk assessment of microcystins in silver carp ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> ) from eight eutrophic lakes in China. Food Chemistry 140 : 17-21																														
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de 8 lacs chinois																														
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																														
<b>Pays</b>	Chine																														
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée <sup>35</sup>																														
<b>Présente en Europe</b>	OUI																														
<b>Présente en France</b>	OUI																														
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																														
<b>Protocole expérimental</b>	3 carpes argentées adultes (poids moyen de 988 g) ont été prélevées en juillet ou août 2008 dans 8 lacs chinois (Bajiao, Chaohu, Dianshan, Donghu, Gehu, Huanggai, Taihu, Wushan) concernés par des phénomènes d'eutrophisation et des efflorescences estivales de cyanobactéries, à l'exception du lac Donghu.																														
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle																														
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																														
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-LR, MC-RR, MC-YR). MC libres uniquement																														
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2. LD = 5 µg/kg de poids sec dans le muscle de poissons, pour MC-LR, MC-RR, MC-YR ; rendement d'extraction dans le muscle de 66,5% pour les MC-RR, 82,8% pour les MC-YR et 86,2% pour les MC-LR.																														
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau ont été réalisés dans chaque lac, au moment du prélèvement des poissons, pour mesurer la concentration en MC intracellulaire par LC-MS.																														
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, les concentrations de MC intracellulaires étaient très différentes selon les lacs, de 0,02 à 21,7 µg/l.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Bajiao</th> <th>Chaohu</th> <th>Dianshan</th> <th>Donghu</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fish muscle (µg/kg DW)</td> <td>14 ± 9</td> <td>28 ± 18</td> <td>36 ± 6</td> <td>27 ± 16</td> </tr> <tr> <td>MC in water (intracellular) µg/L</td> <td>21.7</td> <td>&lt;LD</td> <td>0.84</td> <td>0.021</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Gehu</th> <th>Huanggai</th> <th>Taihu</th> <th>Wushan</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fish muscle (µg/kg DW)</td> <td>34 ± 15</td> <td>24 ± 21</td> <td>25 ± 14</td> <td>34 ± 6</td> </tr> <tr> <td>MC in water (intracellular) µg/L</td> <td>4.71</td> <td>15.4</td> <td>4.11</td> <td>0.14</td> </tr> </tbody> </table> <p>Seules les MC-RR ont été détectées dans tous les échantillons de muscle de carpe argentée dans les 8 lacs, ce qui suggère que la MC-RR est la toxine majoritaire dans cette espèce de poisson.</p> <p>Les concentrations en MC-RR dans le muscle étaient comprises entre 14 et 36 µg/kg de poids sec.</p> <p>L'analyse statistique (corrélations de Pearson) a montré une <b>corrélations négative entre les concentrations en MC et la longueur des poissons, suggérant que les poissons les plus petits accumulent des quantités plus élevées de MC.</b></p> <p>Il y a également une corrélation négative entre la concentration en MC intracellulaires et celle des muscles de la carpe argentée. Ce résultat pourrait être attribué à l'influence de la longueur totale de la carpe</p>		Bajiao	Chaohu	Dianshan	Donghu	Fish muscle (µg/kg DW)	14 ± 9	28 ± 18	36 ± 6	27 ± 16	MC in water (intracellular) µg/L	21.7	<LD	0.84	0.021		Gehu	Huanggai	Taihu	Wushan	Fish muscle (µg/kg DW)	34 ± 15	24 ± 21	25 ± 14	34 ± 6	MC in water (intracellular) µg/L	4.71	15.4	4.11	0.14
	Bajiao	Chaohu	Dianshan	Donghu																											
Fish muscle (µg/kg DW)	14 ± 9	28 ± 18	36 ± 6	27 ± 16																											
MC in water (intracellular) µg/L	21.7	<LD	0.84	0.021																											
	Gehu	Huanggai	Taihu	Wushan																											
Fish muscle (µg/kg DW)	34 ± 15	24 ± 21	25 ± 14	34 ± 6																											
MC in water (intracellular) µg/L	4.71	15.4	4.11	0.14																											

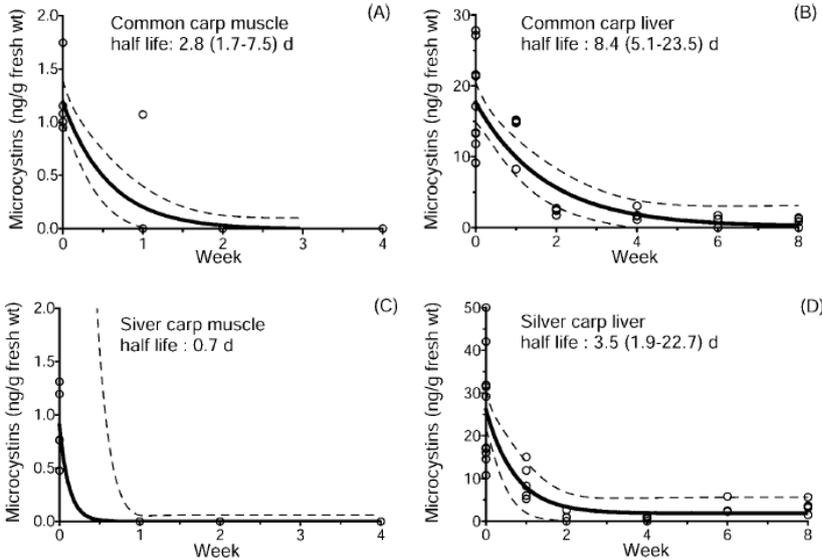
<sup>35</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

	argentée sur l'accumulation MC dans les muscles.
<b>Conclusion</b>	Chez la carpe argentée, le variant majoritaire est la MC-RR (comparé à MC-RR et MC-YR). <b>Les concentrations sont moins élevées chez les individus de grande taille que chez ceux de petite taille.</b> <b>Pas de corrélation entre [MC] eau (intracellulaires) et celle dans le muscle.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Le rendement d'extraction est de 66,5%, 82,8% et 86,2% pour les MC-RR, -YR and -LR, en moyenne dans les muscles ce qui peut induire des différences dans l'estimation des niveaux réels de contamination.
<b>Informations complémentaires</b>	La carpe argentée est phytoplanctonivore.

**Articles repêchés****C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>**

<b>Référence</b>	Adamovsky et al. (2007). Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp ( <i>Cyprinus carpio</i> ) and silver carp ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> ) exposed to toxic cyanobacterial blooms. Environmental Toxicology and Chemistry 26(12): 2687-2693.																																																																																																
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 9 semaines et de décontamination pendant 2 semaines																																																																																																
<b>Type d'étude</b>	Environnemental (en mésocosme)																																																																																																
<b>Pays</b>	République tchèque																																																																																																
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présentes en Europe</b> <b>Présentes en France</b>	<i>Cyprinus carpio</i> , carpe commune <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> , carpe argentée OUI OUI <sup>36</sup>																																																																																																
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																																																																																
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons âgés de 2 ans provenant d'une pêcherie ont été exposés en mésocosme extérieur à un extrait de cyanobactéries dominées par <i>Microcystis aeruginosa</i> (45%), <i>Microcystis ichthyoblabe</i> (45%), et <i>Anabaena flos-aquae</i> (5%) pendant 9 semaines. Les poissons ont ensuite été placés dans un aquarium pour étudier la cinétique de dépuración. Les poissons n'ont pas été nourris. Pas de mort constatée. 3 à 10 poissons prélevés en semaines 4 et 9 pour la cinétique d'accumulation et en semaines 1, 2, 4, 6 et 8 pour la cinétique de dépuración. Mention d'un groupe témoin (poissons non exposés).																																																																																																
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie et muscle																																																																																																
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																																
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (préparé par les auteurs) MC libres uniquement.																																																																																																
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (que LD, pas LQ, rendement d'extraction de seulement 25%) LD = 0,31 µg/kg de poids frais pour le foie et 0,13 µg/kg pour le muscle Courbe de calibration avec MC-LR																																																																																																
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Mesure par HPLC de la concentration en MC dans l'eau du mésocosme et dans les cellules de cyanobactéries en semaines 4 et 9 en période d'accumulation.																																																																																																
<b>Résultats</b>	<p>Table 1. Kinetics of microcystin (MC) concentrations in the muscle and liver (ng MC/g tissue fresh wt) of common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) and silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)<sup>a</sup></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Week</th> <th rowspan="2">Water MCs<sup>b</sup></th> <th rowspan="2">Biomass MCs<sup>c</sup></th> <th colspan="3">Silver carp</th> <th colspan="3">Common carp</th> </tr> <tr> <th>Fish weight (g)</th> <th>Muscle MCs</th> <th>Liver MCs</th> <th>Fish weight (g)</th> <th>Muscle MCs</th> <th>Liver MCs</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="9"><b>Accumulation</b></td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>22.7</td> <td>539</td> <td>202 ± 46 (10)</td> <td>0<sup>d</sup> (3)</td> <td>0<sup>d</sup> (3)</td> <td>125 ± 28 (10)</td> <td>0<sup>d</sup> (4)</td> <td>0<sup>d</sup> (4)</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>13.8</td> <td>425</td> <td>319 ± 78 (10)</td> <td>10.6 ± 9.9 (10)</td> <td>93.2 ± 50.7 (10)</td> <td>127 ± 42 (10)</td> <td>9.8 ± 6.4 (7)</td> <td>132 ± 59 (7)</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>14.2</td> <td>182</td> <td>324 ± 78 (10)</td> <td>5.2 ± 3.4 (7)</td> <td>124 ± 56 (7)</td> <td>128 ± 37 (10)</td> <td>7.3 ± 4.6 (7)</td> <td>68.7 ± 42 (7)</td> </tr> <tr> <td colspan="3">BCF<sup>e</sup> (mean/maximum)</td> <td></td> <td>0.62/1.7</td> <td>7.3/13.3</td> <td></td> <td>0.57/1.1</td> <td>7.8/12.8</td> </tr> <tr> <td colspan="9"><b>Elimination</b></td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>421 ± 92 (10)</td> <td>0.9 ± 0.3 (5)</td> <td>21.0 ± 14.8 (5)</td> <td>46 ± 9 (10)</td> <td>1.2 ± 0.3 (5)</td> <td>17.2 ± 7.0 (5)</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>380 ± 102 (10)</td> <td>0<sup>d</sup> (5)</td> <td>9.3 ± 3.7 (5)</td> <td>47 ± 16 (10)</td> <td>0.2 ± 0.1 (5)</td> <td>13.7 ± 2.7 (5)</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>435 ± 86 (10)</td> <td>0<sup>d</sup> (5)</td> <td>0.9 ± 0.8 (5)</td> <td>40 ± 10 (10)</td> <td>0<sup>d</sup> (5)</td> <td>2.3 ± 0.4 (5)</td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>a</sup> Values represent the mean ± standard error, with the number of investigated fish given in parentheses.  <sup>b</sup> Water concentrations of total MCs (sum of MC-LR, -RR, and -YR; µg/L).  <sup>c</sup> Biomass MCs concentrations (µg/g dry wt).  <sup>d</sup> Less than the limit of detection (liver, 0.31 ng/g fresh wt; muscle, 0.13 ng/g).  <sup>e</sup> Bioconcentration factors (ratio between the mean/maximum tissue concentration and the average water concentration 17 µg/L).</p> <p>Dans l'eau, la concentration en MC dissoutes a varié entre 13,8 et 22,7 µg/L.</p>	Week	Water MCs <sup>b</sup>	Biomass MCs <sup>c</sup>	Silver carp			Common carp			Fish weight (g)	Muscle MCs	Liver MCs	Fish weight (g)	Muscle MCs	Liver MCs	<b>Accumulation</b>									0	22.7	539	202 ± 46 (10)	0 <sup>d</sup> (3)	0 <sup>d</sup> (3)	125 ± 28 (10)	0 <sup>d</sup> (4)	0 <sup>d</sup> (4)	4	13.8	425	319 ± 78 (10)	10.6 ± 9.9 (10)	93.2 ± 50.7 (10)	127 ± 42 (10)	9.8 ± 6.4 (7)	132 ± 59 (7)	9	14.2	182	324 ± 78 (10)	5.2 ± 3.4 (7)	124 ± 56 (7)	128 ± 37 (10)	7.3 ± 4.6 (7)	68.7 ± 42 (7)	BCF <sup>e</sup> (mean/maximum)				0.62/1.7	7.3/13.3		0.57/1.1	7.8/12.8	<b>Elimination</b>									0	—	—	421 ± 92 (10)	0.9 ± 0.3 (5)	21.0 ± 14.8 (5)	46 ± 9 (10)	1.2 ± 0.3 (5)	17.2 ± 7.0 (5)	1	—	—	380 ± 102 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	9.3 ± 3.7 (5)	47 ± 16 (10)	0.2 ± 0.1 (5)	13.7 ± 2.7 (5)	2	—	—	435 ± 86 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	0.9 ± 0.8 (5)	40 ± 10 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	2.3 ± 0.4 (5)
Week	Water MCs <sup>b</sup>				Biomass MCs <sup>c</sup>	Silver carp			Common carp																																																																																								
		Fish weight (g)	Muscle MCs	Liver MCs		Fish weight (g)	Muscle MCs	Liver MCs																																																																																									
<b>Accumulation</b>																																																																																																	
0	22.7	539	202 ± 46 (10)	0 <sup>d</sup> (3)	0 <sup>d</sup> (3)	125 ± 28 (10)	0 <sup>d</sup> (4)	0 <sup>d</sup> (4)																																																																																									
4	13.8	425	319 ± 78 (10)	10.6 ± 9.9 (10)	93.2 ± 50.7 (10)	127 ± 42 (10)	9.8 ± 6.4 (7)	132 ± 59 (7)																																																																																									
9	14.2	182	324 ± 78 (10)	5.2 ± 3.4 (7)	124 ± 56 (7)	128 ± 37 (10)	7.3 ± 4.6 (7)	68.7 ± 42 (7)																																																																																									
BCF <sup>e</sup> (mean/maximum)				0.62/1.7	7.3/13.3		0.57/1.1	7.8/12.8																																																																																									
<b>Elimination</b>																																																																																																	
0	—	—	421 ± 92 (10)	0.9 ± 0.3 (5)	21.0 ± 14.8 (5)	46 ± 9 (10)	1.2 ± 0.3 (5)	17.2 ± 7.0 (5)																																																																																									
1	—	—	380 ± 102 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	9.3 ± 3.7 (5)	47 ± 16 (10)	0.2 ± 0.1 (5)	13.7 ± 2.7 (5)																																																																																									
2	—	—	435 ± 86 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	0.9 ± 0.8 (5)	40 ± 10 (10)	0 <sup>d</sup> (5)	2.3 ± 0.4 (5)																																																																																									

<sup>36</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

	<p><b>Accumulation</b> La concentration en MC libres dans le muscle et le foie est plus élevée après 4 semaines qu'après 9 semaines d'exposition pour les 2 espèces de carpes. La cinétique ne suit donc pas une relation linéaire avec la durée d'exposition.</p> <p><b>Dépuraton</b> Dans le muscle de la carpe argentée, la concentration passe de <math>5,2 \pm 3,4</math> <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> pf après 9 semaines d'exposition à une efflorescence à &lt; LD après 1 semaine de dépuraton (en aquarium avec de l'eau propre). La demi-vie est estimée à 0,7 jours.</p> <p>Dans le muscle de la carpe commune, la concentration passe de <math>7,3 \pm 4,6</math> <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> pf après 9 semaines d'exposition à une efflorescence à &lt; LD après 2 semaines de dépuraton (en aquarium avec de l'eau propre). La demi-vie est estimée à 2,8 jours (fourchette de 1,7 à 7,5 jours).</p> <p>Dans le foie des 2 espèces, les MC sont toujours détectées après 2 semaines de dépuraton.</p>  <p>Fig. 1. Microcystin elimination from the tissues of common carp (<i>Cyprinus carpio</i>) (A and B) and silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>) (C and D). Presented are individual tissue concentrations, elimination curves (solid lines) with 95% confidence intervals (dashed lines), and half-lives in days (mean values with 95% confidence intervals in parentheses).</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>La concentration en MC libres dans les muscles de carpes diminue fortement 2 semaines après l'arrêt total de l'exposition (dans une eau dépourvue de MC). La cinétique de dépuraton indique une 1/2 vie de 0,7 à 7,5 jours.</b></p> <p>La concentration en MC libres dans les muscles de carpes reste faible même après 9 semaines d'exposition à une concentration en MC dissoutes dans l'eau de 14 à 22 <math>\mu\text{g}/\text{L}</math>.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Attention aux MC accumulées dans le foie qui peuvent constituer un réservoir de contamination pour le muscle. La cinétique de dépuraton dans le foie indique une 1/2 vie de 1,9 à 23,5 jours. De même que les MC liées, non prises en compte dans cette étude.</p> <p><b>Attention au rendement d'extraction qui n'est que de 25% et donc conduit à une sous-estimation des niveaux réels de contamination. La contamination est maximisée car les poissons sont placés en aquarium dans une eau sans MC.</b></p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>La carpe argentée est planctonivore (se nourrit des cellules de cyanobactéries). La carpe commune est omnivore.</p>

C<sub>contam</sub>

<b>Référence</b>	Al-Kahtani et Fathi (2008). Physiological studies on tilapia fish ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) as influenced by the cyanobacterial toxins microcystin. Journal of Biological Sciences 8(7): 1226-1230.																																		
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de la contamination pendant 10 jours																																		
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)																																		
<b>Pays</b>	Arabie saoudite																																		
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil																																		
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>37</sup>																																		
<b>Présente en France</b>	NON																																		
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																		
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons (50 g), prélevés par des pêcheurs dans un plan d'eau, ont été nourris pendant 10 jours avec des cellules séchées de <i>Microcystis</i> à la dose de 50 µg MC-LR eq/poisson/jour. Les poissons ont été répartis en 2 groupes de 20 individus (témoins et traités) et 5 poissons ont été prélevés tous les 2 jours (analysés par pool).  Les cellules de <i>Microcystis aeruginosa</i> ont été prélevées dans un lac et mises en culture.																																		
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, vésicule biliaire et intestins																																		
<b>Voie d'exposition</b>	Orale																																		
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA et inhibition de la protéine phosphatase																																		
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction) MC libres uniquement																																		
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié																																		
<b>Résultats</b>	<p>Dans le muscle, la concentration en MC la plus élevée est observée le 6<sup>ème</sup> jour d'exposition (28 µg/kg de poids frais), puis la concentration diminue à 5 µg/kg au 10<sup>ème</sup> jour d'exposition.</p> <p>Dans le foie, la concentration en MC la plus élevée est observée le 8<sup>ème</sup> jour d'exposition (820 µg/kg de poids frais), puis la concentration diminue (à 510 µg/kg) au 10<sup>ème</sup> jour d'exposition.</p> <p>Table 1: Microcystins concentrations in liver muscle and faeces of Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) fish during the investigation period</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Organ</th> <th colspan="6">Time (day)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>2</th> <th>4</th> <th>6</th> <th>8</th> <th>10</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Liver (µg g<sup>-1</sup>)</td> <td>0</td> <td>0.150</td> <td>0.720</td> <td>0.550</td> <td>0.820</td> <td>0.510</td> </tr> <tr> <td>Muscle (µg g<sup>-1</sup>)</td> <td>0</td> <td>0.002</td> <td>0.008</td> <td>0.028</td> <td>0.006</td> <td>0.005</td> </tr> <tr> <td>Faeces (µg g<sup>-1</sup> fish)</td> <td>0</td> <td>0.010</td> <td>0.022</td> <td>0.047</td> <td>0.066</td> <td>0.110</td> </tr> </tbody> </table>	Organ	Time (day)						0	2	4	6	8	10	Liver (µg g <sup>-1</sup> )	0	0.150	0.720	0.550	0.820	0.510	Muscle (µg g <sup>-1</sup> )	0	0.002	0.008	0.028	0.006	0.005	Faeces (µg g <sup>-1</sup> fish)	0	0.010	0.022	0.047	0.066	0.110
Organ	Time (day)																																		
	0	2	4	6	8	10																													
Liver (µg g <sup>-1</sup> )	0	0.150	0.720	0.550	0.820	0.510																													
Muscle (µg g <sup>-1</sup> )	0	0.002	0.008	0.028	0.006	0.005																													
Faeces (µg g <sup>-1</sup> fish)	0	0.010	0.022	0.047	0.066	0.110																													
<b>Conclusion</b>	<b>La concentration en MC dans le foie et dans le muscle ne suit pas une relation linéaire avec la durée d'exposition. Dans une première phase, elle augmente (6 à 8 premiers jours d'exposition) puis dans une seconde phase, elle diminue (8 à-10<sup>ème</sup> jour).</b>																																		
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne																																		
<b>Commentaires</b>																																			
<b>Informations complémentaires</b>																																			

<sup>37</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ;  
<http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

<b>Référence</b>	Amrani et al. (2014). Variation in cyanobacterial hepatotoxin (microcystin) content of water samples and two species of fishes collected from a shallow lake in Algeria. Arch Environ Contam Toxicol 66(3): 379-389.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac pendant 1 an.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Algérie
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune <i>Anguilla anguilla</i> anguille d'Europe, anguille commune
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	3 poissons de chaque espèce prélevés dans le lac Oubeira ont été achetés chaque mois à des pêcheurs locaux entre avril 2010 et mars 2011. Le poids des carpes était compris entre 250 et 1400 g et celui des anguilles entre 400 et 1050 g.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	Quantification par Inhibition de la protéine phosphatase (PP2A) et identification par LC-MS/MS. MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 pour PP2A (pas LD, ni rendement d'extraction), LQ = 20 µg/kg de poids sec
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Prélèvements mensuels d'1L d'eau en surface à 10 m du bord (en triplicat). La concentration intra et extracellulaire en MC a été mesurée par Inhibition de la protéine phosphatase.
<b>Résultats</b>	<p>Dans l'eau, la concentration en MC dissoutes a varié entre 0,01 et 1,6 µg/L, celle en MC particulaires entre 0,018 et 11,8 µg/L, avec une efflorescence entre août et octobre. Le pic en MC dissoutes est observé en fin d'efflorescence. MC-LR était le variant dominant (90%) suivi de MC-YR et MC-(H<sub>4</sub>)-YR.</p> <p>Fig. 1 : Distribution de la concentration totale en MC dans l'eau et dans les tissus de <b>carpes communes</b> prélevées chaque mois entre avril 2010 et mars 2011. Les données sont exprimées en moyenne ± ET de 3 poissons (analyses réalisées en triplicat).</p> <p>Chez la carpe, la concentration en MC dans le muscle a varié entre 329 et 680 µg/kg de poids sec. La valeur maximale a été observée en décembre, alors que la concentration en MC totales dans l'eau était de l'ordre de 1 µg/L. <b>Le profil dans le muscle ne suit pas celui de la concentration en MC totales dans l'eau puisqu'il n'y a pas d'augmentation significative pendant l'efflorescence et qu'il y a détection de MC même en l'absence d'efflorescence.</b></p>

Dans le foie, la concentration en MC a varié entre 343 et 771 µg/kg de poids sec. On observe une augmentation de la concentration pendant l'efflorescence et une très lente dépuraton après l'efflorescence.

La carpe a un régime omnivore.

Chez l'anguille, la concentration en MC dans le muscle a varié entre 54 à 67 µg/kg de poids sec. **Le profil dans le muscle ne suit pas celui de la concentration en MC totales dans l'eau puisqu'il n'y a pas d'augmentation significative pendant l'efflorescence et qu'il y a détection de MC même en l'absence d'efflorescence.**

Dans le foie, la concentration en MC a varié entre 86 et 333 µg/kg de poids sec. On observe une nette augmentation en janvier et février 2011 alors qu'il n'y pas d'efflorescence (concentration totale dans l'eau < 1 µg/L).

L'anguille a un régime carnivore.

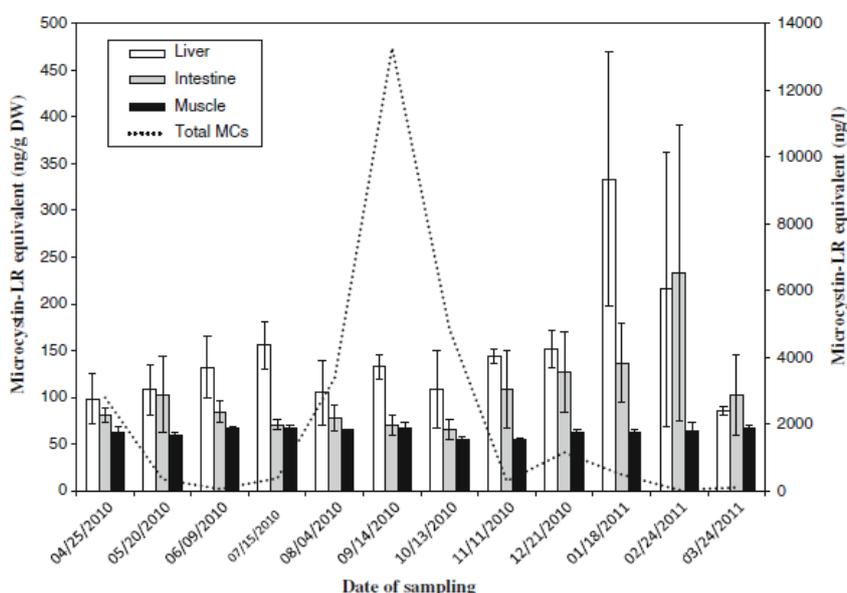


Fig. 2 : Distribution de la concentration totale en MC dans l'eau et dans les tissus **d'anguilles communes** prélevées chaque mois entre avril 2010 et mars 2011. Les données sont exprimées en moyenne ± ET de 3 poissons (analyses réalisées en triplicat).

<b>Conclusion</b>	<p><b>Pas de corrélation entre les concentrations en MC dans l'eau (intra + extracellulaire) et celles dans le muscle des carpes et des anguilles. Présence de MC dans le muscle même en l'absence d'efflorescence de cyanobactéries.</b></p> <p>Chez l'anguille, carnivore, la contamination par les MC se fait par transfert le long de la chaîne alimentaire.</p>
<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Bonne</b>
<b>Commentaires</b>	<p>Il n'y a pas de représentation géographique du site de prélèvement d'eau et des sites de pêche des poissons. Il n'est donc pas possible de juger de la représentativité des résultats de concentrations en MC dans l'eau.</p> <p>Indépendamment de cela, l'étude montre qu'il y a un <b>bruit de fond de la contamination des poissons toute l'année</b> (minimum de 329 µg/kg de poids sec chez la carpe).</p>
<b>Informations complémentaires</b>	<p>Un coefficient de 5 a été utilisé pour convertir les concentrations en poids en sec au poids frais afin de réaliser des calculs d'exposition alimentaire. Les auteurs soulignent le besoin de recherche sur la biodisponibilité des MC liées.</p>

<b>Référence</b>	Bruno et al. (2009). Microcystin detection in contaminated fish from Italian lakes using ELISA immunoassays and LC-MS/MS analysis. Handbook on Cyanobacteria: Biochemistry, Biotechnology and Applications: 191-210.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de 3 lacs pendant 2 ans.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Italie
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius carassius</i> carassin commun <sup>38</sup> <i>Cyprinus carpio</i> carpe commune <i>Dicentrarchus labrax</i> bar commun <sup>39</sup> <i>Leuciscus cephalus</i> chevaine <i>Mugil cephalus</i> poisson queue bleue <sup>40</sup> <i>Salmo trutta lacustris</i> truite de lac
<b>Présentes en Europe</b>	OUI
<b>Présentes en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	107 poissons ont été prélevés entre juin 2004 et août 2006 dans le lac Massaciuccoli (n=99), le lac Albano (n=2), le lac Fiastrone (n=1) et le lac Ripabianca (n=1)
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et viscères
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Envirogard, Enviroligix, Beacon) ou LC-MS/MS MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 pour ELISA (pas LD, ni LQ, ni de rendement d'extraction) 2 pour LC-MS/MS : rendement d'extraction = 90,8% pour MC-RR, 88,6% pour MC-LR, 78,4% pour MC-LW et 83,1% pour MC-LF LD = 1,6 µg/kg de poids frais pour MC-RR, 2,1 µg/kg pour MC-YR, 2,3 µg/kg pour MC-LR, 1,9 µg/kg pour MC-LA, 1,7 µg/kg pour MC-LW. LQ = 1,6 µg/kg pour MC-RR, 3,9 µg/kg pour MC-YR, 4,0 µg/kg pour MC-LR, 3,1 µg/kg pour MC-LA, 3,8 µg/kg pour MC-LW
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (10 – 130 mg de phytoplancton) ont été réalisés au moment de la capture des poissons et analysés par LC-MS/MS pour la mesure de MC intracellulaires.
<b>Résultats</b>	MC détectées dans 71% des échantillons de muscle. Variants détectés : dem MC-RR, MC-RR, MC-YR, dem MC-LR, MC-LR, MC-LA. Pour les échantillons de poissons analysés par LC-MS/MS et ELISA, les résultats étaient 3 à 8 fois plus élevés par ELISA.  <u>Etude de l'effet de la cuisson</u> <b>La cuisson au four des filets de poisson entraîne une augmentation de la concentration en MC de 12 à 56%.</b> <b>Les modes de cuisson « sauté » et « braisé » entraînent une diminution de la concentration en MC respectivement de 8-91% et de 73-93%.</b>

<sup>38</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67206/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67206/tab/rep/METROP)

<sup>39</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/69317/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/69317/tab/rep/METROP)

<sup>40</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/69772/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/69772/tab/rep/METROP)

Résultats		Tableau 1 : lac Massaciuccoli				
Date de prélèvement	Espèce	Muscle par ELISA (µg/kg)	Muscle par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)		
Juin 2004	carpe	< LD	non analysé	non analysé		
	carpe	4,47	non analysé			
	carassin	non analysé	8,73			
	carassin	2,03	non analysé			
	carassin	< LD	non analysé			
	p. q. bleue	1,37	< LD			
p. q. bleue	3,68	non analysé				
p. q. bleue	<b>36,42</b>	non analysé				
Décembre 2004	carpe	1,31	non analysé	0,08		
	carassin	< LD	non analysé			
	carassin	1,89	0,35			
	carassin	1,97	non analysé			
	p. q. bleue	8,5	non analysé			
	p. q. bleue	non analysé	9,35			
p. q. bleue	1,99	non analysé				
Juin 2005	carpe	< LD	non analysé	1,23		
	carpe	1,78	non analysé			
	carpe	1,17	non analysé			
	carpe	1,04	< LD			
	carassin	0,79	< LD			
	carassin	0,38	non analysé			
	carassin	1,07	non analysé			
Novembre 2005	carpe	2,29	< LD	non analysé		
	carpe	2,72	0,81			
	carpe	< LD	< LD			
	carassin	< LD	non analysé			
	carassin	< LD	non analysé			
	carassin	< LD	non analysé			
	p. q. bleue	< LD	non analysé			
p. q. bleue	0,58	non analysé				
p. q. bleue	3,23	non analysé				
Juillet 2006	carpe	1,53	non analysé	non analysé		
	carassin	2,18	non analysé			
Août 2006	carpe	< LD		non analysé		
	carpe	0,45				
	carassin	< LD	non analysé			
	carassin	< LD				
	p. q. bleue	0,71				
p. q. bleue	0,78					

Tableau 2 : lac Albano				
Date de prélèvement	Espèce	Muscle par ELISA (µg/kg)	Muscle par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)
Août 2006	truite	< LD	non analysé	non analysé
	truite	< LD	non analysé	

Tableau 3 : lac Fiastrone				
Date de prélèvement	Espèce	Muscle par ELISA (µg/kg)	Muscle par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)
Mars 2005	chevaine	non analysé	<b>26,59</b>	non analysé

Tableau 4 : lac Ripabianca				
Date de prélèvement	Espèce	Muscle par ELISA (µg/kg)	Muscle par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)
Mars 2005	chevaine	non analysé	<b>26,30</b>	non analysé présence d'une efflorescence

	<p>Fig 1 : Evolution de la concentration en MC totales dans l'eau et dans 3 espèces de poissons entre juin 2004 et août 2006 (ELISA)</p>																												
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Les auteurs indiquent une corrélation négative entre la concentration en MC dans l'eau (intracellulaire) et celle dans le muscle de poissons.</p> <p><b>Les données montrent la présence de MC dans le muscle en l'absence de MC dans l'eau et inversement, une très faible concentration en MC dans le muscle alors que la concentration dans l'eau dépasse 1 µg/L.</b></p> <p><b>Le mode de cuisson au four conduit à une augmentation de la concentration en MC dans le muscle.</b></p>																												
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Très bonne</p>																												
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Selon les auteurs, les MC liées peuvent être détectées par les ELISA avec des anticorps polyclonaux</p>																												
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p><i>Procambarus clarkii</i> : écrevisse de Louisiane<sup>41</sup> (présente en France)          14 écrevisses ont été prélevées dans le lac Massaciuccoli et analysées, les concentrations varient de non détecté à 45 µg/kg.</p> <p>Tableau 5 : Concentrations en MC dans les queues d'écrevisses</p> <table border="1" data-bbox="544 1061 1350 1464"> <thead> <tr> <th>Date de prélèvement</th> <th>par ELISA (µg/kg)</th> <th>par LC-MS (µg/kg)</th> <th>Eau par ELISA (µg/L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Juin 2004</td> <td>28,46</td> <td>&lt; LD</td> <td>non analysé</td> </tr> <tr> <td>Décembre 2004</td> <td>11,25 3,72 2,84</td> <td>non analysé</td> <td>0,08</td> </tr> <tr> <td>Juin 2005</td> <td>4,73 <b>45,45</b> 6,85</td> <td></td> <td>1,23</td> </tr> <tr> <td>Novembre 2005</td> <td>12,8 9,81 2,68</td> <td>0,77 non analysé non analysé</td> <td>non analysé</td> </tr> <tr> <td>Juillet 2006</td> <td>&lt; LD</td> <td>non analysé</td> <td>non analysé</td> </tr> <tr> <td>Août 2006</td> <td>1,51 &lt; LD &lt; LD</td> <td>non analysé</td> <td>non analysé</td> </tr> </tbody> </table>	Date de prélèvement	par ELISA (µg/kg)	par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)	Juin 2004	28,46	< LD	non analysé	Décembre 2004	11,25 3,72 2,84	non analysé	0,08	Juin 2005	4,73 <b>45,45</b> 6,85		1,23	Novembre 2005	12,8 9,81 2,68	0,77 non analysé non analysé	non analysé	Juillet 2006	< LD	non analysé	non analysé	Août 2006	1,51 < LD < LD	non analysé	non analysé
Date de prélèvement	par ELISA (µg/kg)	par LC-MS (µg/kg)	Eau par ELISA (µg/L)																										
Juin 2004	28,46	< LD	non analysé																										
Décembre 2004	11,25 3,72 2,84	non analysé	0,08																										
Juin 2005	4,73 <b>45,45</b> 6,85		1,23																										
Novembre 2005	12,8 9,81 2,68	0,77 non analysé non analysé	non analysé																										
Juillet 2006	< LD	non analysé	non analysé																										
Août 2006	1,51 < LD < LD	non analysé	non analysé																										

<sup>41</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/162668/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/162668/tab/rep/METROP)

<b>Référence</b>	Chellappa et al. (2008). Harmful phytoplankton blooms and fish mortality in a eutrophicated reservoir of Northeast Brazil. <i>Brazilian Archives of Biology and Technology</i> 51(4): 833-841.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un réservoir pendant une efflorescence de cyanobactéries
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Plagioscion squamosissimus</i> Acoupa rivière
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	OUI (en Guyane <sup>42</sup> )
<b>Présente en Europe</b>	<i>Cichla monoculus</i> perciforme
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON <sup>43</sup>
<b>Présente en Europe</b>	<i>Prochilodus brevis</i>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON <sup>44</sup>
<b>Présente en Europe</b>	<i>Hoplias malabaricus</i> poisson tigre
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	OUI (Guyane <sup>45</sup> )
<b>Présente en Europe</b>	<i>Leporinus friderici</i>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	OUI (Guyane <sup>46</sup> )
<b>Présente en Europe</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> Tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>47</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Prélèvements de 8 poissons morts en décembre 2003 pendant une efflorescence de cyanobactéries dans le réservoir Marechal Dutra.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-UV MC libre uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Prélèvements d'eau mensuels de janvier à juin 2004 sur 4 sites à proximité des cages de poissons en surface et à 4m, 8m et 11m de profondeur. Analyse de la concentration en MC dans le seston par HPLC-UV. Présence d'une efflorescence de cyanobactéries dominées par <i>Microcystis aeruginosa</i> et <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> en décembre 2003.
<b>Résultats</b>	En décembre 2003, une efflorescence de cyanobactéries a été observé pendant 15 jours avec un pic de la concentration en MC dans le seston au 7 <sup>ème</sup> jour à 8,73 µg/L puis une diminution jusqu'au 15 <sup>ème</sup> jour. Chez les poissons, la concentration dans le foie présente un pic également au 7 <sup>ème</sup> jour à 2590 µg/kg puis diminue jusqu'au 15 <sup>ème</sup> jour.

<sup>42</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/419220/tab/rep/GUF](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/419220/tab/rep/GUF)

<sup>43</sup> <http://www.fishbase.org/summary/13270>

<sup>44</sup> <http://www.fishbase.org/summary/Prochilodus-brevis.html>

<sup>45</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/419108/tab/rep/GUF](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/419108/tab/rep/GUF)

<sup>46</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/461175/tab/rep/GUF](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/461175/tab/rep/GUF)

<sup>47</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ; <http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

	<p>Fig 1 : concentration en MC dans le seston et dans el foie des poissons durant le efflorescence de cyanobactéries.</p>
<b>Conclusion</b>	<p>Sur une période de 15 jours, les cinétiques de contamination et de décontamination dans le foie des poissons suivent celles de la concentration en MC dans l'eau (intracellulaire). Mais les résultats de cette étude sont jugés peu fiables.</p>
<b>Qualité de l'étude</b>	<p>Faible</p>
<b>Commentaires</b>	<p><b>L'article ne précise pas comment ont été analysés les foies des poissons, il semble que ceux-ci ont été poolés (il n'y a qu'un seul point par date) sans tenir compte de l'espèce.</b></p>
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Deblois et al. (2008). Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. <i>Toxicon</i> 51(3): 435-448.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de 2 réservoirs
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>48</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Présente en Europe</b>	<i>Tilapia rendalli</i> tilapia à poitrine rouge
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Dans le réservoir Funil, 20 tilapias du Nil de tailles variées ont été prélevés les 5 et 6 janvier 2003 sur un site central. Dans le réservoir Furnas, 3 tilapias du Nil et 4 tilapias à poitrine rouge ont été prélevés le 3 février 2003 sur un seul site.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	Muscle par ELISA (Enviroligix) et foie par inhibition de la protéine phosphatase 2A ; 10 foies ont été analysés par HPLC-PDA. MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 pour les 3 méthodes (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction). Les résultats de foies analyses par PPI et HPLC ont montré une corrélation avec $R^2 = 0,68$ . Pour les muscles, la comparaison des résultats par ELISA et PPI a montré un $R^2 = 0,85$ . <b>Les résultats par ELISA sous-estiment de 30% la concentration en MC comparé à PPI.</b> Les auteurs choisissent de ne pas retenir les résultats par PPI.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau ont été réalisés les 5 et 6 janvier 2003 sur 3 sites du réservoir Funil et le 3 février 2003 sur 1 site du réservoir Furnas. Au réservoir Funil, les concentrations en MC dans l'eau étaient de 0,26 µg/L au site 1 et de 0,73 µg/L au site 2 (proches du site de prélèvement des poissons). Dans le seston, les valeurs étaient respectivement de 108 et 163 mg/kg de poids sec. Au réservoir Furnas, la concentration était de 0,94 µg/L dans l'eau et de 784 mg/kg de poids sec dans le seston.
<b>Résultats</b>	26% des poissons prélevés avaient une concentration dans les muscles supérieure à 8 µg/kg (qui correspond à la dose journalière tolérable fixée par l'OMS pour une portion de 300 g et un adulte de 60 kg). Les concentrations étaient comprises entre 0,9 et 12 µg/kg de poids frais. Concernant les concentrations en MC dans le foie des tilapias du Nil, il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les 2 réservoirs, malgré les différences de concentrations en MC dans l'eau. Les variants étaient différents en composition et en proportions de ceux du seston. Concernant le muscle, les tilapias du Nil de Furnas ( $11,7 \pm 0,3$ µg/kg de poids frais) sont significativement plus contaminés que ceux de Furnil ( $6,1 \pm 1,7$ µg/kg), en cohérence avec les concentrations plus élevées en MC dans l'eau de Furnas. Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le foie et celle dans le muscle des poissons.

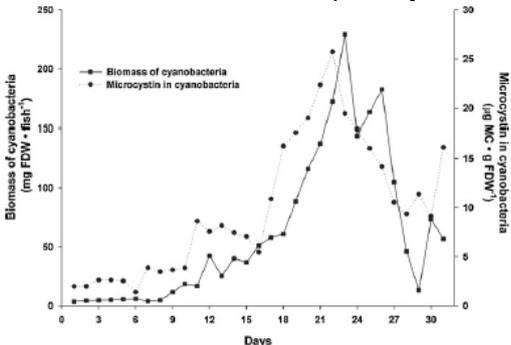
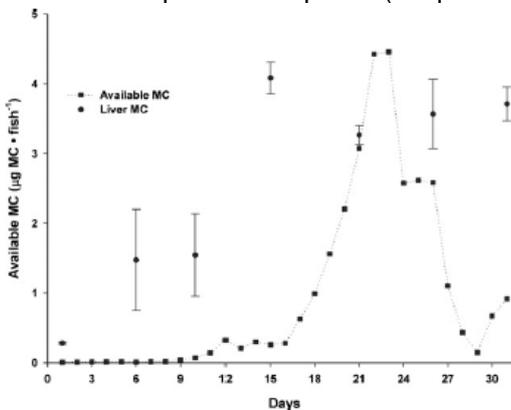
<sup>48</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ;  
<http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

Microcystin variants	Seston Furnas	Fish Furnas	Seston Funil	Fish Funil
	(n = 1) (µg g DW <sup>-1</sup> )	(n = 2) (µg g liver <sup>-1</sup> )	(n = 2) (µg g DW <sup>-1</sup> )	(n = 3) (µg g liver <sup>-1</sup> )
Unk 1		4.0 ± 0.1	42.1 ± 2.4	12.1 ± 4.7
Unk 2				3.3 ± 1.6
MC-YR			53.0 ± 42.8	
MC-LR	409.9	3.6 ± 0.4	100.7 ± 3.9	4.4 ± 1.4
Unk 3	64.3	0.9 ± 0.6		
MC-LA	42.0	0.8 ± 0.5		3.8 ± 0.6
Unk 4	280.4			
Total by HPLC	796.6	9.3 ± 0.3	195.7 ± 44.3	23.6 ± 7.5
Total by PPI	783.1	9.3 ± 0.1	191.3 ± 39.3	26.0 ± 8.3

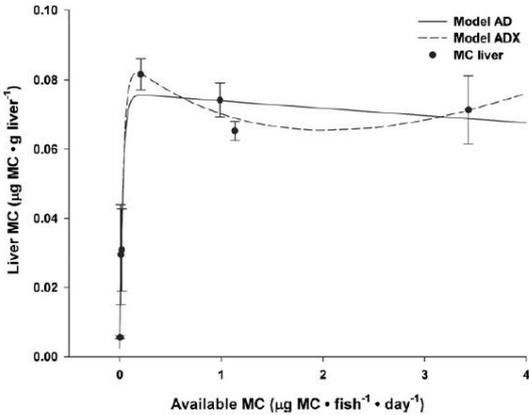
  

<b>Conclusion</b>	<p>Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le foie et celle dans le muscle des poissons.                      Pas de corrélation entre la concentration en MC dans le seston et celle dans le foie des poissons.                      Concernant le muscle, les concentrations en MC sont plus élevées lorsque celles dans l'eau sont plus élevées.  <b>Les auteurs concluent à un fort potentiel d'accumulation des MC dans le muscle des poissons même avec de faibles concentration en MC dans l'eau.</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Moyenne</b>
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>

<b>Référence</b>	Deblois et al. (2011). Experimental model of microcystin accumulation in the liver of <i>Oreochromis niloticus</i> exposed subchronically to a toxic bloom of <i>Microcystis</i> sp. <i>Aquatic Toxicology</i> 103(1-2): 63-70.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 31 jours.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> Tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>49</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	45 poissons matures (250 g) nourris 51 jours avec du seston dominé par <i>Microcystis</i> sp (31 jours d'efflorescence). Les poissons ont été pêchés dans un étang, 5 poissons ont été analysés et les concentrations en MC étaient inférieures à la LD. 2 groupes de poissons : exposés et non exposés. La dose de MC du groupe exposé a été estimée à $0,973 \pm 0,408$ µg/poisson (concentration dans le seston de $2,78 \pm 1,04$ mg/kg poids sec). Prélèvements de 5 poissons tous les 5 jours pour chaque groupe.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	Inhibition de la protéine phosphatase MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (que LD, pas LQ, ni rendement d'extraction) ; LD = 4 µg/kg Les auteurs indiquent que leur méthode a été validée par comparaison à HPLC et ELISA, calibrée avec un standard de MC-LR.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	L'efflorescence a atteint son pic au jour 22/31 d'exposition.  Fig. 1. Variation in the biomass of cyanobacteria, measured in the concentrated seston and expressed as freeze dried weight per fish, supplied daily to each fish and toxicity, in MC-LR equivalent for the 31 days of experiment.
<b>Résultats</b>	Pas de MC détectées dans les poissons témoins (muscles et foies) ni dans le muscle des poissons exposés (uniquement dans les foies).  Fig. 2. Daily availability of MC in the diet of each fish during the 31 days of experiment and average MC content in the fish liver for every sampling date. Each point of liver MC data: n = 5, bars are SE.

<sup>49</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ;  
<http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

	<p>A J5, la concentration en MC dans le foie = 5,6 µg/kg (poids sec ?)                  A J10, foie = 29,5 µg/kg                  A J15, foie = 81,7 µg/kg                  A J25 et J31, foie = entre 70 et 75 µg/kg                  Modélisation de la concentration en MC dans le foie en fonction de la concentration en MC disponible (seston).                  Modèle de toxico-cinétique non linéaire incluant les process d'accumulation dépuration et saturation.</p>  <p>Fig. 3. Prediction of liver MC from the average available MC per fish obtained with both the AD and ADX model (Eqs. (1) and (2)). The measured data are also presented for comparison. The daily dose used in these models is the average available MC per fish calculated with the five days preceding the sampling date.</p> <p>Modèle ADX, R<sup>2</sup> = 0,98</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Le modèle propose 3 phases qui contrôlent l'accumulation des MC dans le foie des poissons : à faible dose, les MC s'accumulent en forte proportion et il y a peu d'élimination, à dose moyenne l'accumulation est contrôlée par le bilan entre accumulation et élimination, à forte dose l'élimination est saturée et il y a une forte accumulation dans le foie.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p><b>L'étude n'a pas porté sur la cinétique de dépuration mais on peut voir sur la figure 2 que la concentration en MC dans le foie reste stable 7 jours après le pic d'efflorescence.</b></p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

<b>Référence</b>	Guo et al. (2015). A non-classical biomanipulation experiment in Gonghu Bay of Lake Taihu: Control of <i>Microcystis</i> blooms using silver and bighead carp. <i>Aquaculture Research</i> 46(9): 2211-2224.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons
<b>Type d'étude</b>	Environnemental (dans des enclos)
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI (introduite non établie, dont cultivée ou domestique <sup>50</sup> )
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI <sup>51</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	En mars 2009, des carpes ont été maintenues dans des enclos avec des filets dans la baie Gonghu du lac Taihu, dans l'objectif de contrôler l'abondance de cyanobactéries et éviter les efflorescences. 1200 kg de carpes argentées de 120-170 g et 180 kg de carpes à grosse tête de 80-120 g. 10 carpes de chaque espèce ont été prélevées chaque mois entre mars et décembre.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS selon Chen et Xie 2005 MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>Des prélèvements d'eau intégrés de la colonne d'eau ont été réalisés chaque mois sur 4 sites, 2 à l'intérieur de l'enclos et 2 à l'extérieur. Une efflorescence a été observée en juillet, août et septembre. Durant la période d'efflorescence, les cyanobactéries représentaient 90% du phytoplancton en dehors des enclos et 40-80% dans les enclos avec les carpes.</p> <p>Fig. 7. Seasonal variations of intra- and extra-cellular MCs in the enclosure and in the surrounding lake.</p> <p>En dehors de l'enclos, la concentration en MC intracellulaire dans l'eau était élevée entre juillet et août (5 à 9 µg/L) puis a diminué en octobre et</p>

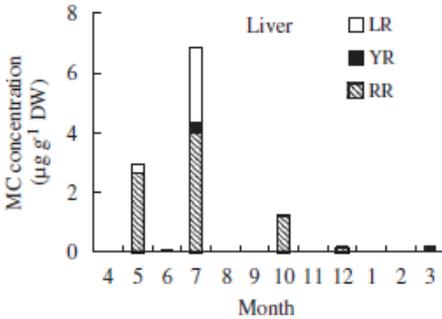
<sup>50</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/statut](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/statut)

<sup>51</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67277/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67277/tab/rep/METROP)

	<p>novembre. Dans l'enclos, la concentration est restée faible (pic en novembre à 0,6 µg/L).                  La concentration en MC dissoute dans l'eau est restée faible, entre 0,01 et 0,06 µg/L en dehors de l'enclos. A l'intérieur de l'enclos, la concentration était encore plus faible (pic en novembre à 0,026 µg/L).                  3 variants ont été identifiés : MC-LR, RR et YR (LR et RR dominants).</p>
<p><b>Résultats</b></p>	<p>Les 3 mêmes variants que dans l'eau ont été identifiés dans le muscle : MC-LR, RR et YR (LR et RR dominants).                  Les concentrations maximales ont été observées en juillet (94 µg/kg de poids sec) dans les muscles des carpes argentées et en septembre pour les carpes à grosse tête (47 µg/kg).                  En moyenne, la concentration en MC dans le muscle était 33 µg/kg pour la carpe argentée et 16 µg/kg pour les carpes à grosse tête.</p> <div data-bbox="549 591 1070 1155"> </div> <p>Fig. 8. Seasonal changes of MCs concentration in muscle of silver and bighead carp</p> <p>L'analyse statistique a montré une corrélation positive entre la concentration en MC intracellulaire dans l'eau et celle dans le muscle pour la carpe argentée (qui se nourrit de phytoplancton) mais pas pour la carpe à grosse tête (qui se nourrit de zooplancton).</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Corrélation entre la concentration en MC intracellulaire dans l'eau et celle dans le muscle pour une espèce de carpe (qui se nourrit de phytoplancton) mais pas pour l'autre (qui se nourrit de zooplancton).</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les auteurs ont utilisé un facteur de 5 pour convertir en poids frais les concentrations exprimées en poids sec de leur étude.                  Les concentrations en MC dans les muscles ont varié entre 0,34 et 18,8 µg/kg de poids frais (moyenne de 4,8 µg/kg).</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

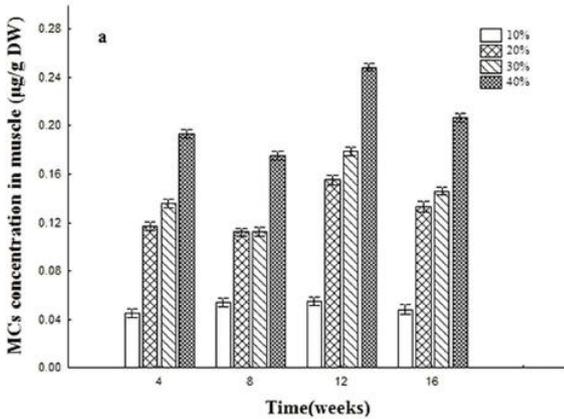
<b>Référence</b>	Jiang et al. (2012). Bioaccumulation, oxidative stress and HSP70 expression in <i>Cyprinus carpio</i> L. exposed to microcystin-LR under laboratory conditions. <i>Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology</i> 155(3): 483-490.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 46 heures.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	15 carpes juvéniles (âgées de 6 mois, 30 g) achetées à une pêcherie ont été exposées pendant 14 jours à différentes concentrations de MC-LR (3 carpes par groupe) : 0 ; 0,1 ; 1 ; 5 ou 10 µg/L. La MC-LR, pure à 96%, a été achetée. Les carpes ont été nourries pendant l'exposition.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, branchies, intestin
<b>Voie d'exposition</b>	eau de l'aquarium
<b>Méthode d'analyse</b>	Quantification par ELISA (Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences) et identification par LC-MS. MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction).
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	4 concentrations testées de MC-LR dissoute.
<b>Résultats</b>	<p>Pas de MC détectées dans le groupe témoin. La concentration en MC-LR dans le muscle augmente avec l'augmentation de la concentration dans l'eau jusqu'à 5 µg/L puis on observe un plateau entre 5 et 10 µg/L (maximum autour de 10 µg/kg de poids sec). La concentration dans le foie est corrélée avec celle dans l'eau. En revanche, ce n'est pas le cas pour le muscle.</p> <p>Fig. 1. The MC-LR contents (µg/kg DW) in various organs/tissues (muscle, gill, intestine, liver) of <i>C. carpio</i> exposed to different concentrations of MC-LR detected by ELISA. Data are denoted as mean ± SD (n=3). Different letters indicate a statistically significant difference at p&lt;0.05.</p>
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de corrélation entre la concentration en MC-LR dissoute dans l'eau et celle dans le muscle des poissons.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	Les auteurs ont utilisé un facteur de 5 pour convertir en poids frais les concentrations exprimées en poids sec de leur étude.
<b>Informations complémentaires</b>	

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Li et al. (2007). Biochemical and ultrastructural changes of the liver and kidney of the phytoplanktivorous silver carp feeding naturally on toxic <i>Microcystis</i> blooms in Taihu Lake, China. <i>Toxicol</i> 49(7): 1042-1053.																												
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant 1 an.																												
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																												
<b>Pays</b>	Chine																												
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> , carpe argentée OUI OUI <sup>52</sup>																												
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																												
<b>Protocole expérimental</b>	16 000 kg de carpes de 130 g provenant d'une pêcherie ont été maintenues dans un enclos avec des filets dans la baie Meiliang du lac Taihu d'avril 2004 à mars 2005. Chaque mois, 5 carpes ont été prélevées.																												
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie et reins																												
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																												
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS selon Chen et Xie (2005) MC libres uniquement																												
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)																												
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>Prélèvements d'eau mensuels en surface (5L) sur 2 sites à l'intérieur de l'enclos de juin 2004 à février 2005. Les auteurs ont identifié 3 phases : avant, pendant et après une efflorescence de <i>Microcystis aeruginosa</i> de juin à octobre 2004. La concentration intracellulaire en MC a atteint un pic en juillet 2004 à 15,58 µg/L puis a diminué progressivement.</p> <p>Table 1 The mean values of the physical parameters and the phytoplankton biomass in the fish pen before, during, and after <i>Microcystis</i> blooms</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Parameters</th> <th>Before <i>Microcystis</i> blooms (2004.4-2004.5)</th> <th>During <i>Microcystis</i> blooms (2004.6-2004.10)</th> <th>After <i>Microcystis</i> blooms (2004.11-2005.3)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Total phytoplankton biomass (mg/L)</td> <td>7.44±2.46</td> <td>21.90±20.87</td> <td>2.90±1.84</td> </tr> <tr> <td>Cyanobacterial biomass (mg/L)</td> <td>0.18±0.23</td> <td>17.62±19.81</td> <td>0.26±0.40</td> </tr> <tr> <td><i>Microcystis</i> biomass (mg/L)</td> <td>0</td> <td>16.99±19.21</td> <td>0.21±0.40</td> </tr> <tr> <td>Temperature (°C)</td> <td>21.2±4.36</td> <td>26.87±6.56</td> <td>8.57±4.47</td> </tr> <tr> <td>Dissolved oxygen (mg/L)</td> <td>8.09±0.69</td> <td>7.67±0.80</td> <td>9.04±2.59</td> </tr> <tr> <td>PH</td> <td>8.01±0.62</td> <td>8.77±0.95</td> <td>8.17±0.17</td> </tr> </tbody> </table>	Parameters	Before <i>Microcystis</i> blooms (2004.4-2004.5)	During <i>Microcystis</i> blooms (2004.6-2004.10)	After <i>Microcystis</i> blooms (2004.11-2005.3)	Total phytoplankton biomass (mg/L)	7.44±2.46	21.90±20.87	2.90±1.84	Cyanobacterial biomass (mg/L)	0.18±0.23	17.62±19.81	0.26±0.40	<i>Microcystis</i> biomass (mg/L)	0	16.99±19.21	0.21±0.40	Temperature (°C)	21.2±4.36	26.87±6.56	8.57±4.47	Dissolved oxygen (mg/L)	8.09±0.69	7.67±0.80	9.04±2.59	PH	8.01±0.62	8.77±0.95	8.17±0.17
Parameters	Before <i>Microcystis</i> blooms (2004.4-2004.5)	During <i>Microcystis</i> blooms (2004.6-2004.10)	After <i>Microcystis</i> blooms (2004.11-2005.3)																										
Total phytoplankton biomass (mg/L)	7.44±2.46	21.90±20.87	2.90±1.84																										
Cyanobacterial biomass (mg/L)	0.18±0.23	17.62±19.81	0.26±0.40																										
<i>Microcystis</i> biomass (mg/L)	0	16.99±19.21	0.21±0.40																										
Temperature (°C)	21.2±4.36	26.87±6.56	8.57±4.47																										
Dissolved oxygen (mg/L)	8.09±0.69	7.67±0.80	9.04±2.59																										
PH	8.01±0.62	8.77±0.95	8.17±0.17																										
<b>Résultats</b>	<p>La concentration maximale dans le foie (6,84 mg/kg de poids sec) a été observée en juillet, pendant le pic de MC intracellulaires dans l'eau. Dès le mois suivant, la concentration était inférieure à LD.</p> <p>Les auteurs indiquent qu'il n'y avait pas de corrélation entre la concentration en MC intracellulaire et celle dans le foie.</p>  <p>Fig. 2. The monthly changes of MC concentrations in the liver of silver carp collected from the fish pen in Meiliang Bay of Taihu Lake during April 2004 and March 2005.</p>																												
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de corrélation entre la concentration en MC intracellulaires dans l'eau et celle dans le foie des poissons.</b>																												
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne																												
<b>Commentaires</b>																													
<b>Informations complémentaires</b>																													

<sup>52</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/rep/METROP)

C<sub>contam</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Liang et al. (2015). Are fish fed with cyanobacteria safe, nutritious and delicious? A laboratory study. Scientific Reports 5.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination des poissons pendant 16 semaines.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius auratus</i> carassin doré, poisson rouge
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI <sup>53</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	L'objectif était d'étudier la possibilité d'utiliser des cyanobactéries comme source de protéines en alimentation pour les poissons. Des poissons femelles de 56 g provenant d'une pêcherie ont été nourris pendant 16 semaines avec de l'alimentation pour poisson enrichie avec des cellules de <i>Microcystis</i> à 10%, 20%, 30% ou 40% correspondant à des doses de MC de 0 ; 2,82 ; 5,64 ; 8,46 ou 11,28 mg/kg pc/j (MC-LR, RR, YR). Chaque groupe comportait 60 poissons répartis en 3 aquariums (essais en triplicat). Les poissons ont été mis à jeun 48h avant le début de l'étude. 9 poissons (3 dans chaque aquarium) ont été prélevés à 4, 8, 12 et 16 semaines.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Enviroligix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	4 doses de MC testées.
<b>Résultats</b>	 <p>Fig 3. MCs concentration in muscle of goldfish (<i>Carassius auratus</i>) after 4, 8, 12 and 16 weeks of feeding with diets containing cyanobacteria lyophilized powder.</p> <p>La concentration maximale en MC dans le muscle de 0,25 mg/kg de poids sec a été observée après 12 semaines d'exposition à la plus forte dose de 11,28 mg MC/kg pc/j.</p> <p>La concentration en MC dans le muscle augmente avec l'augmentation de la dose d'exposition aux MC excepté pour les 2 doses intermédiaires (5,64 et 8,46 mg MC-LR eq/kg pc/j) pour lesquelles on ne voit pas de</p>

<sup>53</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67208/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67208/tab/rep/METROP)

	différence. En revanche, l'augmentation de la durée d'exposition ne s'accompagne pas d'une augmentation de la concentration dans le muscle entre les semaines 4 et 8. Une légère augmentation est observée en semaine 12 mais elle est suivie en semaine 16 d'une diminution ramenant les concentrations à un niveau proche de la semaine 8.
<b>Conclusion</b>	La concentration en MC dans le muscle de poissons augmente avec l'augmentation de la dose d'exposition aux MC mais la relation n'est pas linéaire. Pas de corrélation avec l'augmentation de la durée d'exposition entre 4 et 16 semaines. Par rapports aux objectifs de l'étude, les auteurs concluent que les cyanobactéries ne constituent pas une source intéressante de protéines en alimentation pour poissons du fait de l'accumulation en MC dans les muscles et d'une perte des qualités nutritionnelles et gustatives.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	Les auteurs ont utilisé un facteur de 5 pour convertir en poids frais.les concentrations exprimées en poids sec de leur étude.

<b>Référence</b>	Magalhaes et al. (2001). Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. <i>Toxicon</i> 39(7): 1077-1085.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un plan d'eau pendant 40 mois
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Tilapia rendalli</i> tilapia à poitrine rouge
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons ont été achetés à des pêcheurs locaux toutes les 2 semaines entre août 1996 et novembre 1999 à Jacarepagua Lagoon. Les poissons ont été analysés par pool de 5 individus à chaque date de prélèvement.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, viscères
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC pour le foie et les viscères, ELISA (Enviroligix) pour le muscle MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, LQ ni rendement)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Prélèvements d'eau de surface sur 2 sites toutes les 2 semaines.
<b>Résultats</b>	<p>Les auteurs ont identifié 6 phases selon la densité phytoplanctonique.</p> <p>Phase 1 : concentration en MC dans le seston de 1,7 µg/L. Pas de MC détectées dans le foie et les viscères des poissons.</p> <p>Phase 2 : concentration en MC dans le seston de 19,6 à 980 µg/L. Lorsque la teneur dans l'eau était de 19,6 µg/L, celle dans le muscle des poissons était de 16,2 µg/kg.</p> <p>Phase 3 : concentration en MC dans le seston de 0 à 1,61 µg/L. Pas de MC détectées dans le foie et les viscères des poissons mais dans le muscle la concentration variait entre 3 et 6 µg/kg.</p> <p>Phase 4 : concentration en MC dans le seston de 0 à 48,8 µg/L. Pas de MC détectées dans le foie et les viscères des poissons mais dans le muscle la concentration variait entre 2,4 et 81,8 µg/kg.</p> <p>Phase 5 : concentration en MC dans le seston de 0 à 17,1 µg/L. Dans le muscle la concentration variait entre 9,7 et 42,9 µg/kg.</p> <p>Phase 6 : concentration en MC dans le seston jusqu'à 257 µg/L. La concentration dans le muscle atteint la valeur maximale de l'étude de 337,3 µg/kg.</p>

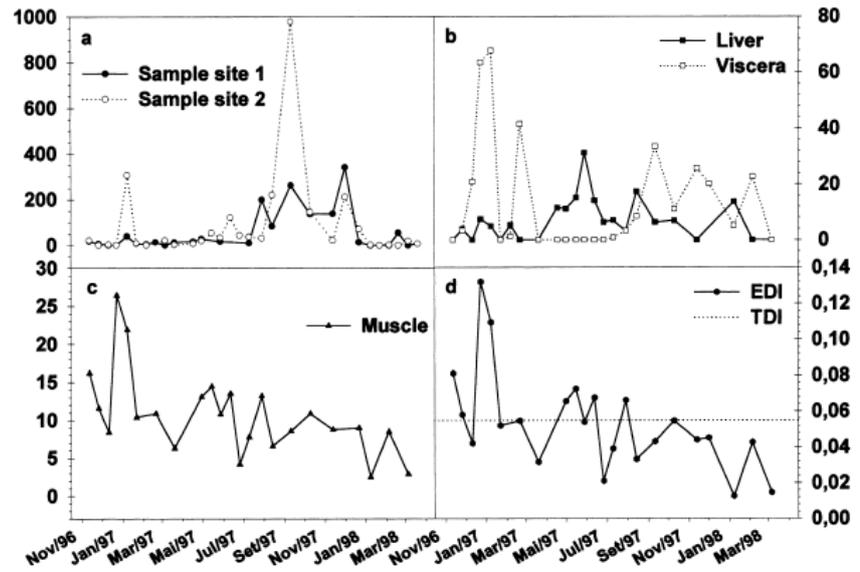


Fig. 2. Second phase, from November 1996 to March 1998. Microcystins concentration in: (a) sample sites 1 and 2 ( $\mu\text{g/L}$ ); (b) fish viscera and liver ( $\text{mg/kg}$ ); (c) muscle ( $\mu\text{g/kg}$ ).

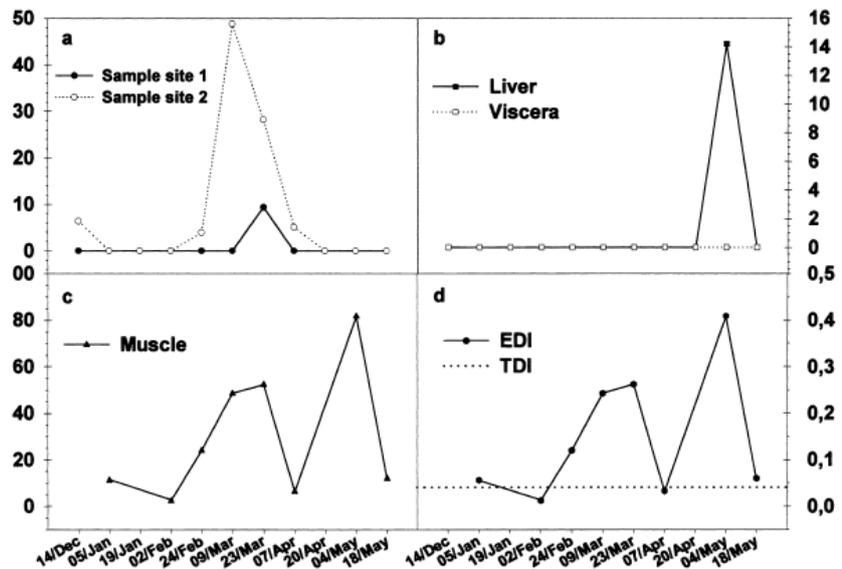
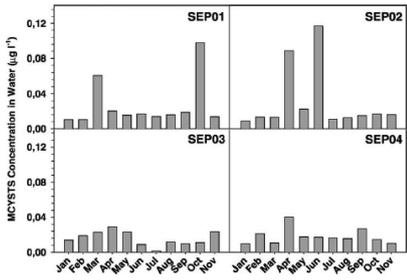
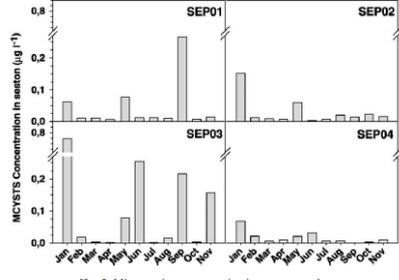
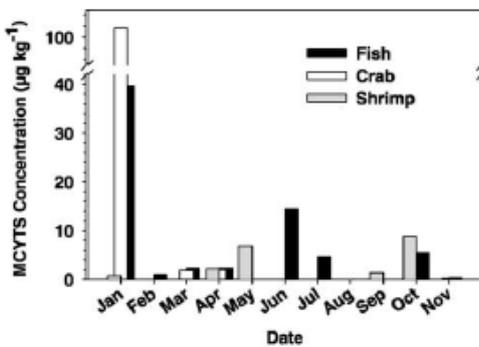
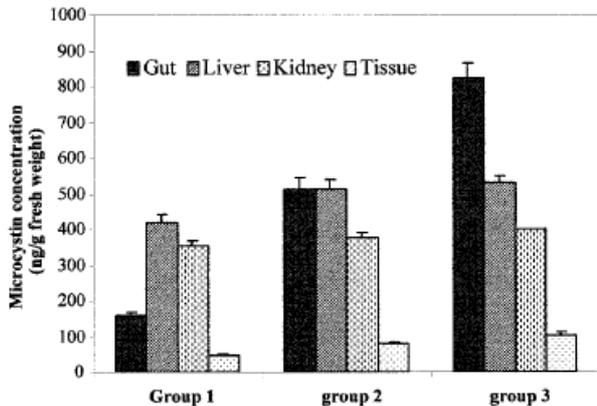


Fig. 4. Fourth phase, from the end of December 1998 to May 1999. Microcystins concentration in: (a) sample sites 1 and 2 ( $\mu\text{g/L}$ ); (b) fish viscera and liver ( $\text{mg/kg}$ ); (c) muscle ( $\mu\text{g/kg}$ ).

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Les profils de contamination en MC dans le muscle ne semblent pas suivre les profils de contamination en MC dans le seston. Les résultats de l'étude montrent que même en l'absence d'efflorescence (pas de MC détectées dans le seston), des MC sont présentes dans les muscles et les foies des poissons.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

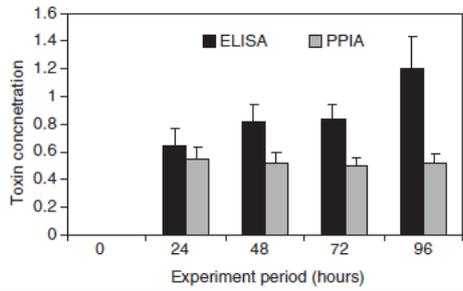
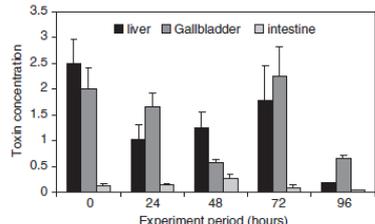
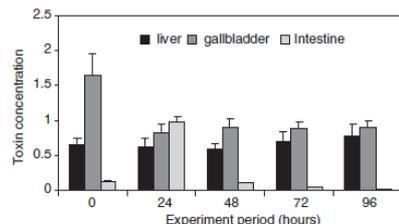
<b>Référence</b>	Magalhaes et al. (2003). Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). Toxicon 42(3): 289-295.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'une baie océanique pendant 11 mois
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	Espèce(s) non précisée(s)
<b>Présente en Europe</b>	?
<b>Présente en France</b>	?
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons provenant de la baie de Sepetiba (lagon côtier, océan Atlantique) ont été achetés à des pêcheurs locaux chaque mois pendant 11 mois entre janvier et novembre 1999. Les poissons sont analysés par pool de 5 individus à chaque date de prélèvement.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Envirologix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ ni rendement)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface (0,2-0,3 m) ont été réalisés chaque mois sur 4 sites de la baie. La concentration en MC dissoutes dans l'eau a varié entre non détecté et un maximum de 0,12 µg/L observé en juin 1999. Celle dans le seston a atteint un pic en janvier 1999 à 0,78 µg/L.   
<b>Résultats</b>	La concentration maximale en MC dans le muscle des poissons a été observée en janvier 1999 avec 39,6 µg/kg de poids frais. L'analyse statistique (test de Pearson) montre une corrélation entre la concentration en MC dans le muscle et celle dans le seston (r=0,96). Celle entre le muscle et les MC dissoutes est négative (r= - 0,27).  
<b>Conclusion</b>	<b>Corrélation entre la concentration en MC dans le muscle des poissons et celle dans le seston (corrélation négative avec les MC dissoutes dans l'eau). L'étude montre une accumulation de MC dans le muscle des poissons même avec une faible concentration en MC dans l'eau (&lt; 1 µg/L).</b>

<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	<b>Etude peu fiable car les auteurs ne précisent pas la ou les espèces de poissons étudiée(s). De plus, on ne sait pas où les poissons ont été pêchés, il n'est donc pas possible de juger de la représentativité des points de prélèvements d'eau.</b>
<b>Informations complémentaires</b>	Des crabes et des crevettes (espèces non précisées) ont également été analysés dans cette étude. La concentration maximale en MC dans le muscle des crabes a été observée en janvier 1999 avec 103,3 µg/kg de poids frais.

<b>Référence</b>	Mohamed et al. (2003). Estimation of microcystins in the freshwater fish <i>Oreochromis niloticus</i> in an Egyptian fish farm containing a <i>Microcystis</i> bloom. Environmental Toxicology 18(2): 137-141.																				
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant une efflorescence de <i>Microcystis aeruginosa</i> .																				
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																				
<b>Pays</b>	Egypte																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil																				
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>54</sup>																				
<b>Présente en France</b>	NON																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																				
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons ont été prélevés dans une ferme d'aquaculture lors d'une efflorescence intense de <i>Microcystis aeruginosa</i> en juin 2000. Les poissons ont été répartis en 3 groupes de 6 poissons selon le nombre de cellules de <i>Microcystis</i> dans les intestins. Groupe 1 : faible nombre de cellules ( $5-10 \times 10^6$ ) Groupe 2 : nombre modéré de cellules ( $10-15 \times 10^6$ ) Groupe 3 : nombre élevé de cellules ( $>15 \times 10^6$ )																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, reins																				
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																				
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (référence non précisée, préparé par les auteurs ?) MC libres uniquement																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Un prélèvement d'eau a été réalisé durant l'efflorescence. La concentration en MC était de 1,12 g/kg de poids sec.																				
<b>Résultats</b>	Dans le muscle, la concentration en MC était de 45,7 à 102 µg/kg de poids frais.  <table border="1"><caption>Estimated data from Figure 1: Microcystin concentrations (ng/g fresh weight)</caption><thead><tr><th>Group</th><th>Gut</th><th>Liver</th><th>Kidney</th><th>Tissue</th></tr></thead><tbody><tr><td>Group 1</td><td>~150</td><td>~420</td><td>~350</td><td>~50</td></tr><tr><td>group 2</td><td>~520</td><td>~510</td><td>~380</td><td>~80</td></tr><tr><td>group 3</td><td>~820</td><td>~530</td><td>~400</td><td>~100</td></tr></tbody></table>	Group	Gut	Liver	Kidney	Tissue	Group 1	~150	~420	~350	~50	group 2	~520	~510	~380	~80	group 3	~820	~530	~400	~100
Group	Gut	Liver	Kidney	Tissue																	
Group 1	~150	~420	~350	~50																	
group 2	~520	~510	~380	~80																	
group 3	~820	~530	~400	~100																	
<b>Conclusion</b>	Lors d'une efflorescence de <i>Microcystis aeruginosa</i> , la concentration en MC dans le muscle était de 45,7 à 102 µg/kg de poids frais.																				
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne																				
<b>Commentaires</b>																					
<b>Informations complémentaires</b>																					

<sup>54</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ;

<http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

<b>Référence</b>	Mohamed et Hussein (2006). Depuration of microcystins in tilapia fish exposed to natural populations of toxic cyanobacteria: A laboratory study. <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> 63(3): 424-429.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de dépuraction par les poissons pendant 96h.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Egypte
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>55</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	30 tilapias (150g-200g) ont été prélevés dans une ferme d'aquaculture régulièrement affectée par des efflorescences de cyanobactéries et ont été placés dans un aquarium avec de l'eau sans MC pour étudier la dépuraction sur une période de 96h. Pour comparaison, des tilapias ont été prélevés dans le Nil et placé dans un autre aquarium. 5 tilapias ont été prélevés toutes les 24h.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, intestins, vésicule biliaire
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA et inhibition de l'activité phosphatase (préparés par les auteurs ?). MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 pour ELISA et inhibition de l'activité phosphatase (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction). Pas de MC détectées chez les poissons témoins.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de l'aquarium (1L) ont été réalisés toutes les 24h afin de mesurer la concentration en MC (excrétées par les poissons). Les résultats sont différents selon la méthode d'analyse. Par ELISA, la concentration a augmenté progressivement de 0,6 µg/L à 24h à 1,2 µg/L à 96h. Par PPI, la concentration est restée stable à 0,5 µg/L à 24h, 48h, 72h et 96h.  <p>Fig. 3. Changes in MCYST concentrations in the surrounding tap water (µg/L) as determined by ELISA and PPIA throughout the experimental period</p>
<b>Résultats</b>	Les résultats sont différents selon la méthode d'analyse. Par ELISA, la concentration en MC dans le foie a diminué pendant les 24 premières heures, puis a augmenté à 48h et 72h et a à nouveau diminué à 96h pour atteindre une concentration très faible. Par PPI, la concentration en MC dans le foie est restée stable pendant 48h puis a légèrement augmenté à 72h et à nouveau à 96h.  <p>Fig. 1. Changes in MCYST concentrations in livers, gallbladders, and intestines of tilapia fish (µg/g) as determined by ELISA throughout the experimental period.</p>  <p>Fig. 2. Changes in MCYST concentrations in livers, gallbladders, and intestines of tilapia fish (µg/g) as determined by PPIA throughout the experimental period.</p>

<sup>55</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ; <http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

<b>Conclusion</b>	Les résultats sont différents selon la méthode d'analyse (ELISA ou PPI). Par ELISA, une nette dépuración du foie est observée en 96h mais par PPI, aucune dépuración n'a eu lieu.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	<b>Les résultats discordants selon la méthode d'analyse ne permettent pas de conclure sur la cinétique de dépuración des MC dans le foie des poissons.</b>
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Moreno et al. (2011). Differentiation between microcystin contaminated and uncontaminated fish by determination of unconjugated MCs using an ELISA anti-adda test based on receiver-operating characteristic curves threshold values: Application to <i>Tinca tinca</i> from natural ponds. Environmental Toxicology 26(1): 45-56.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de 2 plans d'eau pendant 3 mois
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium) et environnemental
<b>Pays</b>	Espagne
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Tinca tinca</i> tanche
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<p>L'objectif était d'étudier l'utilisation du test ELISA pour différencier les poissons contaminés par les MC de poissons non contaminés.</p> <p>Dans une phase 1 de l'étude, les auteurs ont défini un niveau de détection par ELISA au-delà duquel les poissons sont considérés comme contaminés. Cette phase a été réalisée avec des poissons exposés aux MC dans des aquariums.</p> <p>Dans une phase 2, ils ont analysé des poissons pêchés dans 2 plans d'eau : Barruecos de Arriba (BUp) et Barruecos de Abajo (BDown).</p> <p>Phase 1: 15 poissons mâles (50 g) provenant d'une pêcherie ont été exposé pendant 7 jours à des cellules lyophilisées de <i>Microcystis</i> issues d'une efflorescence au Portugal à une dose estimée à 72 µg MC-LR/poisson/jour. Un groupe témoin de 15 poissons n'a pas été exposé. Les poissons, répartis à 7 ou 8 par aquarium, ont été nourris durant l'expérience.</p> <p>Phase 2 : 24 poissons ont été prélevés, soit 4 par mois pour chaque plan d'eau entre juillet et septembre 2007. Les poids s'étendaient de 10 à 59 g.</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale ou milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (Abraxis) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>Des prélèvements d'eau (2L, 10-20 cm de la surface) ont été réalisés une fois par mois entre juillet et septembre 2007 dans les 2 plans d'eau dans des sites représentatifs des activités nautiques et de pêche. La concentration en MC a été déterminée par ELISA (Envirogard). Il n'est pas précisé s'il s'agit des MC totales, dissoutes ou intracellulaires.</p> <p>Dans BDown, les concentrations en MC dans l'eau ont varié entre 3,8 et 6,5 µg MC-LR eq/L, respectivement en juillet et en septembre.</p> <p>Dans BUp, les concentrations en MC dans l'eau ont varié entre 4,8 et 6,0 µg MC-LR eq/L, respectivement en juillet et en septembre.</p> <p>La densité cellulaire en cyanobactéries a varié entre <math>2 \times 10^3</math> et <math>2065 \times 10^3</math> cellules/ml, respectivement en septembre et en août.</p> <p>Les pics de MC dans l'eau ne coïncident pas avec le pic de cellules de cyanobactéries dans l'eau.</p>
<b>Résultats</b>	<p>Phase 1 : le seuil au-delà duquel les poissons sont considérés comme contaminés par ELISA a été défini par les auteurs à 5,90 µg MC/kg de poids sec dans le foie (sensibilité de 93,3%, spécificité de 82,4%). En prenant en compte l'intervalle de confiance à 95%, ce seuil est de 8,88 µg MC/kg ps.</p> <p>Chez les poissons témoins, les concentrations mesurées allaient de 1 à 8,35 µg MC/kg ps. Chez les poissons traités, elles allaient de 4,74 à 24,15</p>

	<p>µg MC/kg ps.</p> <p>Vrais positifs : MC &gt; 8,88 µg MC/kg ps.</p> <p>Faux positifs : MC entre 5,9 et 8,88 µg MC/kg ps</p> <p>Vrais négatifs : MC &lt; 3,4 µg MC/kg ps.</p> <p>Faux négatifs : MC entre 3,4 et 5,9 µg MC/kg ps.</p> <p>Phase 2 : selon ce seuil de 8,88 µg MC/kg ps, 83% des poissons de BDown et 42% de ceux de BUp étaient contaminés par MC.</p> <p>Les concentrations en MC dans les muscles ont été mesurées uniquement dans les poissons « vrais positifs ». Elles varient de 1,5 à 22,7 µg MC/kg ps, avec une moyenne de 6,58 ±7,25 µg MC/kg ps (n = 15).</p> <p>Les auteurs ont investigué la relation entre la présence de cyanobactéries, la concentration en MC dans l'eau et celle dans le foie des poissons. La relation semble plus claire dans BDown que BUp. Dans les 2 cas, la concentration dans le foie des poissons est plus élevée en septembre, lorsque la concentration en MC dans l'eau est plus forte. Dans BUp, la contamination des poissons est plus irrégulière (la valeur maximale est observée en juillet). Aucune analyse statistique n'a été réalisée.</p>
<b>Conclusion</b>	<b>Les résultats de cette étude ne permettent pas de conclure sur la possible relation entre la concentration en MC dans l'eau et celle dans le muscle des poissons.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Il n'est pas précisé si la concentration en MC dans l'eau correspond aux MC totales, dissoutes ou intracellulaires.
<b>Informations complémentaires</b>	

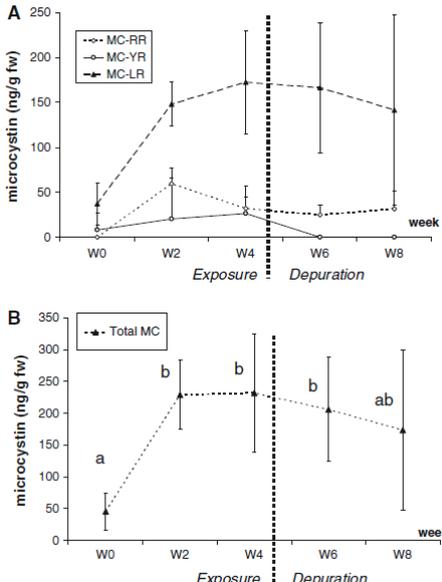
R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Nchabeleng et al. (2014). Microcystin-LR equivalent concentrations in fish tissue during a postbloom <i>Microcystis</i> exposure in Loskop Dam, South Africa. African Journal of Aquatic Science 39(4): 459-466.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons après une efflorescence de <i>Microcystis</i>
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Afrique du sud
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Labeo rosae</i> labéo (famille des cyprinidés)
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON <sup>56</sup>
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	OUI <sup>57</sup> (en Martinique, Guadeloupe, la Réunion et en Polynésie française)
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	20 labéos et 6 tilapias ont été prélevés dans un réservoir (Loskop dam) en mai 2012 à la fin d'une efflorescence de <i>Microcystis aeruginosa</i> qui a duré 7 mois.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Enviroligix) MC libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau ont été réalisés sur 3 sites à 1m et 3m de profondeur puis poolés. La concentration en MC extracellulaire a été mesurée par ELISA.
<b>Résultats</b>	L'efflorescence a débuté en novembre 2011 (début de l'été), a atteint son pic en janvier 2012 avec $1,3 \times 10^7$ cellules de <i>Microcystis</i> /L, puis a diminué à $1,5 \times 10^2$ cellules/L en mai 2012 (automne). La concentration maximale en MC extracellulaire a été de 3,25 µg MC-LR eq/L (site 1). Chez les poissons, la concentration moyenne était de 0,19 µg/kg de poids frais dans le muscle des labéos et de 1,72 µg/kg pf dans le foie. Chez le tilapia, elle était de 0,17 et 2,13 µg/kg pf respectivement dans le muscle et le foie.
<b>Conclusion</b>	Les auteurs concluent que la consommation des poissons issus de ce réservoir peut présenter un risque pour le consommateur mais ils ont fait une erreur d'interprétation en comparant directement la concentration en MC dans le muscle avec la valeur de la DJT de l'OMS. Les résultats de cette étude montrent une concentration en MC peu élevée dans le muscle des poissons après une efflorescence de <i>Microcystis</i> .
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	Il n'est pas possible de juger de la représentativité des sites de prélèvement d'eau par rapport aux sites de prélèvement des poissons (qui ne sont pas indiqués).
<b>Informations complémentaires</b>	Le labéo et le tilapia sont omnivores.

<sup>56</sup> <http://www.fishbase.se/summary/Labeo-rosae.html>

<sup>57</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/419269](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/419269)

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Palikova et al. (2011). Accumulation of microcystins in Nile Tilapia, <i>Oreochromis niloticus</i> L., and effects of a complex cyanobacterial bloom on the dietetic quality of muscles. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 87(1): 26-30.																																				
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 28 jours puis de la cinétique de décontamination pendant 28 jours																																				
<b>Type d'étude</b>	Mésocosme et laboratoire (aquarium)																																				
<b>Pays</b>	République Tchèque																																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil																																				
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>58</sup>																																				
<b>Présente en France</b>	NON																																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																				
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons adultes provenant d'une pêcherie ont été exposés 28 jours à une efflorescence de cyanobactéries (1200 mg MC/kg de poids sec) dans un étang en extérieur (4 cages de 100 poissons) puis ils ont été placés 28 jours en aquarium avec de l'eau exempte de MC (4 aquariums, 50 poissons par aquarium). En parallèle, des poissons témoins ont été placés dans un étang sans cyanobactéries. 10 poissons prélevés chaque semaine pour les 2 groupes.																																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie																																				
<b>Voie d'exposition</b>	Orale																																				
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-MS. MC libres uniquement.																																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (que LD, pas LQ, ni rendement d'extraction) ; LD = 3,0 µg/kg (SD = 5%) pour MC-RR et 27,0 µg/kg (SD = 7%) pour MC-YR et -LR.																																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	L'efflorescence de cyanobactéries était dominé par <i>Microcystis aeruginosa</i> et <i>M. ichthyoblabe</i> avec une concentration en MC de 1187 à 1211 mg/kg de poids sec, correspondant à une concentration dans l'eau de 17,4 à 25,4 µg/L (par HPLC-UV).																																				
<b>Résultats</b>	<p>Pas de MC détectées dans les poissons témoins (muscles et foies). La concentration maximale dans le foie était de 350 µg/kg de poids frais après 28 jours d'exposition, dominée par MC-LR. Dans la plupart des échantillons de muscle, les MC n'étaient pas détectées. Parmi ceux qui présentaient une concentration quantifiable, la valeur maximale était de 15 µg/kg.</p>  <p><b>A</b></p> <table border="1"> <caption>Approximate data for Panel A: Individual microcystin congeners (ng/g fw)</caption> <thead> <tr> <th>Week</th> <th>MC-RR</th> <th>MC-YR</th> <th>MC-LR</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>W0</td> <td>~10</td> <td>~10</td> <td>~10</td> </tr> <tr> <td>W2</td> <td>~60</td> <td>~15</td> <td>~150</td> </tr> <tr> <td>W4</td> <td>~30</td> <td>~15</td> <td>~170</td> </tr> <tr> <td>W6</td> <td>~30</td> <td>~15</td> <td>~160</td> </tr> <tr> <td>W8</td> <td>~30</td> <td>~15</td> <td>~140</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>B</b></p> <table border="1"> <caption>Approximate data for Panel B: Total microcystin concentration (ng/g fw)</caption> <thead> <tr> <th>Week</th> <th>Total MC</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>W0</td> <td>~50</td> </tr> <tr> <td>W2</td> <td>~230</td> </tr> <tr> <td>W4</td> <td>~230</td> </tr> <tr> <td>W6</td> <td>~200</td> </tr> <tr> <td>W8</td> <td>~170</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fig. 1 Microcystin concentrations in the hepatopancreas of Nile tilapia exposed to cyanobacteria. <b>A</b> concentration of individual congeners, <b>B</b> total microcystin concentration (ng/g fresh weight, mean ± SD, n = 10 fish per group). Fish were exposed for 28 days (4 weeks—W0–W4) followed by a 28 days depuration period (W6–W8); both periods are separated by a vertical dashed line. Results of the statistical analysis (ANOVA + Tukey's test) are shown for panel b (groups marked with the same letter "a/b" are not significantly different)</p>	Week	MC-RR	MC-YR	MC-LR	W0	~10	~10	~10	W2	~60	~15	~150	W4	~30	~15	~170	W6	~30	~15	~160	W8	~30	~15	~140	Week	Total MC	W0	~50	W2	~230	W4	~230	W6	~200	W8	~170
Week	MC-RR	MC-YR	MC-LR																																		
W0	~10	~10	~10																																		
W2	~60	~15	~150																																		
W4	~30	~15	~170																																		
W6	~30	~15	~160																																		
W8	~30	~15	~140																																		
Week	Total MC																																				
W0	~50																																				
W2	~230																																				
W4	~230																																				
W6	~200																																				
W8	~170																																				

<sup>58</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ; <http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

<b>Conclusion</b>	<p>L'étude de la cinétique d'accumulation de MC dans le foie montre que la concentration n'augmente pas entre la 2<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine (elle plafonne autour de 240 µg/kg).</p> <p><b>L'étude de dépuraction pendant 4 semaines dans une eau sans MC a montré une très lente diminution de la concentration en MC dans le foie (MC-LR et RR).</b> Seule MC-YR (mais très minoritaire) a montré une réduction en 2<sup>ème</sup> semaine. La concentration passe à ~200 µg/kg après 2 semaines puis ~170 µg/kg après 4 semaines.</p>
<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Bonne</b>
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Pawlik-Skowronska, et al. (2012). Simultaneous accumulation of anatoxina and microcystins in three fish species indigenous to lakes affected by cyanobacterial blooms. <i>Ocean. and Hydrobiological Studies</i> 41(4): 53-65.																																																								
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac sur 4 années.																																																								
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																								
<b>Pays</b>	Pologne																																																								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Rutilus rutilus</i> gardon <i>Carassius gibelio</i> carassin argenté, aussi appelé carpe prussienne <i>Perca fluviatilis</i> perche commune																																																								
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																								
<b>Présente en France</b>	OUI																																																								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																																								
<b>Protocole expérimental</b>	Plusieurs prélèvements sur 4 ans (2006-2009) dans un lac avec des efflorescences de <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Anabaena lemmermanii</i> , <i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Anabaena spp.</i> et <i>Aphanizomenon issatchenkoi</i> . 20 gardons, 13 carassins argentés, 30 perches pêchés au filet.																																																								
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie																																																								
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																								
<b>Méthode d'analyse</b>	Quantification par GC-MS. <b>MC totales : libres + liées</b> en MC-LR eq (oxydation Adda en MMBP). Identification par HPLC-DAD : MC-LR, -RR, -YR, -LA, -LY, -LW, -LF, -WR ; par HPLC-FLD pour anatoxine-a.																																																								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, pas LQ, ni rendement d'extraction) pour GC-MS, HPLC-DAD et HPLC-FLD (LD ANTX = 5 µg/kg de poids frais)																																																								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>Prélèvements mensuels d'eau (0,5 -1L dans la colonne d'eau) pour mesure de MC intra et extracellulaire par GC-MS. Les résultats présentés sont des moyennes annuelles et par saison en biomasse et concentration intra et extra cellulaire de MC. <b>Pas de résultat correspondant aux dates de pêche des poissons.</b></p> <p>L'analyse par HPLC-DAD a montré la présence dans les efflorescences de MC-YR, MC-LR, MC-LA et dmMC-RR.</p> <table border="1"> <caption>Approximate data from Figure 3</caption> <thead> <tr> <th>Year</th> <th>Season</th> <th>Intracellular (µg dm<sup>-3</sup>)</th> <th>Extracellular (µg dm<sup>-3</sup>)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">2006</td> <td>winter</td> <td>~15</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>spring</td> <td>~15</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>summer</td> <td>~90</td> <td>~1.5</td> </tr> <tr> <td>autumn</td> <td>~40</td> <td>~0.8</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">2007</td> <td>winter</td> <td>n.d.</td> <td>~0.3</td> </tr> <tr> <td>spring</td> <td>n.d.</td> <td>~0.3</td> </tr> <tr> <td>summer</td> <td>n.d.</td> <td>~0.3</td> </tr> <tr> <td>autumn</td> <td>n.d.</td> <td>~0.3</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">2008</td> <td>winter</td> <td>n.d.</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>spring</td> <td>n.d.</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>summer</td> <td>~35</td> <td>~1.2</td> </tr> <tr> <td>autumn</td> <td>~25</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">2009</td> <td>winter</td> <td>~38</td> <td>~2.8</td> </tr> <tr> <td>spring</td> <td>~10</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>summer</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> </tr> <tr> <td>autumn</td> <td>n.d.</td> <td>n.d.</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fig. 3. Season average concentrations (n = 6) of intracellular (A) and extracellular (B) microcystins in 2006 – 2009 in Lake Syczyńskie; n.d. – not detected, n.dt. – not determined, * – detected only in trace concentrations (ng/L of water).</p>	Year	Season	Intracellular (µg dm <sup>-3</sup> )	Extracellular (µg dm <sup>-3</sup> )	2006	winter	~15	~0.5	spring	~15	~0.5	summer	~90	~1.5	autumn	~40	~0.8	2007	winter	n.d.	~0.3	spring	n.d.	~0.3	summer	n.d.	~0.3	autumn	n.d.	~0.3	2008	winter	n.d.	~0.5	spring	n.d.	~0.5	summer	~35	~1.2	autumn	~25	~0.5	2009	winter	~38	~2.8	spring	~10	~0.5	summer	n.d.	n.d.	autumn	n.d.	n.d.
Year	Season	Intracellular (µg dm <sup>-3</sup> )	Extracellular (µg dm <sup>-3</sup> )																																																						
2006	winter	~15	~0.5																																																						
	spring	~15	~0.5																																																						
	summer	~90	~1.5																																																						
	autumn	~40	~0.8																																																						
2007	winter	n.d.	~0.3																																																						
	spring	n.d.	~0.3																																																						
	summer	n.d.	~0.3																																																						
	autumn	n.d.	~0.3																																																						
2008	winter	n.d.	~0.5																																																						
	spring	n.d.	~0.5																																																						
	summer	~35	~1.2																																																						
	autumn	~25	~0.5																																																						
2009	winter	~38	~2.8																																																						
	spring	~10	~0.5																																																						
	summer	n.d.	n.d.																																																						
	autumn	n.d.	n.d.																																																						
<b>Résultats</b>	<p>Les analyses ont montré la présence simultanée de MC et ANTX dans les muscles et les foies des poissons.</p> <p>Comme pour les MC dans la biomasse de cyanobactéries, les analogues détectés dans les tissus des poissons étaient dominés par dmMC-RR ; MC-LR, MC-YR, MC-LA et MC-LY ont aussi été détectés.</p> <p>Forte variabilité saisonnière et annuelle de la concentration en <b>MC totales (libres + liées)</b> dans les muscles de poissons :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- en 2006 le maximum était au printemps uniquement chez le gardon et</li> </ul>																																																								

ne correspondait pas à l'efflorescence de cyanobactéries qui était en été (MC extracellulaires > 1 µg/L) ;

- en 2007, les concentrations dans les muscles sont restées faibles toute l'année avec un petit pic au printemps chez la perche, en absence d'efflorescence de cyanobactéries cette année-là ;
- en 2008, le maximum était en automne chez le gardon et la perche et ne correspondait pas à l'efflorescence de cyanobactéries qui était en été (MC extracellulaires > 1 µg/L) ;
- en 2009, le maximum était en automne chez le gardon et ne correspondait pas à l'efflorescence de cyanobactéries qui était en hiver (MC extracellulaires ~ 3 µg/L).

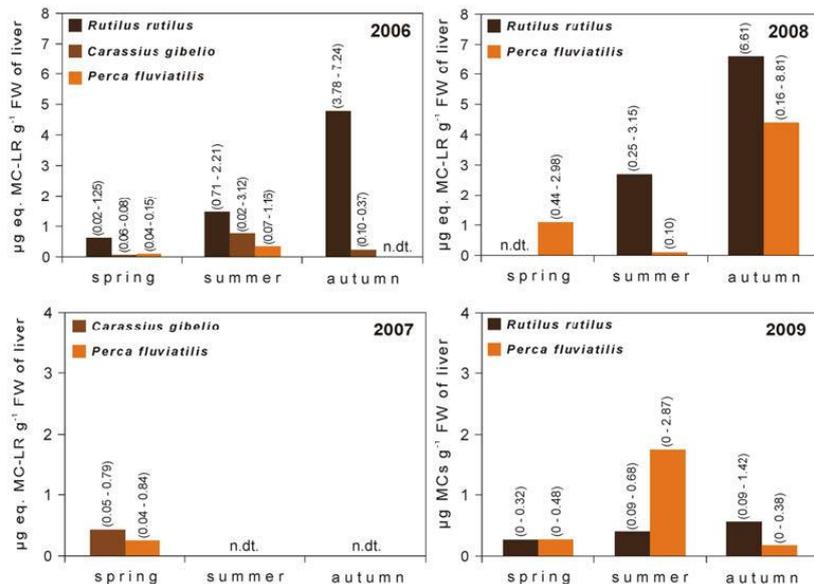


Fig. 6. MCs accumulation in livers of fish inhabiting Lake Syczyńskie in 2006 – 2009. Concentrations are presented as mean (n = 3-4), and minimum and maximum values (in parenthesis); n.d. – not detected. n.d. – not determined.

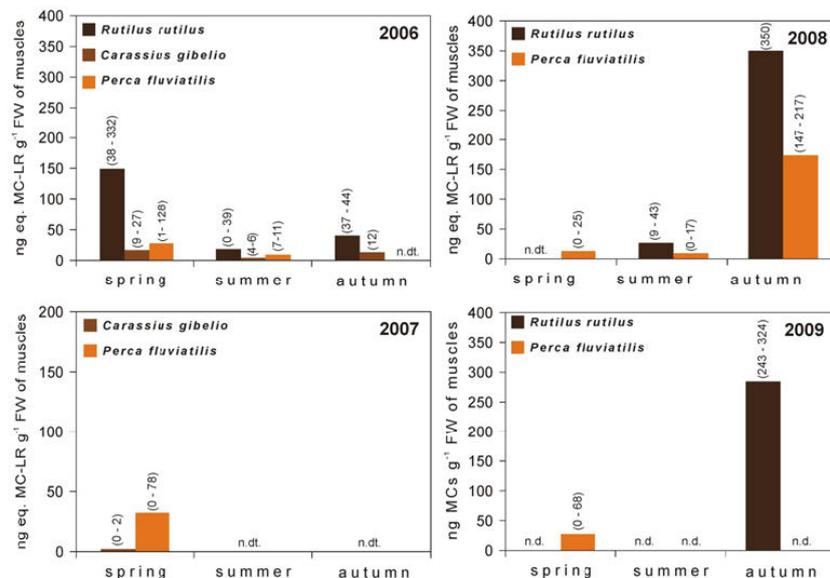


Fig. 7. MCs accumulation in muscles of fish inhabiting Lake Syczyńskie in 2006 – 2009.

<b>Conclusion</b>	<b>Les pics de concentrations en MC dans les muscles ne semblent pas suivre les efflorescences de cyanobactéries ni la concentration de MC dans l'eau.</b> Les concentrations maximales observées étaient de 350 µg MC <sub>TOT</sub> /kg de poids frais pour le gardon, 217 MC <sub>TOT</sub> /kg pour la perche et 27 MC <sub>TOT</sub> /kg pour le carassin argenté.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne

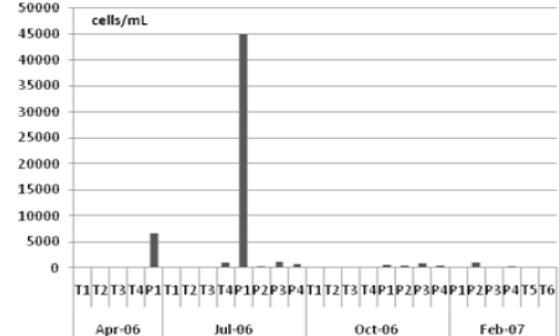
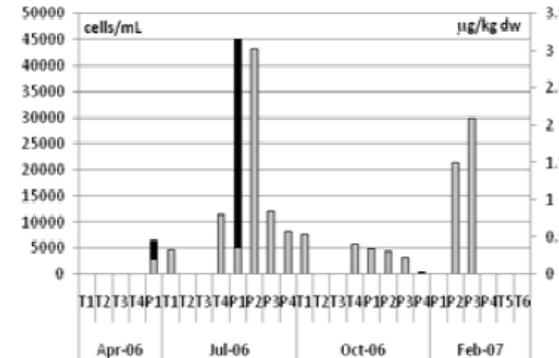
R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Poste et al. (2011). Evaluating microcystin exposure risk through fish consumption. <i>Environmental Science and Technology</i> 45(13): 5806-5811.																							
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons de plusieurs lacs d'Afrique (Ouganda) et du Canada																							
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																							
<b>Pays</b>	Ouganda et Canada																							
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	33 espèces de poissons																							
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour certaines																							
<b>Présente en France</b>	OUI pour certaines																							
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																							
<b>Protocole expérimental</b>	491 poissons de 33 espèces ont été prélevés dans 8 lacs ougandais et 2 lacs canadiens (Ontario et Erié).																							
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle ou poisson entier (petits poissons consommés entiers)																							
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																							
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Abraxis) MC libres uniquement.																							
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction). Les concentrations mesurées en poids sec sont converties en poids frais en utilisant un facteur de conversion de 0,31.																							
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (intégrés) ont été réalisés en avril et mai 2007 pour les lacs ougandais puis à un rythme mensuel entre septembre 2008 et février 2009 pour tous les lacs sauf le lac Albert. Les résultats présentés pour la concentration en MC (ELISA) dans l'eau sont des moyennes pour chaque lac, correspondant un nombre de prélèvements variable (2 à 12) sans indication de temps, ni si les dates correspondent à la date de pêche des poissons. Les concentrations rapportées vont de 0,1 à 57 µg/L.																							
<b>Résultats</b>	<p>Les concentrations en MC mesurées dans le muscle vont de 0,5 à 1917 µg/kg de poids frais. Cette valeur maximale a été observée pour un poisson du genre <i>Haplochromis</i> (famille des cichlidés), d'un lac ougandais.</p> <p>Pour les poissons pêchés dans les lacs canadiens, la valeur maximale rapportée est de 43,6 µg/kg pour un achigan à petite bouche (<i>Micropterus dolomieu</i>).</p> <p>Au sein d'un même lac, les auteurs notent une grande variabilité de la contamination des poissons selon les espèces.</p> <p>Pour la perche du Nil (<i>Lates niloticus</i>), les auteurs ont proposé 2 classes de taille (&lt; à 25 cm et &gt; à 25 cm). Dans les 2 sites du lac Victoria (ougandais) où des poissons des 2 classes de taille ont été pêchés, les poissons de petite taille avait une concentration plus élevée que les poissons de grande taille.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Poissons (muscle)</th> <th>Taille</th> <th>n</th> <th>Moy ± SD en µg/kg pf</th> <th>Min-max</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2"><i>Lates niloticus</i>, site 1</td> <td>&lt; 25 cm</td> <td>7</td> <td>21,2 ± 14,8</td> <td>3,1 – 49,5</td> </tr> <tr> <td>&gt; 25 cm</td> <td>17</td> <td>8,0 ± 6,8</td> <td>1,3 – 25,0</td> </tr> <tr> <td rowspan="2"><i>Lates niloticus</i>, site 2</td> <td>&lt; 25 cm</td> <td>6</td> <td>12,4 ± 7,0</td> <td>3,9 – 23,5</td> </tr> <tr> <td>&gt; 25 cm</td> <td>17</td> <td>5,9 ± 4,9</td> <td>0,5 – 16,7</td> </tr> </tbody> </table>	Poissons (muscle)	Taille	n	Moy ± SD en µg/kg pf	Min-max	<i>Lates niloticus</i> , site 1	< 25 cm	7	21,2 ± 14,8	3,1 – 49,5	> 25 cm	17	8,0 ± 6,8	1,3 – 25,0	<i>Lates niloticus</i> , site 2	< 25 cm	6	12,4 ± 7,0	3,9 – 23,5	> 25 cm	17	5,9 ± 4,9	0,5 – 16,7
Poissons (muscle)	Taille	n	Moy ± SD en µg/kg pf	Min-max																				
<i>Lates niloticus</i> , site 1	< 25 cm	7	21,2 ± 14,8	3,1 – 49,5																				
	> 25 cm	17	8,0 ± 6,8	1,3 – 25,0																				
<i>Lates niloticus</i> , site 2	< 25 cm	6	12,4 ± 7,0	3,9 – 23,5																				
	> 25 cm	17	5,9 ± 4,9	0,5 – 16,7																				
<b>Conclusion</b>	Les résultats de cette étude montrent que les concentrations en MC libres dans les muscles des poissons peuvent être très élevées (jusqu'à 1917 µg/kg de poids frais dans des poissons ougandais) et qu'au sein d'une même espèce (perche du Nil) les valeurs sont plus élevées chez les poissons de petite taille par rapport aux poissons de grande taille.																							
<b>Qualité de l'étude</b>	<b>Bonne</b>																							
<b>Commentaires</b>																								
<b>Informations complémentaires</b>																								

<b>Référence</b>	Romo et al. (2012). Assessment of microcystins in lake water and fish ( <i>Mugilidae</i> , <i>Liza</i> sp.) in the largest Spanish coastal lake. Environmental Monitoring and Assessment 184(2): 939-949.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons dans un lac après une efflorescence de cyanobactéries
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Espagne
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Liza</i> sp. mullet (espèce non précisée)
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	103 poissons ont été collectés de manière aléatoire auprès de pêcheurs locaux en octobre 2007, issus d'un lac côtier d'eau douce (Albufera, Valencia) en bordure de la Méditerranée (salinité de 1-2‰). Le poids moyen des poissons était de 300 g (150 à 2100 g).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, branchies
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA anti-Adda (Envirogard) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	43 prélèvements d'eau ont été réalisés sur 3 sites (50 cm de la surface) entre novembre 2005 et décembre 2007 selon un rythme hebdomadaire ou mensuel. Les concentrations en MC extra et intracellulaires ont été mesurées par ELISA. L'analyse statistique a montré qu'il n'y avait pas de différence entre les 3 sites.
<b>Résultats</b>	<p>Dans le lac, la concentration a atteint 16 µg/L pour les MC dissoutes dans l'eau et 120 µg/L pour les MC dans le seston. Les résultats présentés correspondent aux moyennes mensuelles pour 2007.</p> <p>Les MC dissoutes apparaissent généralement après un pic de seston.</p> <p>Pas de corrélation entre la chlorophylle a et la concentration en MC intra ou extracellulaire.</p> <p>Chez les poissons, la concentration moyenne en MC était de 2480 ± 360 µg/kg de poids frais dans le foie et de 5,21 ± 0,59 µg/kg dans le muscle.</p> <p>Les plus gros poissons avaient une concentration en MC dans le foie statistiquement plus élevée.</p> <p><b>La concentration dans le muscle n'était pas corrélée à celle dans les autres tissus ni au poids corporel des poissons.</b></p> <p>Pour 13% des poissons, une consommation de 300g de filet conduit à un apport supérieur à la DJT de l'OMS.</p> <p>Les auteurs n'ont pas étudié la relation entre les MC dans l'eau et les concentrations dans le poisson.</p> <p>Lorsque les poissons ont été prélevés en octobre, la concentration en MC dissoutes dans l'eau était de 1 µg/L (10 µg/L en intracellulaire). Elle était aussi proche de 1 µg/L en septembre. L'efflorescence avait atteint son pic en juillet.</p>

	<p>Fig. 1 a Seasonal changes of MCYST concentrations in lake water (thin line) and seston (thick line) in Lake Albufera (East Spain). b Seasonal changes in the abundance (thin line) and biovolume (thick line) of <i>Microcystis aeruginosa</i> populations. Data represent monthly means for the study period (November 2005 to December 2007)</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Les résultats présentés dans cette étude ne fournissent pas d'information sur la cinétique de décontamination des poissons après une efflorescence ni sur la relation entre la concentration en MC dans l'eau et celle dans le muscle.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Moyenne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Ruangrit et al. (2011). First report on microcystins contamination in giant freshwater prawn ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ) and Nile tilapia ( <i>Tilapia nilotica</i> ) cultured in earthen ponds. Inter. J. Agric. Biol. 13(6): 1025-1028.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant 10 mois.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Thaïlande
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Tilapia nilotica</i> tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>59</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	18 tilapias ont été prélevés entre avril 2006 et février 2007, provenant de 6 plans d'eau (3 poissons par plan d'eau) en aquaculture.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Envirologix). MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (1L) ont été réalisés dans chaque plan d'eau.
<b>Résultats</b>	<p>La densité de <i>Microcystis aeruginosa</i> a varié de non détecté à 983 cellules/L) et la quantité de MC de non détecté à 0,84 µg MC-LR eq/kg de poids sec.</p>  <p>Fig. 1: <i>Microcystis aeruginosa</i> count (cells/mL) in the fish (T) and prawn ponds (P) during 2006-2007</p> <p>La concentration en MC dans la chair des tilapias a varié de non détecté à 0,84 µg MC-LR eq/kg de poids sec.</p> <p><b>L'analyse statistique n'a pas montré de corrélation entre le nombre de cellules de <i>Microcystis</i> dans l'eau et la concentration en MC dans le muscle des poissons.</b></p>  <p>Fig. 2: Microcystins (µg/kg d.w.) in fish (T) and prawn (P) meat from various ponds during 2006-2007</p>

<sup>59</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ; <http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

<b>Conclusion</b>	<b>Pas de corrélation entre le nombre de cellules de <i>Microcystis</i> dans l'eau et la concentration en MC dans le muscle des poissons.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	L'étude a aussi porté sur des crevettes géantes d'eau douce ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ). La concentration en MC dans la chair a varié de non détecté à 3,20 µg MC-LR eq/kg de poids sec. <b>L'analyse statistique n'a pas montré de corrélation entre le nombre de cellules de <i>Microcystis</i> dans l'eau et la concentration en MC dans la chair des crevettes.</b>

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Ruangsomboon et al. (2014). Cyanobacterial composition and microcystin accumulation in catfish pond. Chiang Mai Journal of Science 41(1): 27-38.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant 32 semaines.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Thaïlande
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Clarias macrocephalus</i> vs. <i>C. gariepinus</i> poisson-chat
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON <sup>60</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons-chats (300 g) ont été prélevés toutes les 2 semaines dans 3 plans d'eau (15 par plan d'eau).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS (MC-LR, YR, RR). MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction) Des contrôles qualité ont été réalisés avec des échantillons en ajouts dosés pour estimer le rendement d'extraction, mais les résultats ne sont pas présentés.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau (1L à 30 cm de profondeur et 1 m du bord) ont été réalisés toutes les 2 semaines dans chaque plan d'eau sur 5 sites. Pour l'identification du phytoplancton, 20 L ont été prélevés en surface et pour la quantification de MC, le volume était de 100 L par LC-MS.  Une efflorescence de cyanobactéries a été observé dans les 3 plans d'eau entre les semaines 12 et 16. Pour 2 plan d'eau, l'espèce majoritaire était <i>Microcystis aeruginosa</i> , à $49 \times 10^6$ cellules/L (autres espèces présentes : <i>Oscillatoria</i> spp., <i>Lyngbya</i> sp., <i>Pseudanabaena</i> spp., <i>Anabaena</i> spp., <i>Anabaenopsis</i> sp., et <i>Cylindrospermopsis</i> sp). Pour le 3 <sup>ème</sup> plan d'eau, il s'agissait de <i>Arthrospira platensis</i> .
<b>Résultats</b>	Les MC n'ont pas été détectées dans le poisson (foie, muscle) ni dans l'eau (sous forme dissoute), mais la valeur de la limite de détection n'est pas mentionnée.  La concentration en MC dans le phytoplancton a varié entre 14 et 202 mg MC-RR/kg de poids sec (dans les plans d'eau 1 et 3, pas de MC détectées dans le plan d'eau 2).
<b>Conclusion</b>	Dans le muscle des poissons, la concentration en MC était inférieure à la limite de détection (mais la valeur de cette limite n'est pas mentionnée) tout au long de l'étude malgré une efflorescence observé pendant 4 semaines.
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Les résultats présentés dans cette étude ne fournissent pas d'information sur la cinétique de décontamination des poissons après une efflorescence ni sur la relation entre la concentration en cyanotoxines dans l'eau et celle dans le muscle.
<b>Informations complémentaires</b>	

<sup>60</sup> <http://www.fishbase.org/summary/4805>

C<sub>dépur</sub>, R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Sieroslawska et al. (2012). Effects of microcystin-containing cyanobacterial extract on hematological and biochemical parameters of common carp ( <i>Cyprinus carpio</i> L.). <i>Fish Physiology and Biochemistry</i> 38(4): 1159-1167.								
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de décontamination pendant 5 jours (après une période d'exposition de 5 jours).								
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)								
<b>Pays</b>	République tchèque								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune OUI OUI								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines								
<b>Protocole expérimental</b>	48 poissons de 30 g provenant d'un centre de recherche ont été exposés aux MC (extraites d'une efflorescence) dans l'eau à la concentration de 12 µg MC-LR eq/L pendant 5 jours. Les poissons ont été répartis en 3 groupes de 16 individus (1 témoin et 2 traités). Après 5 jours d'exposition, les poissons ont été placés dans de l'eau sans MC. Des prélèvements ont été réalisés à 24h, 72h et 5 jours (analyse de MC par pool, nombre de poissons par prélèvement non précisé).								
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, rate, reins, branchies								
<b>Voie d'exposition</b>	Eau de l'aquarium								
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC MC libres uniquement.								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (que LD, pas LQ, ni rendement d'extraction), LD = 60 µg/kg de poids frais. <b>Attention LD élevée.</b>								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	L'extrait de MC utilisé provient d'une efflorescence de cyanobactéries composé de <i>Microcystis</i> spp. ( <i>M. aeruginosa</i> , <i>M. flos-aquae</i> , <i>M. natans</i> ) et dans une moindre mesure de <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , collecté dans un réservoir en Pologne. L'analyse de MC a été réalisée par GC-MS. La concentration en MC dans l'eau de l'aquarium a été réalisée par ELISA (Envirogard).								
<b>Résultats</b>	De toutes les formes de MC recherchées (MC-LR, MC-LA, MC-YR, MC-LY, MC-RR, MC-LW, MC-LF) seule la MC-LR a été détectée et uniquement dans le foie. Pas de MC détectées dans le muscle. <b>Pendant la phase de dépuraction de 5 jours, la concentration en MC dans le foie ne diminue pas, au contraire on observe une augmentation.</b> <table border="1" data-bbox="571 1429 1348 1579"> <thead> <tr> <th>Période de temps après l'arrêt de l'exposition de 5 jours</th> <th>Concentration en MC dans le foie (µg/kg de poids frais)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>24h</td> <td>207 ± 128</td> </tr> <tr> <td>72h</td> <td>238 ± 7</td> </tr> <tr> <td>5 jours</td> <td>260 ± 43</td> </tr> </tbody> </table>	Période de temps après l'arrêt de l'exposition de 5 jours	Concentration en MC dans le foie (µg/kg de poids frais)	24h	207 ± 128	72h	238 ± 7	5 jours	260 ± 43
Période de temps après l'arrêt de l'exposition de 5 jours	Concentration en MC dans le foie (µg/kg de poids frais)								
24h	207 ± 128								
72h	238 ± 7								
5 jours	260 ± 43								
<b>Conclusion</b>	Après 5 jours d'exposition à une concentration en MC dans l'eau de 12 µg/L, la concentration dans le muscle est inférieure à 60 µg/kg (attention car selon l'Afssa 2008 <sup>61</sup> , une concentration de 5,6 µg/kg conduit déjà à une exposition correspondant à la DJT de 0,04 µg/kg pc/j proposé par l'OMS). <b>Une augmentation de la concentration en MC libres dans le foie est observée pendant la phase de dépuraction de 5 jours</b> (après une exposition de 5 jours).								
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne								
<b>Commentaires</b>									

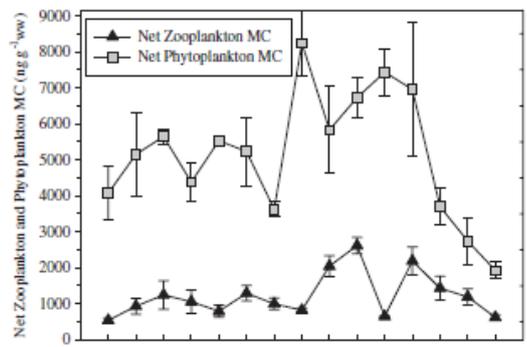
<sup>61</sup> <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP2007sa0219.pdf>

<b>Référence</b>	Singh et Asthana (2014). Assessment of microcystin concentration in carp and catfish: A case study from Lakshmikund Pond, Varanasi, India. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 92(6): 687-692.																																				
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac																																				
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																				
<b>Pays</b>	Inde																																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Cyprinus carpio</i> carpe commune <i>Clarias batrachus</i> silure grenouille																																				
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour la carpe NON pour le silure (endémique de l'Asie <sup>62</sup> )																																				
<b>Présente en France</b>	OUI pour la carpe NON pour le silure																																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																				
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons provenant du lac Lakshmikund ont été achetés à des pêcheurs locaux (nombre et date non précisés).																																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reins, branchies, rate, cerveau, vésicule biliaire, intestin																																				
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																				
<b>Méthode d'analyse</b>	UHPLC-MS pour la recherche de MC-LR, YR et RR MC libres uniquement.																																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction). La plus faible concentration rapportée est 1,44 µg/kg de poids sec.																																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>Des prélèvements d'eau mensuels ont été réalisés pendant 1 an, de mars 2011 à février 2012.</p> <p>Fig. 2 Monthly variation in MC-LR, MC-RR and MC-YR concentration (µg/L), and dissolved and particulate fraction of MC (lg/L) at Lakshmikund pond</p> <p>La concentration totale en MC dans l'eau (intra et extracellulaires, par ELISA, Envirologix) a atteint un pic en septembre à 126 µg/L et était minimale en octobre à 7,5 µg/L. La concentration en MC dissoutes a varié entre 3,8 et 19 µg/L. L'efflorescence était dominée par <i>Microcystis</i> sp.</p>																																				
<b>Résultats</b>	<p><b>La contamination en MC dans le muscle varie selon les espèces, elle est 10 fois plus importante chez le silure que chez la carpe.</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Poissons</th> <th>Variant</th> <th>Muscle, moy ± SD en µg/kg poids sec</th> <th>Foie, moy ± SD en µg/kg poids sec</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">Carpe</td> <td>MC-LR</td> <td>&lt; LD</td> <td>92,66 ± 6,81</td> </tr> <tr> <td>MC-RR</td> <td>5,94 ± 1,14</td> <td>221,60 ± 13,60</td> </tr> <tr> <td>MC-YR</td> <td>&lt; LD</td> <td>59,62 ± 5,41</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Silure (150-300 g)</td> <td>MC-LR</td> <td>1,44 ± 0,39</td> <td>306,08 ± 5,77</td> </tr> <tr> <td>MC-RR</td> <td>52,08 ± 6,52</td> <td>837,00 ± 16,65</td> </tr> <tr> <td>MC-YR</td> <td>1,39 ± 0,21</td> <td>94,66 ± 3,05</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Silure (&lt;150 g)</td> <td>MC-LR</td> <td>3,01 ± 0,31</td> <td>307,16 ± 7,41</td> </tr> <tr> <td>MC-RR</td> <td>65,03 ± 8,71</td> <td>950,02 ± 18,60</td> </tr> <tr> <td>MC-YR</td> <td>1,71 ± 0,18</td> <td>115,33 ± 5,75</td> </tr> </tbody> </table>			Poissons	Variant	Muscle, moy ± SD en µg/kg poids sec	Foie, moy ± SD en µg/kg poids sec	Carpe	MC-LR	< LD	92,66 ± 6,81	MC-RR	5,94 ± 1,14	221,60 ± 13,60	MC-YR	< LD	59,62 ± 5,41	Silure (150-300 g)	MC-LR	1,44 ± 0,39	306,08 ± 5,77	MC-RR	52,08 ± 6,52	837,00 ± 16,65	MC-YR	1,39 ± 0,21	94,66 ± 3,05	Silure (<150 g)	MC-LR	3,01 ± 0,31	307,16 ± 7,41	MC-RR	65,03 ± 8,71	950,02 ± 18,60	MC-YR	1,71 ± 0,18	115,33 ± 5,75
Poissons	Variant	Muscle, moy ± SD en µg/kg poids sec	Foie, moy ± SD en µg/kg poids sec																																		
Carpe	MC-LR	< LD	92,66 ± 6,81																																		
	MC-RR	5,94 ± 1,14	221,60 ± 13,60																																		
	MC-YR	< LD	59,62 ± 5,41																																		
Silure (150-300 g)	MC-LR	1,44 ± 0,39	306,08 ± 5,77																																		
	MC-RR	52,08 ± 6,52	837,00 ± 16,65																																		
	MC-YR	1,39 ± 0,21	94,66 ± 3,05																																		
Silure (<150 g)	MC-LR	3,01 ± 0,31	307,16 ± 7,41																																		
	MC-RR	65,03 ± 8,71	950,02 ± 18,60																																		
	MC-YR	1,71 ± 0,18	115,33 ± 5,75																																		

<sup>62</sup> <http://www.fishbase.se/summary/3054>

	Les silures ont été répartis en 2 groupes de poids (150-300 g ou <150g). <b>La contamination en MC est inversement corrélée au poids</b> (elle est plus élevée chez les petits poissons).
<b>Conclusion</b>	Les résultats de cette étude montrent que les concentrations en MC libres dans les muscles au sein d'une même espèce (le silure) <b>sont plus élevées chez les poissons de petite taille par rapport aux poissons de grande taille.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>

<b>Référence</b>	Smith and Haney (2006). Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin, in pumpkinseed sunfish ( <i>Lepomis gibbosus</i> ). <i>Toxicol</i> 48(5): 580-589.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 9 jours et de la cinétique de décontamination pendant 2 semaines.
<b>Type d'étude</b>	Environnement et laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	USA
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Lepomis gibbosus</i> Crapet-soleil, Perche soleil, Perche arc-en-ciel OUI OUI <sup>63</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<u>Volet environnemental</u> Prélèvements de 9 poissons juvéniles entre le 4 juillet et le 30 août 2000 d'un plan d'eau (Barbadoes pond) dans le New Hampshire. Les analyses ont porté sur 3 pools de 3 foies.  <u>Volet en laboratoire</u> <u>Accumulation</u> : des poissons juvéniles (2g, pêchés dans le plan d'eau) ont été exposés pendant 9 jours à des granulés de zooplancton issu du plan d'eau riche en MC à la dose de 50 ng/kg/j. Chaque poisson était seul dans une bouteille en verre d'1L. L'essai a été réalisé en double, 3 poissons ont été prélevés aux jours 0, 2, 4, 6, 9 pour analyser le foie et le muscle. <u>Dépuration</u> : des poissons juvéniles (2g, pêchés dans le plan d'eau) ont été placés individuellement dans des bouteilles en verre d'1L sans nourriture. L'essai a été réalisé en double, 3 poissons ont été prélevés aux jours 0 à 7, 9, 11, 14 pour analyser le foie et le muscle.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel ou orale
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Enviroligix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<u>Volet environnemental</u> Prélèvements de phyto et zooplancton tous les 4 jours entre le 4 juillet et le 30 août 2000, analyse de MC par ELISA.
<b>Résultats</b>	<u>Volet environnemental</u> <b>Les concentrations en MC dans le foie des poissons ne sont pas corrélées aux concentrations en MC dans le phyto ou le zooplancton.</b> Le zoo et le phytoplancton sont corrélés avec un décalage de 4 jours.  Fig A : Microcystin concentrations in net zooplankton and phytoplankton (450 mm) of Barbadoes Pond 2000.

<sup>63</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/69338](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/69338)

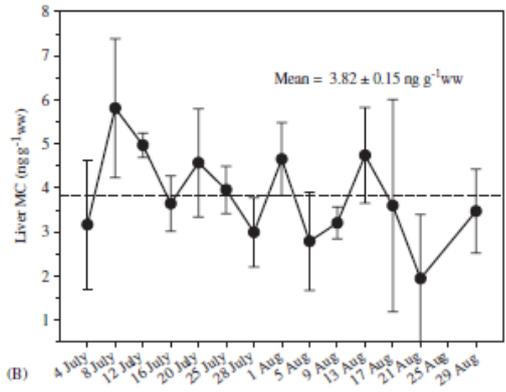


Fig B : Microcystin concentrations in the liver tissue of sunfish (*Lepomis gibbosus*). No significant differences were detected in liver concentrations between sampling dates ( $p=0.70$ ). Values are mean $\pm$ SE

Volet en laboratoire

**Accumulation** : de manière générale, malgré la forte variabilité des profils d'accumulation de MC dans le foie et le muscle entre les essais 1 et 2, on peut observer une rapide accumulation des MC à J2, une phase plus ou moins stable entre J4 et J6, puis une diminution à J9 dans le foie et 1 des 2 essais pour le muscle. En revanche, dans 1 des essais, le muscle continue à augmenter à J9. Pas de corrélation entre MC dans le foie et dans le muscle.

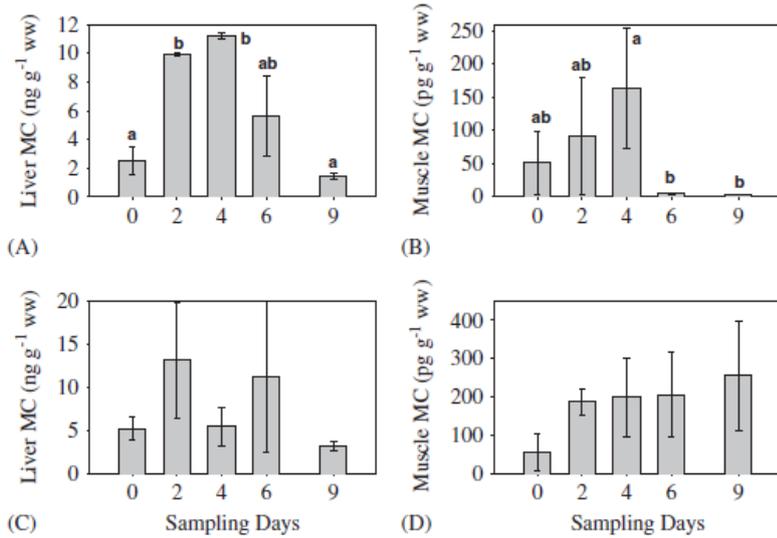


Fig. 3. Microcystin concentrations in sunfish (*Lepomis gibbosus*) liver and muscle tissue in the first trial (July 2001) of the accumulation experiment (A and B) and the second trial (September 2001) (C and D). Bars with a letter in common do not differ significantly (Tukey's post hoc,  $p < 0.05$ ) (A). Fish were fed toxic zooplankton throughout the experiment.

**Dépuration** : **pas de modification de la concentration en MC dans le foie et le muscle sur la période de 14 jours selon l'analyse statistique (ANOVA)**. Pas de corrélation entre MC dans le foie et dans le muscle.

	<p>(A) Liver MC (ng g<sup>-1</sup> ww) vs Sampling Days (0-14)</p> <p>(B) Muscle MC (pg g<sup>-1</sup> ww) vs Sampling Days (0-14)</p> <p>(C) Liver MC (ng g<sup>-1</sup> ww) vs Sampling Days (0-14)</p> <p>(D) Muscle MC (pg g<sup>-1</sup> ww) vs Sampling Days (0-14)</p> <p>Fig. 4. Microcystin concentrations in sunfish (<i>Lepomis gibbosus</i>) liver and muscle tissue in the first trial of the depuration experiment (A and B) and second trial (C and D) (July 2001). Fish were fasted throughout the experiment. No significant differences in toxin concentrations were detected between sample days (ANOVA, p&gt;0.05).</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Pas de corrélation entre les concentrations en MC dans le foie des poissons et celles du phyto ou zooplancton.</b></p> <p><b>Pas de diminution significative de la concentration en MC dans le foie et le muscle lors d'une période de dépuraton de 14 jours.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Poissons juvéniles de 2 g.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

$C_{\text{contam}}$ ,  $C_{\text{depur}}$ 

<b>Référence</b>	Soares et al. (2004). Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in <i>Tilapia rendalli</i> (Cichlidae) under laboratory conditions. <i>Aquatic Toxicology</i> 70(1): 1-10.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 15, 28 ou 42 jours et de la cinétique de décontamination pendant 15 jours.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Tilapia rendalli</i> tilapia à poitrine rouge
<b>Présente en Europe</b>	NON
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Exp 1 : poissons juvéniles (5 cm) provenant d'une pêcherie nourris 15 jours avec une alimentation pour poisson et des cellules de <i>Microcystis aeruginosa</i> prélevées lors d'une efflorescence à la dose de 20,4 µg MC/poisson/jour, puis 15 jours avec une alimentation sans MC. Les poissons (n=60) étaient répartis en 3 groupes de 20 (1 aquarium témoin et 2 aquariums tests) ; 2 poissons prélevés tous les 3 jours. Exp 2 : poissons juvéniles nourris 28 jours avec des cellules de <i>M. aeruginosa</i> à la dose de 14,6 µg MC/poisson/jour ; 3 poissons prélevés tous les 7 jours. Exp 3 : poissons juvéniles nourris 42 jours avec une alimentation pour poisson et des cellules lysées de <i>M. aeruginosa</i> (pour simuler la fin de l'efflorescence) à la dose de 29,2 µg MC/poisson/jour ; 3 poissons prélevés tous les 7 jours. Les foies et muscles à chaque temps de prélèvement sont poolés (par type d'organe) pour l'analyse de MC.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Enviroligix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	3 doses de MC testées apportées sous forme de cellules de <i>Microcystis aeruginosa</i> prélevées lors d'une efflorescence (PDA-HPLC).
<b>Résultats</b>	<p><b>Exp 1</b> : accumulation pendant 15 j et dépuración pendant 15 j</p> <p>Dans le foie, la concentration la plus élevée est observée au 6<sup>ème</sup> jour d'exposition puis diminue au 9<sup>ème</sup> jour, remonte au 14<sup>ème</sup> jour et décroît pendant la phase de dépuración.</p> <p>Dans le muscle, la concentration est faible au 3<sup>ème</sup> jour d'exposition, augmente au 9<sup>ème</sup> jour et diminue au 12<sup>ème</sup> jour d'exposition à un niveau très bas. De manière surprenant, <b>la concentration maximale est observée dans la phase de dépuración au 9<sup>ème</sup> jour puis diminue au 12<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> jour</b></p> <p>Fig. 1. Microcystins concentration in liver and muscle of <i>T. rendalli</i> during the accumulation (A) and depuration (B) periods in the 1<sup>st</sup> experiment.</p>

**Exp 2 : accumulation pendant 28 j**  
 Dans le foie, la concentration la plus élevée est observée au 1<sup>er</sup> jour de prélèvement (J7) puis diminue aux autres jours (J14, J21, J28).  
 Dans le muscle, la concentration la plus élevée est observée au 21<sup>ème</sup> jour d'exposition puis diminue au prélèvement suivant du 28<sup>ème</sup> jour.

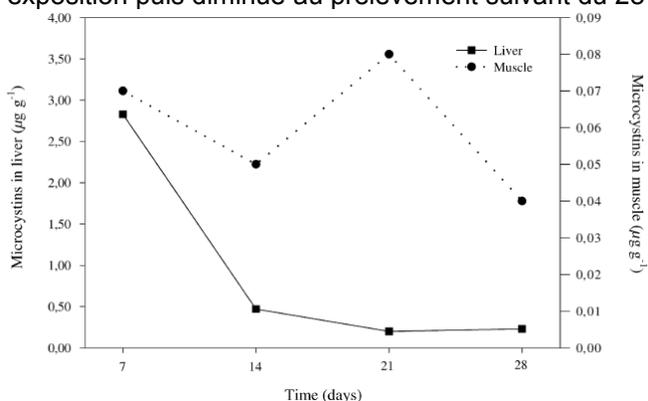


Fig. 2. Microcystins concentration in liver and muscle of *T. rendalli* during the 2<sup>nd</sup> experiment

**Exp 3 : accumulation pendant 42 j à des cellules lysées**  
 Dans le foie, la concentration augmente jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour d'exposition, diminue au prélèvement suivant (J28) puis remonte pour atteindre son maximum au 42<sup>ème</sup> jour.  
 Dans le muscle, la concentration la plus élevée est observée au 14<sup>ème</sup> jour d'exposition puis diminue aux prélèvements suivants (J21, J28, J35) et remonte au 42<sup>ème</sup> jour.

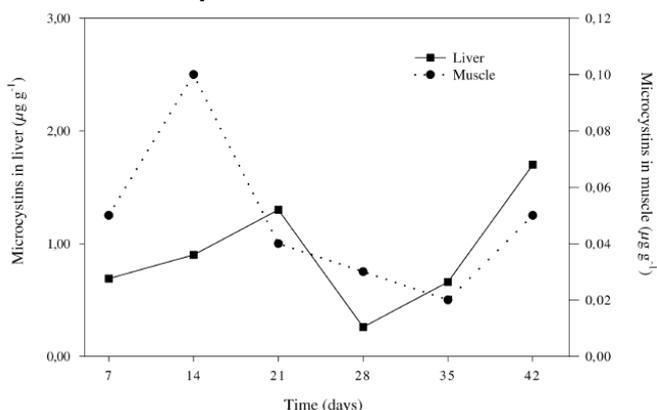


Fig. 3. Microcystins concentration in liver and muscle of *T. rendalli* during the 3<sup>rd</sup> experiment

<b>Conclusion</b>	<b>Une augmentation de la concentration en MC dans le muscle est observée pendant la phase de dépuraton, au 9<sup>ème</sup> jour (comparé à la phase d'accumulation de 15 jours). Après 15 jours de dépuraton, la concentration en MC est revenue à un niveau très bas (valeur non fournie).</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Poissons juvéniles
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Song et al. (2007). Distribution and bioaccumulation of microcystins in water columns: a systematic investigation into the environmental fate and the risks associated with microcystins in Meiliang Bay, Lake Taihu. <i>Water Res</i> 41(13): 2853-2864.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons pendant 11 mois.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Chine
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Carassius auratus auratus</i> carassin doré OUI OUI <sup>64</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons ont été prélevés entre février 2005 et janvier 2006 dans le lac Taihu. Les poissons ont été analysés par pool de 3 à 5 individus (par type d'organe). Le nombre de poisson et les sites de prélèvements ne sont pas précisés.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (screening, préparé par les auteurs) et LC-MS (pour identification et quantification des échantillons positifs par ELISA, MC(LR, RR, YR) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 pour ELISA (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction) 4 pour LC-MS (que LD, pas LQ, ni rendement d'extraction), LD = 0,05 à 0,1 mg/kg de poids sec dans les matrices biologiques ; 0,05 à 0,15 µg/L dans l'eau. <b>Attention, LD élevées.</b>
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements mensuels d'eau ont été réalisés en surface (0-0,5 m avec un échantillonneur vertical) et en profondeur (0-10 cm au-dessus du sédiment) sur 4 sites. La concentration en MC a été mesurée par HPLC.
<b>Résultats</b>	<p>Une efflorescence de cyanobactéries dominé par <i>Microcystis</i> a été observé sur les 4 sites entre mai et octobre avec un pic à 10<sup>8</sup> cellules /L en juillet. La concentration maximale en MC intracellulaire était de 1,81 g/kg de poids sec (en juillet) et celle en MC dissoutes de 7,4 µg/L en surface (en septembre) et 3,59 µg/L près du sédiment (en octobre).</p> <p>Les auteurs notent une grande variation des concentrations en MC dans l'efflorescence et des toxines présentes d'un mois à l'autre.</p> <p>Chez le poisson, la concentration en MC a varié de 462 à 3629 µg/kg de poids sec dans le foie et de non détecté à 378 µg/kg ps dans le muscle.</p> <p>Les auteurs notent une <b>grande variation des concentrations en MC dans le poisson (foie et muscle) d'un mois à l'autre</b>, avec un pic en juin-juillet.</p> <p>Le rapport des concentrations en MC dans le foie et le muscle varie au cours du temps, de quelques fois à 40 fois.</p> <p>Les concentrations en MC dans le foie et le muscle ne sont pas précisées (uniquement représentées sous forme graphique). La concentration la plus élevée est observée en juin, puis diminue progressivement (alors que la concentration dans le foie augmente) jusqu'à un autre petit pic en novembre.</p>

<sup>64</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67208/tab/rep/METROP](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67208/tab/rep/METROP)

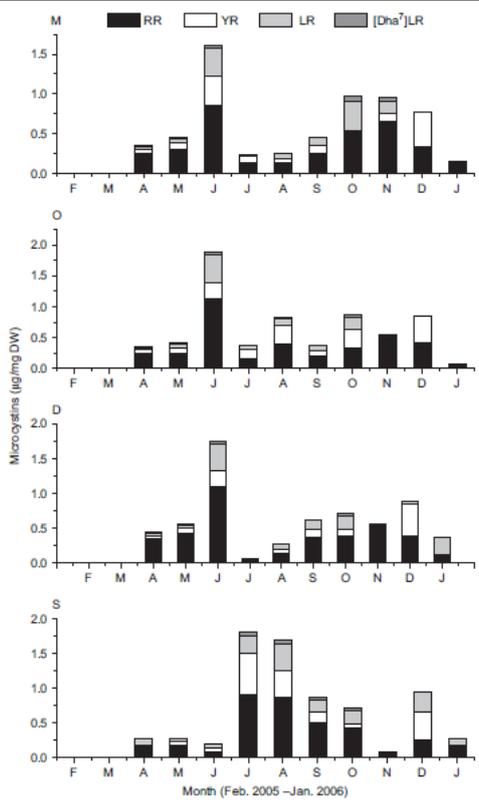


Fig. 2 – Concentrations of four microcystin variants (RR, YR, LR and Dha7 LR) in the naturally occurring algal blooms in Meiliang Bay, Lake Taihu, from February 2005 to January 2006

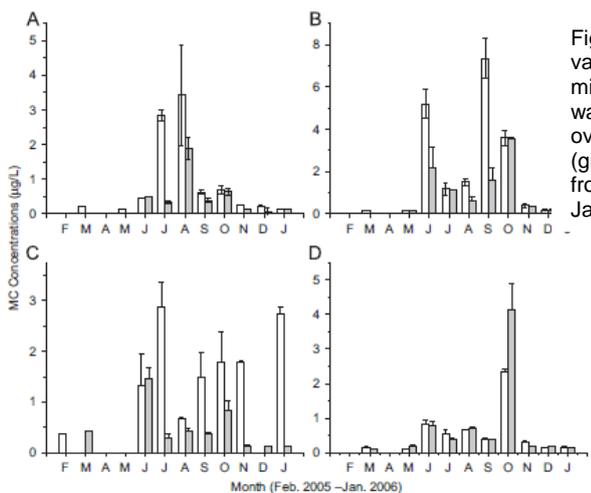


Fig. 3 – Distributions and variations of dissolved microcystins in surface water (open bars) and over-sediment water (gray bars) in Lake Taihu from February 2005 to January 2006

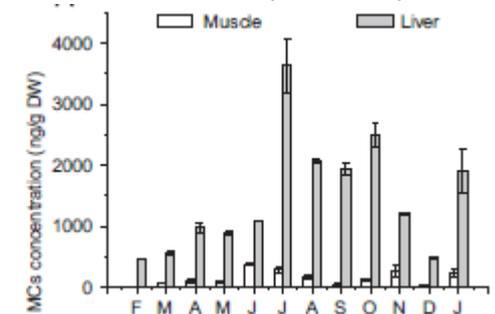


Fig. 4 – Accumulations of MCs in the liver and muscle of *Carassius auratus* in Meiliang Bay, Lake Taihu, from February 2005 to January 2006. Data were expressed as the mean value and standard deviations of four replicate determinations.

**Conclusion**

Les auteurs n'ont pas réalisé d'analyse statistique de la relation entre les concentrations en MC dans l'eau et celles dans le poisson.  
Le pic de concentration en MC dans le muscle est observé en juin et correspond au pic de MC intracellulaires sur 3 des 4 sites, mais il n'est pas indiqué où ont été pêchés les poissons.

**Qualité de l'étude**

Bonne

<b>Commentaires</b>	Les résultats de cette étude sont difficilement interprétables en termes d'information sur la cinétique de décontamination des poissons après une efflorescence ou de la relation avec la concentration en MC dans l'eau.
<b>Informations complémentaires</b>	L'étude a aussi porté sur une crevette d'eau douce ( <i>Macrobrachium nipponensis</i> ), un gastéropode d'eau douce ( <i>Bellamya aeruginosa</i> ), un bivalve d'eau douce ( <i>Cristaria plicata</i> ) et 4 espèces de plantes hydrophytes.

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Vareli et al. (2009). Molecular characterization of cyanobacterial diversity and yearly fluctuations of microcystin loads in a suburban Mediterranean Lake (Lake Pamvotis, Greece). <i>Journal of Environmental Monitoring</i> , 11, 1506–1512.																																																				
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons d'un lac pendant 11 mois.																																																				
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																				
<b>Pays</b>	Grèce																																																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius gibelio</i> carassin argenté, aussi appelé carpe prussienne <i>Barbus albanicus</i> barbus <i>Cyprinus carpio</i> carpe commune <i>Rutilus ylikiensis</i> gardon																																																				
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																				
<b>Présente en France</b>	OUI pour la carpe et le carassin argenté, NON pour <i>Rutilus ylikiensis</i> et <i>Barbus albanicus</i>																																																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines																																																				
<b>Protocole expérimental</b>	Plusieurs prélèvements de poissons sur une période de 11 mois (octobre 2004 à septembre 2005)																																																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie																																																				
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																				
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Abraxis) MC libres uniquement																																																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction) Des travaux précédents ont montré un rendement > 90%.																																																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Prélèvements d'eau en surface (50 cm) mensuels ou bihebdomadaires, au milieu du lac. Dosage des MC par ELISA. Les résultats présentés comprennent la densité cellulaire en cyanobactéries, la concentration en MC dans l'eau, les biovolumes.																																																				
<b>Résultats</b>	<p><b>Pas de corrélation statistique entre les concentrations en MC dans l'eau et celles dans le muscle ou le foie des poissons.</b></p> <p>Les concentrations en MC dans le muscle se situent entre 2 et 5 µg/kg de poids frais pour des concentrations dans l'eau allant de 0,2 à 17,8 µg/L.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Date de prélèvement</th> <th>MC dans l'eau (µg/L)</th> <th>Poissons</th> <th>Concentration muscle (µg/kg pf)</th> <th>Concentration foie (µg/kg pf)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">26/10/2004</td> <td rowspan="3">10,80</td> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>3,16</td> <td>44,20</td> </tr> <tr> <td><i>Barbus albanicus</i></td> <td>3,04</td> <td>53,80</td> </tr> <tr> <td><i>Cyprinus carpio</i></td> <td>3,14</td> <td>48,40</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">19/03/2005</td> <td rowspan="2">0,20</td> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>2,24</td> <td>21,00</td> </tr> <tr> <td><i>Rutilus yliciencis</i></td> <td>4,71</td> <td>26,20</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">12/06/2005</td> <td rowspan="3">0,80</td> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>2,06</td> <td>17,60</td> </tr> <tr> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>2,48</td> <td>20,40</td> </tr> <tr> <td><i>Cyprinus carpio</i></td> <td>3,04</td> <td>46,00</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">30/09/2005</td> <td rowspan="4">17,80</td> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>2,46</td> <td>14,20</td> </tr> <tr> <td><i>Carassius gibelio</i></td> <td>3,30</td> <td>41,60</td> </tr> <tr> <td><i>Barbus albanicus</i></td> <td>2,94</td> <td>56,20</td> </tr> <tr> <td><i>Cyprinus carpio</i></td> <td>2,56</td> <td>42,20</td> </tr> </tbody> </table>				Date de prélèvement	MC dans l'eau (µg/L)	Poissons	Concentration muscle (µg/kg pf)	Concentration foie (µg/kg pf)	26/10/2004	10,80	<i>Carassius gibelio</i>	3,16	44,20	<i>Barbus albanicus</i>	3,04	53,80	<i>Cyprinus carpio</i>	3,14	48,40	19/03/2005	0,20	<i>Carassius gibelio</i>	2,24	21,00	<i>Rutilus yliciencis</i>	4,71	26,20	12/06/2005	0,80	<i>Carassius gibelio</i>	2,06	17,60	<i>Carassius gibelio</i>	2,48	20,40	<i>Cyprinus carpio</i>	3,04	46,00	30/09/2005	17,80	<i>Carassius gibelio</i>	2,46	14,20	<i>Carassius gibelio</i>	3,30	41,60	<i>Barbus albanicus</i>	2,94	56,20	<i>Cyprinus carpio</i>	2,56	42,20
Date de prélèvement	MC dans l'eau (µg/L)	Poissons	Concentration muscle (µg/kg pf)	Concentration foie (µg/kg pf)																																																	
26/10/2004	10,80	<i>Carassius gibelio</i>	3,16	44,20																																																	
		<i>Barbus albanicus</i>	3,04	53,80																																																	
		<i>Cyprinus carpio</i>	3,14	48,40																																																	
19/03/2005	0,20	<i>Carassius gibelio</i>	2,24	21,00																																																	
		<i>Rutilus yliciencis</i>	4,71	26,20																																																	
12/06/2005	0,80	<i>Carassius gibelio</i>	2,06	17,60																																																	
		<i>Carassius gibelio</i>	2,48	20,40																																																	
		<i>Cyprinus carpio</i>	3,04	46,00																																																	
30/09/2005	17,80	<i>Carassius gibelio</i>	2,46	14,20																																																	
		<i>Carassius gibelio</i>	3,30	41,60																																																	
		<i>Barbus albanicus</i>	2,94	56,20																																																	
		<i>Cyprinus carpio</i>	2,56	42,20																																																	
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de corrélation entre les concentrations en MC dans l'eau et celles dans le muscle ou le foie des poissons.</b>																																																				
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne																																																				
<b>Commentaires</b>																																																					
<b>Informations complémentaires</b>																																																					

R<sub>eau</sub>

<b>Référence</b>	Vasconcelos et al. (2013). Microcystin bioaccumulation can cause potential mutagenic effects in farm fish. <i>Egyptian Journal of Aquatic Research</i> 39(3): 185-192.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination des poissons après une exposition de 5 mois à des cyanobactéries.
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne) <sup>65</sup>
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	10 poissons ont été achetés à des fermes aquacoles dans 3 réservoirs (Acauã, Cordeiro et Camalau) en décembre 2009, ces poissons ont été maintenus 5 mois dans des cages et ont été exposés à des cyanobactéries. Les poids moyens ont varié selon les réservoirs entre 470 et 670 g.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle et foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (Envirologix) MC libres uniquement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Des prélèvements d'eau de surface ont été réalisés 2 fois par mois d'août à décembre 2009 pour chaque réservoir, à des sites proches des zones d'aquaculture. Les MC intracellulaires ont été analysées par ELISA.
<b>Résultats</b>	<p>Les auteurs notent une grande variabilité temporelle des espèces de cyanobactéries dominantes au sein d'un même réservoir.</p> <p>Des MC ont été détectées dans tous les prélèvements d'eau des 3 réservoirs.</p> <p>La concentration maximale en MC intracellulaire a été de 41,16 µg MC-LR eq/L dans le réservoir Acauã, 29,7 µg/L dans le réservoir Cordeiro et 15 µg/L dans le réservoir Camalau.</p> <p>Chez les poissons, les concentrations en MC dans le muscle ont varié de 16,01 (Camalau) à 37,09 µg/kg (Acauã). Dans le foie, elles ont varié de 28,2 (Camalau) à 804,0 µg/kg (Acauã). Les concentrations les plus élevées ont donc été observées chez les poissons du réservoir avec la plus forte concentration en MC dans l'eau.</p> <p><b>Les concentrations mentionnées dans le texte ne correspondent pas à celles présentées sur les figures.</b></p>

<sup>65</sup> <http://www.fao.org/docrep/t8655f/t8655f03.htm> ;  
<http://www.sypagua.com/elevage-aquaculture/tilapia-oreochromis-niloticus.html>

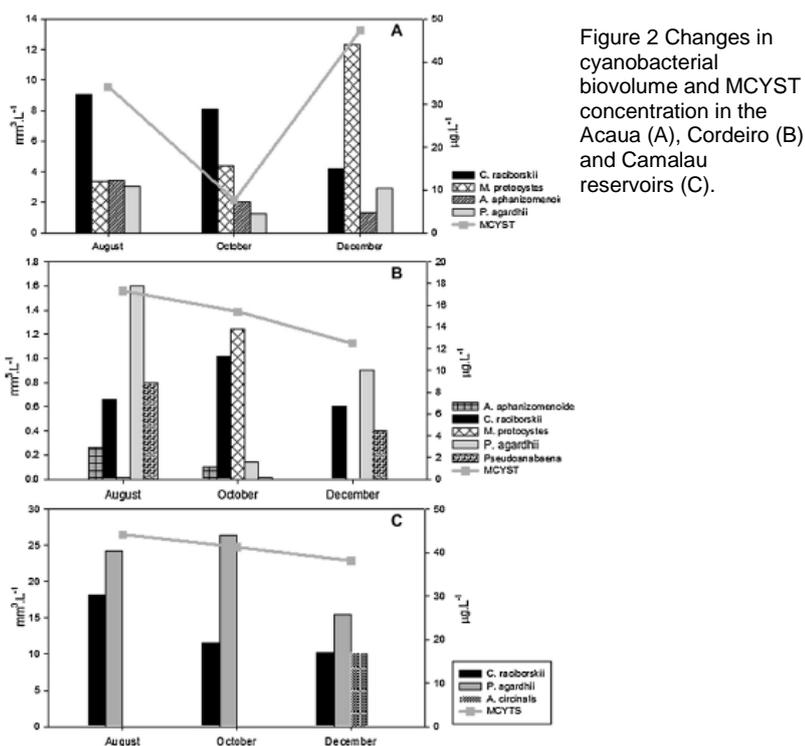


Figure 2 Changes in cyanobacterial biovolume and MCYST concentration in the Acaua (A), Cordeiro (B) and Camalau reservoirs (C).

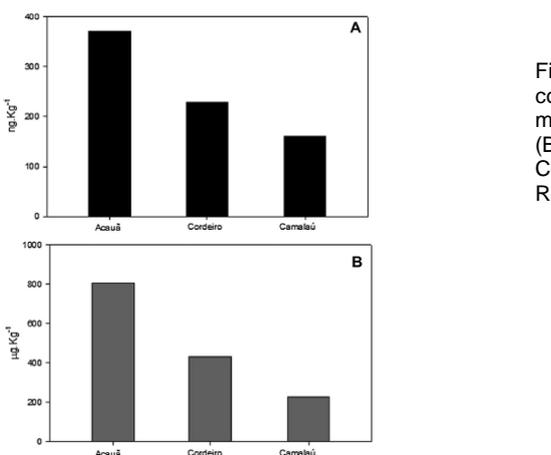


Figure 3 Microcystin concentration in the fish muscle (A) and fish viscera (B), from fish in the Acaua, Cordeiro and Camalau Reservoirs.

<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>Les concentrations les plus élevées dans le muscle ont été observées chez les poissons du réservoir avec la plus forte concentration en MC dans l'eau (intracellulaire).</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Faible</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Les résultats présentés pour les concentrations en MC dans l'eau ne sont pas bimensuels (comme annoncé dans l'article) mais bimestriels (une fois tous les 2 mois). Ce pas de temps ne permet de suivre l'évolution temporelle de manière fine.</p> <p>Les auteurs n'ont pas précisé si les concentrations sont exprimées en poids frais ou en poids sec. Les échantillons étant lyophilisés pour l'analyse, on peut supposer qu'ils sont en poids sec.</p> <p>Les auteurs ne présentent pas les résultats pour les poissons par mois mais uniquement des concentrations moyennes par réservoir. L'absence d'écart-type suggère que tous les échantillons ont été poolés et qu'une seule mesure de la concentration a été réalisée.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

<b>Référence</b>	<p>Travaux de Williams et al. chez le saumon.</p> <p>Williams et al. (1995). Tissue distribution and clearance of tritium-labeled dihydromicrocystin-LR epimers administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection. <i>Toxicol</i> 33(2): 125-131.</p> <p>Williams et al. (1997a). <sup>14</sup>C-Labeled microcystin-LR administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection provides in vivo evidence for covalent binding of microcystin-LR in salmon livers. <i>Toxicol</i> 35(6): 985-989.</p> <p>Williams et al. (1997b). Evidence for a covalently bound form of microcystin-LR in salmon liver and Dungeness crab larvae. <i>Chem Res Toxicol</i> 10(4): 463-469.</p>
<b>Objectifs</b>	Etude de la répartition tissulaire des microcystines chez le poisson.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium d'eau de mer)
<b>Pays</b>	Canada
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Salmo salar</i> saumon atlantique (poisson marin)
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	<p>Etude de la cinétique de contamination/décontamination après administration unique par injection intrapéritonéale de microcystines radiomarquées et de la répartition entre les MC libres et liées.</p> <p>Dans l'étude de 1995, 13 poissons (80-160 g) ont reçu une injection de 1 mg de toxine/kg de poisson. La toxine étudiée était la [<sup>3</sup>H]dihydroMC-LR, dissoute dans du DMSO et de la solution saline ; 4 poissons ont été sacrifiés à 2h, 5h, 22h et 46h (1 seul poisson) post-injection.</p> <p>Dans l'étude de 1997a, 16 poissons (80-130 g) ont reçu une injection de 1 mg de toxine/kg de poisson. La toxine étudiée était la [<sup>14</sup>C]MC-LR, dissoute dans du DMSO et de la solution saline ; 4 poissons ont été sacrifiés à 2h, 5h, 24h et 43,5h post-injection. Les tissus ont été analysés pour la mesure de la radioactivité ou après extraction au méthanol, pour la mesure de l'inhibition de la protéine phosphatase 1.</p> <p>Dans l'étude de 1997b, 19 poissons (25-50 g) ont reçu une injection de 2 mg de toxine/kg de poisson. La toxine étudiée était la MC-LR, dissoute dans du DMSO et de la solution saline. Des poissons ont été sacrifiés à 7h (n=8), 25h (n=3), et 28,5h (n=8) post-injection. Les tissus ont été analysés soit après extraction au méthanol et mesure de l'inhibition de la protéine phosphatase 1 (MC libres), soit avec oxydation de Lemieux et mesure par GC-MS (MC libres + liées).</p>
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, reste de la carcasse
<b>Voie d'exposition</b>	injection intrapéritonéale
<b>Méthode d'analyse</b>	Radioactivité et inhibition de l'activité phosphatase. GC-MS avec oxydation de Lemieux (pour les <b>MC totales</b> )
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 pour radioactivité et la GC-MS (pas de LD, LQ mais étude du rendement d'extraction estimé à 85-95%) 4 pour l'inhibition de l'activité phosphatase (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié
<b>Résultats</b>	L'étude de 1995 a montré que la concentration était maximale dans le foie 5h post-injection et représentait 4,9% de la dose injectée. A 22h et 46h elle représentait encore 4,2% et 2,4% respectivement. L'incorporation totale (corps entier) était de 68% à 2h, 78% à 5h, 54% à 22h et 12% à 46h post-injection.

L'étude de 1997a a montré que la concentration était maximale dans le foie 5h post-injection et représentait 16,5% de la dose injectée. A 24h et 43,5h elle représentait encore 6,5 % et 2,7 % respectivement. Dans le muscle, la concentration était de 0,15 mg/kg à 2h post-injection, puis 0,26 mg/kg à 5h et 0,24 mg/kg à 43,5h.

A 5h post-injection, 60% de la dose totale en MC dans le foie (16% de la dose injectée) n'était pas extraite par le méthanol. A 24h et 43,5h, seuls 13,5% et 4,8% des MC étaient extraites par le méthanol.

D'autre part, le rapport des concentrations en MC dans le foie et dans le muscle varie au cours du temps (52:1 après 2h et 10 :1 après 43,5).

L'étude de 1997b a montré qu'à 7h post-injection, 75% de la dose totale en MC dans le foie n'était pas extraite par le méthanol. La diminution de la charge totale en MC à 25h post-injection suggère que ces MC liées sont modifiées, détruites ou éliminées.

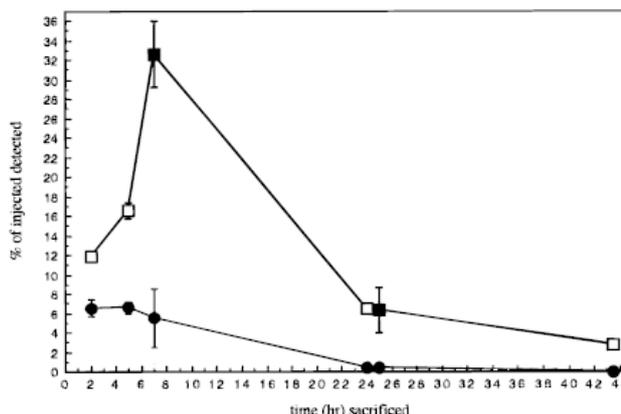


Figure 5. Summary of the results for the detection of microcystin-LR (1) in salmon livers by PPase assay (●), Lemieux oxidation-GC/MS (■), and <sup>14</sup>C-radioisotope (□) analyses (46).

La courbe par oxydation de Lemieux suit exactement celle par radioactivité, tandis que la courbe par inhibition de l'activité phosphatase sous-estime la quantité de MC présente.

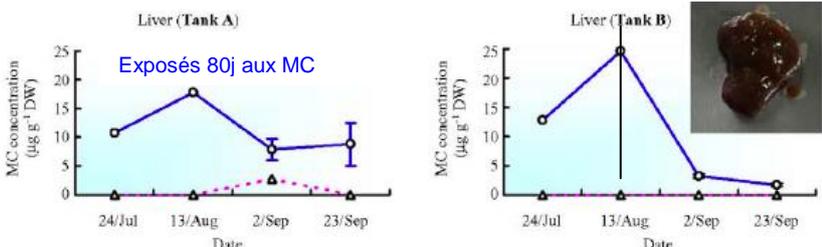
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Dans l'étude de 1997a, <b>60% à 95% des MC présentes dans le foie sont sous forme liée (non extraite par le méthanol)</b>. La fraction liée aux protéines phosphatases est de 60% à 5h post-injection et de 95% à 43,5h post-injection.</p> <p><b>La biodisponibilité des MC liées n'est pas connue mais si la digestion libérait ces MC, alors l'estimation basée uniquement sur la forme libre sous-estimerait nettement l'exposition aux MC.</b></p> <p>Le rapport des concentrations en MC dans le foie et dans le muscle varie au cours du temps.</p> <p>Dans l'étude de 1997b, <b>75% des MC présentes dans le foie sont sous forme liée (non extraite par le méthanol)</b>. La diminution de la concentration dans le foie avec le temps suggère que ces MC liées sont modifiées, détruites ou éliminées.</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Ces travaux montrent que la concentration en MC est largement sous-estimée lorsque la mesure ne porte que sur les MC libres (extraction méthanolique).</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	<p>Il est suggéré que l'interaction des MC avec les protéines phosphatases suivent un mécanisme en 2 temps : d'abord une liaison rapide et</p>

	<p>réversible et ensuite la formation d'un liaison covalente irréversible (Craig et al., 1996<sup>66</sup>).</p> <p>Plus récemment, Bieczynski et al. (2013<sup>67</sup>) ont également comparé la fraction mesurable par extraction méthanolique et inhibition de la protéine phosphatase 1 à celle mesurable par oxydation de Lemieux et GC-MS pour des MC dans le foie de <i>Odontesthes hatcheri</i> (un poisson d'Amérique du sud) nourris avec des cellules de <i>Microcystis aeruginosa</i> pendant 48h. Les MC liées représentaient de <b>66 à presque 100%</b> des MC totales.</p>
--	---

<sup>66</sup> Craig M., Luu H.A., McCready T., Williams D.E., Andersen R.J., Holmes C.F.B. (1996). Molecular mechanisms underlying the interaction of motuporin and microcystins with type-1 and 2A protein phosphatases. *Biochem. Cell. Biol.* 74, 569-578.

<sup>67</sup> Bieczynski F., Bianchi V.A., Luquet C.M. (2013). Accumulation and biochemical effects of microcystin-LR on the Patagonian pejerrey (*Odontesthes hatcheri*) fed with the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Fish Physiol Biochem.* 39(5):1309-21.

C<sub>contam</sub>, C<sub>depur</sub>

<b>Référence</b>	Xie et al. (2004). Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment. <i>Environmental Pollution</i> 127(3): 431-439.
<b>Objectifs</b>	Etude de la cinétique de contamination pendant 40 jours et de la cinétique de décontamination pendant 40 jours.
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire (aquarium)
<b>Pays</b>	Japon
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> carpe argentée
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI (introduite non établie, dont cultivée ou domestique <sup>68</sup> )
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	Microcystines
<b>Protocole expérimental</b>	Dans un aquarium (B), 40 poissons juvéniles (10 g) provenant d'une pêcherie nourris 40 jours avec des cellules fraîches de <i>Microcystis viridis</i> prélevées lors d'une efflorescence, puis 40 jours avec une alimentation sans MC. Dans un autre aquarium (A), 40 poissons nourris 80 jours avec des cellules fraîches de <i>M. viridis</i> . 10 poissons prélevés tous les 20 jours ; les tissus prélevés à chaque temps de prélèvement sont poolés (par type de tissu) pour l'analyse de MC.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, intestins, sang
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC pour la quantification et LC-MS pour l'identification. MC-LR et RR libres uniquement.
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (pas LD, ni LQ, ni rendement d'extraction) La concentration quantifiée la plus faible est de 500 µg/kg de poids sec.
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Analyse du seston par HPLC (MC-LR et RR). Dans l'aquarium, la concentration en MC dans le seston a varié entre 41,5–99,5 mg/kg de poids sec pour MC-RR et 6,9–15,8 mg/kg pour MC-LR.
<b>Résultats</b>	Dans le muscle, la cinétique de contamination en MC pendant 80 jours montre une augmentation régulière avec un maximum à 1770 µg/kg de poids sec au 80 <sup>ème</sup> jour. Dans le foie, l'augmentation jusqu'au jour 40 est suivie d'une diminution au jour 60, puis une stabilisation au jour 80. L'étude de contamination pendant 40 jours suivie d'une phase de dépuración pendant 40 jours montre une diminution de la concentration en MC dans le foie et le muscle au 20 <sup>ème</sup> jour après l'arrêt de l'exposition puis une stabilisation au 40 <sup>ème</sup> jour. La concentration après 40 jours est un peu supérieure à celle obtenue après 20 jours d'exposition et correspond à 50% de la valeur maximale (800 µg/kg dans le muscle). Ces concentrations correspondent uniquement à la MC-RR (pas de MC-LR détectée dans le muscle). <b>Exposés 40j aux MC puis dépuración 40j</b>  Fig 1 : dynamics of MC-RR and MC-LR concentrations in the liver

<sup>68</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/67275/tab/statut](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/67275/tab/statut)

	<p>Fig 2 : dynamics of MC-RR and MC-LR concentrations in the muscle</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p><b>La cinétique de dépuraction est lente.</b>  <b>Après 20 jours de dépuraction, la concentration en MC dans le muscle a diminué de moitié par rapport au pic de contamination.</b>  <b>L'extension de 20 jours supplémentaires de dépuraction ne conduit pas à une diminution de la contamination.</b></p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Attention, limite de quantification élevée (de l'ordre de 500 µg/kg de poids sec).          Poissons juvéniles.</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

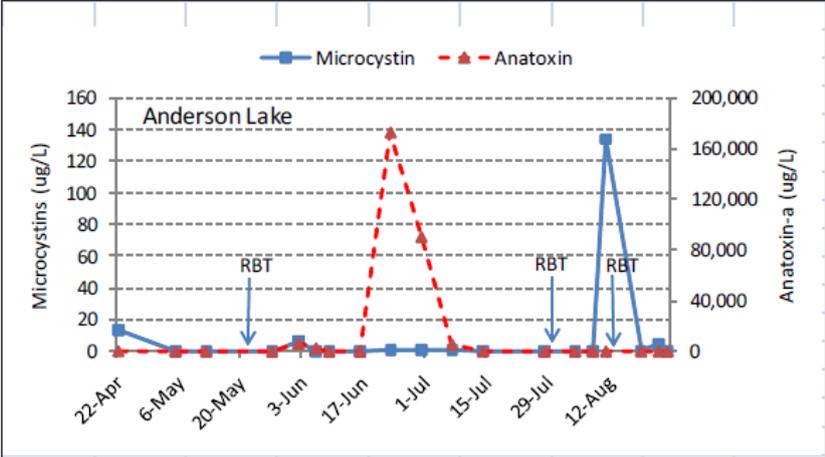
## Annexe 4 : Grilles de lecture des articles relatifs à la contamination des poissons par les cyanotoxines autres que les microcystines

### 4.1 Anatoxines

<b>Référence</b>	Al-Sammak et al. (2014). Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants. <i>Toxins</i> 6, 488-508.																																																																																															
<b>Objectifs</b>	<b>Suivi de 12 réservoirs en 2009 et 2010 avec prélèvements d'eau, de poissons et de plantes aquatiques.</b>																																																																																															
<b>Type d'étude</b>	Environnementale																																																																																															
<b>Pays</b>	USA																																																																																															
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	Pas de nom latin indiqué carpe white crappie (Crapet calicot, <i>Pomoxis annularis</i> ), bass ( ? ) shad (Alose?) walleye (doré jaune, sandre américain) catfish (poisson –chat), wiper ( ? ), bluegill (crapet arlequin)																																																																																															
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour la carpe NON pour les autres																																																																																															
<b>Présente en France</b>	OUI pour la carpe NON pour les autres																																																																																															
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA, DABA, anatoxine-a</b>																																																																																															
<b>Protocole expérimental</b>	En 2009 et 2010, 67 (31 en 2009 et 36 en 2010) échantillons d'eau ont été collectés dans des bouteilles en verre ambré de 500-mL avec un bouchon en Teflon pendant les mois d'été typiques d'outbreaks d'algues toxiques dans les lacs du Nebraska. Un total de 3–4 échantillons ont été collectés pour chaque réservoir, prélevés dans différentes directions géographiques, principalement du côté opposé à la direction du vent. 248 échantillons de poissons (115 en 2009, 133 en 2010) ont été collectés dans les 12 lacs.																																																																																															
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle																																																																																															
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																															
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS Les détails du développement de la méthode et de la validation ont été publiés précédemment.																																																																																															
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) LD vont de 0,8 à 3,2 µg/kg selon les matrices biologiques et les toxines. Dans l'eau, LD = 5 µg/l pour BMAA, 7 µg/l pour DABA et 6 µg/l pour anatoxine a																																																																																															
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	L'anatoxine A a été détectée dans 13 échantillons d'eau en 2009 et dans 18 échantillons d'eau en 2010 à des concentrations allant jusqu'à 35 µg/l. Les concentrations en anatoxine a s'étalent de la limite de détection à 16,1 µg/l dans la Willow Creek.																																																																																															
<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Reservoir</th> <th rowspan="2">County</th> <th rowspan="2">Dates sampled (number of samples)</th> <th>BMAA (µg/L)</th> <th>DABA (µg/L)</th> <th>Anatoxin-a</th> <th>Microcystins †</th> </tr> <tr> <th>2009/2010</th> <th>2009/2010</th> <th>(µg/L) 2009/2010</th> <th>(µg/L) 2009/2010</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Holmes</td> <td>Lancaster</td> <td>9.7.09(3)/8.6.10(3)</td> <td>6.0/ND</td> <td>6.9/ND</td> <td>5.0/ND</td> <td>3.8/0.98</td> </tr> <tr> <td>Pawnee</td> <td>Lancaster</td> <td>10.28.09(2)/8.20.10(3)</td> <td>11.3/4.2</td> <td>12.7/ND</td> <td>14.4/3.04</td> <td>11.0/5.9</td> </tr> <tr> <td>Wagon Train</td> <td>Lancaster</td> <td>10.6.09(3)/10.26.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> </tr> <tr> <td>Stage Coach</td> <td>Lancaster</td> <td>10.7.09(3)/10.26.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> </tr> <tr> <td>East Twin</td> <td>Seward</td> <td>10.9.09(3)/10.25.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> </tr> <tr> <td>Rockford</td> <td>Gage</td> <td>8.3.09(3)/8.22.10(3)</td> <td>24.5/18.3</td> <td>13.2/13.6</td> <td>8.4/4.8</td> <td>44.5/11.9</td> </tr> <tr> <td>Kirkman's Cove</td> <td>Richardson</td> <td>8.3.09(3)/8.8.10(3)</td> <td>2.1/25.3</td> <td>3.9/14.7</td> <td>35.0/6.0</td> <td>14.8/35.0</td> </tr> <tr> <td>Swan Creek</td> <td>Saline</td> <td>9.10.09(2)/9.9.10(3)</td> <td>1.8/ND</td> <td>3.0/ND</td> <td>1.2/ND</td> <td>6.3/21.0</td> </tr> <tr> <td>Conestoga</td> <td>Lancaster</td> <td>10.8.09(02)/8.23.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>7.8/0.13</td> </tr> <tr> <td>Willow Creek</td> <td>Pierce</td> <td>8.30.09(3)/10.1.10(3)</td> <td>ND/12.6</td> <td>ND/21.1</td> <td>ND/16.1</td> <td>15.1/35.0</td> </tr> <tr> <td>Branched Oak</td> <td>Lancaster</td> <td>9.20.010(2)/9.20.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/1.84</td> <td>0.92/2.2</td> </tr> <tr> <td>Bluestem</td> <td>Lancaster</td> <td>9.25.09(2)/9.8.10(3)</td> <td>ND/ND</td> <td>ND/1.78</td> <td>ND/2.08</td> <td>18.3/0.15</td> </tr> </tbody> </table>		Reservoir	County	Dates sampled (number of samples)	BMAA (µg/L)	DABA (µg/L)	Anatoxin-a	Microcystins †	2009/2010	2009/2010	(µg/L) 2009/2010	(µg/L) 2009/2010	Holmes	Lancaster	9.7.09(3)/8.6.10(3)	6.0/ND	6.9/ND	5.0/ND	3.8/0.98	Pawnee	Lancaster	10.28.09(2)/8.20.10(3)	11.3/4.2	12.7/ND	14.4/3.04	11.0/5.9	Wagon Train	Lancaster	10.6.09(3)/10.26.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	Stage Coach	Lancaster	10.7.09(3)/10.26.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	East Twin	Seward	10.9.09(3)/10.25.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	Rockford	Gage	8.3.09(3)/8.22.10(3)	24.5/18.3	13.2/13.6	8.4/4.8	44.5/11.9	Kirkman's Cove	Richardson	8.3.09(3)/8.8.10(3)	2.1/25.3	3.9/14.7	35.0/6.0	14.8/35.0	Swan Creek	Saline	9.10.09(2)/9.9.10(3)	1.8/ND	3.0/ND	1.2/ND	6.3/21.0	Conestoga	Lancaster	10.8.09(02)/8.23.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	7.8/0.13	Willow Creek	Pierce	8.30.09(3)/10.1.10(3)	ND/12.6	ND/21.1	ND/16.1	15.1/35.0	Branched Oak	Lancaster	9.20.010(2)/9.20.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/1.84	0.92/2.2	Bluestem	Lancaster	9.25.09(2)/9.8.10(3)	ND/ND	ND/1.78	ND/2.08	18.3/0.15
Reservoir	County				Dates sampled (number of samples)	BMAA (µg/L)	DABA (µg/L)	Anatoxin-a	Microcystins †																																																																																							
		2009/2010	2009/2010	(µg/L) 2009/2010		(µg/L) 2009/2010																																																																																										
Holmes	Lancaster	9.7.09(3)/8.6.10(3)	6.0/ND	6.9/ND	5.0/ND	3.8/0.98																																																																																										
Pawnee	Lancaster	10.28.09(2)/8.20.10(3)	11.3/4.2	12.7/ND	14.4/3.04	11.0/5.9																																																																																										
Wagon Train	Lancaster	10.6.09(3)/10.26.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND																																																																																										
Stage Coach	Lancaster	10.7.09(3)/10.26.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND																																																																																										
East Twin	Seward	10.9.09(3)/10.25.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND																																																																																										
Rockford	Gage	8.3.09(3)/8.22.10(3)	24.5/18.3	13.2/13.6	8.4/4.8	44.5/11.9																																																																																										
Kirkman's Cove	Richardson	8.3.09(3)/8.8.10(3)	2.1/25.3	3.9/14.7	35.0/6.0	14.8/35.0																																																																																										
Swan Creek	Saline	9.10.09(2)/9.9.10(3)	1.8/ND	3.0/ND	1.2/ND	6.3/21.0																																																																																										
Conestoga	Lancaster	10.8.09(02)/8.23.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/ND	7.8/0.13																																																																																										
Willow Creek	Pierce	8.30.09(3)/10.1.10(3)	ND/12.6	ND/21.1	ND/16.1	15.1/35.0																																																																																										
Branched Oak	Lancaster	9.20.010(2)/9.20.10(3)	ND/ND	ND/ND	ND/1.84	0.92/2.2																																																																																										
Bluestem	Lancaster	9.25.09(2)/9.8.10(3)	ND/ND	ND/1.78	ND/2.08	18.3/0.15																																																																																										

Résultats	Table 8. Cyanotoxins detection summary for Nebraska reservoir samples from 2009 and 2010.								
	Cyanotoxins	Water		Fish		Plant		Percent of detections	
		2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009-2010	
	BMAA	13	12	22	9	5	5	18%	
	DABA	13	12	19	7	5	5	17%	
	Anatoxin- <i>a</i>	13	18	0	0	5	5	12%	
	Total samples	31	36	115	133	36	36	387	
	La présence d'anatoxine n'a été détectée dans aucun des échantillons de poisson.								
	Table 4. HPLC/FD results showing cyanotoxin concentrations ( $\mu\text{g/g}$ ) measured in fish samples collected in reservoirs in Nebraska, 2009 and 2010								
	Table 4. HPLC/FD results showing cyanotoxin concentrations ( $\mu\text{g/g}$ ) measured in fish samples collected in reservoirs in Nebraska, 2009 and 2010.								
	Reservoir	Species (# indiv. collected)	Year	BMAA ( $\mu\text{g/g}$ ) bound free		DABA ( $\mu\text{g/g}$ ) bound free		Anatoxin- <i>a</i> ( $\mu\text{g/g}$ ) bound free	
	Kirkman's Cove	Carp (1)	2009	1.39	0.103	0.31	0.239	ND	ND
		Carp (1)	2010	0.8	0.102	0.184	0.158	ND	ND
		White crappie (2)	2010	0.6	0.327	ND	ND	ND	ND
	Pawnee	Bass (3)	2009	0.3	0.416	0.2	0.364	ND	ND
		Shad (3)	2009	0.099	0.196	0.254	ND	ND	ND
		Walleye (2)	2009	0.604	0.25	0.167	ND	ND	ND
	Rockford	White crappie (2)	2009	0.16	0.332	0.18	ND	ND	ND
		Bass (3)	2009	0.31	0.27	1.04	ND	ND	ND
		Catfish (2)	2009	0.32	0.254	0.28	ND	ND	ND
	Swan Creek	White crappie (2)	2009	ND	ND	1.16	ND	ND	ND
		Carp (1)	2010	2.57	0.057	1.53	0.167	ND	ND
		Walleye (1)	2010	0.67	0.095	0.129	0.213	ND	ND
		White crappie (1)	2010	0.629	0.06	0.229	0.0218	ND	ND
	Willow Creek	Carp (1)	2009	0.58	ND	0.2	ND	ND	ND
		Wiper (1)	2009	ND	0.227	ND	ND	ND	ND
	Willow Creek	Bass (1)	2009	0.72	0.117	ND	ND	ND	ND
		Bluegill (3)	2009	0.056	0.36	ND	ND	ND	ND
		Carp (3)	2010	0.476	0.101	0.159	0.0216	ND	ND
<b>Conclusion</b>	<b>Malgré la présence d'anatoxine dans certains échantillons d'eau, elle n'a pas été détectée dans les poissons prélevés.</b>								
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible								
<b>Commentaires</b>	Pas d'indication quand les prélèvements ont été réalisés et si présence d'efflorescences ou pas								
<b>Informations complémentaires</b>	Pour les plantes aquatiques, de l'anatoxine-A est retrouvée dans les organismes quand de la toxine est rapportée dans l'eau. La plus forte concentration d'anatoxine-A liée dans les plantes aquatiques est de 8,05 $\mu\text{g/g}$ à Kirkman's Cove, et la plus faible de 0,18 $\mu\text{g/g}$ à Pawnee. Pour la forme libre, la plus forte concentration d'anatoxine-A est de 0,42 $\mu\text{g/g}$ à Willow Creek et la plus faible de 0,22 $\mu\text{g/g}$ à Rockford.								

<b>Référence</b>	Hardy et al. (2015). Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA, Environ. Monit. Assess. 187, 667.
<b>Objectifs</b>	Déterminer si la présence de cyanotoxines dans les tissus des poissons peut représenter un problème de santé publique
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	USA, Etat de Washington
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>  <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	Pas de nom latin indiqué truite arc en ciel (présente en France) crapet-soleil = perche soleil = achigan à petite bouche (présente en France) perchaude (NON présente en France, <a href="https://inpn.mnhn.fr">https://inpn.mnhn.fr</a> ) poisson chat = barbotte brune (présente en France) achigan à grande bouche (présente en France) crapet de roche, (présente en France) truite fardée (NON présente en France) meunier à grandes écailles (NON présente en France) sauvagesse du Nord (NON présente en France)
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>anatoxine-a, microcystines, saxitoxine</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Pendant l'été et l'automne 2010 (mai, juillet, août, septembre, et octobre), des poissons ont été collectés dans 8 lacs de l'Etat de Washington présentant des efflorescences significatifs à cyanobactéries.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS Méthode validée du California Dept. of Fish & Gamemais performances non présentées dans cet article
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) LD = 5 µg/kg de poids frais pour anatoxine a
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Aucune donnée concernant la présence de cyanobactéries au moment des prélèvements ni de quantités de cyanotoxines dans l'eau
<b>Résultats</b>	20 échantillons de filets de poissons ont été analysés. L'anatoxine-a n'a pas été détectée.
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de détection dans les muscles</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	Pas d'anatoxine détectée ; pas clair sur quels poissons celle-ci a été analysée ; <b>mais y-a-t-il eu exposition ?</b>
<b>Informations complémentaires</b>	En 2011, de manière similaire, l'anatoxine A n'a pas été détectée dans les foies de poissons pêchés. Il en est de même pour les filets de perches pêchées en 2007 et conservés au laboratoire.

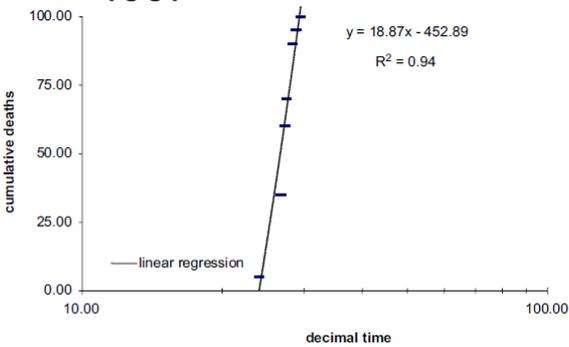
<b>Référence</b>	Johnson et al. (2010). A. Blue-Green Algae Toxins in Washington Lakes: Screening Fish Tissues for Microcystins and Anatoxin-A – Washington State Department of Ecology, 47pp.
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination de poissons collectés en lien avec des efflorescences de cyanobactéries dans 6 lacs de l'Etat de Washington pendant l'été et l'automne 2008
<b>Type d'étude</b>	Environnementale
<b>Pays</b>	USA, Etat de Washington
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> truite arc en ciel
<b>Présente en Europe</b>	OUI pour la truite NON pour le saumon
<b>Présente en France</b>	OUI pour la truite NON pour le saumon
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>anatoxine-a, microcystines</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons ont été collectés en fonction des périodes d'efflorescences (flèches indiquées sur la graphique pour rainbow trout = RBT). Même si des efforts ont été réalisés pour collecter des poissons pendant ou peu de temps après l'efflorescence, l'échantillonnage n'a pas toujours coïncidé avec les efflorescences observées. La concentration en anatoxine a a été mesurée dans 8 poissons.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC/FD Rendement très faible pour anatoxine a : 13% pour muscle et 4% pour foie
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) LD = 1,5 à 2,6 µg/kg de poids frais dans le muscle et 6,4 à 14 µg/kg de poids frais dans le foie
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Parmi les 24 lacs testés en 2008 pour l'analyse en anatoxine, 18 ont présentés un niveau détectable (soit 75% des lacs) dont 8 (soit 29%) avec un niveau supérieur au seuil recommandé pour les activités récréatives (1 µg/L). Sur les 6 lacs échantillonnés dans cette étude, le lac Anderson présente l'efflorescence d' <i>Anabaena</i> le plus sévère, les niveaux ayant atteint 172 640 µg/L d'anatoxine en juillet. 
<b>Résultats</b>	Malgré une quantité d'anatoxines retrouvée dans les échantillons d'eau pouvant être élevée, aucune toxine n'a été détectée dans les muscles ni les foies des truites récoltées. <b>Sur les 8 échantillons de poisson analysés, aucune détection d'anatoxine</b> (limites de détection entre 1,5 et 2,6 µg/kg dans le muscle et le poisson entier et entre 6,4 et 14 µg/kg de poids frais dans le foie). Les 2 lacs sélectionnés sont associés à une forte concentration en anatoxine a pour le lac Anderson et à l'historique d'efflorescences d' <i>Anabaena</i> pour le lac American.

Sample No. (0902058-)	Lake	Date	Species	Anatoxin-a	
				Tissue	Concentration (ug/Kg wet weight; parts per billion)
1	American	30-May-08	Kokanee	muscle	<1.5
2				liver	<6.4
3		11-Sep-08		muscle	<2.6
4				liver	<8.2
6			whole	<2.1	
26	Anderson	31-Jul-08	Rainbow Trout	muscle	<1.7
27				liver	<14
28				whole	<2.1

<b>Conclusion</b>	<b>L'incapacité à détecter l'anatoxine a dans les poissons exposés à des efflorescences de cyanobactéries présentant des quantités élevées en anatoxine a est à souligner. Il est possible que l'anatoxine a soit trop instable pour s'accumuler ou bien que le poisson ne l'absorbe pas.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Osswald et al. (2011). Experimental determination of the bioconcentration factor for anatoxin A in juvenile rainbow trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 1(2) :77-86																				
<b>Objectifs</b>	Calcul de la bioconcentration au laboratoire																				
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																				
<b>Pays</b>	Non pertinent																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> truite arc-en-ciel OUI OUI																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>anatoxine-a</b>																				
<b>Protocole expérimental</b>	Le facteur de bioconcentration est calculé en suivant la ligne directrice OCDE pour l'anatoxine –A fumarate en présence de truites âgées de 3 mois. L'exposition statique (132, 264 et 524 µg/L) porte sur 4 jours. Les quantités de toxine sont mesurées dans l'eau de l'aquarium et dans le poisson entier. Les 3 poissons exposés dans chaque aquarium sont poolés pour la mesure en toxine.																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Poisson entier																				
<b>Voie d'exposition</b>	Eau de l'aquarium																				
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-FD																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide)																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	L'anatoxine a est stable pendant 96h dans les conditions expérimentales utilisées.																				
<b>Résultats</b>	<p>Aucune mortalité n'a été rapportée. Après 4 jours, une diminution d'environ 20% de la concentration en anatoxine dans les aquariums est observée. Les concentrations d'anatoxine retrouvées dans le poisson entier vont en moyenne de 3,9 à 23,6 µg/g de poids frais. <b>Les BCFs sont estimés respectivement à 30, 26 et 47</b> (voir tableau ci-dessous). <b>Celui dérivé du logKow (= 1.12) était bien plus faible à 2.6.</b></p> <p>Les résultats montrent que l'état d'équilibre est atteint déjà après 24h d'exposition.</p> <p><b>Table 1</b> Bioconcentration factors (BCF) of corresponding nominal and actual concentrations of anatoxin-a in test media and in the fish body (whole body), after 96 h of exposure to the toxin through the water. Values are the mean with corresponding S.E.M. (n=3) f.w. - fresh weight. d.w. - dry weight.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Nominal concentrations of anatoxin-a (µg.mL<sup>-1</sup>)</th> <th>Actual concentrations of anatoxin-a in water (µg.mL<sup>-1</sup>)</th> <th>Actual concentrations of anatoxin-a in the whole fish (µg.g<sup>-1</sup>f.w.)</th> <th>BCF (f.w.)</th> <th>BCF (d.w.)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(C1) 0.132</td> <td>0.129 ±0.004</td> <td>3.9±1.5</td> <td>30.08</td> <td>176.4</td> </tr> <tr> <td>(C2) 0.264</td> <td>0.272 ±0.008</td> <td>7.1±1.9</td> <td>25.95</td> <td>153.8</td> </tr> <tr> <td>(C3) 0.524</td> <td>0.499±0.009</td> <td>23.6±8.4</td> <td>47.37</td> <td>297.7</td> </tr> </tbody> </table>	Nominal concentrations of anatoxin-a (µg.mL <sup>-1</sup> )	Actual concentrations of anatoxin-a in water (µg.mL <sup>-1</sup> )	Actual concentrations of anatoxin-a in the whole fish (µg.g <sup>-1</sup> f.w.)	BCF (f.w.)	BCF (d.w.)	(C1) 0.132	0.129 ±0.004	3.9±1.5	30.08	176.4	(C2) 0.264	0.272 ±0.008	7.1±1.9	25.95	153.8	(C3) 0.524	0.499±0.009	23.6±8.4	47.37	297.7
Nominal concentrations of anatoxin-a (µg.mL <sup>-1</sup> )	Actual concentrations of anatoxin-a in water (µg.mL <sup>-1</sup> )	Actual concentrations of anatoxin-a in the whole fish (µg.g <sup>-1</sup> f.w.)	BCF (f.w.)	BCF (d.w.)																	
(C1) 0.132	0.129 ±0.004	3.9±1.5	30.08	176.4																	
(C2) 0.264	0.272 ±0.008	7.1±1.9	25.95	153.8																	
(C3) 0.524	0.499±0.009	23.6±8.4	47.37	297.7																	
<b>Conclusion</b>	<b>Capacité de la truite de bioconcentrer l'anatoxine a même après des cours temps d'exposition</b>																				
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																				
<b>Commentaires</b>																					
<b>Informations complémentaires</b>																					

Référence	Osswald et al. (2007). Acute effects of an anatoxin-a producing cyanobacterium on juvenile fish- <i>Cyprinus carpio</i> L, Toxicon 49, 693-698.
Objectifs	<b>Etude de bioaccumulation au laboratoire</b>
Type d'étude	Laboratoire
Pays	Non pertinent
Espèce(s) de poisson étudiée (s) Présente en Europe Présente en France	<i>Cyprinus carpio</i> carpe OUI OUI
Cyanotoxines étudiées	<b>anatoxine-a</b>
Protocole expérimental	Des carpes juvéniles de 3 mois (0,2 g, 1,8 cm), ont été exposées avec des cellules d' <i>Anabeana</i> dans l'eau de l'aquarium avec $10^5$ cellules/ml et avec $10^7$ cellules/ml contenant $967 \pm 33$ $\mu\text{g}$ d'anatoxine par g ce qui correspond à $116,92$ fg ( $10^{-15}$ g)/cellule. Les poissons d'un même aquarium ont été poolés et chaque groupe a été traité comme un échantillon.
Tissus/organes étudiés	Muscle
Voie d'exposition	Eau +nourriture ?? pas clair
Méthode d'analyse	HPLC-FD pas de données de limites de quantification, détection, de rendement
Niveau de confiance de la méthode d'analyse	4 (non valide)
Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?	L'accumulation de l'anatoxine dans les carpes exposées aux 2 densités cellulaires suit la concentration en solution mais n'est pas proportionnelle aux valeurs théoriques de toxine dans l'eau (seulement 25 fois plus entre $10^5$ cellules/ml et $10^7$ cellules/ml au lieu de 100) mais pouvant s'expliquer par une toxicité et un effet léthal à la forte concentration Le BAF pour la plus faible concentration est certainement plus élevé en raison de la durée d'exposition plus importante (4 jours et non environ 1 jour pour la plus forte dose)..
Résultats	<p><b>Tous les poissons ayant été exposés avec la plus forte concentration de cellules</b> (environ <math>(400\text{ml} \times 10^7 \times 116.92 \times 10^{-15})</math> soit <math>468</math> x mg d'anatoxine) <b>sont morts</b> peu au-delà des 24h après l'administration (<b>temps moyen de mort = 26h 39</b>) (cf figure ci-dessous). La concentration d'anatoxine moyenne retrouvée dans le poisson entier est de <b><math>0,768</math> <math>\mu\text{g/g}</math> poids sec</b> soit <b><math>0,073</math> <math>\mu\text{g/g}</math> poids frais</b>.</p>  <p>Fig. 1. Average cumulative death (%) of carps exposed to <math>10^7</math> cell ml<sup>-1</sup> of freeze dried cyanobacterial cells. Average of two replicates (n = 10/replica).</p> <p><b>Aucune mortalité n'est rapportée avec les poissons exposés à la plus faible concentration de <math>10^5</math> cellules</b> mais le contenu moyen dans les poissons atteint <b><math>0,031</math> <math>\mu\text{g/g}</math> poids sec</b> (soit <b><math>0,005</math> <math>\mu\text{g/g}</math> de poids frais</b>) après 96h d'exposition. Ceci correspondrait à une accumulation de 0,30% (je trouve plutôt vers 0,04% <math>4680/400 = 11,7</math> <math>\mu\text{g/g}</math>; <math>0,005/11,7 = 0,00043</math>) soit un facteur de bioamplification BAF de 2,65 (je ne trouve pas cela du tout, je ne comprends pas leur calcul <math>0,005/967 = 5,17 \times 10^{-6}</math>)</p>

	<p>Table 2 Maximum theoretical anatoxin-a accumulation in carps during exposure periods, percentage of the toxin accumulated and bioaccumulation factor (BAF) for the two treatments</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Treatment (exposure period)</th> <th>Maximum theoretical anatoxin-a in fish (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</th> <th>% accumulated</th> <th>BAF</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><math>10^5 \text{ cell ml}^{-1}</math> (96 h)</td> <td>10.12</td> <td>0.05</td> <td>2.65</td> </tr> <tr> <td><math>10^7 \text{ cell ml}^{-1}</math> (26:39 h)</td> <td>252.63</td> <td>0.26</td> <td>0.65</td> </tr> </tbody> </table>	Treatment (exposure period)	Maximum theoretical anatoxin-a in fish ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	% accumulated	BAF	$10^5 \text{ cell ml}^{-1}$ (96 h)	10.12	0.05	2.65	$10^7 \text{ cell ml}^{-1}$ (26:39 h)	252.63	0.26	0.65
Treatment (exposure period)	Maximum theoretical anatoxin-a in fish ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	% accumulated	BAF										
$10^5 \text{ cell ml}^{-1}$ (96 h)	10.12	0.05	2.65										
$10^7 \text{ cell ml}^{-1}$ (26:39 h)	252.63	0.26	0.65										
<b>Conclusion</b>	<b>Bioaccumulation d'anatoxine a dans les poissons après quelques jours d'exposition</b>												
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible												
<b>Commentaires</b>	<p>Pas clair s'il s'agit bien de bioconcentration ou d'accumulation via la nourriture ou des 2.</p> <p>Le BAF et le % d'accumulation ne se calculent pas à partir d'une valeur théorique mais à partir des données obtenues. De plus, pas sure que l'on soit à l'équilibre pour calculer un BAF.</p> <p>Malgré différences de calcul, publication montrant que l'anatoxine A est aisément absorbée et accumulée dans les poissons exposés via des efflorescences de cyanobactéries ; donc intérêt de faire des dosages dans les poissons</p>												
<b>Informations complémentaires</b>													

<b>Référence</b>	Pawlik-Skowrońska et al. (2013). Cyanotoxin diversity and food web bioaccumulation in a reservoir with decreasing phosphorus concentrations and perennial cyanobacterial blooms, <i>Harmful Algae</i> 28, 118-125.
<b>Objectifs</b>	Déterminer l'accumulation de cyanotoxines dans les poissons dans des eaux douces européennes eutrophisées
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Pologne
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Abramis brama</i> brème OUI OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>anatoxine-a, microcystines</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Les études portent sur des échantillons de terrain prélevés dans un réservoir de l'est de la Pologne : des échantillons d'eau collectés 2 à 3 fois par mois entre mai et septembre pour les années de 2005 à 2011 et des poissons (7 brèmes de 28- 37 cm) au printemps et au début de l'automne 2010.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie, branchies
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC/FD Pas de donnée de limites de détection, quantification, rendement
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Les échantillons d'eau ont été collectés 2 à 3 fois par mois de mai à septembre pendant les années 2005-2011. La concentration intracellulaire en anatoxine a est corrélée positivement avec la biomasse de diverses cyanobactéries en fonctions des années ( <i>Anabaena</i> spp en 2005, <i>P. agardhii</i> en 2006, <i>Aphanizomenon</i> spp en 2010).
<b>Résultats</b>	L'anatoxine a été détectée au <b>niveau extracellulaire dans l'eau jusqu'à 0,3 µg/L</b> . En 2010, une forte concentration en anatoxine A intracellulaire a été détectée, 14,4 µg/L. Les niveaux chez les poissons en anatoxine A sont, en µg/g de poids frais : pour les branchies de 17,5 (entre 8,6 et 37,4), pour le foie de 11 (entre 6,2 et 18,4) et pour le muscle de 0,16 (entre 0 et 0,6). Les poissons contiennent à la fois anatoxine a et microcystines dans les branchies, le foie et le muscle.
<b>Conclusion</b>	<b>L'accumulation d'anatoxine a est observée dans des poissons omnivores de réservoirs eutrophisés et la voie d'absorption peut être soit via l'eau soit via la nourriture.</b> <b>Les concentrations en anatoxine a sont plus importantes dans les branchies que dans le muscle et le foie.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	Distribution apparaissant avec une accumulation dans le foie et peu dans le muscle en comparaison ; présence potentielle dans les branchies d'où éliminer tête et éviscérer pour éviter les organes les plus concentrés ? Difficile d'extrapoler car pas de données chiffrées pour le suivi du contenu dans l'eau et certains poissons ayant été collectés au printemps, avant l'efflorescence et en 2010 efflorescence plutôt tardif en septembre apparemment
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Pawlik-Skowrońska et al. (2012). Simultaneous accumulation of anatoxin-a and microcystins in three fish species indigenous to lakes affected by cyanobacterial blooms, <i>Oceanological and Hydrobiological Studies</i> 41, 53-65.
<b>Objectifs</b>	Comparer les dynamiques d'accumulation de cyanotoxines dans les tissus de 3 espèces de poissons en fonction des efflorescences de cyanobactéries
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Pologne
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Carassius gibelio</i> carpes prussiennes <i>Rutilus rutilus</i> gardon <i>Perca fluviatilis</i> perche
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>anatoxine-a, microcystines</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Cette étude porte sur des données de terrain sur un lac de l'est de la Pologne (lac Syczynskie) entre 2006 et 2009. Des poissons de différentes espèces, 13 carpes prussiennes, 20 gardons (tous les 2 espèces omnivores) et 30 perches (espèce prédatrice) et de différentes tailles ont été collectés. Le foie et du muscle ont été prélevés pour l'analyse de toxines. Des échantillons contenant de la biomasse de cyanobactéries ont également été prélevés et concentrés pour déterminer le contenu intra et extra cellulaire en anatoxine A.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	LC/FD Limite de détection = 5 ng/g poids frais
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction)
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	La biomasse des cyanobactéries Nostocales susceptibles de produire de l'anatoxine A change significativement en fonction des années et des saisons. Elles sont <b>plus nombreuses au printemps et en été</b> . Pendant ces périodes, l'anatoxine A est détectée en intracellulaire avec des concentrations maximales de 2,28 µg/dm <sup>3</sup> au printemps et 1,43 µg/dm <sup>3</sup> en été. La <b>forme extracellulaire</b> n'a été détectée qu'en 2008 avec des niveaux de 0,23 µg/dm <sup>3</sup> au printemps et 0,49 µg/dm <sup>3</sup> en été. Présence simultanée d'anatoxine a et de MC
<b>Résultats</b>	L'anatoxine A est retrouvée dans les poissons, <b>globalement les concentrations sont supérieures dans le foie que dans le muscle</b> . De même <b>les concentrations sont plus élevées dans les poissons omnivores que dans les prédateurs</b> . L'accumulation dans tous les poissons a été plus élevée en 2008-2009 qu'en 2006-2007, en adéquation avec sa présence dans les échantillons d'eau du lac. Dans les muscles des carpes prussiennes en 2006, de 5,9 à 13,9 ng/g de poids frais tandis que dans le gardon et la perche en 2008-2009 de 0 à 36 ng/g de poids frais ( <b>problème car différence entre le texte parlant en ng/g et les figures exprimées en µg/g</b> voir figures ci-dessous).

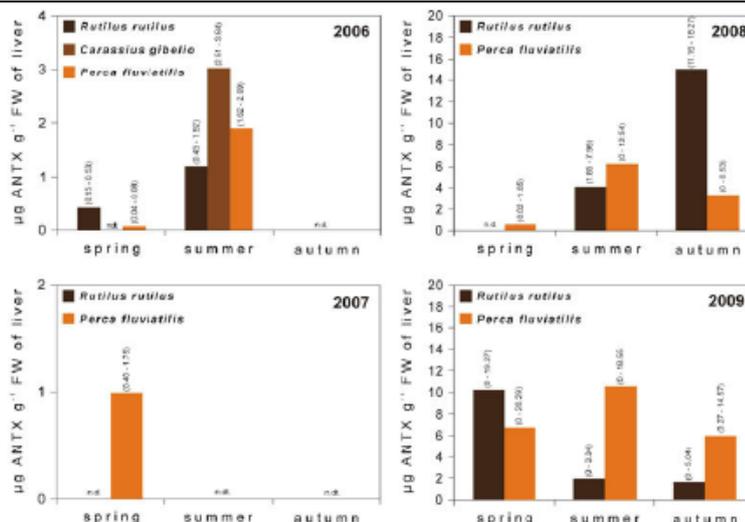


Fig. 4. Anatoxin-a accumulation in livers of fish inhabiting Lake Syczyńskie in 2006 – 2009. Concentrations are presented as mean (n = 3-4), and minimum and maximum values (in parenthesis); n.d. – not detected. n.d. – not determined.

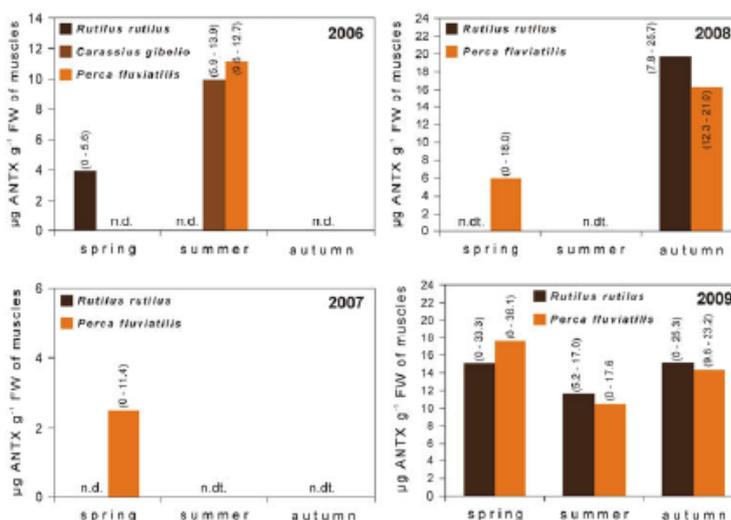


Fig. 5. Anatoxin-a accumulation in muscles of fish inhabiting Lake Syczyńskie in 2006 – 2009. Concentrations are presented as mean (n = 3-4), and minimum and maximum values (in parenthesis); n.d. – not detected. n.d. – not determined.

<b>Conclusion</b>	<p><b>Les concentrations maximales en anatoxine a dans les poissons sont observées en même temps ou peu de temps après l'obtention de niveaux élevés en biomasse de cyanobactéries.</b></p> <p><b>Les concentrations dans le poisson sont étroitement connectées avec les quantités de toxine dans la biomasse phytoplanctonique.</b></p> <p><b>Efflorescences multispèces de <i>Planktothrix</i>, <i>Anabaena</i> et <i>Aphanizomenon</i> produisant des toxines avec accumulation simultanée dans les tissus des poissons d'anatoxine a et de microcystines</b></p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	<p>Mesure d'anatoxine par HPLC-FD mais uniquement données de limites de détection à 0.5 ng/g de poids frais pour biomasse algale et poisson. Fréquence de suivi non indiquée.</p> <p>Même si les concentrations sont plus importantes dans les omnivores, il n'est pas clair si le temps a été suffisant pour une accumulation dans les prédateurs.</p>
<b>Informations complémentaires</b>	L'anatoxine A a également été retrouvé dans des moules comestibles d'eau douce jusqu'à 30 ng/g de poids frais.

## 4.2 BMAA

<b>Référence</b>	Al-Sammak et al. (2014). Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants, <i>Toxins</i> 6, 488-508.
<b>Objectifs</b>	Suivi de 12 réservoirs en 2009 et 2010 avec prélèvements d'eau, de poissons et de plantes aquatiques.
<b>Type d'étude</b>	Environnementale
<b>Pays</b>	USA
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	Pas de nom latin indiqué carpe white crappie (Crapet calicot, <i>Pomoxis annularis</i> ), bass ( ?) shad (Alose?)
<b>Présente en Europe</b>	walleye (doré jaune, sandre américain)
<b>Présente en France</b>	catfish (poisson –chat), wiper ( ?), bluegill (crapet arlequin) OUI pour la carpe NON pour les autres OUI pour la carpe NON pour les autres
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA, DABA, anatoxine-a</b>
<b>Protocole expérimental</b>	En 2009 et 2010, 67 (31 en 2009 et 36 en 2010) échantillons d'eau ont été collectés dans des bouteilles en verre ambré de 500-mL avec un bouchon en Teflon pendant les mois d'été typiques d'outbreaks d'algues toxiques dans les lacs du Nebraska. Un total de 3–4 échantillons ont été collectés pour chaque réservoir, prélevés dans différentes directions géographiques, principalement du côté opposé à la direction du vent. 248 échantillons de poissons (115 en 2009, 133 en 2010) ont été collectés dans les 12 lacs.
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC/FD + comparaison avec détection par LC/MS-MS pour 7 échantillons de poisson Les détails du développement de la méthode et de la validation ont été publiés précédemment."
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) LD vont de 0,8 à 3,2 µg/kg selon les matrices biologiques et les toxines. Dans l'eau, LD = 5 µg/l pour BMAA, 7 µg/l pour DABA et 6 µg/l pour natoxine a
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Parmi les 12 lacs, la BMAA a été détectée seulement dans 6 et la DABA dans 7 avec des niveaux atteignant 25,3 et 14,7 µg/l respectivement. Il n'y a pas forcément de corrélation entre les niveaux rapportés dans l'eau et dans les poissons. Ainsi, dans certains lacs avec des niveaux élevés en toxines (Kirkman's Cove et Rockford en 2010 par exemple) on peut retrouver des niveaux élevés (à Rockford) ou faibles (Kirkman's Cove) à en toxines pour un même type de poisson (la carpe par exemple).
<b>Résultats</b>	La BMAA a été détectée dans 31 échantillons de poissons collectés dont 22 en 2009 et 9 en 2010 : - Pour la forme liée, niveaux allant de 0,056 à 2,57 µg/g - Pour la forme libre, niveaux allant de 0,057 à 0,416 µg/g  La DABA a été détectée dans 26 échantillons de poissons collectés dont 19 en 2009 et 7 en 2010 : - Pour la forme liée, niveaux allant de 0,129 à 1,53 µg/g - Pour la forme libre, niveaux allant de 0,0216 à 0,364 µg/g

**Table 8.** Cyanotoxins detection summary for Nebraska reservoir samples from 2009 and 2010.

Cyanotoxins	Water		Fish		Plant		Percent of detections	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009–2010	
BMAA	13	12	22	9	5	5	18%	
DABA	13	12	19	7	5	5	17%	
Anatoxin- $\alpha$	13	18	0	0	5	5	12%	
Total samples	31	36	115	133	36	36	387	

Des niveaux détectables de BMAA et de DABA ont été retrouvés dans les poissons de fond et ceux dépendant des plantes aquatiques et des algues comme leur principale source de nourriture (tels que carpe, drum et poisson-chat).

En 2009, le plus fort niveau de BMAA liée a été détecté dans des carpes de Kirkman's Cove avec une concentration de 1,39  $\mu\text{g/g}$  tandis que la plus faible était retrouvée chez le bluegill de Willow Creek avec 0,056  $\mu\text{g/g}$ .

Les concentrations de BMAA libre s'élevaient de 0,103  $\mu\text{g/g}$  dans la carpe de Kirkman's Cove à 0,416  $\mu\text{g/g}$  chez le bass de Pawnee.

En 2010, la plus forte concentration de BMAA liée est détectée dans les carpes collectées de Rockford (2,57  $\mu\text{g/g}$ ) et la plus faible dans les carpes de Willow Creek (0,476  $\mu\text{g/g}$ ).

**Table 4.** HPLC/FD results showing cyanotoxin concentrations ( $\mu\text{g/g}$ ) measured in fish samples collected in reservoirs in Nebraska, 2009 and 2010.

Reservoir	Species (# indiv. collected)	Year	BMAA ( $\mu\text{g/g}$ )		DABA ( $\mu\text{g/g}$ )		Anatoxin- $\alpha$ ( $\mu\text{g/g}$ )	
			bound	free	bound	free	bound	free
Kirkman's Cove	Carp (1)	2009	1.39	0.103	0.31	0.239	ND	ND
	Carp (1)	2010	0.8	0.102	0.184	0.158	ND	ND
	White crappie (2)	2010	0.6	0.327	ND	ND	ND	ND
Pawnee	Bass (3)	2009	0.3	0.416	0.2	0.364	ND	ND
	Shad (3)	2009	0.099	0.196	0.254	ND	ND	ND
	Walleye (2)	2009	0.604	0.25	0.167	ND	ND	ND
	White crappie (2)	2009	0.16	0.332	0.18	ND	ND	ND
Rockford	Bass (3)	2009	0.31	0.27	1.04	ND	ND	ND
	Catfish (2)	2009	0.32	0.254	0.28	ND	ND	ND
	White crappie (2)	2009	ND	ND	1.16	ND	ND	ND
	Carp (1)	2010	2.57	0.057	1.53	0.167	ND	ND
	Walleye (1)	2010	0.67	0.095	0.129	0.213	ND	ND
	White crappie (1)	2010	0.629	0.06	0.229	0.0218	ND	ND
Swan Creek	Carp (1)	2009	0.58	ND	0.2	ND	ND	ND
	Wiper (1)	2009	ND	0.227	ND	ND	ND	ND
Willow Creek	Bass (1)	2009	0.72	0.117	ND	ND	ND	ND
	Bluegill (3)	2009	0.056	0.36	ND	ND	ND	ND
	Carp (3)	2010	0.476	0.101	0.159	0.0216	ND	ND

<b>Conclusion</b>	<b>La BMAA est retrouvée dans les muscles de différents poissons mais pas de corrélation avec les niveaux de toxines mesurés dans l'eau.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Moyenne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	BMAA et DABA ont également été détectés dans des plantes aquatiques peuplant ces lacs avec des niveaux pouvant atteindre 12,7 et 13,7 $\mu\text{g/g}$ pour respectivement la forme liée et libre de la BMAA et 8,31 et 2,19 $\mu\text{g/g}$ pour respectivement la forme liée et libre de la DABA

<b>Référence</b>	Jiang et al. (2014). Quantification of neurotoxin BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine) in seafood from Swedish markets, Scientific Reports 4, 6931																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Objectifs</b>	Estimer les niveaux en BMAA dans des produits aquatiques vendus en supermarché																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Pays</b>	Suède																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Perca fluviatilis</i> perche <i>Salmo salar</i> saumon <i>Salvelinus alpinus</i> omble <i>Pleuronectes platessa</i> plie + autres poissons marins, moules huîtres, crevettes et écrevisse																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Présente en France</b>	OUI																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA</b>																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Protocole expérimental</b>	Echantillons collectés dans 8 supermarchés de Stockholm en 2013-2014																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Méthode d'analyse</b>	UHPLC-MS/MS																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 (valide, méthode caractérisée) LD et LQ < 0,01 $\mu\text{g/g}$ de poids frais ; précision : 108 à 119%																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Résultats</b>	<p>La BMAA est détectée dans seulement 5 échantillons de poissons sur 21, chez de l'omble et de la plie avec des concentrations restant très faibles et allant de 0,01 à 0,02 <math>\mu\text{g/g}</math>. La BMAA n'a pas été détectée dans les échantillons de perche.</p> <table border="1"> <caption>Table 1   BMAA contents in the seafood purchased in eight supermarkets in Stockholm, Sweden during 2013 and 2014</caption> <thead> <tr> <th>Name (Species/*Infraorder)</th> <th>Supermarket</th> <th>Purchase Date</th> <th>Capture Site</th> <th>Production Mode</th> <th>Process and Preservation Method</th> <th>BMAA/Tissue (<math>\mu\text{g/g}</math>)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">Blue mussel (<i>Mytilus edulis</i>)</td> <td>S1</td> <td>Feb. 14, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.90</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Sep. 03, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.34</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.42</td> </tr> <tr> <td>S3</td> <td>Oct. 08, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.25</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Oyster (<i>Ostrea edulis</i>, **<i>Crassostrea gigas</i>)</td> <td>S6</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.19</td> </tr> <tr> <td>S7</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.08</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Greece</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.32</td> </tr> <tr> <td>S3</td> <td>Oct. 08, 2013</td> <td>France**</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.66</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Shrimp (*Caridea)</td> <td>S6</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.10</td> </tr> <tr> <td>S7</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden (west coast)</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.28</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>0.20</td> </tr> <tr> <td>S2-L2</td> <td>Oct. 08, 2013</td> <td>Northern Atlantic</td> <td>caught</td> <td>smoked</td> <td>0.11</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Plaice (<i>Pleuronectes platessa</i>)</td> <td>S3</td> <td>Oct. 08, 2013</td> <td>Northern Atlantic</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>0.20</td> </tr> <tr> <td>S4</td> <td>Oct. 08, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>caught</td> <td>cooked/frozen</td> <td>0.17</td> </tr> <tr> <td>S6</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>caught</td> <td>cooked/frozen</td> <td>0.46</td> </tr> <tr> <td>S7</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>0.13</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Baltic Herring (<i>Clupea harengus</i>)</td> <td>S1</td> <td>Feb. 14, 2013</td> <td>Northeast Atlantic</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>0.01</td> </tr> <tr> <td>S5</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Baltic Sea</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>0.02</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Baltic Sea</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Salmon (<i>Salmo salar</i>)</td> <td>S5</td> <td>Oct. 09, 2013</td> <td>Baltic Sea</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Sep. 03, 2013</td> <td>Norway</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Norway</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Char (<i>Salvelinus alpinus</i>)</td> <td>S2-L1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Norway</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Norway</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Feb. 14, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Cod (<i>Gadus morhua</i>)</td> <td>S2-L1</td> <td>Sep. 03, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>0.01</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Sweden</td> <td>farmed</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Sep. 03, 2013</td> <td>Norway</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Norway</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Perch (<i>Perca fluviatilis</i>)</td> <td>S2-L1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Norway</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Norway</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Feb. 14, 2013</td> <td>Northeast Atlantic</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Northeast Atlantic</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Crayfish (<i>Astacus leptodactylus</i>)</td> <td>S1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Sweden (lake)</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Sweden (lake)</td> <td>caught</td> <td>raw</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Sep. 03, 2013</td> <td>Turkey</td> <td>unknown</td> <td>cooked/frozen</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Sep. 04, 2013</td> <td>Sweden (lake)</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td rowspan="4"></td> <td>S2-L1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Turkey</td> <td>caught</td> <td>cooked/frozen</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Turkey</td> <td>caught</td> <td>cooked/frozen</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S2-L1</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Sweden (lake)</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>S7</td> <td>Aug. 07, 2014</td> <td>Sweden</td> <td>caught</td> <td>cooked</td> <td>ND</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND: not detectable (i.e., below the method LOD of 0.01 <math>\mu\text{g BMAA/g wet weight of sample tissue}</math>); S1-7 refers to the seven supermarkets where the samples were purchased; L1-2 refers to locations 1 and 2. The port analyzed was the whole soft body for blue mussel and oyster, and muscle for others.</p>	Name (Species/*Infraorder)	Supermarket	Purchase Date	Capture Site	Production Mode	Process and Preservation Method	BMAA/Tissue ( $\mu\text{g/g}$ )	Blue mussel ( <i>Mytilus edulis</i> )	S1	Feb. 14, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.90	S2-L1	Sep. 03, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.34	S1	Sep. 04, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.42	S3	Oct. 08, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.25	Oyster ( <i>Ostrea edulis</i> , ** <i>Crassostrea gigas</i> )	S6	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.19	S7	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.08	S1	Sep. 04, 2013	Greece	farmed	raw	0.32	S3	Oct. 08, 2013	France**	farmed	raw	0.66	Shrimp (*Caridea)	S6	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.10	S7	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.28	S1	Sep. 04, 2013	Sweden	caught	cooked	0.20	S2-L2	Oct. 08, 2013	Northern Atlantic	caught	smoked	0.11	Plaice ( <i>Pleuronectes platessa</i> )	S3	Oct. 08, 2013	Northern Atlantic	caught	cooked	0.20	S4	Oct. 08, 2013	Sweden	caught	cooked/frozen	0.17	S6	Oct. 09, 2013	Sweden	caught	cooked/frozen	0.46	S7	Oct. 09, 2013	Sweden	caught	cooked	0.13	Baltic Herring ( <i>Clupea harengus</i> )	S1	Feb. 14, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	0.01	S5	Oct. 09, 2013	Baltic Sea	caught	raw	0.02	S1	Sep. 04, 2013	Baltic Sea	caught	raw	ND	Salmon ( <i>Salmo salar</i> )	S5	Oct. 09, 2013	Baltic Sea	caught	raw	ND	S2-L1	Sep. 03, 2013	Norway	farmed	raw	ND	S1	Sep. 04, 2013	Norway	farmed	raw	ND	Char ( <i>Salvelinus alpinus</i> )	S2-L1	Aug. 07, 2014	Norway	farmed	raw	ND	S1	Aug. 07, 2014	Norway	farmed	raw	ND	S1	Feb. 14, 2013	Sweden	farmed	raw	ND	Cod ( <i>Gadus morhua</i> )	S2-L1	Sep. 03, 2013	Sweden	farmed	raw	0.01	S1	Sep. 04, 2013	Sweden	farmed	raw	ND	S2-L1	Sep. 03, 2013	Norway	caught	raw	ND	S1	Sep. 04, 2013	Norway	caught	raw	ND	Perch ( <i>Perca fluviatilis</i> )	S2-L1	Aug. 07, 2014	Norway	caught	raw	ND	S1	Aug. 07, 2014	Norway	caught	raw	ND	S1	Feb. 14, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	ND	S1	Sep. 04, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	ND	Crayfish ( <i>Astacus leptodactylus</i> )	S1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	raw	ND	S2-L1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	raw	ND	S2-L1	Sep. 03, 2013	Turkey	unknown	cooked/frozen	ND	S1	Sep. 04, 2013	Sweden (lake)	caught	cooked	ND		S2-L1	Aug. 07, 2014	Turkey	caught	cooked/frozen	ND	S1	Aug. 07, 2014	Turkey	caught	cooked/frozen	ND	S2-L1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	cooked	ND	S7	Aug. 07, 2014	Sweden	caught	cooked	ND
Name (Species/*Infraorder)	Supermarket	Purchase Date	Capture Site	Production Mode	Process and Preservation Method	BMAA/Tissue ( $\mu\text{g/g}$ )																																																																																																																																																																																																																																																																			
Blue mussel ( <i>Mytilus edulis</i> )	S1	Feb. 14, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.90																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Sep. 03, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.34																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.42																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S3	Oct. 08, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.25																																																																																																																																																																																																																																																																			
Oyster ( <i>Ostrea edulis</i> , ** <i>Crassostrea gigas</i> )	S6	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.19																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S7	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.08																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Greece	farmed	raw	0.32																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S3	Oct. 08, 2013	France**	farmed	raw	0.66																																																																																																																																																																																																																																																																			
Shrimp (*Caridea)	S6	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.10																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S7	Oct. 09, 2013	Sweden (west coast)	farmed	raw	0.28																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Sweden	caught	cooked	0.20																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L2	Oct. 08, 2013	Northern Atlantic	caught	smoked	0.11																																																																																																																																																																																																																																																																			
Plaice ( <i>Pleuronectes platessa</i> )	S3	Oct. 08, 2013	Northern Atlantic	caught	cooked	0.20																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S4	Oct. 08, 2013	Sweden	caught	cooked/frozen	0.17																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S6	Oct. 09, 2013	Sweden	caught	cooked/frozen	0.46																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S7	Oct. 09, 2013	Sweden	caught	cooked	0.13																																																																																																																																																																																																																																																																			
Baltic Herring ( <i>Clupea harengus</i> )	S1	Feb. 14, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	0.01																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S5	Oct. 09, 2013	Baltic Sea	caught	raw	0.02																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Baltic Sea	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
Salmon ( <i>Salmo salar</i> )	S5	Oct. 09, 2013	Baltic Sea	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Sep. 03, 2013	Norway	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Norway	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
Char ( <i>Salvelinus alpinus</i> )	S2-L1	Aug. 07, 2014	Norway	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Aug. 07, 2014	Norway	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Feb. 14, 2013	Sweden	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
Cod ( <i>Gadus morhua</i> )	S2-L1	Sep. 03, 2013	Sweden	farmed	raw	0.01																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Sweden	farmed	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Sep. 03, 2013	Norway	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Norway	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
Perch ( <i>Perca fluviatilis</i> )	S2-L1	Aug. 07, 2014	Norway	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Aug. 07, 2014	Norway	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Feb. 14, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Northeast Atlantic	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
Crayfish ( <i>Astacus leptodactylus</i> )	S1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	raw	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Sep. 03, 2013	Turkey	unknown	cooked/frozen	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Sep. 04, 2013	Sweden (lake)	caught	cooked	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Aug. 07, 2014	Turkey	caught	cooked/frozen	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S1	Aug. 07, 2014	Turkey	caught	cooked/frozen	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S2-L1	Aug. 07, 2014	Sweden (lake)	caught	cooked	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
	S7	Aug. 07, 2014	Sweden	caught	cooked	ND																																																																																																																																																																																																																																																																			
<b>Conclusion</b>	<b>La BMAA a été détectée dans 2 espèces de poissons seulement, l'omble et la plie, avec des niveaux restant assez faibles (maximum 0,02 <math>\mu\text{g/g}</math>).</b>																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne																																																																																																																																																																																																																																																																								
<b>Commentaires</b>																																																																																																																																																																																																																																																																									

<b>Référence</b>	Jiao et al. (2014). Occurrence and transfer of a cyanobacterial neurotoxin $\beta$ -methylamino-l-alanine within the aquatic food webs of Gonghu Bay (Lake Taihu, China) to evaluate the potential human health risk, <i>Science of the Total Environment</i> 468-469, 457-463.								
<b>Objectifs</b>	Etudier le transfert possible et la bioaccumulation de la BMAA dans les réseaux trophiques majeurs au niveau de la baie Gonghu du lac Taihu								
<b>Type d'étude</b>	Environnemental								
<b>Pays</b>	Chine								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Aristichthys nobilis</i> (carpe à grosse tête (présente en France) <i>Carassius auratus</i> carassin doré (présente en France) <i>Coilia ectenes taihuensis</i> (engraulidé, non présente en France) <i>Cyprinus carpio</i> carpe commune (présente en France) <i>Erythroculter ilishaeformis</i> (non présente en France), <i>Hemiramphus kurumeus</i> (non présente en France) <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (carpe argentée (présente en France) <i>Neosalanx taihuensis</i> (non présente en France) <i>Parasilurus asotus</i> poisson-chat japonais (non présente en France) <i>Pelteobagrus fulvidraco</i> poisson-chat (non présente en France), <i>Protosalanx hyalocranius</i> (non présente en France), <i>Pseudorasbora parva</i> goujon asiatique (présente en France), <i>Rhodeus sinensis</i> (non présente en France)								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA</b>								
<b>Protocole expérimental</b>	Echantillons collectés d'avril à novembre 2012 dans Gonghu Bay, 3 phases d'efflorescence identifiées : émergence, pic et déclin.								
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle								
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel								
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 (valide, méthode caractérisée) Rendement pour les poissons = 81,5% (de 78,2 à 85,6%) Précision entre run : déviation standard relative <5,3%								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Collecte d'échantillons de cyanobactéries à la surface de l'eau dans 4 points différents en utilisant des filets à plancton d'avril à novembre 2012								
<b>Résultats</b>	<p>Le niveau moyen de BMAA totale dans les muscles est maximal pendant le pic de l'efflorescence.</p> <p><b>Table 4</b>  BMAA levels in muscle tissues of all fishes sampled in the Gonghu Bay from three phases.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Phase</th> <th>Average of total BMAA (<math>\mu\text{g/g}</math> dry weight) <sup>a</sup></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Bloom-emergence</td> <td>1.61 <math>\pm</math> 1.205</td> </tr> <tr> <td>Bloom-outbreak</td> <td>9.12 <math>\pm</math> 7.828</td> </tr> <tr> <td>Bloom-decline</td> <td>7.41 <math>\pm</math> 4.508</td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>a</sup> Values are presented as means <math>\pm</math> standard deviations (n = 3).</p> <p>Contenu en BMAA total variant de 0,07 à 35,91 <math>\mu\text{g/g}</math> poids sec toute espèce de poisson et date d'échantillonnage confondues  Pendant la phase d'émergence de l'efflorescence, niveau entre 0,38 et 3,77 <math>\mu\text{g/g}</math> détecté dans 11 espèces, le niveau le plus élevé étant dans l'espèce <i>Prabramis pekinensis</i>  Pendant la phase d'outbreak, niveau moyen détecté dans les poissons= 9,12 <math>\mu\text{g/g}</math> dw ; niveau maximal dans <i>Erythroculter ilishaeformis</i> (carnivore) avec 35,91 <math>\mu\text{g/g}</math></p>	Phase	Average of total BMAA ( $\mu\text{g/g}$ dry weight) <sup>a</sup>	Bloom-emergence	1.61 $\pm$ 1.205	Bloom-outbreak	9.12 $\pm$ 7.828	Bloom-decline	7.41 $\pm$ 4.508
Phase	Average of total BMAA ( $\mu\text{g/g}$ dry weight) <sup>a</sup>								
Bloom-emergence	1.61 $\pm$ 1.205								
Bloom-outbreak	9.12 $\pm$ 7.828								
Bloom-decline	7.41 $\pm$ 4.508								

**Table 3**  
BMAA levels in fishes (muscle tissues) sampled in Gonghu Bay from April to November 2012.

Aquatic animals	Species	Date	The phase of cyanobacterial bloom	Total BMAA (µg/g dry weight) <sup>a</sup>
Fishes	<i>Aristichthys nobilis</i>	April 9	Emergence	0.38 ± 0.541
		June 18	Outbreak	0.12 ± 0.040
Δ	<i>Carassius auratus</i>	April 7	Emergence	0.38 ± 0.262
		June 16	Outbreak	0.25 ± 0.040
		November 9	Decline	7.55 ± 5.663
Δ	<i>Callia ectenes taihuensis</i>	April 9	Emergence	2.76 ± 3.333
		June 18	Outbreak	6.34 ± 0.813
		November 11	Decline	10.60 ± 8.270
Δ	<i>Cyprinus carpio</i>	April 7	Emergence	0.47 ± 0.669
		June 16	Outbreak	11.07 ± 0.052
		November 9	Decline	15.74 ± 5.241
Δ	<i>Erythroculter ilishaiformis</i>	April 11	Emergence	1.11 ± 0.457
		June 22	Outbreak	35.91 ± 13.40
		November 14	Decline	5.21 ± 3.324
Δ	<i>Hemiramphus kurumeus</i>	June 22	Outbreak	23.41
Δ	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	April 9	Emergence	1.05 ± 0.167
		June 18	Outbreak	12.93 ± 4.513
Δ	<i>Neosalanx taihuensis</i>	June 18	Outbreak	1.87
		November 11	Decline	4.54 ± 1.545
Δ	<i>Parabramis pekinensis</i>	April 7	Emergence	3.77 ± 4.020
		April 7	Emergence	2.71 ± 2.910
Δ	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	April 8	Emergence	2.13 ± 1.068
		June 17	Outbreak	8.32 ± 13.764
Δ	<i>Protosalanx hyalocranius</i>	November 12	Decline	1.25 ± 0.337
		April 11	Emergence	2.51 ± 1.874
Δ	<i>Pseudorasbora parva</i>	June 20	Outbreak	0.07 ± 0.021
		November 14	Decline	9.61 ± 3.283
		April 11	Emergence	0.44 ± 0.090
Δ	<i>Rhodeus sinensis</i>	April 11	Emergence	0.44 ± 0.090
		June 20	Outbreak	0.07 ± 0.021
Δ	Günther	June 20	Outbreak	0.07 ± 0.021
		November 14	Decline	4.79 ± 1.545

Δ is presented as total BMAA value > 3.5 µg BMAA/g dry weight within the phase of bloom-outbreak or bloom-decline.

<sup>a</sup> Values are presented as mean ± standard deviations (n = 3).

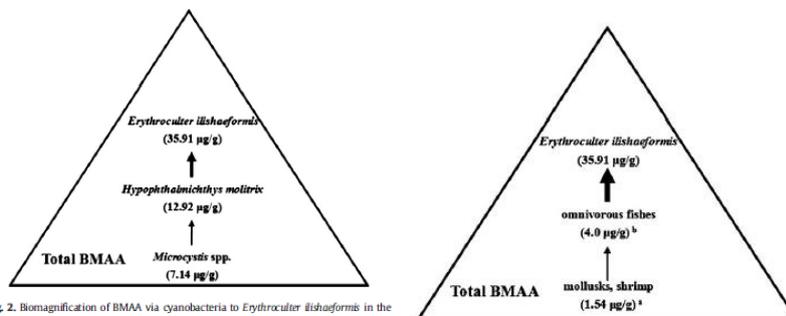


Fig. 2. Biomagnification of BMAA via cyanobacteria to *Erythroculter ilishaiformis* in the phase of bloom-outbreak.

Selon mes calculs : BAF *Hypophthalmichthys*/*Microcystis* = 1,81  
BAF *Erythroculter*/*Hypophthalmichthys* = 2,78

Selon mes calculs : BAF Poisson omnivore/Mollusque = 2,59  
BAF *Erythroculter*/Poisson omnivore = 8,98

<b>Conclusion</b>	<b>La BMAA semble donc s'accumuler le long de la chaîne trophique puisque les BAF calculés sont supérieurs à 1. Pour la plupart des espèces, le niveau mesuré est plus élevé en période de déclin qu'en période d'outbreak. Le niveau de toxine est plus élevé dans l'espèce carnivore que dans les autres espèces plutôt omnivores.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Jonasson et al. (2010). Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure, PNAS 107, 9252-9257.																																																																				
<b>Objectifs</b>	Occurrence et bioaccumulation de la BMAA dans un écosystème tempéré																																																																				
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																																				
<b>Pays</b>	Suède																																																																				
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Osmerus eperlanus</i> éperlan <i>Scophthalmus maximus</i> turbot <i>Trigloporus quadricornis</i> fourhorn <i>Clupea harengus</i> hareng <i>Coregonus lavaretus</i> corégone <i>Sander lucioperca</i> sandre																																																																				
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																																				
<b>Présente en France</b>	OUI																																																																				
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA</b>																																																																				
<b>Protocole expérimental</b>	Collecte de cyanobactéries et de zooplancton entre juin et septembre 2007 et 2008 dans l'archipel au sud de Stockholm (île d'Asko) ; échantillons de poissons collectés soit directement auprès des pêcheurs soit au niveau de marchés aux poissons de Stockholm à partir de différents lieux de pêche																																																																				
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, cerveau																																																																				
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																				
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS																																																																				
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) Indication des paramètres de validation : référence à une autre publication																																																																				
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	La BMAA est retrouvée dans les échantillons de cyanobactéries ( <i>Aphanizomenon</i> et <i>Nodularia</i> genres dominants) aux 2 saisons et dans toutes les stations avec quelques variations : de 0,001 à 0,015 µg/g poids sec.																																																																				
<b>Résultats</b>	<p>En général, les poissons vivant proches du fond de la mer baltique contiennent des niveaux de BMAA plus élevés que les poissons pélagiques, certains d'entre eux ne présentant pas de BMAA. De plus, le cerveau de <i>Osmerus eperlanus</i> (smelt), <i>Scophthalmus maximus</i> (turbot) et <i>Trigloporus quadricornis</i> (fourhorn sculpin) contient des niveaux 82 fois plus élevés que le tissu musculaire correspondant. Des niveaux élevés dans le cerveau ont été détectés chez <i>S. maximus</i> allant de 0,99 à 1,29 µg/g poids sec. A la différence, <i>C. lavaretus</i> présente des niveaux de BMAA plus élevés dans le muscle que dans le cerveau.</p> <p>Table 3. BMAA levels in selected Baltic Sea vertebrates (fishes)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">Fish</th> <th colspan="6">BMAA, µg/g dry weight</th> </tr> <tr> <th colspan="3">Muscle tissue (n = 3)</th> <th colspan="3">Brain tissue (n = 3)</th> </tr> <tr> <th>n1</th> <th>n2</th> <th>n3</th> <th>n1</th> <th>n2</th> <th>n3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Osmerus eperlanus</i> (smelt)</td> <td>0.016 ± 0.0009</td> <td>0.016 ± 0.0008</td> <td>0.023 ± 0.0009</td> <td>0.161 ± 0.010</td> <td>0.24 ± 0.003</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td><i>Scophthalmus maximus</i> (turbot)</td> <td>0.011 ± 0.0009</td> <td>0.008 ± 0.0003</td> <td>ND</td> <td>0.99 ± 0.0009</td> <td>0.047 ± 0.0009</td> <td>1.29 ± 0.03</td> </tr> <tr> <td><i>Trigloporus quadricornis</i> (fourhorn sculpin)</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.073 ± 0.002</td> <td>0.012 ± 0.0023</td> <td>0.124 ± 0.005</td> </tr> <tr> <td><i>Clupea harengus</i> (herring)</td> <td>ND</td> <td>0.010 ± 0.001</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.008 ± 0.001</td> <td>0.007 ± 0.0008</td> </tr> <tr> <td><i>Coregonus lavaretus</i> (common whitefish)</td> <td>0.059 ± 0.004</td> <td>0.033 ± 0.0006</td> <td>ND</td> <td>0.0019 ± 7E<sup>-5</sup></td> <td>ND</td> <td>0.002 ± 8E<sup>-5</sup></td> </tr> <tr> <td><i>Sander lucioperca</i> (pike-perch)</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td><i>Salmo salar</i> (Atlantic salmon)</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> </tbody> </table> <p>Levels of BMAA in muscle and brain tissues are presented in selected fishes collected at location 2 in the Baltic Sea and location 4 in the Atlantic Ocean (<i>Salmo salar</i>, salmon) (Fig. 51). BMAA levels are expressed as µg BMAA/g dry weight ± SE. n1-n3 denote biological replicate samples. ND, not detectable.</p>	Fish	BMAA, µg/g dry weight						Muscle tissue (n = 3)			Brain tissue (n = 3)			n1	n2	n3	n1	n2	n3	<i>Osmerus eperlanus</i> (smelt)	0.016 ± 0.0009	0.016 ± 0.0008	0.023 ± 0.0009	0.161 ± 0.010	0.24 ± 0.003	ND	<i>Scophthalmus maximus</i> (turbot)	0.011 ± 0.0009	0.008 ± 0.0003	ND	0.99 ± 0.0009	0.047 ± 0.0009	1.29 ± 0.03	<i>Trigloporus quadricornis</i> (fourhorn sculpin)	ND	ND	ND	0.073 ± 0.002	0.012 ± 0.0023	0.124 ± 0.005	<i>Clupea harengus</i> (herring)	ND	0.010 ± 0.001	ND	ND	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.0008	<i>Coregonus lavaretus</i> (common whitefish)	0.059 ± 0.004	0.033 ± 0.0006	ND	0.0019 ± 7E <sup>-5</sup>	ND	0.002 ± 8E <sup>-5</sup>	<i>Sander lucioperca</i> (pike-perch)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<i>Salmo salar</i> (Atlantic salmon)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fish	BMAA, µg/g dry weight																																																																				
	Muscle tissue (n = 3)			Brain tissue (n = 3)																																																																	
	n1	n2	n3	n1	n2	n3																																																															
<i>Osmerus eperlanus</i> (smelt)	0.016 ± 0.0009	0.016 ± 0.0008	0.023 ± 0.0009	0.161 ± 0.010	0.24 ± 0.003	ND																																																															
<i>Scophthalmus maximus</i> (turbot)	0.011 ± 0.0009	0.008 ± 0.0003	ND	0.99 ± 0.0009	0.047 ± 0.0009	1.29 ± 0.03																																																															
<i>Trigloporus quadricornis</i> (fourhorn sculpin)	ND	ND	ND	0.073 ± 0.002	0.012 ± 0.0023	0.124 ± 0.005																																																															
<i>Clupea harengus</i> (herring)	ND	0.010 ± 0.001	ND	ND	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.0008																																																															
<i>Coregonus lavaretus</i> (common whitefish)	0.059 ± 0.004	0.033 ± 0.0006	ND	0.0019 ± 7E <sup>-5</sup>	ND	0.002 ± 8E <sup>-5</sup>																																																															
<i>Sander lucioperca</i> (pike-perch)	ND	ND	ND	ND	ND	ND																																																															
<i>Salmo salar</i> (Atlantic salmon)	ND	ND	ND	ND	ND	ND																																																															
<b>Conclusion</b>	<b>Large occurrence naturelle de la BMAA dans les organismes procaryotes et eucaryotes vivant dans un écosystème aquatique tempéré</b>																																																																				
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																																																																				
<b>Commentaires</b>																																																																					
<b>Informations complémentaires</b>	Niveaux élevés également retrouvés dans des invertébrés (moules et huitres)																																																																				

<b>Référence</b>	Lage et al. (2015). Biotransfer of $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in a eutrophicated freshwater lake, <i>Marine Drugs</i> 13, 1185-1201.																							
<b>Objectifs</b>	Confirmer la production de BMAA par la communauté phytoplanctonique et son transfert dans des espèces de poisson à différents niveaux trophiques																							
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																							
<b>Pays</b>	Suède																							
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<table border="0"> <tr><td><i>Abramis brama</i></td><td>brème</td></tr> <tr><td><i>Perca fluviatilis</i></td><td>perche</td></tr> <tr><td><i>Esox lucius</i></td><td>brochet</td></tr> <tr><td><i>Sander lucioperca</i></td><td>sandre</td></tr> <tr><td><i>Rutilus rutilus</i></td><td>gardon</td></tr> <tr><td><i>Tinca tinca</i></td><td>tanche</td></tr> <tr><td><i>Lota lota</i></td><td>alote</td></tr> <tr><td><i>Salmo trutta trutta</i></td><td>truite de mer</td></tr> <tr><td><i>Gymnocephalus cernua</i></td><td>goujon perche</td></tr> <tr><td><i>Scardinius erythrophthalmus</i></td><td>rotengle</td></tr> <tr><td><i>Anguilla anguilla</i></td><td>anguille</td></tr> </table>	<i>Abramis brama</i>	brème	<i>Perca fluviatilis</i>	perche	<i>Esox lucius</i>	brochet	<i>Sander lucioperca</i>	sandre	<i>Rutilus rutilus</i>	gardon	<i>Tinca tinca</i>	tanche	<i>Lota lota</i>	alote	<i>Salmo trutta trutta</i>	truite de mer	<i>Gymnocephalus cernua</i>	goujon perche	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	rotengle	<i>Anguilla anguilla</i>	anguille	
<i>Abramis brama</i>	brème																							
<i>Perca fluviatilis</i>	perche																							
<i>Esox lucius</i>	brochet																							
<i>Sander lucioperca</i>	sandre																							
<i>Rutilus rutilus</i>	gardon																							
<i>Tinca tinca</i>	tanche																							
<i>Lota lota</i>	alote																							
<i>Salmo trutta trutta</i>	truite de mer																							
<i>Gymnocephalus cernua</i>	goujon perche																							
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	rotengle																							
<i>Anguilla anguilla</i>	anguille																							
<b>Présente en Europe</b>	OUI toutes																							
<b>Présente en France</b>	OUI toutes																							
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>BMAA</b>																							
<b>Protocole expérimental</b>	Prélèvements dans un lac eutrophisé du sud de la Suède, lac Finjasjon 4 échantillons d'eau de surface collectés en avril 2012 Poissons collectés en automne (septembre et octobre 2011) et au printemps (avril 2012)																							
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, cerveau, foie, rein																							
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																							
<b>Méthode d'analyse</b>	UPLC-MS/MS																							
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 (valide, méthode caractérisée) Rendement avec D3-BMAA pour le muscle = $10,7 \pm 7,5\%$ LD et LQ de 0,8 ng/ml																							
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p><b>Table 1. BMAA levels in water samples collected in Lake Finjasjön, April 2012.</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>BMAA, <math>\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}</math> DW <math>\pm</math> SD *</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sample 1</td> <td>0.002 <math>\pm</math> 0.001</td> </tr> <tr> <td>Sample 2</td> <td>0.006 <math>\pm</math> 0.002</td> </tr> <tr> <td>Sample 3</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>Sample 4</td> <td>0.004 <math>\pm</math> 0.001</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND = not detected; * Mean BMAA concentrations <math>\pm</math> Standard deviation, n = 3 analytical replicates.</p>		BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW $\pm$ SD *	Sample 1	0.002 $\pm$ 0.001	Sample 2	0.006 $\pm$ 0.002	Sample 3	ND	Sample 4	0.004 $\pm$ 0.001													
	BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW $\pm$ SD *																							
Sample 1	0.002 $\pm$ 0.001																							
Sample 2	0.006 $\pm$ 0.002																							
Sample 3	ND																							
Sample 4	0.004 $\pm$ 0.001																							
<b>Résultats</b>	<p>Sur les 136 individus de Brème (<i>Abramis brama</i>), Perche (<i>Perca fluviatilis</i>), Brochet (<i>Esox lucius</i>), Sandre (<i>Sander lucioperca</i>), Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>), seuls 22 individus contiennent des niveaux quantifiables en BMAA dans leur muscle Les niveaux les plus élevés sont détectés dans les <i>A. brama</i>.</p> <p><b>Table 3. BMAA concentrations in quantifiable samples of muscle tissue from selected fish species from Lake Finjasjön: <i>Abramis brama</i> (Bream), n = 32; <i>Perca fluviatilis</i> (Perch), n = 29; <i>Esox lucius</i> (Pike), n = 22; <i>Sander lucioperca</i> (Pike-perch), n = 29; and <i>Rutilus rutilus</i> (Roach), n = 24.</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Collection Season</th> <th>Species</th> <th>BMAA, <math>\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}</math> DW <math>\pm</math> SD *</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5">Fall 2011</td> <td><i>Abramis brama</i></td> <td>0.00103 <math>\pm</math> 0.00027 (n = 2)</td> </tr> <tr> <td><i>Perca fluviatilis</i></td> <td>0.00008 (n = 1)</td> </tr> <tr> <td><i>Esox lucius</i></td> <td>0.00046 (n = 1)</td> </tr> <tr> <td><i>Sander lucioperca</i></td> <td>0.00127 <math>\pm</math> 0.00054 (n = 3)</td> </tr> <tr> <td><i>Rutilus rutilus</i></td> <td>0.00018 (n = 1)</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Spring 2012</td> <td><i>Abramis brama</i></td> <td>0.00200 <math>\pm</math> 0.00173 (n = 7)</td> </tr> <tr> <td><i>Perca fluviatilis</i></td> <td>0.00159 <math>\pm</math> 0.00152 (n = 3)</td> </tr> <tr> <td><i>Esox lucius</i></td> <td>0.00026 (n = 1)</td> </tr> <tr> <td><i>Sander lucioperca</i></td> <td>0.00642 <math>\pm</math> 0.00253 (n = 3)</td> </tr> </tbody> </table> <p>* Mean BMAA concentrations in quantifiable samples of fish muscle tissue <math>\pm</math> Standard deviation, n = biological replicates.</p> <p>Tous les échantillons de foie et de rein se sont révélés négatifs.</p>	Collection Season	Species	BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW $\pm$ SD *	Fall 2011	<i>Abramis brama</i>	0.00103 $\pm$ 0.00027 (n = 2)	<i>Perca fluviatilis</i>	0.00008 (n = 1)	<i>Esox lucius</i>	0.00046 (n = 1)	<i>Sander lucioperca</i>	0.00127 $\pm$ 0.00054 (n = 3)	<i>Rutilus rutilus</i>	0.00018 (n = 1)	Spring 2012	<i>Abramis brama</i>	0.00200 $\pm$ 0.00173 (n = 7)	<i>Perca fluviatilis</i>	0.00159 $\pm$ 0.00152 (n = 3)	<i>Esox lucius</i>	0.00026 (n = 1)	<i>Sander lucioperca</i>	0.00642 $\pm$ 0.00253 (n = 3)
Collection Season	Species	BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW $\pm$ SD *																						
Fall 2011	<i>Abramis brama</i>	0.00103 $\pm$ 0.00027 (n = 2)																						
	<i>Perca fluviatilis</i>	0.00008 (n = 1)																						
	<i>Esox lucius</i>	0.00046 (n = 1)																						
	<i>Sander lucioperca</i>	0.00127 $\pm$ 0.00054 (n = 3)																						
	<i>Rutilus rutilus</i>	0.00018 (n = 1)																						
Spring 2012	<i>Abramis brama</i>	0.00200 $\pm$ 0.00173 (n = 7)																						
	<i>Perca fluviatilis</i>	0.00159 $\pm$ 0.00152 (n = 3)																						
	<i>Esox lucius</i>	0.00026 (n = 1)																						
	<i>Sander lucioperca</i>	0.00642 $\pm$ 0.00253 (n = 3)																						

	<p>Pour les 6 autres espèces uniquement collectées au printemps 2012, seuls des individus de <i>Tinca tinca</i>, <i>Gymnocephalus cernua</i> et <i>Anguilla anguilla</i> contiennent des pics quantifiables de BMAA dans le cerveau et le muscle</p> <p><b>Table 4.</b> BMAA concentrations in quantifiable brain and muscle samples from the six fish species collected exclusively in spring 2012 in Lake Finjasjön: <i>Gymnocephalus cernua</i> (Ruffe), <math>n = 15</math>; <i>Tinca tinca</i> (Tench), <math>n = 15</math>; and <i>Anguilla anguilla</i> (Eel), <math>n = 15</math>.</p> <table border="1" data-bbox="703 436 1235 593"> <thead> <tr> <th>Tissue</th> <th>Species</th> <th>BMAA, <math>\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW} \pm \text{SD}^*</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">Brain</td> <td><i>Gymnocephalus cernua</i></td> <td><math>0.00864 \pm 0.00476</math> (<math>n = 3</math>)</td> </tr> <tr> <td><i>Tinca tinca</i></td> <td><math>0.00141</math> (<math>n = 1</math>)</td> </tr> <tr> <td><i>Anguilla anguilla</i></td> <td><math>0.02202 \pm 0.00884</math> (<math>n = 2</math>)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Muscle</td> <td><i>Gymnocephalus cernua</i></td> <td><math>0.00320 \pm 0.00329</math> (<math>n = 4</math>)</td> </tr> <tr> <td><i>Tinca tinca</i></td> <td><math>0.00561</math> (<math>n = 1</math>)</td> </tr> </tbody> </table> <p><small>* Mean BMAA concentrations in quantifiable samples of fish tissues <math>\pm</math> Standard deviation, <math>n</math> = biological replicates.</small></p>	Tissue	Species	BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW} \pm \text{SD}^*$	Brain	<i>Gymnocephalus cernua</i>	$0.00864 \pm 0.00476$ ( $n = 3$ )	<i>Tinca tinca</i>	$0.00141$ ( $n = 1$ )	<i>Anguilla anguilla</i>	$0.02202 \pm 0.00884$ ( $n = 2$ )	Muscle	<i>Gymnocephalus cernua</i>	$0.00320 \pm 0.00329$ ( $n = 4$ )	<i>Tinca tinca</i>	$0.00561$ ( $n = 1$ )
Tissue	Species	BMAA, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW} \pm \text{SD}^*$														
Brain	<i>Gymnocephalus cernua</i>	$0.00864 \pm 0.00476$ ( $n = 3$ )														
	<i>Tinca tinca</i>	$0.00141$ ( $n = 1$ )														
	<i>Anguilla anguilla</i>	$0.02202 \pm 0.00884$ ( $n = 2$ )														
Muscle	<i>Gymnocephalus cernua</i>	$0.00320 \pm 0.00329$ ( $n = 4$ )														
	<i>Tinca tinca</i>	$0.00561$ ( $n = 1$ )														
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Un profil différent peut être observé entre les poissons piscivores et les plancto-benthivores du lac, ces derniers, dominés par <i>A. brama</i> et <i>R. rutilus</i>, présentant une fréquence plus élevée en BMAA.</p> <p>La BMAA se bioaccumule le long de la chaîne trophique dans le lac Finjasjön.</p> <p>Les concentrations en BMAA semblent corrélées au poids (et donc probablement à l'âge) des poissons, les plus lourds présentant également les plus fortes concentrations en BMAA. Mais cette observation peut également être liée au genre puisque l'échantillon avec des niveaux de BMAA les plus élevés est obtenu au printemps avec principalement des femelles dans cet échantillon.</p> <p>De manière globale, la BMAA est retrouvée moins fréquemment et à des concentrations plus faibles dans le muscle des poissons que dans le cerveau (environ 4 fois moins). Cependant, les concentrations du foie et du cerveau ne sont pas corrélées.</p> <p>Les espèces phytoplanctoniques responsables de la production de BMAA dans les systèmes limniques suédois n'ont pas été établies.</p>															
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Bonne</p>															
<p><b>Commentaires</b></p>																
<p><b>Informations complémentaires</b></p>																

### 4.3 Cylindrospermopsines

Référence	Berry et al. (2012). Apparent bioaccumulation of cylindrospermopsin and paralytic shellfish toxins by finfish in lake catemaco (Veracruz, Mexico), Food Additives and Contaminants 29, 314-321.																																																																															
Objectifs	Etude de la contamination de différentes espèces de poissons																																																																															
Type d'étude	Environnemental																																																																															
Pays	Mexique																																																																															
Espèce(s) de poisson étudiée(s)	<i>Rhamidia sp.</i> <i>Oreochromis aureus</i> tilapia <i>Vieja sp.</i> <i>Heterandria jonesii</i> <i>Bramocharax caballeroi</i> <i>Cichlasoma urophthalmus</i> cichlidé Maya <i>Cichlasoma helleri</i> <i>Dorosoma mexicana</i>																																																																															
Présente en Europe/France	NON																																																																															
Cyanotoxines étudiées	<b>CYN, PSTs</b>																																																																															
Protocole expérimental	Prélèvement en octobre 2009 (Lac Catemaco, Veracruz)																																																																															
Tissus/organes étudiés	Muscle en dessous de la nageoire dorsale																																																																															
Voie d'exposition	Milieu naturel																																																																															
Méthode d'analyse	ELISA (Abraxis)																																																																															
Niveau de confiance de la méthode d'analyse	Entre 3 (valide avec restriction) et 4 (non valide) car rendement non calculé à partir des échantillons mais provenant d'un document publié																																																																															
Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?	Biomasse phytoplanctonique élevée et composée, toute l'année, presque exclusivement de <i>Cylindrospermopsis</i> , cette souche produisant CYN et PST. Cependant, en octobre 2009, au moment de la collecte des poissons, niveau des toxines dissoutes et particulières en dessous des limites de quantification (0,05 ng/ml pour CYN et 0,015 ng/ml pour PST)																																																																															
Résultats	<p>Accumulation de CYN dans le muscle de divers poissons : niveaux retrouvés allant de 0,09 à 1,26 µg/kg poids frais</p> <p>Calcul des facteurs de bioamplification mais résultats à prendre avec précaution car les niveaux de toxines dans le phytoplancton provenant de la campagne de l'année précédente et les valeurs ne sont pas fournies dans la publication.</p> <p>Table 1. Concentration of cylindrospermopsin (CYN) and saxitoxins (STX)/PSTs in finfish, invertebrates and zooplankton from Lake Catemaco (Veracruz, Mexico), and associated bioaccumulation factors (BAFs).</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">CYN</th> <th colspan="2">PSTs</th> </tr> <tr> <th>µg kg<sup>-1</sup> (±SD)<sup>a</sup></th> <th>BAF<sub>CYN</sub></th> <th>µg kg<sup>-1</sup> (±SD)<sup>a</sup></th> <th>BAF<sub>PSTs</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Finfish</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><i>Rhamidia sp.</i> (n=2)</td> <td>0.24 (±0.03)</td> <td>11</td> <td>0.10 (±0.04)</td> <td>19</td> </tr> <tr> <td><i>O. aureus</i> (n=2)</td> <td>0.09 (±0.02)</td> <td>4</td> <td>0.03 (±0.01)</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td><i>Vieja sp.</i> (n=1)</td> <td>0.42 (±0.07)</td> <td>20</td> <td>0.22 (±0.06)</td> <td>42</td> </tr> <tr> <td><i>V. fenestrata</i> (n=1)</td> <td>0.81 (±0.32)</td> <td>38</td> <td>0.30 (±0.02)</td> <td>57</td> </tr> <tr> <td><i>H. jonesii</i> (n=1)</td> <td>1.26 (±0.21)</td> <td>59</td> <td>0.36 (±0.28)</td> <td>67</td> </tr> <tr> <td><i>B. caballeroi</i> (n=2)</td> <td>0.81 (±0.25)</td> <td>38</td> <td>0.71 (±0.47)</td> <td>134</td> </tr> <tr> <td><i>C. urophthalmus</i> (n=1)</td> <td>0.26 (±0.00)</td> <td>12</td> <td>0.32 (±0.01)</td> <td>61</td> </tr> <tr> <td><i>C. helleri</i> (n=2)</td> <td>0.15 (±0.02)</td> <td>7</td> <td>0.06 (±0.02)</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td><i>D. mexicana</i> (n=2)</td> <td>0.80 (±0.17)</td> <td>38</td> <td>0.33 (±0.08)</td> <td>62</td> </tr> <tr> <td>Invertebrates</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><i>P. patula</i> "tegololos" (n=2)</td> <td>1.58 (±0.46)</td> <td>74</td> <td>0.41 (±0.15)</td> <td>78</td> </tr> <tr> <td>Zooplankton</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Copepods (n=1)</td> <td>1.04 (±0.34)</td> <td>49</td> <td>2.07 (±0.05)</td> <td>391</td> </tr> </tbody> </table> <p>Notes: <sup>a</sup>Average concentration and associated standard deviation (SD), based on calculated concentrations, per wet weight of tissue, pooled for total number of samples (n=1-2, as indicated) each run in duplicate (i.e. a total of 2-4 measurements per species).</p>		CYN		PSTs		µg kg <sup>-1</sup> (±SD) <sup>a</sup>	BAF <sub>CYN</sub>	µg kg <sup>-1</sup> (±SD) <sup>a</sup>	BAF <sub>PSTs</sub>	Finfish					<i>Rhamidia sp.</i> (n=2)	0.24 (±0.03)	11	0.10 (±0.04)	19	<i>O. aureus</i> (n=2)	0.09 (±0.02)	4	0.03 (±0.01)	7	<i>Vieja sp.</i> (n=1)	0.42 (±0.07)	20	0.22 (±0.06)	42	<i>V. fenestrata</i> (n=1)	0.81 (±0.32)	38	0.30 (±0.02)	57	<i>H. jonesii</i> (n=1)	1.26 (±0.21)	59	0.36 (±0.28)	67	<i>B. caballeroi</i> (n=2)	0.81 (±0.25)	38	0.71 (±0.47)	134	<i>C. urophthalmus</i> (n=1)	0.26 (±0.00)	12	0.32 (±0.01)	61	<i>C. helleri</i> (n=2)	0.15 (±0.02)	7	0.06 (±0.02)	11	<i>D. mexicana</i> (n=2)	0.80 (±0.17)	38	0.33 (±0.08)	62	Invertebrates					<i>P. patula</i> "tegololos" (n=2)	1.58 (±0.46)	74	0.41 (±0.15)	78	Zooplankton					Copepods (n=1)	1.04 (±0.34)	49	2.07 (±0.05)	391
	CYN		PSTs																																																																													
	µg kg <sup>-1</sup> (±SD) <sup>a</sup>	BAF <sub>CYN</sub>	µg kg <sup>-1</sup> (±SD) <sup>a</sup>	BAF <sub>PSTs</sub>																																																																												
Finfish																																																																																
<i>Rhamidia sp.</i> (n=2)	0.24 (±0.03)	11	0.10 (±0.04)	19																																																																												
<i>O. aureus</i> (n=2)	0.09 (±0.02)	4	0.03 (±0.01)	7																																																																												
<i>Vieja sp.</i> (n=1)	0.42 (±0.07)	20	0.22 (±0.06)	42																																																																												
<i>V. fenestrata</i> (n=1)	0.81 (±0.32)	38	0.30 (±0.02)	57																																																																												
<i>H. jonesii</i> (n=1)	1.26 (±0.21)	59	0.36 (±0.28)	67																																																																												
<i>B. caballeroi</i> (n=2)	0.81 (±0.25)	38	0.71 (±0.47)	134																																																																												
<i>C. urophthalmus</i> (n=1)	0.26 (±0.00)	12	0.32 (±0.01)	61																																																																												
<i>C. helleri</i> (n=2)	0.15 (±0.02)	7	0.06 (±0.02)	11																																																																												
<i>D. mexicana</i> (n=2)	0.80 (±0.17)	38	0.33 (±0.08)	62																																																																												
Invertebrates																																																																																
<i>P. patula</i> "tegololos" (n=2)	1.58 (±0.46)	74	0.41 (±0.15)	78																																																																												
Zooplankton																																																																																
Copepods (n=1)	1.04 (±0.34)	49	2.07 (±0.05)	391																																																																												
Conclusion	<b>Même si les niveaux de toxines dans l'eau est inférieure à la LOQ, de la toxine est détectée dans le muscle de différents types de poissons indiquant bien une accumulation</b>																																																																															
Qualité de l'étude	Moyenne																																																																															
Commentaires	Les BAFs ont été calculés à partir de données en toxines dans la biomasse phytoplanctonique datant d'Octobre 2008 car en octobre 2009, valeurs en dessous de la LOQ																																																																															
Informations complémentaires	Accumulation rapportée également dans le zooplancton (essentiellement copépodes) et dans des gastéropodes ( <i>Pomaceae patula catemacensis</i> )																																																																															

<b>Référence</b>	Gutiérrez-Praena et al. (2014). Histopathological and immunohisto-chemical analysis of Tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) exposed to cylindrospermopsin and the effectiveness of N-Acetylcysteine to prevent its toxic effects, <i>Toxicol</i> 78, 18-34.																																																																																																																																												
<b>Objectifs</b>	Localiser la CYN dans les tissus par immunohistologie et investiguer le rôle protecteur de NAC sur les altérations histopathologiques																																																																																																																																												
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																																																																																																																																												
<b>Pays</b>	Non pertinent																																																																																																																																												
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil																																																																																																																																												
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne)																																																																																																																																												
<b>Présente en France</b>	NON																																																																																																																																												
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>CYN</b> et lyophilisat de culture d' <i>Aphanizomenon ovalisporum</i>																																																																																																																																												
<b>Protocole expérimental</b>	Exposition par la nourriture à 200 µg CYN/kg pc puis sacrifice des poissons 24h après exposition ; pour certains, prétraitement pendant 7 jours avec antioxydant NAC (N acétyl cystéine) à 2 doses (22 et 45 mg/poisson/j)																																																																																																																																												
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, rein, intestin, branchie																																																																																																																																												
<b>Voie d'exposition</b>	Nourriture																																																																																																																																												
<b>Méthode d'analyse</b>	Immunohistologie																																																																																																																																												
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) car non quantitatif																																																																																																																																												
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Lyophilisat de cellules d' <i>A. ovalisporum</i> contenant 7,3 µg CYN/mg																																																																																																																																												
<b>Résultats</b>	<p>Détection de CYN dans les différents tissus investigués :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dans le foie, marquage surtout au niveau des ilots pancréatiques ainsi que pour les érythrocytes et les hépatocytes</li> <li>- Dans le rein, faible marquage</li> <li>- Dans l'intestin, cellules cibles principalement goblet et épithéliales ; marquage plus important avec cellules de cyanos qu'avec toxine pure</li> <li>- Dans les branchies, surtout marquage des cellules épithéliales et goblet ainsi que érythrocytes dans les lamelles</li> </ul> <p><b>Table 3</b> Distribution of immunolabeled cells for CYN in different organs from tilapias (<i>O. niloticus</i>) exposed to 200 µg/kg bw of pure CYN or CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> culture, and pre-treated with two different doses of N-Acetylcysteine (NAC).</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1 (C)</th> <th>2 (CP)</th> <th>3 (CC)</th> <th>4 (N1)</th> <th>5 (N2)</th> <th>6 (CPN1)</th> <th>7 (CPN2)</th> <th>8 (CCN1)</th> <th>9 (CCN2)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Liver</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Hepatocytes</td> <td>-</td> <td>++</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Pancreatic acini</td> <td>-</td> <td>+++</td> <td>+++</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>++</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Erythrocytes</td> <td>-</td> <td>+++</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>++</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><b>Kidney</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tubules</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Glomeruli</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Erythrocytes</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><b>Intestine</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Epithelium</td> <td>-</td> <td>++</td> <td>+++</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>++</td> <td>+</td> <td>++</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><b>Gills</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Secondary lamellae epithelium</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>++</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Erythrocytes</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>Results expressed as number of immunolabeled cells per area of 0.2 mm<sup>2</sup>; - absent, + scarce (0-10), ++ moderate (10-50), +++ intense (&gt;50). C: Control fish. CP: Fish exposed to 200 µg/kg bw of pure CYN. CC: Fish exposed to 200 µg/kg bw of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> culture. N1: Fish pre-treated with 22 mg/fish/day of NAC. N2: Fish pre-treated with 45 mg/fish/day of NAC. CPN1: Fish pre-treated with 22 mg/fish/day of NAC and exposed to 200 µg/kg bw of pure CYN. CPN2: Fish pre-treated with 45 mg/fish/day of NAC and exposed to 200 µg/kg bw of pure CYN. CCN1: Fish pre-treated with 22 mg/fish/day of NAC and exposed to 200 µg/kg bw of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> culture. CCN2: Fish pre-treated with 45 mg/fish/day of NAC and exposed to 200 µg/kg bw of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> culture.</p>		1 (C)	2 (CP)	3 (CC)	4 (N1)	5 (N2)	6 (CPN1)	7 (CPN2)	8 (CCN1)	9 (CCN2)	<b>Liver</b>										Hepatocytes	-	++	+	-	-	+	+	+	-	Pancreatic acini	-	+++	+++	-	-	+	+	++	-	Erythrocytes	-	+++	-	-	-	++	-	-	-	<b>Kidney</b>										Tubules	-	+	-	-	-	+	+	+	-	Glomeruli	-	-	-	-	-	+	+	-	-	Erythrocytes	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<b>Intestine</b>										Epithelium	-	++	+++	-	-	++	+	++	+	<b>Gills</b>										Secondary lamellae epithelium	-	+	++	-	-	+	+	-	-	Erythrocytes	-	+	-	-	-	+	-	-	-
	1 (C)	2 (CP)	3 (CC)	4 (N1)	5 (N2)	6 (CPN1)	7 (CPN2)	8 (CCN1)	9 (CCN2)																																																																																																																																				
<b>Liver</b>																																																																																																																																													
Hepatocytes	-	++	+	-	-	+	+	+	-																																																																																																																																				
Pancreatic acini	-	+++	+++	-	-	+	+	++	-																																																																																																																																				
Erythrocytes	-	+++	-	-	-	++	-	-	-																																																																																																																																				
<b>Kidney</b>																																																																																																																																													
Tubules	-	+	-	-	-	+	+	+	-																																																																																																																																				
Glomeruli	-	-	-	-	-	+	+	-	-																																																																																																																																				
Erythrocytes	-	-	+	-	-	+	-	-	-																																																																																																																																				
<b>Intestine</b>																																																																																																																																													
Epithelium	-	++	+++	-	-	++	+	++	+																																																																																																																																				
<b>Gills</b>																																																																																																																																													
Secondary lamellae epithelium	-	+	++	-	-	+	+	-	-																																																																																																																																				
Erythrocytes	-	+	-	-	-	+	-	-	-																																																																																																																																				

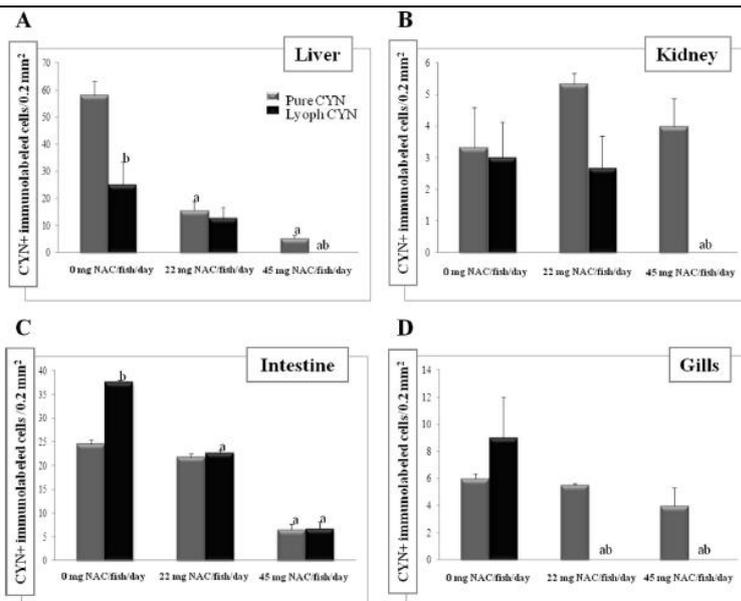


Fig. 12. Means ± standard errors (n = 8 per time point) of the number of CYN + immunolabeled cells in liver, kidney, intestine and gills of fish exposed to 200 mg/kg of pure Cylindrospermopsin (CYN) or CYN from lyophilized *Aphanizomenon ovalisporum* cells and with two different doses of N-Acetylcysteine (NAC) supplementation (22 and 45 mg NAC/fish/day) compared with fish not supplemented with NAC. Significance levels (p < 0.05) observed are: a = when 22 or 45 mg NAC only versus 0 mg NAC groups are compared; b = when pure CYN versus lyophilized CYN only exposed groups are compared.

Effet de NAC observé uniquement à la plus forte dose de prétraitement

<b>Conclusion</b>	<b>Les changements histologiques au niveau foie, rein, cœur, tractus gastro-intestinal et branchies sont plus sévères lors d'un traitement avec lyophilisat de cyanobactéries qu'avec la CYN pure</b> <b>Prétraitement avec NAC permettant de prévenir les lésions</b> <b>Tissu cible pour CYN = foie suivi par intestin, rein et branchies et NAC prévenant l'accumulation dans ces organes</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	Détection de CYN (ou de métabolites ?) dans des organes systémiques prouvant le passage de la barrière intestinale en présence de toxine pure mais aussi à partir de lyophilisats de cyanobactéries
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Guzman-Guillen et al. (2014). Immunohistochemical approach to study cylindrospermopsin distribution in tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) under different exposure conditions, <i>Toxins</i> 6, 283-303.
<b>Objectifs</b>	Examiner et comparer la distribution tissulaire de la CYN dans les organes par immunohistologie après exposition aiguë et sub-chronique
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Non pertinent
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne)
<b>Présente en France</b>	NON
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>CYN</b>
<b>Protocole expérimental</b>	1) Exposition aiguë (1 simple dose, 200 µg CYN/kg poids frais) par voie orale ou par injection intrapéritonéale puis récolte des poissons 24h ou 5 jours après exposition 2) Exposition sub-chronique par immersion avec CYN (10 et 100 µg/l) par souche de cyanobactérie <i>A. ovalisporum</i> productrice puis récolte des poissons après 7 ou 14 jours
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, rein, intestin, branchie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale et intrapéritonéale
<b>Méthode d'analyse</b>	Immunohistologie, non quantitatif ; utilisation d'un antisérum polyclonal fabriqué par le laboratoire
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) car non quantitatif
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Culture d' <i>A. ovalisporum</i> : lyophilisat contenant 8,7 µg CYN/mg
<b>Résultats</b>	1) Détection de CYN dans les différents tissus investigués après ip: Dans le foie, au niveau des ilots pancréatiques ainsi que des hépatocytes après seulement 24h et marquage touchant également les érythrocytes après 5 jours Les autres organes ne sont marqués qu'après 5 jours ; dans le rein, marquage surtout au niveau des érythrocytes et des glomérules, tubules moins marqués ; marquage de l'épithélium intestinal ; faible marquage au niveau des branchies  Détection de CYN dans les différents tissus investigués après administration orale : - Dans le foie, faible marquage au niveau des acini pancréatiques après 24h et touchant aussi les hépatocytes et les érythrocytes après 5 jours - Pas de marquage au niveau de l'épithélium intestinal - Faible marquage après 5 jours dans le rein au niveau tubules et glomérules - Dans les branchies, surtout marquage des lamelles secondaires.

	<p>Table 1. Distribution of immunolabeled cells for CYN in different organs from tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) exposed to a single dose of 200 µg/Kg bw of pure CYN and euthanized 24 h or five days after the exposure. Results are expressed as number of immunolabeled cells per area of 0.2 mm<sup>2</sup>: - absent, + scarce (0–10), ++ moderate (10–50), +++ intense (&gt;50). OC: Control fish treated with a saline solution (0.9% NaCl) by the oral route; IPC: Control fish treated with a saline solution (0.9% NaCl) by the i.p. route; OI24h: Fish exposed to a single dose of 200 µg/Kg bw of pure CYN by the oral route and euthanized after 24 h; IPI24h: Fish exposed to a single dose of 200 µg/Kg bw of pure CYN by the i.p. route and euthanized after 24 h; OI5d: Fish exposed to a single dose of 200 µg/Kg bw of pure CYN by the oral route and euthanized after five days; IPI5d: Fish exposed to a single dose of 200 µg/Kg bw of pure CYN by the i.p. route and euthanized after five days.</p> <table border="1" data-bbox="564 461 1246 808"> <thead> <tr> <th></th> <th>OC</th> <th>IPC</th> <th>OI24h</th> <th>IPI24h</th> <th>OI5d</th> <th>IPI5d</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td colspan="7"><b>Liver</b></td></tr> <tr><td>Hepatocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>++</td></tr> <tr><td>Pancreatic acini</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>++</td><td>+</td><td>+</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>++</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Kidney</b></td></tr> <tr><td>Tubules</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td></tr> <tr><td>Glomeruli</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>++</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+++</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Intestine</b></td></tr> <tr><td>Epithelium</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Gills</b></td></tr> <tr><td>Secondary lamellae</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td><td>+</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td></tr> </tbody> </table> <p>2) Détection de CYN dans les différents tissus investigués après exposition à <i>A. ovalisporum</i></p> <p>Table 2. Distribution of immunolabeled cells for CYN in different organs from tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) exposed by immersion to 10 or 100 µg/L of CYN contained in a lyophilized CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> strain during 7 or 14 days. Results are expressed as number of immunolabeled cells per area of 0.2 mm<sup>2</sup>: - absent, + scarce (0–10), ++ moderate (10–50), +++ intense (&gt;50). C7d: Control fish euthanized after 7 days; 10C7d: Fish exposed to 10 µg/L of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> strain and euthanized after 7 days; 100C7d: Fish exposed to 100 µg/L of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> strain and euthanized after 7 days; C14d: Control fish euthanized after 14 days; 10C14d: Fish exposed to 10 µg/L of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> strain and euthanized after 14 days; 100C14d: Fish exposed to 100 µg/L of CYN from a CYN-producer <i>A. ovalisporum</i> strain and euthanized after 14 days.</p> <table border="1" data-bbox="549 1196 1257 1576"> <thead> <tr> <th></th> <th>C7d</th> <th>10C7d</th> <th>100C7d</th> <th>C14d</th> <th>10C14d</th> <th>100C14d</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td colspan="7"><b>Liver</b></td></tr> <tr><td>Hepatocytes</td><td>-</td><td>+++</td><td>+++</td><td>-</td><td>+++</td><td>+++</td></tr> <tr><td>Pancreatic acini</td><td>-</td><td>++</td><td>+++</td><td>-</td><td>-</td><td>+++</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Kidney</b></td></tr> <tr><td>Tubules</td><td>-</td><td>-</td><td>+++</td><td>-</td><td>++</td><td>+++</td></tr> <tr><td>Glomeruli</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td><td>-</td><td>+++</td><td>+++</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Intestine</b></td></tr> <tr><td>Epithelium</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+++</td><td>+++</td></tr> <tr><td colspan="7"><b>Gills</b></td></tr> <tr><td>Secondary lamellae</td><td>-</td><td>+</td><td>++</td><td>-</td><td>++</td><td>+++</td></tr> <tr><td>Erythrocytes</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td></tr> </tbody> </table>		OC	IPC	OI24h	IPI24h	OI5d	IPI5d	<b>Liver</b>							Hepatocytes	-	-	-	+	+	++	Pancreatic acini	-	-	+	++	+	+	Erythrocytes	-	-	-	-	+	++	<b>Kidney</b>							Tubules	-	-	-	-	+	+	Glomeruli	-	-	-	-	+	++	Erythrocytes	-	-	-	-	-	+++	<b>Intestine</b>							Epithelium	-	-	-	-	-	++	<b>Gills</b>							Secondary lamellae	-	-	-	-	++	+	Erythrocytes	-	-	-	-	-	+		C7d	10C7d	100C7d	C14d	10C14d	100C14d	<b>Liver</b>							Hepatocytes	-	+++	+++	-	+++	+++	Pancreatic acini	-	++	+++	-	-	+++	Erythrocytes	-	-	++	-	+	+	<b>Kidney</b>							Tubules	-	-	+++	-	++	+++	Glomeruli	-	-	++	-	+++	+++	Erythrocytes	-	-	++	-	+	+	<b>Intestine</b>							Epithelium	-	+	+	-	+++	+++	<b>Gills</b>							Secondary lamellae	-	+	++	-	++	+++	Erythrocytes	-	+	+	-	-	+
	OC	IPC	OI24h	IPI24h	OI5d	IPI5d																																																																																																																																																																																															
<b>Liver</b>																																																																																																																																																																																																					
Hepatocytes	-	-	-	+	+	++																																																																																																																																																																																															
Pancreatic acini	-	-	+	++	+	+																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	-	-	-	+	++																																																																																																																																																																																															
<b>Kidney</b>																																																																																																																																																																																																					
Tubules	-	-	-	-	+	+																																																																																																																																																																																															
Glomeruli	-	-	-	-	+	++																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	-	-	-	-	+++																																																																																																																																																																																															
<b>Intestine</b>																																																																																																																																																																																																					
Epithelium	-	-	-	-	-	++																																																																																																																																																																																															
<b>Gills</b>																																																																																																																																																																																																					
Secondary lamellae	-	-	-	-	++	+																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	-	-	-	-	+																																																																																																																																																																																															
	C7d	10C7d	100C7d	C14d	10C14d	100C14d																																																																																																																																																																																															
<b>Liver</b>																																																																																																																																																																																																					
Hepatocytes	-	+++	+++	-	+++	+++																																																																																																																																																																																															
Pancreatic acini	-	++	+++	-	-	+++																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	-	++	-	+	+																																																																																																																																																																																															
<b>Kidney</b>																																																																																																																																																																																																					
Tubules	-	-	+++	-	++	+++																																																																																																																																																																																															
Glomeruli	-	-	++	-	+++	+++																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	-	++	-	+	+																																																																																																																																																																																															
<b>Intestine</b>																																																																																																																																																																																																					
Epithelium	-	+	+	-	+++	+++																																																																																																																																																																																															
<b>Gills</b>																																																																																																																																																																																																					
Secondary lamellae	-	+	++	-	++	+++																																																																																																																																																																																															
Erythrocytes	-	+	+	-	-	+																																																																																																																																																																																															
<b>Conclusion</b>	<b>Détection de CYN dans le foie mais moins de cellules immunopositives après gavage que par ip ; immunomarquage plus prononcé après 5 jours d'exposition Immunomarquage du foie et du rein plus intense après exposition sub-chronique qu'après exposition aiguë</b>																																																																																																																																																																																																				
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																																																																																																																																																																																																				
<b>Commentaires</b>	Détection de CYN (ou de métabolites ?) dans des organes systémiques prouvant le passage de la barrière intestinale en présence de toxine pure mais aussi à partir de lyophilisats de cyanobactéries																																																																																																																																																																																																				
<b>Informations complémentaires</b>																																																																																																																																																																																																					

<b>Référence</b>	Guzmán-Guillén et al. (2015). <i>Cylindrospermopsin induces neurotoxicity in tilapia fish (<i>Oreochromis niloticus</i>) exposed to <i>Aphanizomenon ovalisporum</i></i> , <i>Aquatic Toxicology</i> 161, 17-24.												
<b>Objectifs</b>	Etudier le potentiel neurotoxique de la CYN après administration répétée												
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire												
<b>Pays</b>	Non pertinent												
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia du Nil												
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne)												
<b>Présente en France</b>	NON												
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>CYN</b>												
<b>Protocole expérimental</b>	Exposition à CYN (10 µg/l) par souche de cyanobactérie <i>A. ovalisporum</i> productrice doses répétées pendant 14 jours (tous les 2 jours) suivie ou pas d'une dépuración pendant 3 ou 7 jours												
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Cerveau												
<b>Voie d'exposition</b>	Orale												
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (kit Abraxis)												
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide)												
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Culture d' <i>A. ovalisporum</i> (isolée du lac Kinneret, Israël) contenant 0,1 µg CYN/mg et 0,012 µg deoxyCYN/mg de culture. Exposition à 10 µg CYN/l Au cours de l'expérience, détection de CYN dans les aquariums augmentant au cours du temps avec 11,2 µg/l le 1 <sup>er</sup> jour et atteignant 42,4 µg/l après 14 jours.												
<b>Résultats</b>	<p>Concentrations dans le cerveau atteignant 5,48 ng/g ; la CYN est détectée dans les dcerveaux de tous les poissons exposés.</p> <p>Après dépuración, diminution de la concentration en CYN et elle n'est plus détectée que dans 40% des poissons</p> <p><b>Table 1</b> Cylindrospermopsin (CYN) range values (ng/g tissue) in brain of <i>O. niloticus</i> after subchronic exposure to a CYN-containing culture of <i>A. ovalisporum</i> by repeated doses for 14 days, and after 3 and 7 days of depuration.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>(ng/g) tissue (range)</th> <th>(%) Positive samples</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>14 days of exposure</td> <td>0.83–5.48</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>3 days of depuration</td> <td>ND<sup>a</sup>–0.75</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>7 days of depuration</td> <td>ND<sup>a</sup>–1.04</td> <td>40</td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>a</sup> ND: not detected.</p>		(ng/g) tissue (range)	(%) Positive samples	14 days of exposure	0.83–5.48	100	3 days of depuration	ND <sup>a</sup> –0.75	40	7 days of depuration	ND <sup>a</sup> –1.04	40
	(ng/g) tissue (range)	(%) Positive samples											
14 days of exposure	0.83–5.48	100											
3 days of depuration	ND <sup>a</sup> –0.75	40											
7 days of depuration	ND <sup>a</sup> –1.04	40											
<b>Conclusion</b>	<p><b>La CYN est distribuée jusque dans le cerveau après exposition par voie orale.</b></p> <p><b>Le système de dépuración au niveau du cerveau semble être efficace puisque les concentrations diminuent dès l'arrêt de l'exposition.</b></p> <p><b>Cependant, de la toxine est encore détectée après 7 jours de dépuración.</b></p>												
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible												
<b>Commentaires</b>	<p>Voie d'exposition orale mais possibilité d'exposition directement par l'eau aussi ?</p> <p>Compte tenu des effets et de la détection de la CYN dans le cerveau, il semble que cette toxine soit capable de passer à travers la barrière intestinale et/ou la barrière branchiale et d'être distribuée dans l'organisme puisqu'elle peut même se retrouver dans le cerveau.</p> <p>Si la dépuración semble assez efficace pour le cerveau, qu'en est-il pour les autres organes ?</p>												
<b>Informations complémentaires</b>	<p>L'observation histologique des cerveaux montrent qu'après les 14 jours d'exposition des altérations de type dégénératif ainsi que des signes de nécrose sont observés avec des hémorragies et des processus hyperémiques( ?). Après 3 jours de dépuración, les lésions dégénératives persistent mais il n'y a plus de microhémorragies ni d'hyperémie.</p> <p>Finalement, après 7 jours, les cerveaux ne montrent plus de structure anormale comparés aux contrôles.</p>												

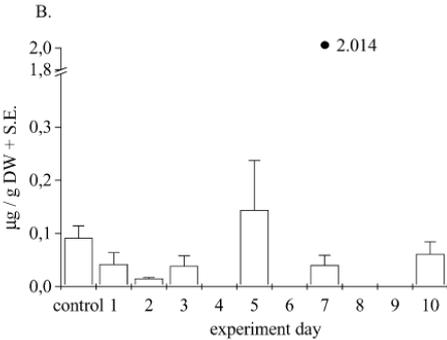
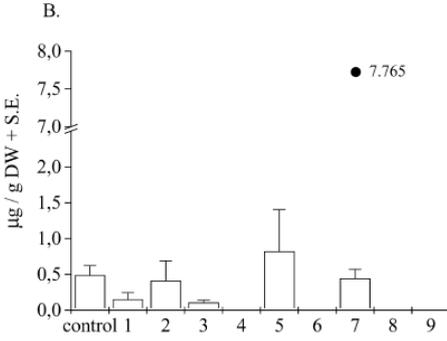
<b>Référence</b>	Guzmán-Guillén et al. (2015). CYN determination in tissues from freshwater fish by LC-MS/MS: Validation and application in tissues from subchronically exposed tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), Talanta 131, 452-459.																																																																																									
<b>Objectifs</b>	Développement analytique pour la détection et la quantification de CYN par LC-MS/MS dans les tissus de poissons (muscle et foie) ; application à une étude d'exposition de poissons en laboratoire																																																																																									
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																																																																																									
<b>Pays</b>	Non pertinent																																																																																									
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia																																																																																									
<b>Présente en Europe</b>	OUI, en élevage (Allemagne, Belgique, Pologne)																																																																																									
<b>Présente en France</b>	NON																																																																																									
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>CYN</b>																																																																																									
<b>Protocole expérimental</b>	Des poissons (n=8 mâles, 25±7 g, 8±2 cm) exposés à un mélange de nourriture pour poissons et de cellules de cyanobactéries <i>A. ovalisporum</i> lyophilisées (30 µg CYN/poisson) ; exposition tous les 2 jours pendant 7, 14 et 21 jours																																																																																									
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie																																																																																									
<b>Voie d'exposition</b>	Nourriture (cyanobactéries lyophilisées)																																																																																									
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (kit Abraxis) (LQ estimée comme pour échantillons d'eau à 0.05 µg/g car forte dilution des échantillons) + LC/FD (LQ (signal to noise ratio, 10 :1) = 2 µg/g) Rendement = 65.7 à 75.6% pour ELISA et 67,8 à 89,3% pour LC/FD																																																																																									
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1 (méthode validée). Table 1 Estimations of within-condition repeatability ( $S_w$ ), between-condition repeatability ( $S_b$ ), intermediate precision (intra-laboratory reproducibility, $S_p$ ) and its relative standard deviations ( $3RSD_p$ ), and recoveries of CYN assayed in liver and muscle of fish, at three concentration levels, in three different days. Reference RSD values and recovery percentages by AOAC. Limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) for both matrices. <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3"></th> <th colspan="6">CYN concentration level (validation standards)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">20 µg/L</th> <th colspan="2">200 µg/L</th> <th colspan="2">400 µg/L</th> </tr> <tr> <th>Liver (0.5 µg/g)</th> <th>Muscle (0.04 µg/g)</th> <th>Liver (5.0 µg/g)</th> <th>Muscle (0.4 µg/g)</th> <th>Liver (10.0 µg/g)</th> <th>Muscle (0.8 µg/g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><math>S_w</math></td> <td>2.42</td> <td>1.88</td> <td>2.92</td> <td>8.64</td> <td>13.94</td> <td>26.81</td> </tr> <tr> <td><math>S_b</math></td> <td>1.33</td> <td>3.72</td> <td>15.02</td> <td>27.52</td> <td>25.21</td> <td>22.10</td> </tr> <tr> <td><math>S_p</math></td> <td>2.12</td> <td>2.64</td> <td>8.99</td> <td>17.38</td> <td>18.47</td> <td>25.34</td> </tr> <tr> <td><math>RSD_p</math> (%)</td> <td>9.60</td> <td>11.00</td> <td>6.00</td> <td>8.10</td> <td>6.00</td> <td>6.77</td> </tr> <tr> <td>Recoveries (%)</td> <td>110</td> <td>104</td> <td>80</td> <td>103</td> <td>81</td> <td>94</td> </tr> <tr> <td>1/2 <math>RSD_{AOAC}</math> (%)</td> <td>8-11</td> <td></td> <td>6-8</td> <td></td> <td>6-8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acceptable Recovery Range (%)</td> <td>80-110</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>LOD</td> <td colspan="2">Liver</td> <td colspan="2">Muscle</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="2">0.07 µg/g dw<sup>a</sup></td> <td colspan="2">0.002 µg/g dw<sup>a</sup></td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>LOQ</td> <td colspan="2">0.12 µg/g dw<sup>a</sup></td> <td colspan="2">0.007 µg/g dw<sup>a</sup></td> <td colspan="2"></td> </tr> </tbody> </table> <sup>a</sup> dw: Dry weight.		CYN concentration level (validation standards)						20 µg/L		200 µg/L		400 µg/L		Liver (0.5 µg/g)	Muscle (0.04 µg/g)	Liver (5.0 µg/g)	Muscle (0.4 µg/g)	Liver (10.0 µg/g)	Muscle (0.8 µg/g)	$S_w$	2.42	1.88	2.92	8.64	13.94	26.81	$S_b$	1.33	3.72	15.02	27.52	25.21	22.10	$S_p$	2.12	2.64	8.99	17.38	18.47	25.34	$RSD_p$ (%)	9.60	11.00	6.00	8.10	6.00	6.77	Recoveries (%)	110	104	80	103	81	94	1/2 $RSD_{AOAC}$ (%)	8-11		6-8		6-8		Acceptable Recovery Range (%)	80-110						LOD	Liver		Muscle					0.07 µg/g dw <sup>a</sup>		0.002 µg/g dw <sup>a</sup>				LOQ	0.12 µg/g dw <sup>a</sup>		0.007 µg/g dw <sup>a</sup>			
	CYN concentration level (validation standards)																																																																																									
	20 µg/L		200 µg/L		400 µg/L																																																																																					
	Liver (0.5 µg/g)	Muscle (0.04 µg/g)	Liver (5.0 µg/g)	Muscle (0.4 µg/g)	Liver (10.0 µg/g)	Muscle (0.8 µg/g)																																																																																				
$S_w$	2.42	1.88	2.92	8.64	13.94	26.81																																																																																				
$S_b$	1.33	3.72	15.02	27.52	25.21	22.10																																																																																				
$S_p$	2.12	2.64	8.99	17.38	18.47	25.34																																																																																				
$RSD_p$ (%)	9.60	11.00	6.00	8.10	6.00	6.77																																																																																				
Recoveries (%)	110	104	80	103	81	94																																																																																				
1/2 $RSD_{AOAC}$ (%)	8-11		6-8		6-8																																																																																					
Acceptable Recovery Range (%)	80-110																																																																																									
LOD	Liver		Muscle																																																																																							
	0.07 µg/g dw <sup>a</sup>		0.002 µg/g dw <sup>a</sup>																																																																																							
LOQ	0.12 µg/g dw <sup>a</sup>		0.007 µg/g dw <sup>a</sup>																																																																																							
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Culture de <i>Aphanizomenon ovalisporum</i> contenant 2,14 µg CYN /mg cellules lyophilisées																																																																																									
<b>Résultats</b>	Accumulation dans le muscle même après un temps court de traitement (7 jours) dDe 3,7 à 9,2 µg CYN/kg poids sec.  Table3. CYN (µg) detected in water samples from aquaria (96L) and. CYN concentrations (µg/kg dry weight) detected in liver and muscle of fish exposed to lyophilized cyanobacterial cells of <i>Aphanizomenon ovalisporum</i> (LEGE X-001) for 7, 14 and 21 days under laboratory conditions, showing the yield (%) in each case, compared to the total CYN(µg) added to aquaria after exposure periods. <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">CYN exposure periods (days)</th> <th colspan="2">Waters from aquaria (average ± SD<sup>a</sup>)</th> <th colspan="2">Tissue (average ± SD<sup>a</sup>)</th> </tr> <tr> <th rowspan="2">Theoretical CYN (µg) added to aquaria after exposure periods</th> <th rowspan="2">Detected CYN (µg) in aquaria (Yield %)<sup>b</sup></th> <th colspan="2">µg CYN/kg dw<sup>c</sup> (Yield %)<sup>b</sup></th> </tr> <tr> <th>Liver</th> <th>Muscle</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>7</td> <td>3840</td> <td>3456 (90 ± 5.0)<sup>b</sup></td> <td>83 ± 4.0 (2.2 ± 0.1)<sup>b</sup></td> <td>9 ± 5.0<sup>d</sup> (0.23 ± 0.1)<sup>b</sup></td> </tr> <tr> <td>14</td> <td>6720</td> <td>5568 (83 ± 1.4)<sup>b</sup></td> <td>240 ± 103.0<sup>d</sup> (3.6 ± 1.5)<sup>b</sup></td> <td>n.d.<sup>e</sup></td> </tr> <tr> <td>21</td> <td>9600</td> <td>8928 (93 ± 0.4)<sup>b</sup></td> <td>703 ± 548.0<sup>d</sup> (7.3 ± 5.7)<sup>b</sup></td> <td>4 ± 0.4 (0.04 ± 0.0)<sup>b</sup></td> </tr> </tbody> </table> a SD: standard deviation; b Yield: in relation to theoretical CYN added to aquaria; c dw: Dry weight; d Above Limit of Quantitation (LOQ); e n.d.: Not detected	CYN exposure periods (days)	Waters from aquaria (average ± SD <sup>a</sup> )		Tissue (average ± SD <sup>a</sup> )		Theoretical CYN (µg) added to aquaria after exposure periods	Detected CYN (µg) in aquaria (Yield %) <sup>b</sup>	µg CYN/kg dw <sup>c</sup> (Yield %) <sup>b</sup>		Liver	Muscle	7	3840	3456 (90 ± 5.0) <sup>b</sup>	83 ± 4.0 (2.2 ± 0.1) <sup>b</sup>	9 ± 5.0 <sup>d</sup> (0.23 ± 0.1) <sup>b</sup>	14	6720	5568 (83 ± 1.4) <sup>b</sup>	240 ± 103.0 <sup>d</sup> (3.6 ± 1.5) <sup>b</sup>	n.d. <sup>e</sup>	21	9600	8928 (93 ± 0.4) <sup>b</sup>	703 ± 548.0 <sup>d</sup> (7.3 ± 5.7) <sup>b</sup>	4 ± 0.4 (0.04 ± 0.0) <sup>b</sup>																																																															
CYN exposure periods (days)	Waters from aquaria (average ± SD <sup>a</sup> )		Tissue (average ± SD <sup>a</sup> )																																																																																							
	Theoretical CYN (µg) added to aquaria after exposure periods		Detected CYN (µg) in aquaria (Yield %) <sup>b</sup>	µg CYN/kg dw <sup>c</sup> (Yield %) <sup>b</sup>																																																																																						
		Liver		Muscle																																																																																						
7	3840	3456 (90 ± 5.0) <sup>b</sup>	83 ± 4.0 (2.2 ± 0.1) <sup>b</sup>	9 ± 5.0 <sup>d</sup> (0.23 ± 0.1) <sup>b</sup>																																																																																						
14	6720	5568 (83 ± 1.4) <sup>b</sup>	240 ± 103.0 <sup>d</sup> (3.6 ± 1.5) <sup>b</sup>	n.d. <sup>e</sup>																																																																																						
21	9600	8928 (93 ± 0.4) <sup>b</sup>	703 ± 548.0 <sup>d</sup> (7.3 ± 5.7) <sup>b</sup>	4 ± 0.4 (0.04 ± 0.0) <sup>b</sup>																																																																																						
<b>Conclusion</b>	<b>Les CYN peuvent s'accumuler dans la partie comestible du poisson.</b>																																																																																									
<b>Qualité de l'étude</b>	Très bonne																																																																																									
<b>Commentaires</b>																																																																																										
<b>Informations complémentaires</b>	Accumulation dans le foie de manière bien plus importante que dans le muscle entre 83,1 et 703,4 µg CYN /kg poids sec																																																																																									

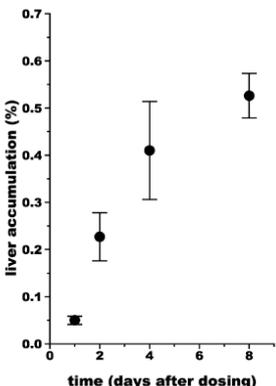
<b>Référence</b>	Niedzwiadek et al. (2012). Monitoring of shrimp and farmed fish sold in Canada for cyanobacterial toxins, Journal of Food Protection 75, 160-163.
<b>Objectifs</b>	Prélèvements de différents poissons de différentes espèces sur le marché canadien pour la détection de différentes cyanotoxines
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Canada
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	Nom latin non précisé. Tilapia, poisson-chat, truite, saumon (différentes origines) OUI pour certains OUI pour certains
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>CYN, MC, PSP, BMAA</b>
<b>Protocole expérimental</b>	32 échantillons de poissons d'aquaculture collectés dans des marchés du Canada
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA kit Abraxis
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	2 (valide méthode caractérisée) ELISA LQ estimée comme pour échantillons d'eau à 0,05 µg/g car forte dilution des échantillons) + LC/FD, LQ = 2 µg/g Rendement = 65.7 à 75.6% pour ELISA et 67.8 à 89.3% pour LC/FD
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Non étudié
<b>Résultats</b>	CYN non détectée dans les 32 échantillons de poissons
<b>Conclusion</b>	<b>CYN non détectée.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Bonne
<b>Commentaires</b>	Pas de données sur l'exposition.
<b>Informations complémentaires</b>	Absence de détection de CYN également dans les échantillons de crevettes (61).

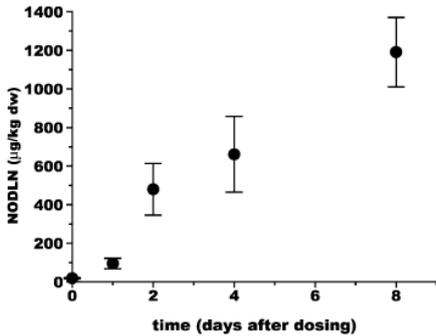
## 4.4 Nodularines

Référence	Barda et al. (2015). Bioaccumulation of hepatotoxins - a considerable risk in the Latvian environment, <i>Environmental Pollution</i> 196, 313-320.																																																																		
Objectifs	Occurrence des hépatotoxines dans les eaux territoriales lettones et bioaccumulation dans les lacs d'Europe du Nord.																																																																		
Type d'étude	Environnemental																																																																		
Pays	Lettonie																																																																		
Espèce(s) de poisson étudiée(s)	<i>Rutilus rutilus</i> gardon <i>Esox lucius</i> brochet <i>Abramis brama</i> brème <i>Perca fluviatilis</i> perche <i>Platichthys flesus</i> flets																																																																		
Présente en Europe	OUI toutes																																																																		
Présente en France	OUI toutes																																																																		
Cyanotoxines étudiées	<b>Nodularine</b>																																																																		
Protocole expérimental	Collecte de biomasses algales à l'aide d'un filet à plancton dans les lacs du golfe de Riga, rivière Daugava et plusieurs lacs interconnectés proche de Riga) entre juin et octobre 2002-2005 et juin-octobre 2007. Les poissons (exceptés les flets) ont été collectés par des pêcheurs en 2003, 2004 ou 2007. Les flets ont été collectés en octobre 2003 et entre aout et novembre 2005.																																																																		
Tissus/organes étudiés	Foie																																																																		
Voie d'exposition	Milieu naturel																																																																		
Méthode d'analyse	ELISA (kit EnviroLogix)																																																																		
Niveau de confiance de la méthode d'analyse	4 (non valide)																																																																		
Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?	Forte densité en cyanobactéries dans la plupart des lacs étudiés les niveaux de toxines atteignent au maximum 600 mg/kg poids sec en aout 2007.																																																																		
Résultats	<p>Bioaccumulation plus élevée dans le foie des poissons omnivores que dans les espèces carnivores</p> <p><b>Table 1</b> Ranges of TEH and NOD-R (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math> dw) concentrations in fish livers and roe from Latvian lakes and Baltic Sea in 2003–2007. Error values are omitted for clarity.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Species/Water body</th> <th><i>Abramis brama</i> (L)</th> <th><i>Esox lucius</i> (L)</th> <th><i>Perca fluviatilis</i> (L)</th> <th><i>Platichthys flesus</i> (L)</th> <th><i>Rutilus rutilus</i> (L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Burtnieks</td> <td>6</td> <td>5</td> <td>14</td> <td></td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Langstini</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>Lielais Baltezers</td> <td></td> <td>6</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mazais Baltezers</td> <td>420</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>400</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>310<sup>a</sup></td> </tr> <tr> <td>Raiskums</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>800</td> </tr> <tr> <td>Kolka (Gulf of Riga)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>210–530<sup>b</sup></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Liepaja</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>250<sup>b</sup></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Pavilosta</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>170<sup>b</sup></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Vents pils</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>440<sup>b</sup></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>a</sup> TEH (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math> dw) concentrations in fish roe. <sup>b</sup> Concentration expressed as <math>\mu\text{g NOD-R kg}^{-1}</math> dw.</p> <p>Dans le Golfe de Riga, les contenu en Nod des foies de flets sont de <math>370 \pm 220</math> et de <math>350 \pm 89</math> <math>\mu\text{g/kg}</math> en septembre 2005 et octobre 2003 respectivement.</p>	Species/Water body	<i>Abramis brama</i> (L)	<i>Esox lucius</i> (L)	<i>Perca fluviatilis</i> (L)	<i>Platichthys flesus</i> (L)	<i>Rutilus rutilus</i> (L)	Burtnieks	6	5	14		4	Langstini					70	Lielais Baltezers		6				Mazais Baltezers	420				400						310 <sup>a</sup>	Raiskums					800	Kolka (Gulf of Riga)				210–530 <sup>b</sup>		Liepaja				250 <sup>b</sup>		Pavilosta				170 <sup>b</sup>		Vents pils				440 <sup>b</sup>	
Species/Water body	<i>Abramis brama</i> (L)	<i>Esox lucius</i> (L)	<i>Perca fluviatilis</i> (L)	<i>Platichthys flesus</i> (L)	<i>Rutilus rutilus</i> (L)																																																														
Burtnieks	6	5	14		4																																																														
Langstini					70																																																														
Lielais Baltezers		6																																																																	
Mazais Baltezers	420				400																																																														
					310 <sup>a</sup>																																																														
Raiskums					800																																																														
Kolka (Gulf of Riga)				210–530 <sup>b</sup>																																																															
Liepaja				250 <sup>b</sup>																																																															
Pavilosta				170 <sup>b</sup>																																																															
Vents pils				440 <sup>b</sup>																																																															
Conclusion	<b>Pas possible d'estimer les capacités de bioamplification car organismes ne faisant pas partie des mêmes réseaux trophiques</b>																																																																		
Qualité de l'étude	Faible																																																																		
Commentaires																																																																			
Informations complémentaires																																																																			

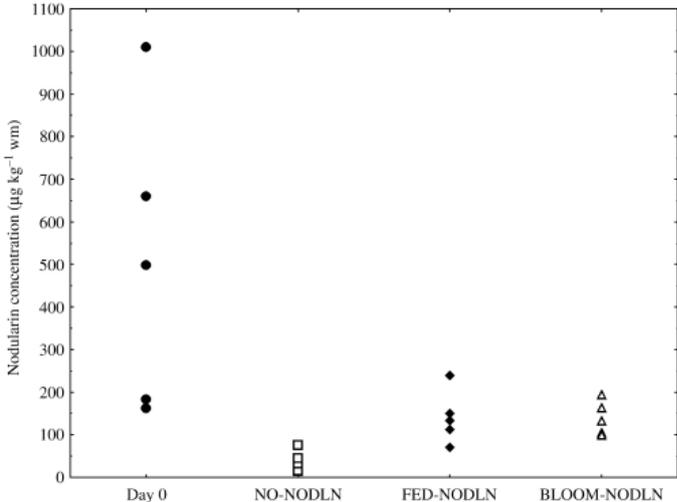
<b>Référence</b>	Engström-et al. (2002). Does cyanobacterial toxin accumulate in mysid shrimps and fish via copepods? J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 276, 95-107.																																																														
<b>Objectifs</b>	Etude du transfert et de l'accumulation de la nodularine dans les conditions de laboratoire																																																														
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																																																														
<b>Pays</b>	Non pertinent																																																														
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> épinoche à trois épines OUI OUI																																																														
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>																																																														
<b>Protocole expérimental</b>	<p>Poissons adultes en aquarium d'eau de mer ; souche de cyanobactéries ajoutée dans l'eau des copépodes <i>Eurytemora affinis</i> (environ 200) à la concentration de 400 µg C/l ; le jour suivant, les copépodes sont donnés en nourriture aux poissons (concentration de 20 copépodes/l) ; exposition quotidienne pendant 10 jours</p> <p>Table 1 Experimental set-up, estimated predation rates and toxin content of three-spined sticklebacks and mysid shrimps</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="6">Day</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3-4</th> <th>5-6</th> <th>7-9</th> <th>10</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Predators/aquarium</td> <td>6</td> <td>5</td> <td>4</td> <td>3</td> <td>2</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Copepods added daily</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>Mean total nodularin equivalents (ng) in daily added copepods<sup>a</sup></td> <td>0.0005</td> <td>0.0005</td> <td>0.0005</td> <td>0.0005</td> <td>0.0005</td> <td>0.0005</td> </tr> <tr> <td>Mean number of copepods fed stickleback<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup></td> <td>6.7</td> <td>8</td> <td>10</td> <td>13.3</td> <td>20</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>Average ingested (ng) nodularin equivalents g<sup>-1</sup> stickleback day<sup>-1</sup></td> <td>0.0016</td> <td>0.0020</td> <td>0.0024</td> <td>0.0030</td> <td>0.0093</td> <td>0.010</td> </tr> <tr> <td>Mean number of copepods fed mysid<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup></td> <td>5.2</td> <td>6.2</td> <td>7.8</td> <td>10.3</td> <td>15.5</td> <td>31</td> </tr> <tr> <td>Average ingested (ng) nodularin equivalents g<sup>-1</sup> mysid day<sup>-1</sup></td> <td>0.016</td> <td>0.019</td> <td>0.024</td> <td>0.032</td> <td>0.049</td> <td>0.097</td> </tr> </tbody> </table> <p>Toxin calculations based on results measured by ELISA (all five ELISA samples detected toxin—only two in the PPase inhibition assay). <sup>a</sup> 1.251 × 10<sup>-5</sup> ng nodularin equivalents copepod<sup>-1</sup>.</p>		Day						1	2	3-4	5-6	7-9	10	Predators/aquarium	6	5	4	3	2	1	Copepods added daily	40	40	40	40	40	40	Mean total nodularin equivalents (ng) in daily added copepods <sup>a</sup>	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	Mean number of copepods fed stickleback <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	6.7	8	10	13.3	20	40	Average ingested (ng) nodularin equivalents g <sup>-1</sup> stickleback day <sup>-1</sup>	0.0016	0.0020	0.0024	0.0030	0.0093	0.010	Mean number of copepods fed mysid <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	5.2	6.2	7.8	10.3	15.5	31	Average ingested (ng) nodularin equivalents g <sup>-1</sup> mysid day <sup>-1</sup>	0.016	0.019	0.024	0.032	0.049	0.097
	Day																																																														
	1	2	3-4	5-6	7-9	10																																																									
Predators/aquarium	6	5	4	3	2	1																																																									
Copepods added daily	40	40	40	40	40	40																																																									
Mean total nodularin equivalents (ng) in daily added copepods <sup>a</sup>	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005																																																									
Mean number of copepods fed stickleback <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	6.7	8	10	13.3	20	40																																																									
Average ingested (ng) nodularin equivalents g <sup>-1</sup> stickleback day <sup>-1</sup>	0.0016	0.0020	0.0024	0.0030	0.0093	0.010																																																									
Mean number of copepods fed mysid <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	5.2	6.2	7.8	10.3	15.5	31																																																									
Average ingested (ng) nodularin equivalents g <sup>-1</sup> mysid day <sup>-1</sup>	0.016	0.019	0.024	0.032	0.049	0.097																																																									
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, viscères																																																														
<b>Voie d'exposition</b>	Nourriture																																																														
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (kit Envirogard) et inhibition PP1A Limites de détection = 0,1 et 0,5 µg/l respectivement																																																														
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide)																																																														
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Souche toxique de <i>Nodularia spumigena</i> ; concentration en nodularine estimée en phase exponentielle de croissance = 3-4 µg/ml (soit 11 µg/mg poids sec)																																																														
<b>Résultats</b>	<p>Les copépodes contiennent un niveau moyen de nodularine = 1,25 10<sup>-5</sup> ± 2,034 10<sup>-6</sup> ng/copépode mesuré par ELISA et 0,038 ± 0,017 ng/copépode avec le test PP1A. Les poissons ont consommés tous les copépodes qui leur étaient donnés.</p> <p>Les concentrations en nodularine sont plus élevées dans les crevettes que dans les poissons. Dans les poissons, pas d'augmentation dépendante du temps.</p> <p>Les 2 méthodes de dosage donnent des résultats différents avec des valeurs significativement plus élevées avec le test PP1A qu'avec l'ELISA pour les poissons. Pic détecté avec les 2 méthodes à 5 jours d'exposition. Cependant les concentrations estimées sont considérablement plus faibles que celles mesurées.</p>																																																														

	 <p>Fig. 1. Nodularin concentrations (µg/g DW) of (B) three-spined sticklebacks, <i>G. aculeatus</i>. Samples were measured ELISA. Planktivores were provided daily with cyanobacteria-fed copepods, <i>E. affinis</i>. The nodularin-producing cyanobacterium, <i>N. spumigena</i>, was used in the experiments.</p>  <p>Fig. 2. Nodularin concentrations (µg/g DW) of (B) three-spined sticklebacks, <i>G. aculeatus</i>. Samples were measured by the protein phosphatase (PPase) inhibition assay. Experimental conditions were similar as in Fig.1.</p>
<b>Conclusion</b>	<b>Possibilité de transfert de la nodularine par la nourriture de la proie aux planctivores mais le phénomène d'accumulation n'a pas pu être vérifié.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Kankaanpaa et al. (2002). Acute effects and bioaccumulation of nodularin in sea trout ( <i>Salmo trutta m. trutta</i> L.) exposed orally to <i>Nodularia spumigena</i> under laboratory conditions, <i>Aquatic Toxicology</i> 61, 155-168.
<b>Objectifs</b>	Bioaccumulation de nodularines et effets histologiques après une administration orale de <i>Nodularia spumigena</i>
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Non pertinent
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	Truite de mer ()
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Administration unique par gavage d'une dose orale de <i>Nodularia spumigena</i> mixé avec de la nourriture pour poisson (0,4 mg Nod /kg pc environ ; gamme entre 0,21 et 0,62 mg/kg) Echantillon prélevé 1, 2, 4 et 8 jours après l'administration (5 poissons par groupe).
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie
<b>Voie d'exposition</b>	Orale
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (kit EnviroLogix) et HPLC (que pour foie)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) HPLC, LQ = 150 µg/kg poids sec selon une autre publication du groupe Rendement de 25-65%
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Culture de <i>Nodularia spumigena</i> isolée de la mer Baltique ; mixée avec de la nourriture pour poisson pour atteindre une concentration de 125 mg/kg poids frais.
<b>Résultats</b>	<p>Après une administration unique, la concentration en Nod (et /ou métabolites ?) <b>augmente dans le foie pendant les 8 jours d'observation.</b> Transport jusqu'au foie plutôt lent.</p> <p>La concentration dans le foie atteint 1200 µg/kg poids sec de composés NOD-like par ELISA, soit un peu plus de 0,5% de toxine accumulée dans le foie.</p> <p>L'augmentation observée en ELISA (qui détecte la NOD et ses métabolites) n'est pas confirmée par HPLC (aucun pic détecté pour Nod et ses métabolites recherchés). Les auteurs suggèrent que les métabolites seraient conjugués à des protéines avec des groupements thiol telles que le glutathion, la méthionine, la cystéine et pour lesquels ils n'avaient pas de standard.</p> <p>Dans le muscle, les concentrations en ELISA sont plus faibles que dans le foie : 125 µg/kg ps au jour 1 avec une diminution à 35 et 43 µg/kg ps aux jours 2 et 4 respectivement.</p>  <p>Fig. 4. Mean (±SE) percentage (orally administered in slurry) of NODLN-like compounds (ELISA) found in liver tissue. Slurry was composed of dried algae containing NODLN and commercial dry feed (1:1) in water. There were five fish in each group.</p>

	 <p>Fig. 3. Mean (<math>\pm</math>SE) concentration of NODLN-like compounds (ELISA) in sea trout liver (dry weight) 1, 2, 4 and 8 days after single oral administration of 380-490 <math>\mu</math>g/kg bw in slurry (see Table 1). Slurry was composed of dried algae containing NODLN and commercial dry feed (1:1) in water.</p>
<p><b>Conclusion</b></p>	<p>Après une administration unique, la concentration en nodularines augmente dans le foie pendant les 8 jours d'observation. Les auteurs suggèrent que la nodularine serait principalement présente sous forme de métabolites.                  Dans le muscle, la concentration est moins élevée et diminue au cours du temps (de 65% en 4 jours).</p>
<p><b>Qualité de l'étude</b></p>	<p>Moyenne</p>
<p><b>Commentaires</b></p>	<p>Effets microscopiques sur le foie (noyaux pycnotiques des hépatocytes) et l'intestin (inflammation) des truites</p>
<p><b>Informations complémentaires</b></p>	

<b>Référence</b>	Karjalainen et al. (2005). Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: consequences for pike larvae and mysid shrimps, <i>Environmental Toxicology</i> 20, 354-362.																		
<b>Objectifs</b>	Quantifier le transfert des toxines aux planctivores via le zooplancton																		
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																		
<b>Pays</b>	Non pertinent																		
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Esox lucius</i> brochet OUI OUI																		
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>																		
<b>Protocole expérimental</b>	Zooplancton pré-incubé avec de la nodularine marquée à 100 µg/ml pendant 12h puis proposé comme nourriture aux larves de brochet et aux mysides.																		
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Larve entière																		
<b>Voie d'exposition</b>	Orale																		
<b>Méthode d'analyse</b>	Toxine radioactive, compteur à scintillation ELISA (kit Envirogard) pour mesures des toxines dans les extraits de <i>Nodularia spumigena</i> et dans les feces. Aucun paramètre indiqué																		
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide)																		
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Quantité de zooplancton = 1740 ±176 µg C/l (contenant 5µg de toxine/g de poids sec) administrée aux larves de brochet ; estimation de toxine après 12h																		
<b>Résultats</b>	<p>Les concentrations maximales de nodularine marquée sont de 0,41 ± 0,02 µg/g poids sec pour les larves de brochet après 12 h soit 0,47 ± 0,03 ng/individu. Ces concentrations sont très faibles comparées au potentiel d'ingestion via le zooplancton : seulement 0.03% détecté dans les larves après 12h. Les feces contiennent 0,2 ± 0,02 ng Nod (produit par individu en 24h).</p> <p>TABLE II. Mean toxin content of pike larvae and mysids after 12 h measured with radiolabeled toxin and percentage of potential toxin intake found in their tissues, calculation based on ingestion rate and toxin content in zooplankton</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th><i>Neomysis integer</i></th> <th><i>Esox lucius</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ingestion rate (µg C h<sup>-1</sup>)</td> <td>11*</td> <td>61</td> </tr> <tr> <td>Toxin content in exposed zooplankton [µg g C<sup>-1</sup> (µg g DW<sup>-1</sup>)]</td> <td>2 (5)</td> <td>2 (5)</td> </tr> <tr> <td>Estimated toxin intake of planktivores after 12 h (ng ind<sup>-1</sup>)</td> <td>264</td> <td>1464</td> </tr> <tr> <td>Measured toxin content in planktivores [ng ind<sup>-1</sup> (µg g DW<sup>-1</sup>)]</td> <td>0.31 (0.59)</td> <td>0.47 (0.41)</td> </tr> <tr> <td>Percentage found in planktivore tissue (12 h)</td> <td>0.12</td> <td>0.03</td> </tr> </tbody> </table> <p>*From Linden et al. (2003).</p>		<i>Neomysis integer</i>	<i>Esox lucius</i>	Ingestion rate (µg C h <sup>-1</sup> )	11*	61	Toxin content in exposed zooplankton [µg g C <sup>-1</sup> (µg g DW <sup>-1</sup> )]	2 (5)	2 (5)	Estimated toxin intake of planktivores after 12 h (ng ind <sup>-1</sup> )	264	1464	Measured toxin content in planktivores [ng ind <sup>-1</sup> (µg g DW <sup>-1</sup> )]	0.31 (0.59)	0.47 (0.41)	Percentage found in planktivore tissue (12 h)	0.12	0.03
	<i>Neomysis integer</i>	<i>Esox lucius</i>																	
Ingestion rate (µg C h <sup>-1</sup> )	11*	61																	
Toxin content in exposed zooplankton [µg g C <sup>-1</sup> (µg g DW <sup>-1</sup> )]	2 (5)	2 (5)																	
Estimated toxin intake of planktivores after 12 h (ng ind <sup>-1</sup> )	264	1464																	
Measured toxin content in planktivores [ng ind <sup>-1</sup> (µg g DW <sup>-1</sup> )]	0.31 (0.59)	0.47 (0.41)																	
Percentage found in planktivore tissue (12 h)	0.12	0.03																	
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de bioamplification mais plutôt biodilution le long de la chaîne trophique puisque moins de toxine retrouvée dans l'échelon supérieur que dans le plancton.</b> <b>Diminution du niveau de prédation pouvant affecter la croissance des larves négativement, même sans contact direct entre les poissons et les cyanobactéries.</b>																		
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																		
<b>Commentaires</b>																			
<b>Informations complémentaires</b>																			

<b>Référence</b>	Pääkkönen et al. (2008). Physiological effects in juvenile three-spined sticklebacks feeding on toxic cyanobacterium <i>Nodularia spumigena</i> -exposed zooplankton, <i>Journal of Fish Biology</i> 72, 485-499.
<b>Objectifs</b>	Etude de l'effet chez le poisson d'une exposition prolongée à des efflorescences de <i>Nodularia</i>
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Finlande
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> épinoche à trois épines
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>
<b>Protocole expérimental</b>	En juillet, capture des poissons en mer Baltique, 3 groupes de poissons (chaque traitement avec 5 réplicats et 7 poissons pour chaque réplicat) : 1) Ceux nourris avec du plancton en condition d'efflorescence de <i>Nodularia spumigena</i> 2) Ceux nourris avec du plancton exposé à <i>N. spumigena</i> mais sans cyanobactéries dans l'eau des aquariums 3) Ceux nourris avec du plancton non exposé et des cyanobactéries dans l'aquarium. Zooplancton ajouté chaque jour (700 individus/l). Exposition pendant 15 jours
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Poisson entier
<b>Voie d'exposition</b>	Nourriture
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (kit Envirologix)
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) Pas d'étude de rendement réalisée
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Aucun échantillon d'eau prélevé lors de la capture des poissons.
<b>Résultats</b>	<p>Les niveaux en nodularine sont plus élevés dans les poissons récemment capturés utilisés en début d'expérience (<math>503,1 \pm 353,4 \mu\text{g/kg}</math>) mais grande variabilité. Les concentrations en nodularine diminuent pendant l'expérience, quel que soit le traitement. A la fin de l'expérience, les niveaux sont plus faibles dans les poissons n'ayant pas été exposés à la nodularine.</p>  <p>Fig. 2. Nodularin concentration in individual juvenile three-spined stickleback at the beginning (<math>t_0</math>) and end of the experiments (see Fig. 1). Nodularin concentrations were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; Envirologix Quantiplate™ Kit for Microcystins), which is also sensitive to metabolites of cyanobacterial hepatotoxins (wm, wet mass).</p>

<b>Conclusion</b>	<p>Les résultats montrent que les poissons peuvent dépurifier la nodularine puisque les niveaux en toxine diminuent après 15 jours en absence de nodularine dans l'environnement (de 503,1 ± 353,4 µg/kg à 0-100 µg/kg).</p> <p>Même concentration en nodularine des poissons exposés à la nodularine via le zooplancton en présence ou en absence de <i>N. spumigena</i> dans l'eau.</p> <p>Les épinoches peuvent constituer, pendant les efflorescences, des espèces transférant la toxine à des niveaux trophiques supérieurs.</p>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Sipia et al. (2007). Transfer of nodularin to three-spined stickleback ( <i>Gasterosteus aculeatus</i> L.), herring ( <i>Clupea harengus</i> L.), and salmon ( <i>Salmo salar</i> L.) in the northern Baltic Sea, <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> 66, 421-425.																									
<b>Objectifs</b>	Etude du transfert de toxine à 3 espèces de poissons																									
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																									
<b>Pays</b>	Finlande																									
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> épinoche à trois épines <i>Clupea harengus</i> hareng <i>Salmo salar</i> saumon																									
<b>Présente en Europe</b>	OUI																									
<b>Présente en France</b>	OUI																									
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>																									
<b>Protocole expérimental</b>	Poissons collectés en septembre 2002 et aout 2003 en mer Baltique, golfe de Finlande																									
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, viscères, estomac																									
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																									
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS																									
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) Rendement pour les viscères d'épinoche = 28% ; résultats tenant en compte cette valeur																									
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Aucune mesure de cyanobactéries ni de cyanotoxines dans l'eau Mais efflorescences denses de <i>Nodularia</i> observés dans la mer Baltique en fin d'été 2002 et 2003.																									
<b>Résultats</b>	<p>Faible concentration dans les foies de saumons : un seul spécimen sur les 10 contient un niveau (10 µg/kg poids sec) supérieur à la limite de détection LC/MS</p> <p>Les contenus dans les viscères des épinoches sont très variables, entre 2,8 et 700 µg/kg de poids sec.</p> <p>Les foies poolés des harengs montrent une faible quantité de nodularine (environ 5 µg/kg poids sec). Des concentrations légèrement plus élevées sont mesurées dans les estomacs (5 sur 10 des échantillons) avec entre 50 et 90 µg/kg (moyenne de 75).</p> <p>Table 1 NODLN content (µg/kg dw) by LC-MS in stickleback and herring caught in 2002 and 2003</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Species</th> <th>Organs</th> <th>Pooled/individual</th> <th>Sampling time</th> <th>NODLN (µg/kg dw) LC-MS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Stickleback</td> <td>Viscera</td> <td>Pooled</td> <td>September 2-6, 2002</td> <td>16.5, 13, 10.6, 11, 8.0, 7.0, 5.6, 2.8</td> </tr> <tr> <td>Stickleback</td> <td>Viscera</td> <td>Individual</td> <td>August 12, 2003</td> <td>700 (2500)<sup>a</sup>, 640 (2300)<sup>a</sup>, 590 (2100)<sup>a</sup>, 420 (1500)<sup>a</sup>, 310 (1100)<sup>a</sup>, 220 (800)<sup>a</sup>, 140 (500)<sup>a</sup>, *nd (3 samples)</td> </tr> <tr> <td>Herring</td> <td>Liver</td> <td>Pooled</td> <td>September 2-6, 2002</td> <td>5 (2 sample sets)<sup>b</sup>, *nd (6 sample sets)</td> </tr> <tr> <td>Herring</td> <td>Stomach</td> <td>Individual</td> <td>August 12, 2003</td> <td>90, 83, 76, 74, 57, *nd (5 samples)</td> </tr> </tbody> </table> <p>*nd = not detected. <sup>a</sup>Results corrected for the recovery. <sup>b</sup>A trace amount of NODLN below the limit of exact quantitation but still detectable.</p>	Species	Organs	Pooled/individual	Sampling time	NODLN (µg/kg dw) LC-MS	Stickleback	Viscera	Pooled	September 2-6, 2002	16.5, 13, 10.6, 11, 8.0, 7.0, 5.6, 2.8	Stickleback	Viscera	Individual	August 12, 2003	700 (2500) <sup>a</sup> , 640 (2300) <sup>a</sup> , 590 (2100) <sup>a</sup> , 420 (1500) <sup>a</sup> , 310 (1100) <sup>a</sup> , 220 (800) <sup>a</sup> , 140 (500) <sup>a</sup> , *nd (3 samples)	Herring	Liver	Pooled	September 2-6, 2002	5 (2 sample sets) <sup>b</sup> , *nd (6 sample sets)	Herring	Stomach	Individual	August 12, 2003	90, 83, 76, 74, 57, *nd (5 samples)
Species	Organs	Pooled/individual	Sampling time	NODLN (µg/kg dw) LC-MS																						
Stickleback	Viscera	Pooled	September 2-6, 2002	16.5, 13, 10.6, 11, 8.0, 7.0, 5.6, 2.8																						
Stickleback	Viscera	Individual	August 12, 2003	700 (2500) <sup>a</sup> , 640 (2300) <sup>a</sup> , 590 (2100) <sup>a</sup> , 420 (1500) <sup>a</sup> , 310 (1100) <sup>a</sup> , 220 (800) <sup>a</sup> , 140 (500) <sup>a</sup> , *nd (3 samples)																						
Herring	Liver	Pooled	September 2-6, 2002	5 (2 sample sets) <sup>b</sup> , *nd (6 sample sets)																						
Herring	Stomach	Individual	August 12, 2003	90, 83, 76, 74, 57, *nd (5 samples)																						
<b>Conclusion</b>	<b>Accumulation dans les foies des harengs et des saumons très faible mais les intestins, en particulier des épinoches, contiennent des niveaux élevés en toxine</b>																									
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																									
<b>Commentaires</b>																										
<b>Informations complémentaires</b>																										

<b>Référence</b>	Van Buynder et al. (2001). Nodularin uptake by seafood during a cyanobacterial bloom, <i>Environmental Toxicology</i> 16, 468-471.																																																																																																																									
<b>Objectifs</b>	Etude de la contamination en nodularine dans différents organismes lors d'une efflorescence de <i>Nodularia spumigena</i> dans un lac																																																																																																																									
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																																																																																									
<b>Pays</b>	Australie,																																																																																																																									
<b>Espèce(s) de poisson étudiée(s)</b>	Finfish																																																																																																																									
<b>Présente en Europe</b>	?																																																																																																																									
<b>Présente en France</b>	?																																																																																																																									
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>																																																																																																																									
<b>Protocole expérimental</b>	Collecte d'échantillons lors d'une efflorescence algal en 2001 dans des lacs de zone Gippsland, Southern Victoria. Après une première observation visuelle, l'efflorescence s'étend rapidement pendant quelques jours avant de devenir une large et épaisse suspension ou une grosse floculation avec des comptages cellulaires atteignant 15 à 35 000 cellules/ml																																																																																																																									
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, viscères																																																																																																																									
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																																																									
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS/MS																																																																																																																									
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) Rendement = 40% pour la chair et 70% pour les viscères																																																																																																																									
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Pas de niveau de toxine mesuré à partir d'efflorescence de <i>Nodularia spumigena</i> . Nombre de cellules atteignant jusqu'à 40 000 cellules/ml.																																																																																																																									
<b>Résultats</b>	<p>Niveaux dans la chair et les viscères des différentes espèces de poissons inférieurs à 152 µg/kg</p> <p>TABLE I. Monitoring of bloom and toxin levels: Gippsland 2001</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Date</th> <th rowspan="2">Site</th> <th rowspan="2">Visual Description*</th> <th rowspan="2">Cell Count (<i>Nodularia</i>)</th> <th colspan="2">Prawn Toxin Levels (<i>Nodularin</i>)</th> <th rowspan="2">Mussels*</th> <th colspan="2">Finfish Toxin Levels*</th> </tr> <tr> <th>Viscera</th> <th>Flesh</th> <th>Viscera</th> <th>Flesh</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">6 March</td> <td>Bancroft Bay</td> <td>VHF</td> <td>40,000</td> <td></td> <td></td> <td rowspan="3">2,500 µg/kg</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td>MF</td> <td>29,000</td> <td>6,400 µg/kg</td> <td>22 µg/kg</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tambo Bay</td> <td>MS</td> <td>7,500</td> <td>945 µg/kg</td> <td>5 µg/kg</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">13 March</td> <td>Lake Victoria</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>0-152 µg/kg</td> <td>0.7-2.5 µg/kg</td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td>HS</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">16 March</td> <td>Bancroft Bay</td> <td>MS</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td></td> <td></td> <td>4,200 µg/kg</td> <td>7.3 µg/kg</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">20 March</td> <td>Bancroft Bay</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>685 µg/kg</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td>LS</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">23 March</td> <td>Bancroft Bay</td> <td>LS</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td></td> <td></td> <td>1,640 µg/kg</td> <td>10.3 µg/kg</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">27 March</td> <td>Bancroft Bay</td> <td>ND</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>40 µg/kg</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reeves Channel</td> <td>ND</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>*V= very, L=light, M=medium, H=heavy, F=floculation, S=suspension, ND=not detected.</p>	Date	Site	Visual Description*	Cell Count ( <i>Nodularia</i> )	Prawn Toxin Levels ( <i>Nodularin</i> )		Mussels*	Finfish Toxin Levels*		Viscera	Flesh	Viscera	Flesh	6 March	Bancroft Bay	VHF	40,000			2,500 µg/kg			Reeves Channel	MF	29,000	6,400 µg/kg	22 µg/kg			Tambo Bay	MS	7,500	945 µg/kg	5 µg/kg			13 March	Lake Victoria						0-152 µg/kg	0.7-2.5 µg/kg	Reeves Channel	HS							16 March	Bancroft Bay	MS							Reeves Channel			4,200 µg/kg	7.3 µg/kg				20 March	Bancroft Bay					685 µg/kg			Reeves Channel	LS							23 March	Bancroft Bay	LS							Reeves Channel			1,640 µg/kg	10.3 µg/kg				27 March	Bancroft Bay	ND				40 µg/kg			Reeves Channel	ND						
Date	Site					Visual Description*	Cell Count ( <i>Nodularia</i> )		Prawn Toxin Levels ( <i>Nodularin</i> )		Mussels*	Finfish Toxin Levels*																																																																																																														
		Viscera	Flesh	Viscera	Flesh																																																																																																																					
6 March	Bancroft Bay	VHF	40,000			2,500 µg/kg																																																																																																																				
	Reeves Channel	MF	29,000	6,400 µg/kg	22 µg/kg																																																																																																																					
	Tambo Bay	MS	7,500	945 µg/kg	5 µg/kg																																																																																																																					
13 March	Lake Victoria						0-152 µg/kg	0.7-2.5 µg/kg																																																																																																																		
	Reeves Channel	HS																																																																																																																								
16 March	Bancroft Bay	MS																																																																																																																								
	Reeves Channel			4,200 µg/kg	7.3 µg/kg																																																																																																																					
20 March	Bancroft Bay					685 µg/kg																																																																																																																				
	Reeves Channel	LS																																																																																																																								
23 March	Bancroft Bay	LS																																																																																																																								
	Reeves Channel			1,640 µg/kg	10.3 µg/kg																																																																																																																					
27 March	Bancroft Bay	ND				40 µg/kg																																																																																																																				
	Reeves Channel	ND																																																																																																																								
<b>Conclusion</b>	<b>Les poissons de cette étude accumulent peu de nodularine dans leur chair ou leurs viscères.</b>																																																																																																																									
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																																																																																																																									
<b>Commentaires</b>																																																																																																																										
<b>Informations complémentaires</b>	Détection dans les crevettes jusqu'à 22 µg/kg et dans les moules jusqu'à 2500 µg/kg. Echantillons de crevettes testés pour effet de la cuisson : pas de destruction de la toxine mais redistribution entre viscères, chair et eau de cuisson (transfert des viscères vers l'eau et la chair)																																																																																																																									

<b>Référence</b>	Vuorinen et al. (2009). Accumulation and effects of nodularin from a single and repeated oral doses of cyanobacterium <i>Nodularia spumigena</i> on flounder ( <i>Platichthys flesus</i> L.), Arch Environ Cotam Toxicol 57, 164-173.																																																																																																																																																																								
<b>Objectifs</b>	Etudier l'accumulation de nodularine dans des flets exposés oralement à des échantillons de <i>Nodularia spumigena</i> .																																																																																																																																																																								
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire																																																																																																																																																																								
<b>Pays</b>	Non pertinent																																																																																																																																																																								
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Platichthys flesus</i> flet																																																																																																																																																																								
<b>Présente en Europe</b>	Oui																																																																																																																																																																								
<b>Présente en France</b>	Oui																																																																																																																																																																								
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>Nodularine</b>																																																																																																																																																																								
<b>Protocole expérimental</b>	<p>Les poissons ont été acclimatés à une eau douce avant exposition. Les poissons traités ont reçu un mélange contenant un culot de culture de <i>Nodularia spumigena</i> associé à un homogénat de moule dilué dans de l'eau. La concentration en Nod de ce mélange est de 63 µg/g de poids frais. Les poissons témoins reçoivent le même mélange mais ne contenant pas de <i>Nodularia</i>.</p> <p>2 groupes de traitement (5 poissons par groupe) sont réalisés : un recevant une seule administration de 277 µg/kg et un recevant une dose de 379 µg/kg fractionnée en 3 administrations de 88 µg/kg au jour 1, 148 µg/kg au jour 2 et 143 µg/kg au jour 3.</p> <p>Les échantillons de tissus sont prélevés le 4<sup>e</sup> jour après la dernière administration.</p> <p><b>Table 1</b> Mean (±SE) fish weight, fish length, liver somatic index (LSI; liver weight divided by body weight), and total nodularin dose (NODLN) in the different flounder groups</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Control</th> <th>Single dose</th> <th>Repeated doses</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Weight (g)</td> <td>174 ± 20<sup>a</sup></td> <td>292 ± 45<sup>a</sup></td> <td>287 ± 28<sup>a</sup></td> </tr> <tr> <td>Length (cm)</td> <td>24.7 ± 0.9<sup>a</sup></td> <td>30.0 ± 1.6<sup>b</sup></td> <td>29.1 ± 1.1<sup>ab</sup></td> </tr> <tr> <td>LSI (%)</td> <td>2.29 ± 0.49<sup>a</sup></td> <td>2.01 ± 0.18<sup>a</sup></td> <td>2.58 ± 0.15<sup>a</sup></td> </tr> <tr> <td>NODLN (µg/kg) Total</td> <td>–</td> <td>277 ± 38<sup>a</sup></td> <td>379 ± 44<sup>a</sup></td> </tr> <tr> <td>  Dose 1</td> <td></td> <td></td> <td>88 ± 12</td> </tr> <tr> <td>  Dose 2</td> <td></td> <td></td> <td>148 ± 33</td> </tr> <tr> <td>  Dose 3</td> <td></td> <td></td> <td>143 ± 27</td> </tr> </tbody> </table> <p><i>Note:</i> There were five fish in each group. Different superscript letters denote a significant difference (<math>p &lt; 0.05</math>) between the means</p> <p><b>Fig. 1</b> Timetable of the experiment in which flounders were acclimatized to laboratory conditions before being orally injected once or three times with a nodularin-containing slurry (or slurry without nodularin; controls) and fish in the three groups sampled simultaneously 4 days after the last injection</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Treatment</th> <th colspan="6">September 30<sup>th</sup>–October 24<sup>th</sup></th> <th colspan="5">October</th> <th colspan="5">November</th> </tr> <tr> <th>25</th> <th>26</th> <th>27</th> <th>28</th> <th>29</th> <th>30</th> <th>31</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Acclimatization</td> <td>→</td> <td>→</td> <td>→</td> <td>→</td> <td>→</td> <td>→</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Experimental days</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>0</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> <td>6</td> <td>7</td> <td>8</td> <td>9</td> <td>10</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>Single injection (group of 5 fish)</td> <td></td> <td>Injection</td> <td>Sampling</td> </tr> <tr> <td>Repeated injection (group of 5 fish)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td>Sampling</td> </tr> <tr> <td>Control (group of 5 fish)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Injection</td> <td>Sampling</td> </tr> </tbody> </table>		Control	Single dose	Repeated doses	Weight (g)	174 ± 20 <sup>a</sup>	292 ± 45 <sup>a</sup>	287 ± 28 <sup>a</sup>	Length (cm)	24.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	30.0 ± 1.6 <sup>b</sup>	29.1 ± 1.1 <sup>ab</sup>	LSI (%)	2.29 ± 0.49 <sup>a</sup>	2.01 ± 0.18 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.15 <sup>a</sup>	NODLN (µg/kg) Total	–	277 ± 38 <sup>a</sup>	379 ± 44 <sup>a</sup>	Dose 1			88 ± 12	Dose 2			148 ± 33	Dose 3			143 ± 27	Treatment	September 30 <sup>th</sup> –October 24 <sup>th</sup>						October					November					25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Acclimatization	→	→	→	→	→	→													Experimental days							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Single injection (group of 5 fish)																			Injection	Sampling	Repeated injection (group of 5 fish)								Injection			Injection								Injection	Sampling	Control (group of 5 fish)								Injection			Injection								Injection	Sampling
	Control	Single dose	Repeated doses																																																																																																																																																																						
Weight (g)	174 ± 20 <sup>a</sup>	292 ± 45 <sup>a</sup>	287 ± 28 <sup>a</sup>																																																																																																																																																																						
Length (cm)	24.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	30.0 ± 1.6 <sup>b</sup>	29.1 ± 1.1 <sup>ab</sup>																																																																																																																																																																						
LSI (%)	2.29 ± 0.49 <sup>a</sup>	2.01 ± 0.18 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.15 <sup>a</sup>																																																																																																																																																																						
NODLN (µg/kg) Total	–	277 ± 38 <sup>a</sup>	379 ± 44 <sup>a</sup>																																																																																																																																																																						
Dose 1			88 ± 12																																																																																																																																																																						
Dose 2			148 ± 33																																																																																																																																																																						
Dose 3			143 ± 27																																																																																																																																																																						
Treatment	September 30 <sup>th</sup> –October 24 <sup>th</sup>						October					November																																																																																																																																																													
	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11																																																																																																																																																							
Acclimatization	→	→	→	→	→	→																																																																																																																																																																			
Experimental days							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11																																																																																																																																																							
Single injection (group of 5 fish)																			Injection	Sampling																																																																																																																																																					
Repeated injection (group of 5 fish)								Injection			Injection								Injection	Sampling																																																																																																																																																					
Control (group of 5 fish)								Injection			Injection								Injection	Sampling																																																																																																																																																					
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Foie, bile																																																																																																																																																																								
<b>Voie d'exposition</b>	Orale																																																																																																																																																																								
<b>Méthode d'analyse</b>	LC-MS pour échantillons de foie ELISA (kit EnviroLogix) pour échantillons de bile																																																																																																																																																																								
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) rendement de l'ELISA pour le foie = 30 ± 5% selon Sipia et al 2001. Les résultats ne sont pas corrigés du rendement..																																																																																																																																																																								
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Administration directement par gavage intragastrique																																																																																																																																																																								
<b>Résultats</b>	La concentration moyenne des foies en Nod est de 220 ± 70 ng/g poids sec 4 jours après une forte dose unique et de 60 ± 5 ng/g poids sec 4																																																																																																																																																																								

jours après les administrations fractionnées sur 3 jours. Les foies des poissons témoins contiennent également  $45 \pm 10$  ng/g poids sec de Nod. De la desméthylNod est également détectée mais elle représente moins de 10% de la Nod. Aucun conjugué glutathion n'a été détecté.

La bile des poissons ayant reçu une seule administration contient  $49 \pm 5$  ng/ml de Nod alors qu'après des administrations fractionnées le niveau est de  $37 \pm 13$  ng/ml et dans les témoins 7,6 ng/ml.

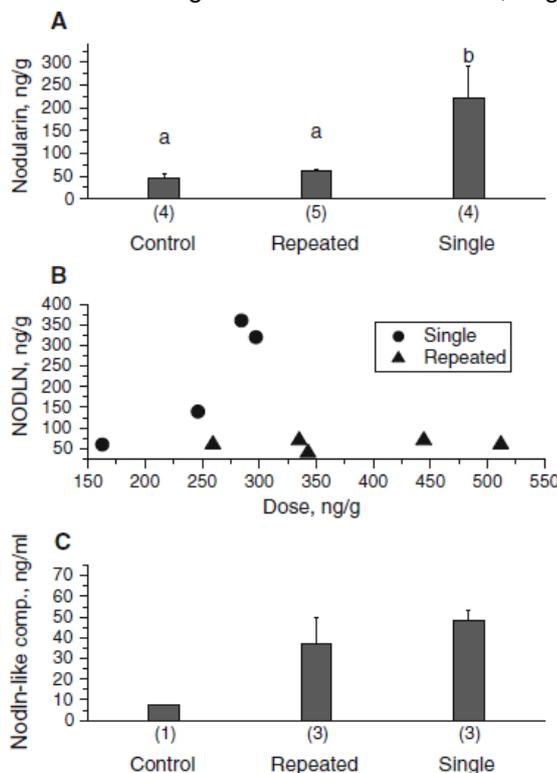


Fig. 2 Mean ( $\pm$  SE) liver nodularin concentration analyzed by LCMS (a), liver nodularin concentration plotted against dose (b), and concentration of nodularin-like compounds in bile measured by ELISA (c) in flounder orally dosed with a *Nodularia spumigena* containing slurry given as a single injection or three repeated injections 3 days apart. Samples were taken 4 days after the single high dose or after the third of the repeated lower doses (11 days after the first repeated dose). Different letters above the columns indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the means. Number of samples is given in parentheses

<b>Conclusion</b>	<b>Même si on détecte moins de nodularine par LC-MS dans le foie après administration répétée il semble que cela soit dû aux formes conjuguées qui sont générées, comme le suggèrent les résultats par ELISA dans la bile. La nodularine n'est donc pas réellement éliminée mais plutôt transformée en métabolites qui restent dans le tissu.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

## 4.5 Saxitoxines

Référence	Bakke and Horsberg (2010). Kinetic properties of saxitoxin in Atlantic salmon ( <i>Salmo salar</i> ) and Atlantic cod ( <i>Gadus morhua</i> ), Comparative Biochemistry and Physiology, part C 152, 444-450.
Objectifs	Etudier la distribution de STX dans 2 espèces de poisson par plusieurs voies d'administration
Type d'étude	Laboratoire
Pays	Non pertinent
Espèce(s) de poisson étudiée(s)	<i>Salmo salar</i> saumon
Présente en Europe	OUI
Présente en France	OUI
Cyanotoxines étudiées	STXs
Protocole expérimental	40 saumons ont été exposés par iv en 5 groupes de 8 animaux ; temps de prélèvement = 15, 30, 60, 90 et 120 min 24 saumons ont été exposés par ip en 3 groupes de 8 ; temps de prélèvement = 30, 60 et 120 min Extrait de moule contenant des toxines PSP (4718 STX eq/ml) utilisé pour exposition via l'eau à 50 µg STX eq/l ; 7 groupes de 8 animaux ; temps de prélèvement = 5, 15, 30, 60, 120, 240 et 480 min.
Tissus/organes étudiés	Plasma
Voie d'exposition	Intrapéritonéal, intraveineux, eau d'aquarium
Méthode d'analyse	HPLC-FD.
Niveau de confiance de la méthode d'analyse	2 (valide, méthode caractérisée) mais informations non présentées dans l'article
Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?	Non étudié
Résultats	<p>Chez le saumon, les toxines sont absorbées à partir de l'eau mais la concentration plasmatique maximale est considérablement plus faible (4,7 ng/ml à 8h) par cette voie d'exposition que par iv (21,5 ng/ml à 15 min) et par ip (23,8 ng/ml à 30 min).</p> <p>Fig. 3. Plasma concentrations after IV injection (5 µg STX/kgbw), IP injection (5 µg/kg bw) and waterborne PSP exposure (50 µg STXeq/kg bw) in Atlantic salmon. The estimated T<sub>1/2</sub> after IV administration was 102.6 min. A longer absorption phase was evident following IP administration compared to IV administration. Data are presented as mean+SE.</p>
Conclusion	<p>Les résultats montrent clairement l'absorption de STX directement à partir de l'eau. La route d'exposition peut être soit directement via les branchies soit par ingestion ou les 2. La demi-vie de la STX dans le plasma du saumon est relativement courte (1,71 h) et ne suggère pas que cette toxine s'accumule dans les tissus. De même la distribution est essentiellement dans les fluides extracellulaires avec une pénétration limitée à l'intérieur des cellules. L'excrétion est rapide via l'urine. Les niveaux retrouvés dans les muscles restent faibles.</p>
Qualité de l'étude	Bonne
Commentaires	
Informations complémentaires	

<b>Référence</b>	Clemente et al. (2010). Analyses of paralytic shellfish toxins and biomarkers in a southern Brazilian reservoir, <i>Toxicon</i> 55, 396-406.																																																																																																														
<b>Objectifs</b>	Suivi des toxines PSP dans les eaux du réservoir et dans les poissons																																																																																																														
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																																																																														
<b>Pays</b>	Brésil																																																																																																														
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Geophagus brasiliensis</i> (brazilian snapper)																																																																																																														
<b>Présente en Europe</b>	OUI																																																																																																														
<b>Présente en France</b>	OUI																																																																																																														
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>PSPs</b>																																																																																																														
<b>Protocole expérimental</b>	Les échantillons d'eau proviennent de 2 points du réservoir Alagados : un au point le plus profond du réservoir (P1) et un point à faible profondeur (P2) à 720 m du premier point. Les poissons ont été collectés en novembre 2007, février 2008 et mai 2008. Des pools d'environ 10g de muscle ont été réalisés pour déterminer le contenu en toxines pour chaque groupe.																																																																																																														
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle																																																																																																														
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																																														
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC-FD																																																																																																														
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) Limites de détection pour différents variants indiqués dont 0,89 ng/l pour STX																																																																																																														
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	<p>La présence de cyanobactéries par rapport au phytoplancton total est de 40% au printemps et de 88% en été et à l'automne. Seules des GTXs sont détectées dans l'eau.</p> <p><b>Table 1</b> Physical-, phytoplankton-, and PST analyses of the water from Alagados Reservoir in spring of 2007, and summer and autumn of 2008 (mean of P1 - near the dike; and P2 - at the edge).</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Spring</th> <th>Summer</th> <th>Autumn</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Temperature (°C)</td> <td>23.5</td> <td>26.9</td> <td>16.8</td> </tr> <tr> <td>Dissolved O<sub>2</sub> (mg/l)</td> <td>8.5</td> <td>9.5</td> <td>6.2</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>8.2</td> <td>8.6</td> <td>7.4</td> </tr> <tr> <td>Cyanobacteria (Cells/ml)</td> <td>28,237</td> <td>119,743</td> <td>116,911</td> </tr> <tr> <td><i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Cells/ml)</td> <td>27,180</td> <td>110,758</td> <td>107,398</td> </tr> <tr> <td>Total phytoplankton (Cells/ml)</td> <td>63,269</td> <td>124,927</td> <td>123,178</td> </tr> <tr> <td>STX eq. (ng/L)</td> <td>5.15</td> <td>43.84</td> <td>50.78</td> </tr> <tr> <td>PST</td> <td>GTX 2, 3 and 5</td> <td>GTX 2, 3, 4 and 5</td> <td>GTX 2, 3, 4 and 5</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Table 2</b> Total PST concentration, concentration in STX eq. and PST profiles in % ng/L in water from Alagados Reservoir, in spring of 2007 and summer and autumn of 2008, in P1 (near the dike) and P2 (at the edge).</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th rowspan="2">STX eq. (ng/L)</th> <th rowspan="2">Total PST concentration (ng/L)</th> <th colspan="4">Percentage of total PST (% ng/L)</th> </tr> <tr> <th>GTX 2</th> <th>GTX 3</th> <th>GTX 4</th> <th>GTX 5</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="7"><b>Spring</b></td> </tr> <tr> <td>P1</td> <td>4.60</td> <td>38.25</td> <td>13.69</td> <td>7.68</td> <td>bdl*</td> <td>78.61</td> </tr> <tr> <td>P2</td> <td>5.69</td> <td>9.71</td> <td>58.7</td> <td>41.29</td> <td>bdl*</td> <td>bdl*</td> </tr> <tr> <td colspan="7"><b>Summer</b></td> </tr> <tr> <td>P1</td> <td>48.81</td> <td>82.76</td> <td>27.45</td> <td>12.04</td> <td>56.74</td> <td>3.75</td> </tr> <tr> <td>P2</td> <td>38.87</td> <td>63.50</td> <td>27.85</td> <td>13.32</td> <td>58.81</td> <td>bdl*</td> </tr> <tr> <td colspan="7"><b>Autumn</b></td> </tr> <tr> <td>P1</td> <td>18.11</td> <td>37.39</td> <td>54.15</td> <td>27.89</td> <td>15.19</td> <td>2.75</td> </tr> <tr> <td>P2</td> <td>83.44</td> <td>117.21</td> <td>bdl*</td> <td>5.40</td> <td>93.17</td> <td>1.41</td> </tr> </tbody> </table> <p>* bdl = below detection limit</p>		Spring	Summer	Autumn	Temperature (°C)	23.5	26.9	16.8	Dissolved O <sub>2</sub> (mg/l)	8.5	9.5	6.2	pH	8.2	8.6	7.4	Cyanobacteria (Cells/ml)	28,237	119,743	116,911	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Cells/ml)	27,180	110,758	107,398	Total phytoplankton (Cells/ml)	63,269	124,927	123,178	STX eq. (ng/L)	5.15	43.84	50.78	PST	GTX 2, 3 and 5	GTX 2, 3, 4 and 5	GTX 2, 3, 4 and 5		STX eq. (ng/L)	Total PST concentration (ng/L)	Percentage of total PST (% ng/L)				GTX 2	GTX 3	GTX 4	GTX 5	<b>Spring</b>							P1	4.60	38.25	13.69	7.68	bdl*	78.61	P2	5.69	9.71	58.7	41.29	bdl*	bdl*	<b>Summer</b>							P1	48.81	82.76	27.45	12.04	56.74	3.75	P2	38.87	63.50	27.85	13.32	58.81	bdl*	<b>Autumn</b>							P1	18.11	37.39	54.15	27.89	15.19	2.75	P2	83.44	117.21	bdl*	5.40	93.17	1.41
	Spring	Summer	Autumn																																																																																																												
Temperature (°C)	23.5	26.9	16.8																																																																																																												
Dissolved O <sub>2</sub> (mg/l)	8.5	9.5	6.2																																																																																																												
pH	8.2	8.6	7.4																																																																																																												
Cyanobacteria (Cells/ml)	28,237	119,743	116,911																																																																																																												
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Cells/ml)	27,180	110,758	107,398																																																																																																												
Total phytoplankton (Cells/ml)	63,269	124,927	123,178																																																																																																												
STX eq. (ng/L)	5.15	43.84	50.78																																																																																																												
PST	GTX 2, 3 and 5	GTX 2, 3, 4 and 5	GTX 2, 3, 4 and 5																																																																																																												
	STX eq. (ng/L)	Total PST concentration (ng/L)	Percentage of total PST (% ng/L)																																																																																																												
			GTX 2	GTX 3	GTX 4	GTX 5																																																																																																									
<b>Spring</b>																																																																																																															
P1	4.60	38.25	13.69	7.68	bdl*	78.61																																																																																																									
P2	5.69	9.71	58.7	41.29	bdl*	bdl*																																																																																																									
<b>Summer</b>																																																																																																															
P1	48.81	82.76	27.45	12.04	56.74	3.75																																																																																																									
P2	38.87	63.50	27.85	13.32	58.81	bdl*																																																																																																									
<b>Autumn</b>																																																																																																															
P1	18.11	37.39	54.15	27.89	15.19	2.75																																																																																																									
P2	83.44	117.21	bdl*	5.40	93.17	1.41																																																																																																									
<b>Résultats</b>	Le profil toxinique dans les muscles montre la présence de GTXs pour tous les échantillons. La GTX5 est le composé dominant représentant presque 100% pour tous les échantillons. Aucune différence dans les concentrations en toxines dans les muscles n'est observée en fonction des périodes d'échantillonnage.																																																																																																														

	<p><b>Table 3</b> Total PST concentration, concentration in STX eq. and toxins in muscle of <i>Geophagus brasiliensis</i> from Alagados Reservoir.</p> <table border="1" data-bbox="561 259 1107 427"> <thead> <tr> <th></th> <th>Spring (7 pools, n = 24)</th> <th>Summer (5 pools, n = 25)</th> <th>Autumn (2 pools, n = 15)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Total PST concentration (µg/100 g)</td> <td>2.21 ± 1.56</td> <td>3.06 ± 1.45</td> <td>2.40 ± 0.09</td> </tr> <tr> <td>STX eq. (µg/100 g)</td> <td>1.22 ± 0.87</td> <td>1.97 ± 0.93</td> <td>1.54 ± 0.05</td> </tr> <tr> <td>PST</td> <td>GTX 3, 4 and 5</td> <td>GTX 3 and 5</td> <td>GTX 3 and 5</td> </tr> </tbody> </table>		Spring (7 pools, n = 24)	Summer (5 pools, n = 25)	Autumn (2 pools, n = 15)	Total PST concentration (µg/100 g)	2.21 ± 1.56	3.06 ± 1.45	2.40 ± 0.09	STX eq. (µg/100 g)	1.22 ± 0.87	1.97 ± 0.93	1.54 ± 0.05	PST	GTX 3, 4 and 5	GTX 3 and 5	GTX 3 and 5
	Spring (7 pools, n = 24)	Summer (5 pools, n = 25)	Autumn (2 pools, n = 15)														
Total PST concentration (µg/100 g)	2.21 ± 1.56	3.06 ± 1.45	2.40 ± 0.09														
STX eq. (µg/100 g)	1.22 ± 0.87	1.97 ± 0.93	1.54 ± 0.05														
PST	GTX 3, 4 and 5	GTX 3 and 5	GTX 3 and 5														
<b>Conclusion</b>	<p><b>La concentration en PSP dans le muscle des poissons est similaire pour les 3 périodes de l'année, indépendamment des différences en comptage de cellules de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> et du niveau de STXeq dans l'eau.</b>  <b>La GTX5 est la toxine prédominante dans les muscles (presque 100%) mais elle n'est pas la toxine prédominante dans l'eau sauf au printemps. Les GTX 2, 3 et 4 sont majoritaires.</b>  <b>Elles seraient métabolisées en GTX5, forme moins toxique.</b></p>																
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																
<b>Commentaires</b>																	
<b>Informations complémentaires</b>																	

<b>Référence</b>	da Silva et al. (2011). First report about saxitoxins in freshwater fish <i>Hoplias malabaricus</i> through trophic exposure, <i>Toxicon</i> 57, 141-147.
<b>Objectifs</b>	Evaluer la bioaccumulation de STX dans <i>H. malabaricus</i> après exposition subchronique et chronique
<b>Type d'étude</b>	Laboratoire
<b>Pays</b>	Non pertinent
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b> <b>Présente en Europe</b> <b>Présente en France</b>	<i>Hoplias malabaricus</i> poisson tigre NON OUI (en Guyane) <sup>69</sup>
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>STXs</b>
<b>Protocole expérimental</b>	10 poissons ont été nourris une fois tous les 5 jours avec <i>Astyanax</i> sp avant inoculation intrapéritonéale d'un lysat de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> contenant 97% de STX et 3% de neoSTX et GTX2. Dose administrée de 0,08 µg/100g de poisson, total des 4 doses
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle
<b>Voie d'exposition</b>	Intrapéritonéal
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC/FD
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	3 (valide avec restriction) Limites de détection pour différents variants indiqués dont 0,89 ng/l pour STX
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Aucun
<b>Résultats</b>	Aucune détection de STX, neoSTX et GTX (1, 2, 3, 4, 5) dans les muscles des poissons.
<b>Conclusion</b>	<b>L'exposition des poissons aux STX n'a pas permis de détecter ces toxines dans les muscles.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<sup>69</sup> [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/419108/tab/rep/GUF](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/419108/tab/rep/GUF)

<b>Référence</b>	Galvao et al. (2009). Saxitoxins accumulation by freshwater tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) for human consumption, <i>Toxicon</i> 54, 891-894.
<b>Objectifs</b>	Déterminer l'accumulation des toxines en présence d'efflorescences à cyanobactéries et l'efficacité de la dépuración
<b>Type d'étude</b>	Environnemental
<b>Pays</b>	Brésil
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oreochromis niloticus</i> tilapia
<b>Présente en Europe</b>	OUI
<b>Présente en France</b>	OUI
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>STX, nodularine, anatoxine a, CYN, microcystines</b>
<b>Protocole expérimental</b>	Les poissons ont été collectés avant et après le processus de dépuración. 24 poissons adultes de 1kg environ ; 12 examinés sans dépuración et 12 avec dépuración pendant 5 jours sans nourriture. Au moment du prélèvement des poissons, collection d'échantillons d'eau (3 bouteilles de 1 l) pour la concentration en cyanotoxines. Echantillons de cyanobactéries à partir d'un filet à plancton
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle, foie
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel
<b>Méthode d'analyse</b>	HPLC/FD
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) limite de détection donnée pour certains variants
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Présence d' <i>Anabaena spiroides</i> qui peut produire des STX mais aucun comptage associé
<b>Résultats</b>	<p>Seules STX et dcSTX ont été détectées dans les tissus des poissons. Après la période de dépuración, diminution des concentrations en STX dans les tissus des tilapias.</p> <p>Fig. 2. Saxitoxin and related compound concentrations in the (A) water of the tank, (B) liver fish and (C) muscle fish before and (*) after depuration process. Results were obtained by HPLC-FD. Values are presented as the mean ± SE of three water samples and twelve fish per group (before or after depuration process).</p>
<b>Conclusion</b>	<b>Les concentrations en STX dans les poissons peuvent être aisément diminuées par un simple processus de dépuración de quelques jours.</b>
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible
<b>Commentaires</b>	
<b>Informations complémentaires</b>	

<b>Référence</b>	Hardy et al. (2015). Cyanotoxin bioaccumulation in freshwater fish, Washington State, USA, Environ Monitor Assess 187, 667.														
<b>Objectifs</b>	Déterminer si la présence de cyanotoxines dans les tissus des poissons peut représenter un problème de santé publique														
<b>Type d'étude</b>	Environnemental														
<b>Pays</b>	USA, Etat de Washington														
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> truite arc en ciel														
<b>Présente en Europe</b>	OUI														
<b>Présente en France</b>	OUI														
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>STX, anatoxine a, microcystines</b>														
<b>Protocole expérimental</b>	Pendant l'été et l'automne 2010 (Mai, Juillet, Aout, Septembre, et Octobre), des échantillons de filets de poissons ont été collectés dans 8 lacs de l'état de Washington présentant des efflorescences significatifs à cyanobactéries.														
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Muscle														
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel														
<b>Méthode d'analyse</b>	ELISA (BioScientific)														
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	4 (non valide) LD = 0,48 à 0,83 µg/kg de poids frais.														
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Aucune donnée concernant la présence de cyanobactéries au moment des prélèvements ni de quantités de cyanotoxines dans l'eau														
<b>Résultats</b>	La saxitoxine n'est pas détectée dans les muscles des poissons à ou au-dessus d'environ 0,5 à 0,8 µg/kg.  <b>Table 8 Results of saxitoxin analysis in fish fillet samples from 2010 (µg/kg, wet weight)</b>  <table border="1"> <thead> <tr> <th>Lake</th> <th>Species</th> <th>Date</th> <th>Saxitoxin</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">Waughop</td> <td rowspan="3">Rainbow trout</td> <td rowspan="3">27 May</td> <td>&lt;0.70</td> </tr> <tr> <td>&lt;0.75</td> </tr> <tr> <td>&lt;0.48</td> </tr> <tr> <td>Ketchum</td> <td>Rainbow trout</td> <td>24 Aug</td> <td>&lt;0.83</td> </tr> </tbody> </table>	Lake	Species	Date	Saxitoxin	Waughop	Rainbow trout	27 May	<0.70	<0.75	<0.48	Ketchum	Rainbow trout	24 Aug	<0.83
Lake	Species	Date	Saxitoxin												
Waughop	Rainbow trout	27 May	<0.70												
			<0.75												
			<0.48												
Ketchum	Rainbow trout	24 Aug	<0.83												
<b>Conclusion</b>	<b>Pas de détection de STX dans les muscles des poissons</b>														
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible														
<b>Commentaires</b>															
<b>Informations complémentaires</b>															

<b>Référence</b>	Oliveira et al. (2006). Toxicity and toxin identification in <i>Colomesus asellus</i> , an Amazonian (Brazil) freshwater puffer fish, <i>Toxicon</i> 48, 55-63.																																																																																
<b>Objectifs</b>	Identification de PSP (STX et GTX) responsables de la toxicité de <i>C. asellus</i>																																																																																
<b>Type d'étude</b>	Environnemental																																																																																
<b>Pays</b>	Brésil																																																																																
<b>Espèce(s) de poisson étudiée (s)</b>	<i>Colomesus asellus</i> (Amazon freshwater puffer)																																																																																
<b>Présente en Europe</b>	NON																																																																																
<b>Présente en France</b>	NON																																																																																
<b>Cyanotoxines étudiées</b>	<b>STX, TTX (tétrodotoxines)</b>																																																																																
<b>Protocole expérimental</b>	24 spécimens de <i>C. asellus</i> ont été collectés dans le rivièrè Tocantins, dans la ville portuaire de Cameta (Brésil) en mars 2003 (longueur totale variant de 9 à 15,6 cm et poids de 18 à 96 g). 6 extraits ont été analysés chacun comportant un pool de 3 à 6 individus.																																																																																
<b>Tissus/organes étudiés</b>	Corps entier																																																																																
<b>Voie d'exposition</b>	Milieu naturel																																																																																
<b>Méthode d'analyse</b>	Bio-essai sur souris, ELISA, HPLC-FLD et LC-MS																																																																																
<b>Niveau de confiance de la méthode d'analyse</b>	1 pour le bioessai sur souris (méthode AOAC) et 4 (non valide) pour les autres																																																																																
<b>Lien avec le nombre de cellules de cyanobactéries ou la concentration en cyanotoxines dans l'eau ?</b>	Source potentielle de l'origine bactérienne de cette toxine non recherchée																																																																																
<b>Résultats</b>	<p>Les concentrations en STX dans les poissons étaient comprises entre 19,4 et 53,2 MU/g par bioessai sur souris. L'analyse par HPLC-FLD a confirmé la présence de STX en forte proportion et seulement des traces de GTX2 et 3 (pas de détection de TTX).</p> <p>Table 1 Toxicity of <i>Colomesus asellus</i> extracts (MU means mouse unit) evaluated by different techniques</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">Sample</th> <th rowspan="3">Number of specimens</th> <th rowspan="3">Average body weight (g)</th> <th colspan="4">Toxicity</th> <th rowspan="3">ELISA<sup>a</sup></th> </tr> <tr> <th colspan="2">Mouse bioassay</th> <th colspan="2">HPLC</th> </tr> <tr> <th>MU/g</th> <th>MU/indiv</th> <th>MU/g</th> <th>MU/indiv</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4</td> <td>172.00</td> <td>53.2</td> <td>2287.5</td> <td>17.74</td> <td>764.5</td> <td>0.0045</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>4</td> <td>162.60</td> <td>31.2</td> <td>1268.3</td> <td>4.99</td> <td>202.8</td> <td>0.0057</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>3</td> <td>82.60</td> <td>46.0</td> <td>1267.5</td> <td>10.18</td> <td>280.3</td> <td>0.0022</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>6</td> <td>176.80</td> <td>44.0</td> <td>1296.7</td> <td>5.35</td> <td>157.6</td> <td>0.0032</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>3</td> <td>212.20</td> <td>37.8</td> <td>2675.0</td> <td>4.36</td> <td>308.4</td> <td>0.0027</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>4</td> <td>121.50</td> <td>19.4</td> <td>590.20</td> <td>3.23</td> <td>98.1</td> <td>0.0064</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>38.60 ± 12.01</td> <td>1564.20 ± 768.49</td> <td>7.64 ± 5.49</td> <td>301.95 ± 239.45</td> <td>0.0041 ± 0.0017</td> </tr> <tr> <td>Positive control<sup>b</sup></td> <td>285</td> <td>10.92</td> <td>45.53</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>nd</td> <td>93.77</td> </tr> </tbody> </table>	Sample	Number of specimens	Average body weight (g)	Toxicity				ELISA <sup>a</sup>	Mouse bioassay		HPLC		MU/g	MU/indiv	MU/g	MU/indiv	1	4	172.00	53.2	2287.5	17.74	764.5	0.0045	2	4	162.60	31.2	1268.3	4.99	202.8	0.0057	3	3	82.60	46.0	1267.5	10.18	280.3	0.0022	4	6	176.80	44.0	1296.7	5.35	157.6	0.0032	5	3	212.20	37.8	2675.0	4.36	308.4	0.0027	6	4	121.50	19.4	590.20	3.23	98.1	0.0064				38.60 ± 12.01	1564.20 ± 768.49	7.64 ± 5.49	301.95 ± 239.45	0.0041 ± 0.0017	Positive control <sup>b</sup>	285	10.92	45.53	nd	nd	nd	93.77
Sample	Number of specimens				Average body weight (g)	Toxicity				ELISA <sup>a</sup>																																																																							
						Mouse bioassay		HPLC																																																																									
		MU/g	MU/indiv	MU/g		MU/indiv																																																																											
1	4	172.00	53.2	2287.5	17.74	764.5	0.0045																																																																										
2	4	162.60	31.2	1268.3	4.99	202.8	0.0057																																																																										
3	3	82.60	46.0	1267.5	10.18	280.3	0.0022																																																																										
4	6	176.80	44.0	1296.7	5.35	157.6	0.0032																																																																										
5	3	212.20	37.8	2675.0	4.36	308.4	0.0027																																																																										
6	4	121.50	19.4	590.20	3.23	98.1	0.0064																																																																										
			38.60 ± 12.01	1564.20 ± 768.49	7.64 ± 5.49	301.95 ± 239.45	0.0041 ± 0.0017																																																																										
Positive control <sup>b</sup>	285	10.92	45.53	nd	nd	nd	93.77																																																																										
<b>Conclusion</b>	<b>Accumulation de STX par ce poisson</b>																																																																																
<b>Qualité de l'étude</b>	Faible																																																																																
<b>Commentaires</b>																																																																																	
<b>Informations complémentaires</b>																																																																																	

**Notes**

---