



Programme
des Nations Unies
pour l'environnement

UNEP(OCA)/MED WG.35/Inf.3
22 avril 1992

FRANCAIS
Original: ANGLAIS

PLAN D'ACTION POUR LA MEDITERRANEE

Réunion des Coordonnateurs nationaux pour le MED POL

Athènes, 6 - 9 mai 1992

**ÉVALUATION DE L'ÉTAT DE LA POLLUTION DE LA MER MÉDITERRANÉE
PAR LES SUBSTANCES CANCÉRIGÈNES, TÉRATOGENÈS ET MUTAGÈNES**

En coopération avec:



ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

PNUE
Athènes, 1992

TABLE DES MATIÈRES

	<u>Page</u>
1. <u>RAPPEL DES FAITS</u>	1
2. <u>INTRODUCTION</u>	3
3. <u>ÉVALUATION DE LA POLLUTION</u>	5
3.1 Substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes pertinentes à la pollution marine	5
3.1.1 Substances d'origine naturelle	5
3.1.2 Substances d'origine anthropique	6
3.2 Effets des facteurs environnementaux sur les processus de transformation et de dégradation	9
3.2.1 Sort des cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans le milieu marin	9
3.2.2 Transformations microbiologiques	9
3.2.3 Interactions chimiques	10
3.2.4 Transformations photomédiées	12
3.2.5 Processus de bioaccumulation et de bioamplification	13
3.3 Sources et apports	14
3.4 Niveaux relevés en Méditerranée	17
4. <u>ÉVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES MARINS</u>	24
4.1 Effets sur les organismes marins	24
4.1.1 Effets métaboliques	24
4.1.2 Effets cancérigènes	33
4.1.2.1 Etudes de cancérogénicité expérimentale	33
4.1.2.2 Etudes sur le terrain	36
4.1.3 Mutagénicité et autres effets connexes	38
4.1.3.1 Détection des mutagènes dans l'eau de mer, les sédiments et les organismes marins	38
4.1.3.2 Détection des adduits de substances cancérigènes sur l'ADN dans les organismes marins	39

	<u>Page</u>
4.1.3.3	41
4.1.3.4	41
4.1.4	43
4.2	44
5. <u>ÉVALUATION DU RISQUE POUR L'HOMME</u>	45
5.1	45
5.2	48
5.2.1	48
5.2.2	51
5.2.3	53
5.2.4	54
5.2.5	55
5.2.6	56
5.2.7	57
5.2.8	59
5.2.9	60
5.2.10	62
5.2.11	63
5.2.12	65
5.3	67
6. <u>MESURES ANTIPOLLUTION</u>	69
6.1	69
6.2	70
7. <u>RÉFÉRENCES</u>	74

1. RAPPEL DES FAITS

L'article 8 de la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution, adoptée par les Etats riverains de la région à Barcelone le 16 février 1976, et entrée en vigueur le 12 février 1978, stipule que les Parties contractantes prennent toutes les mesures appropriées pour prévenir, réduire et combattre la pollution de la zone de la mer Méditerranée due aux déversements par les fleuves, les établissements côtiers ou les émissaires, ou émanant de toute autre source située sur leur territoire (PNUE, 1982).

Conformément aux dispositions de cet article et d'autres d'une nature plus générale énoncés dans la Convention, les Etats côtiers méditerranéens ont adopté le Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, à Athènes le 17 mai 1980. Ledit Protocole est entré en vigueur le 17 juin 1983.

L'article 5 du Protocole stipule que les Parties contractantes s'engagent à éliminer la pollution d'origine tellurique de la zone du Protocole par les substances énumérées à l'annexe I au Protocole et que, à cette fin, elles élaborent et mettent en oeuvre, conjointement ou individuellement selon le cas, les programmes et mesures nécessaires. Le même article stipule également que ces programmes et mesures comprennent notamment des normes communes d'émission et des normes d'usage et que les normes et les calendriers d'application pour la mise en oeuvre des programmes et mesures visant à éliminer la pollution d'origine tellurique sont fixés par les Parties et réexaminés périodiquement, au besoin tous les deux ans, pour chacune des substances énumérées à l'annexe I, conformément aux dispositions de l'article 15 du présent Protocole.

L'annexe I au Protocole comprend, à l'une de ses rubriques, les substances dont il est prouvé qu'elles possèdent un pouvoir cancérigène, tératogène ou mutagène dans le milieu marin ou par l'intermédiaire de celui-ci.

L'article 7 du Protocole stipule que les Parties contractantes élaborent et adoptent progressivement, en collaboration avec les organisations internationales compétentes, des lignes directrices et, le cas échéant, des normes ou critères communs concernant notamment la qualité des eaux de mer utilisées à des fins particulières, nécessaire pour la protection de la santé humaine, des ressources biologiques et des écosystèmes.

Au 31 mars 1991, l'ensemble des 18 Etats méditerranéens et la Communauté européenne avaient ratifié, approuvé la Convention de Barcelone de 1976, ou y avaient adhéré, et seize Etats côtiers méditerranéens et la Communauté européenne avaient fait de même pour le Protocole d'Athènes de 1980.

A leur Quatrième réunion ordinaire tenue à Gênes du 9 au 13 septembre 1985, les Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et aux Protocoles y relatifs sont convenues que, s'agissant de l'application technique du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, le Secrétariat proposerait un ordre de priorité et un calendrier réaliste pour l'élaboration de programmes et de mesures concernant au moins deux substances (ou groupes de substances) chaque année, y compris des normes communes d'émission et d'usage, comme l'exige la mise en application du Protocole et que, pour cette proposition, les substances de l'annexe I du Protocole seraient étudiées en priorité (PNUE, 1985a). Conformément à cette décision, une réunion d'experts sur l'application technique du Protocole a été organisée à Athènes par le PNUE, du 9 au 13 décembre 1985. La réunion a approuvé un plan de travail et un calendrier pour l'application progressive du Protocole qui

comportaient l'élaboration par étapes d'évaluations de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances énumérées aux annexes I et II du Protocole, assorties de mesures antipollution proposées sur la base de ces évaluations (PNUE, 1985b). Il était convenu que ces documents d'évaluation devraient notamment comprendre des chapitres consacrés aux:

- sources, points d'entrée et quantités de polluants dus aux rejets industriels, municipaux et autres dans la mer Méditerranée;
- niveaux de pollution;
- effets de la pollution;
- mesures légales, administratives et techniques existant aux niveaux national et international.

Le plan de travail et le calendrier pour l'application du Protocole ont été approuvés par les Parties contractantes lors de leur Cinquième réunion ordinaire à Athènes, du 7 au 11 septembre 1987 (PNUE, 1987).

Dans le cadre des préparatifs concernant l'évaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes, l'OMS et le PNUE ont organisé conjointement à Athènes, du 23 au 25 juin 1988, une consultation sur les polluants marins cancérigènes et mutagènes en Méditerranée (WHO/UNEP, 1988). La réunion est convenue du plan général du document, et elle a renforcé les préparatifs d'une étude pilote de surveillance continue de substances prioritaires. Cette étude a été réalisée entre 1989 et 1991 dans certaines zones côtières d'Italie, d'Espagne et de Yougoslavie, par l'Institut d'hygiène et de médecine préventive de l'Université de Gênes, le Laboratoire de chimie environnementale de l'Institut national de recherche sur le cancer, Gênes, le Département de biologie environnementale de l'Université de Sienne, le Département de chimie environnementale, Centre pour la recherche et le développement, CSIC, Barcelone, et le Département de chimie nucléaire, Institut Josef Stefan, Ljubljana.

Le présent document, dont la responsabilité technique d'ensemble a été confiée à l'Organisation mondiale de la santé, a été principalement établi par le Professeur S. De Flora, Institut d'hygiène et de médecine préventive, Université de Gênes, Italie, et par le Professeur P. Grasso, Robens Institute, Université du Surrey, Royaume-Uni. On s'y efforce de fournir une évaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par certaines substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes ainsi que des effets de facteurs environnementaux de la Méditerranée sur le sort de ces substances, sur la base des informations disponibles jusqu'à ce jour, et d'exposer à grands traits les principaux risques pour les organismes marins et pour l'homme. Certaines des substances ont déjà fait l'objet d'évaluations antérieures dans un cadre toxicologique général. Dans le présent document, on s'est borné à leurs effets cancérigènes, mutagènes et/ou tératogènes effectifs ou potentiels.

Le document propose également des mesures qui pourraient être prises par les Etats méditerranéens en vue d'atténuer la situation, dans le cadre du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique.

2. INTRODUCTION

Evaluer l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les agents cancérigènes, mutagènes et tératogènes représente un exercice extrêmement complexe; mais tracer les conséquences nocives possibles de cette pollution pour les biotes marins exposés et, indirectement, pour l'organisme humain, est une tâche encore plus ardue.

Le premier problème scientifique consiste à classer les polluants marins en cancérigènes, mutagènes et/ou tératogènes. A supposer que ce premier pas soit franchi, l'identification par analyse chimique d'un composé affecté à l'une ou plusieurs de ces catégories ne suffira pas à prédire les risques toxicologiques de l'eau de mer, des sédiments ou des biotes. De fait, les polluants des écosystèmes marins sont précisément les constituants de mélanges complexes et l'on sait qu'ils subissent toute une série d'interactions et de biotransformations aussi bien dans le milieu marin que dans les organismes-hôtes. Ces mécanismes sont susceptibles de modifier leurs propriétés toxicologiques, dans le sens d'une activation ou, plus fréquemment, d'une détoxification.

En plus de ces problèmes - et d'autres qui seront examinés aux prochaines sections du présent document -, une approche objective de la question du milieu marin comme source possible de risques cancérigènes, mutagènes et tératogènes pour les organismes marins et l'homme devrait prendre en compte l'existence d'agents à effets compensateurs dans le même milieu. Il s'agit là d'un phénomène particulièrement important dans le milieu marin en raison des concentrations très faibles de ces types de polluants. D'une manière générale tous les arguments qui sont habituellement avancés pour justifier l'importance de facteurs de risque d'origine environnementale dans la pathogénie de certaines affections, telles que le cancer, peuvent aussi bien servir à étayer le rôle des facteurs de protection dans l'environnement. En effet, l'apparition d'affections chroniques dégénératives résulte de l'interférence de facteurs de risque et de facteurs antirisque, puis de l'incidence de ces forces opposées sur l'homéostasie des organismes-hôtes. Par exemple, des anomalies squelettiques du poisson peuvent se produire non seulement après une exposition à des agents chimiques toxiques mais aussi par suite d'une carence d'un agent protecteur, comme l'acide ascorbique, au cours du développement spinal (Hodson, 1987).

L'organisme possède un impressionnant système de défense contre les agents toxiques, y compris les agents mutagènes, cancérigènes et tératogènes, et il convient de remarquer que la plupart, sinon l'ensemble, des processus de défense physiologiques peuvent être modulés par voie exogène. On a découvert des dizaines de ces divers mécanismes grâce auxquels des agents antimutagènes et anticancérigènes peuvent inhiber le développement de ces états pathologiques multifactoriels et multistades (De Flora et Ramel, 1988). Chez l'homme, ces mécanismes peuvent être exploités à des fins chimiopréventives, offrant une stratégie supplémentaire de prévention primaire qui complète l'objectif de réduire l'exposition aux facteurs de risque.

Sous les conditions naturelles, les xénobiotiques peuvent moduler la réponse de l'hôte à l'agression par des agents toxiques. Cela est également valable pour des organismes vivant dans le milieu marin qui ont même été proposés comme modèles pour l'évaluation de l'efficacité des agents antimutagènes et anticancérigènes. Par exemple, le poisson a été assez largement utilisé non seulement dans des études de cancérogénicité expérimentale (voir section 4.1.2.1) mais même dans des essais d'anticancérogénicité à grande échelle, par exemple dans *Salmo gairdneri*, où l'on a observé que l'indole-3 carbinol, le butylhydroxyanisole et la b-naphtoflavone alimentaires retentissaient sur le

métabolisme, la formation d'adduits sur l'ADN et l'hépatocarcinogénicité par l'aflatoxine B1 (Nixon *et al.*, 1984; Goeger *et al.*, 1986 et 1988; Dashwood *et al.*, 1988).

Toute une série d'inhibiteurs potentiels de la mutagenèse et de la carcinogénèse ont été isolés du milieu marin. Par exemple, on a découvert que plus de 20 thiols se trouvaient dans des échantillons d'eau interstitielle sédimentaire provenant de la baie de Biscaney (Floride) par suite de formation géochimique due à la réaction entre le sulfure d'hydrogène et la matière organique sédimentaire. Un thiol important décelé était l'acide 3-mercaptopropionique, mais le thiol méthane et le glutathion étaient également présents à des concentrations notables (Vairavamurthy et Mopper, 1987). Ces composés organosulfurés comptent parmi les agents protecteurs les plus prometteurs, manifestant toute une série de mécanismes antimutagènes et anticarcinogènes (De Flora *et al.*, 1991a). Les dérivés de la prénylhydroquinone isolés de l'urocordé marin *Apidium californicum* ont révélé des propriétés antioxydantes et protégé contre le cancer et la mutation dans des systèmes expérimentaux (Howard *et al.*, 1979). La bryostatine 1, une lactone macrocyclique isolée du bryozoaire marin *Bugula neritina*, a activé une protéine-kinase C, le principal récepteur des esters de phorbol qui sont des promoteurs tumoraux, et elle a inhibé la promotion tumorale par ces agents dans la peau de souris (Hennings *et al.*, 1987). Une glycoprotéine antitumorale, l'aplyasine E, qui induit une lyse des tumeurs, a été isolée et purifiée à partir d'oeufs du lièvre de mer (*Aplysia kurodai*) (Kisugi *et al.*, 1987). Des oeufs d'invertébrés marins, tels que les oursins, contiennent environ 2 mM de glutathion et 5 mM de 4 mercaptohistidine, avec leurs dérivés amino-méthylés et nitro-méthylés au noyau N1, appelés ovothiols (Hartman et Shankel, 1990). Ces composés agissent comme des glutathion-péroxydases non enzymatiques, en servant d'antioxydants (Shapiro et Turner, 1988). On doit attacher une importance toute particulière au fait que certains invertébrés aquatiques se sont avérés être capables de survivre et de se reproduire dans des eaux fortement polluées. Un tel phénomène a été relié à la production de la glycoprotéine P-170 membranaire, codée par le gène *mdr-1*. Comme il a également été démontré dans la moule d'eau douce *Anodonta cygnea* et dans l'invertébré marin *Phylla*, la résistance à de multiples agents toxiques est associée à une expression réduite des enzymes métabolisantes de la phase I (monooxygénases cytochrome P-450-dépendantes) et une expression accrue des enzymes conjugantes de la phase II comme la glutathion-S-transférase et la glutathion-péroxydase (Kurelec et Pivcevic, 1989). Il est également établi que le poisson renferme de grosses quantités de vitamines et d'acides gras n-3-poly-non saturés à chaîne longue protecteurs, tels que les acides eicosapenténoïque, docosapenténoïque et docosahexaénoïque. Dans des études portant sur des rongeurs, l'alimentation à l'huile de poisson a entraîné une inhibition des tumeurs mammaires aussi bien greffées qu'induites par agents carcinogènes, ce que l'on peut attribuer éventuellement à un déplacement de l'acide linoléique et de l'acide arachidonique dans les lipides membranaires et à l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique (Karmali, 1989).

Malheureusement, les facteurs protecteurs peuvent assez souvent se comporter comme des armes à double tranchant et, en fonction de conditions particulières telles que la voie d'administration, les doses, le moment et la séquence de l'apport, etc., ils peuvent déclencher des effets nocifs. Cela dépend des propriétés multiples de plusieurs inhibiteurs potentiels et de l'extrême complexité des mécanismes régulant la réponse de l'hôte aux xénobiotiques. Ainsi, des éléments nutritifs essentiels dotés d'un rôle protecteur notoire peuvent devenir une cause d'affection et, réciproquement, des polluants typiques peuvent agir comme inhibiteurs du développement d'affections. Le premier cas est illustré par le sélénium qui, principalement comme constituant de l'enzyme glutathion-péroxydase, est un antioxydant et un anticarcinogène notoire. En fait, un faible apport de sélénium est associé à une incidence accrue de certaines formes de cancer (Diplock, 1984). Par contre, un excès

de cet élément nutritif est toxique pour la plupart des organismes, y compris les biotes marins (GESAMP 28, 1986). Un exemple de polluants marins typiquement dangereux qui peuvent protéger contre le cancer nous est fourni par les polychlorobiphényles (PCB) qui sont de puissants inducteurs des oxydases à fonctions mixtes non seulement chez les mammifères mais aussi chez le poisson. Etant donné que ce système enzymatique partage des propriétés d'activation et de détoxification, dans certains cas sa stimulation peut inhiber la mutagénèse et la cancérogénèse. Par exemple, la mutagénicité de l'aflatoxine B1 dans le test de réversion d'Ames, en présence de fractions post-mitochondriales hépatiques provenant de *Salmo gairdneri*, a été notablement diminuée quand le poisson était préalablement traité aux PCB Aroclor 1242, Aroclor 1254 ou Aroclor 1260 (Stott et Sinnhuber, 1978). Ces résultats concordent avec plusieurs études d'anticancérogénicité dans la même espèce de poisson indiquant que l'Aroclor 1254 a la capacité d'inhiber la cancérogénèse du foie et la formation d'adduits sur l'ADN par l'aflatoxine B1 (Shelton *et al.*, 1986). Un autre exemple est celui de l'arsenic dont les produits comestibles de la mer représentent la source principale d'apport chez l'homme. L'arsenic est susceptible de provoquer chez l'homme des effets nocifs après une exposition prolongée (GESAMP 28, 1988), mais des études expérimentales sur la souris ont mis en évidence sa capacité d'inhiber notablement les tumeurs spontanées du poumon (Kanisawa et Schroeder, 1967).

Toutes ces considérations revêtent de l'importance dans l'estimation du risque imputable aux substances cancérogènes, mutagènes et tératogènes dans le milieu marin.

3. EVALUATION DE LA POLLUTION

3.1 Substances cancérogènes, mutagènes et tératogènes pertinentes à la pollution marine

3.1.1 Substances d'origine naturelle

Bien qu'il soit manifeste que les produits chimiques de synthèse sont ceux qui suscitent les plus vives préoccupations en matière de pollution (notamment marine), il convient de remarquer en préambule que les agents naturels ne sont pas exempts de risques cancérogènes, mutagènes et tératogènes. Selon ce que pensent certains du moins, les "pesticides naturels" sont beaucoup plus importants que les "pesticides de synthèse" comme facteurs de risque cancérogène (Ames *et al.*, 1987). Le milieu marin a fait expressément l'objet de considérations du même ordre (Payne et Rahimtula, 1989). Par exemple, les végétaux marins produisent des haloformes tels que le bromoforme et le dibromochlorométhane, de même que le chloroforme cancérogène. Des composés polyhalogénés isolés d'une algue marine se sont avérés être mutagènes, l'un d'entre eux, l'EMS (éthyl-méthanesulfonate), étant 200 fois plus puissant qu'un agent mutagène et cancérogène de synthèse typique (Leary *et al.*, 1979). On a estimé que la production globale de iode de méthyle, agent mutagène et cancérogène, pourrait être 80 fois plus élevée que la quantité résultant de la pollution industrielle (Payne et Rahimtula, 1989). On a également avancé que les algues marines pourraient représenter une source importante de chlorure de méthyle qui est le principal halocarbène dans l'atmosphère (Zafiriou, 1975). Diverses substances potentiellement dangereuses ont été décelées dans l'espèce algale *Asparagopsis* recueillie dans le golfe de Californie, dans la mer des Caraïbes et à Hawaï, ainsi que dans *A. armata* recueillie sur le littoral méditerranéen de l'Espagne (Mower, 1983).

Selon une observation récente d'un grand intérêt scientifique, en recourant à la technique de postmarquage à ^{32}P (voir section 4.1.3.2), des populations naturelles des

espèces de poisson d'eau douce *Leuciscus cephalus*, *Barbus barbus*, *Abramis brama*, *Vimba vimba carinata* et *Cyprinus carpio*, ainsi que du poisson marin *mugil auratus* capturé dans la mer Adriatique, ont révélé la présence de 4 à 9 adduits qualitativement similaires sur l'ADN hépatique. La présence de ces adduits de cancérigènes sur l'ADN a été décelée que le poisson eût été capturé dans des eaux polluées ou non polluées, ce qui autorise à penser que la plupart des modifications de l'ADN chez le poisson sont occasionnées par des facteurs naturels plutôt que par des produits chimiques d'origine anthropique (Kurelec *et al.*, 1989). Toutefois, selon une autre étude, l'ADN hépatique de silures nains capturés dans des cours d'eau pollués contenaient plusieurs adduits que l'on ne pouvait pas déceler dans l'ADN hépatique de poisson élevés en aquarium (Dunn *et al.*, 1987).

3.1.2 Substances d'origine anthropique

Il est pratiquement impossible de compiler une liste exhaustive des substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes se rapportant à la pollution marine. D'une manière générale, l'évaluation de ces propriétés est extrêmement difficile et prête souvent à controverse sur le plan scientifique (voir section 4). Les familles chimiques comprennent généralement une grande diversité de composés structurellement apparentés et dont les différences d'effet toxicologique ne sont guère prévisibles. Pour citer un exemple, le GESAMP a identifié jusqu'à 800 hydrocarbures chlorés intéressant le milieu marin, dont 58 sont classés dans le groupe à faible poids moléculaire (C1 à C3), 249 dans le groupe à poids moléculaire moyen (C4 à C6) et 413 dans le groupe à poids moléculaire élevé (au delà de C6). Même en ne tenant aucun compte de la cancérogénicité, de la mutagénicité et de la tératogénicité, il existe un gradient des propriétés nocives de ces composés, sans frontière ou séparation bien tranchée entre les plus nocifs et les moins nocifs (GESAMP, 1990). L'identification analytique de substances potentiellement dangereuses dans le milieu marin ne suffit pas à prétendre que des risques réels peuvent résulter du même milieu. En outre, certains des polluants incriminés, comme les métaux, sont également des éléments nutritifs essentiels. La spéciation des produits chimiques, par ex., la valence des métaux ou la complexation avec des ligands organiques, devrait également être prise en compte. Enfin, il convient aussi de souligner que plusieurs agents cancérigènes reconnus ne sont dangereux que s'ils sont inhalés et non après ingestion.

Des listes provisoires de produits cancérigènes dans le milieu marin ont été établies au moyen de la base de données disponible dans les Monographies du CIRC sur l'évaluation des risques cancérigènes pour l'homme. Selon l'importance des preuves tirées d'enquêtes épidémiologiques parmi les populations humaines et des études de cancérogénicité chez l'animal, et en s'appuyant sur les indications des tests à court terme, les agents incriminés sont classés par le CIRC comme cancérigènes (groupe 1), probablement cancérigènes (groupe 2A) ou éventuellement cancérigènes (groupe 2B) pour l'homme. Les composés pour lesquels on ne dispose pas de preuves suffisantes sont classés dans le groupe 3. Il convient de souligner que ce classement ne rend compte que de l'importance des preuves de cancérogénicité pour l'homme et qu'il ne doit pas être considéré comme une indication du pouvoir cancérigène. Par exemple, il est significatif qu'aucun des hydrocarbures aromatiques polycycliques, qui sont souvent de puissants mutagènes *in vitro* et de puissants cancérigènes chez l'animal, ne peut être rangé dans le groupe 1 en raison du manque de données épidémiologiques pour ces divers composés.

Se fondant sur le Supplément 7 des volumes 1 à 42 des Monographies du CIRC (IARC, 1987), L & IS (1988) a communiqué la liste suivante de 29 agents cancérigènes incriminés présents dans le milieu marin:

1. **Métaux:** arsenic et nickel (groupe 1); cadmium (groupe 2A); plomb (groupe 2B).
2. **Hydrocarbures aromatiques polycycliques:** benz(a)anthracène et benzo(a)pyrène (groupe 2A); benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène et indéno(1,2,3-*cd*)pyrène (groupe 2B); anthracène, benzo(*ghi*)pérylène, benzo(e)pyrène, chrysène, phénanthrène, pyrène et triphénylène (groupe 3).
3. **Composés organiques chlorés:** polychlorobiphényles (groupe 2A); DDT, 1,2-dichloroéthane, lindane, tétrachlorométhane, trichlorométhane, toxaphène (groupe 2B); aldrine, chlordane, dieldrine, heptachlor, trichloroéthylène et chlorure de vinylidène (groupe 3).

En utilisant les mêmes données du CIRC, Wilbourn et Kauppinen (1989) ont estimé que les produits chimiques ou mélanges complexes du groupe 1 ci-après étaient susceptibles de se rencontrer comme polluants dans l'eau de mer ou les organismes marins: brai de houille, goudron de houille et huiles minérales (pollution locale), suie. S'agissant de l'amiante, de la benzidine, des composés de chrome hexavalent et des composés de nickel, la situation a été jugée incertaine. Les produits relevant du groupe 2A signalés comme étant les polluants marins potentiels les plus importants étaient les suivants: polychlorobiphényles (PCB), cadmium et composés cadmiques, les hydrocarbures aromatiques polycycliques benz(a)anthracène, benzo(a)pyrène et dibenz(a,h)anthracène, et les chréosotes. Les nitrosamines du groupe 2A, la *N*-nitrosodiméthylamine et la *N*-nitrosodiéthylamine, ont également été décelées dans quelques échantillons de poisson. Parmi les composés du groupe 2B, les hydrocarbures chlorés chloroforme, tétrachlorure de carbone, 1,2-dichloroéthane, dichlorométhane et tétrachloroéthylène ont été décelés dans divers échantillons d'eau, mais seuls le chloroforme et le tétrachloroéthylène l'ont été dans des organismes marins. L'acrylamide pourrait se rencontrer dans l'eau quand les polyacrylamides sont utilisés dans les opérations de forage. Les pesticides comme le lindane, le DDT, le mirex et le toxaphène peuvent s'accumuler dans le poisson. Les chlorophénols, notamment le pentachlorophénol, peuvent être décelés dans les biotes et se rencontrer comme polluants marins. La 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-para-dioxine (TCDD) pourrait être présente dans des organismes de zones de pollution locale. De nombreux hydrocarbures aromatiques polycycliques, dont plusieurs ont été détectés dans des eaux polluées, sont classés dans le groupe 2B, qui comprend également des mélanges complexes comme le carburant diesel (maritime), le fioul (résiduel) et l'essence (Wilbourn et Kauppinen, 1989).

Une première liste de produits chimiques, groupes de produits chimiques et produits de procédés industriels qui sont considérés comme cancérigènes pour l'homme a été établie par le Groupe de travail 13 du GESAMP. Cette liste a été étoffée en y incluant également les agents cancérigènes pour l'animal ainsi que les agents cancérigènes possibles ou incriminés pour l'homme (liste 2). Bon nombre de ces agents, tels que l'arsenic, le chlordane, la créosote, le DDT, la dieldrine, l'hépatochlor, le lindane et les polychlorobiphényles, ont été trouvés dans les sédiments, les eaux et les biotes marins (Malins et Jensen, 1988), bien que cela n'implique pas automatiquement qu'ils fassent courir un risque cancérigène aux organismes marins, voire à l'homme par la voie marine.

Paradoxalement, même des substances servant à réduire la pollution marine peuvent posséder des propriétés génotoxiques. Ce peut être le cas des dispersants d'hydrocarbures se composant de divers mélanges d'agents tensioactifs, de solvants d'hydrocarbures et d'agents stabilisants qui sont utilisés comme antidotes en cas de déversements accidentels d'hydrocarbures. En outre, bien qu'une nouvelle génération de

dispersants présentent une toxicité moindre, ces produits peuvent exercer des effets toxiques pour les biotes marins. Par exemple, un dispersant du pétrole a provoqué des déformations spinales dans les oeufs éclos du bar (*Dicentrarchus labrax*) (Tudor et Katavic, 1987). Plusieurs échantillons de dispersants d'hydrocarbures, soit seuls, soit mélangés avec du pétrole brut, ont été non mutagènes au test de réversion d'Ames (Petrilli *et al.*, 1980). D'autres études ont confirmé l'inactivité des dispersants du pétrole avec le même test ou avec le chromotest SOS sur *E. coli*, et avec le même test de génotoxicité utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* (souche D5), en évaluant le crossing-over mitotique et d'autres effets génétiques. Cependant, les dispersants ont occasionné des dommages à l'ADN dans *E. coli*, estimés en évaluant la toxicité différentielle dans les souches compétentes en réparation et celles déficientes en réparation (De Flora *et al.*, 1985).

Un autre exemple important nous est fourni par l'acide nitrilotriacétique (NTA) qui a été préconisé et utilisé, souvent en quantités contrôlées, comme substitut aux polyphosphates dans les produits de lessive ménagers. A ce titre, il s'agit d'un moyen précieux pour prévenir l'eutrophisation dans les eaux marines, mais qui constitue également un contaminant massif des masses d'eau marines recevant des rejets d'eaux usées domestiques. Le NTA est un cancérigène avéré chez l'animal (IARC, vol. 48, 1990). Bien qu'il soit généralement considéré comme un cancérigène non génotoxique, il a donné des réactions positives avec certains tests à court terme, comme celui de l'induction de micronuclei dans les racines de *Vicia faba* et d'*Allium cepa* (De Marco *et al.*, 1986), un test de réparation de l'ADN dans *E. coli* (Venier *et al.*, 1987) et l'induction d'aneuploïdie chez la drosophile (Costa *et al.*, 1988). A l'exception importante de ce cas et d'autres, comme celui des hydrocarbures halogénés et de certains métaux, la plupart des polluants cancérigènes sont également génotoxiques. D'autre part, il existe aussi plusieurs exemples de substances mutagènes qui ont donné des résultats négatifs ou douteux lors des essais de cancérogénicité, souvent parce qu'elles ont tendance à être détoxiquées dans l'organisme-hôte (De Flora *et al.*, 1989b). La question de la détection des mutagènes dans l'eau de mer, les sédiments et les biotes marins sera examinée à la section 4.1.3.1.

Selon certains auteurs, les processus de mutagénèse, cancérogénèse et tératogénèse ont quelques dénominateurs communs. Toutefois, la contribution du dommage génétique à la tératogénèse suscite encore des débats pour plusieurs séries de polluants structurellement apparentés, tels que les pesticides organochlorés et les pesticides organophosphorés (Landsdown, 1990). A la fin 1985, le Registre des effets toxiques des substances chimiques (RTECS) comprenait jusqu'à 4.508 dénominations de produits chimiques associés à des effets sur la reproduction. Au début 1987, la liste s'était étoffée à 6.917 entrées (Kolb Meyers, 1988). Bien que le registre comprenne également des polluants marins typiques, une liste spécifique des tératogènes du milieu marin n'est pas disponible. Dans une étude de la bibliographie sur l'association possible entre des malformations et 23 expositions, les PCB et le méthylmercure constituaient deux des trois produits chimiques pour lesquels on relevait des indices solides d'une tératogénicité en expérimentation animale et d'un risque élevé chez l'homme, inféré d'études épidémiologiques (Hemminki et Vineis, 1985). Les pesticides organophosphorés se sont avérés posséder des propriétés tératogènes également dans les organismes aquatiques (voir section 4.1.4). Plusieurs pesticides organochlorés sont connus pour être embryotoxiques et cancérigènes chez les rongeurs, mais il est à remarquer que le DDT a des effets opposés en prolongeant la vie reproductive et en protégeant contre les effets tératogènes d'autres produits chimiques (Landsdown, 1990). Là encore, comme dans le cas des cancérigènes et des mutagènes, il convient de tenir compte de ce que les niveaux de substances tératogènes dans le milieu marin devraient vraisemblablement être très faibles.

3.2 Effets des facteurs environnementaux sur les processus de transformation et de dégradation

3.2.1 Sort des cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans le milieu marin

Une fois que les cancérigènes, mutagènes et tératogènes ont été introduits dans le milieu marin, leur sort dépend de divers facteurs qui peuvent aboutir à leur activation ou, plus fréquemment, à leur détoxification. En premier lieu, la stabilité dépend de la nature chimique des molécules des polluants. En général, les génotoxines directes sont des molécules réactives et qui, de ce fait, ont tendance à se dégrader facilement par la voie de la décomposition chimique, biochimique ou photochimique. Bien plus stables sont les procancérigènes, les promutagènes et les protératogènes qui sont intrinsèquement des molécules inertes nécessitant une conversion en métabolites proximaux et ultimes en vue d'acquérir des propriétés électrophiles. Cette conversion se produit d'ordinaire au niveau intracellulaire chez les organismes-hôtes, y compris les organismes marins, qui possèdent le mécanisme métabolique inductible nécessaire à la biotransformation des xénobiotiques (voir section 4.1.1). Toutefois, l'activation en des dérivés électrophiles peut aussi être obtenue par voie photodynamique (voir section 3.2.4). Les cancérigènes non génotoxiques, tels que les pesticides organochlorés, se biodégradent très difficilement et ils ont une longue rémanence (jusqu'à 15 ans) dans l'environnement (Grasso, 1989). Habituellement, les composés organiques et inorganiques de métaux sont également stables. Mais leurs formes stables sont souvent dénuées de toxicité, comme dans le cas du chrome qui est répandu dans l'environnement sous sa forme trivalente non toxique.

Des xénobiotiques dangereux peuvent interagir dans le milieu marin avec des micro-organismes (section 3.2.2), d'autres produits chimiques (3.2.3), ou le rayonnement solaire (3.2.4), pour produire des dérivés détoxiqués ou activés, souvent caractérisés par une biodisponibilité accrue par rapport aux composés précurseurs. Ces processus peuvent aussi se combiner. Par exemple, on a estimé que la photooxydation des PAH pourrait accroître leur sensibilité à la minéralisation microbienne (McElroy *et al.*, 1989). Un autre mécanisme important est représenté par les phénomènes d'absorption/désorption entre les xénobiotiques et les sédiments ou les matières particulaires en suspension jouant un rôle central comme véhicules de transport des polluants toxiques (Landner, 1976). Plus concrètement, plusieurs mécanismes peuvent expliquer les associations de polluants avec des particules dans l'eau de mer, à savoir:

- (i) la précipitation ou les interactions hydrophobes avec la surface particulaire;
- (ii) la co-précipitation avec des oxydes hydratés de fer et de manganèse sous forme de couches ou de flocons de précipité;
- (iii) l'incorporation dans les structures réticulaires minérales, les organismes et les matières fécales; ou
- (iv) la flocculation de matières inorganiques et organiques colloïdales au cours du brassage des eaux usées et des cours d'eau (Olsen *et al.*, 1982).

3.2.2 Transformations microbiologiques

Plusieurs polluants sont accumulés par la flore bactérienne peuplant l'eau de mer et les sédiments marins, et ils ont tendance à être transformés au niveau intracellulaire par diverses voies métaboliques (Cerniglia et Heitkamp, 1989). Habituellement, ce genre de

transformation conduit à des produits détoxiqués. La biodégradation est si efficace que les bactéries sont souvent exploitées dans l'épuration des effluents domestiques et industriels ainsi que dans la réduction de polluants spécifiquement métabolisés.

Cependant, dans certains cas, les produits libérés dans le milieu marin après la lyse des cellules bactériennes peuvent être toxiques pour les organismes supérieurs. Le cas de ce type le plus caractéristique et qui a été amplement étudié est celui du mercure inorganique qui est méthylé par diverses espèces bactériennes et fongiques marines pour donner du méthylmercure. Comme il est bien établi, le mercure organique bioaccumulé est plus toxique que le mercure inorganique pour les organismes supérieurs, y compris l'homme, en agissant principalement sur leur système nerveux central, à la suite d'une exposition après la naissance, notamment dans la petite enfance, ou par l'intermédiaire du placenta (GESAMP 28, 1986).

3.2.3 Interactions chimiques

Les polluants du milieu marin subissent toute une série d'interactions avec d'autres polluants de même qu'avec des constituants chimiques normaux de l'écosystème contaminé. Les combinaisons de substances différentes peuvent avoir pour conséquence d'additionner leurs propriétés toxiques (effet additif) ou de renforcer leur toxicité (synergie), dans quelques cas avec des effets multiplicateurs, ou bien de réduire leur toxicité (antagonisme). Le résultat des interactions chimiques, souvent avec un nombre extrêmement élevé de combinaisons, n'est dans la plupart des cas guère prévisible.

Plusieurs interactions se produisant dans l'eau de mer et les biotes marins méritent d'être évoquées ici dans la mesure où des problèmes cancérigènes, mutagènes et tératogènes sont concernés. Par exemple, l'interaction entre les constituants normaux de l'eau de mer et le chlore rejeté par les systèmes de refroidissement de centrales électriques aboutit à la formation de toute une série de produits toxiques. La demande totale de l'eau de mer de la Méditerranée pour le chlore est faible, de l'ordre du mg/l (Rav-Acha *et al.*, 1989). La chimie de la chloration de l'eau de mer est même plus complexe que celle de la chloration de l'eau douce ou des effluents, en raison surtout de la teneur élevée de l'eau de mer en bromure. La réaction du chlore avec le bromure donne plusieurs composés bromés, tels que Br_2 , $HBrO$, BrO^- et BrO_3^- , et des composés interhalogénés sont également produits. Au lieu de chloroamines, des bromoamines sont formées, avec prédominance de la dibromoamine. Les dérivés résultant de la chloration de l'eau de mer possèdent diverses propriétés toxiques, et on leur connaît ou présume un comportement mutagène et/ou cancérigène (Davies et Middaugh, 1978; Rav-Acha *et al.*, 1989).

Il se pourrait que la présence concomitante dans l'eau de mer de divers composés halogénés comme les polychlorobiphényles plans, les dioxines chlorées/bromées, les dibenzofuranes, les polychlorodibenzodioxines et les polychlorodibenzofuranes entraîne des effets additifs, mais cette question mérite des études plus approfondies, en évaluant aussi la possibilité d'interactions avec d'autres contaminants (Nordisk Expertgrupp, 1988). De puissants chélateurs de synthèse tels que l'EDTA et le DTPA paraissent diminuer la toxicité des métaux lourds pour le poisson. Cet effet a été attribué à un déplacement des métaux des branchies vers d'autres parties de l'organisme où ils occasionnent des dommages moindres, ainsi qu'à une excrétion accrue des métaux (Landner, 1976). L'interaction des dispersants du pétrole avec ce dernier peut accroître ses effets toxiques en libérant ses produits de dégradation (Marine Biological Association of the United Kingdom, 1970), lesquels sont par contre plus facilement dilués dans l'eau de mer. Des doses élevées de NTA peuvent libérer des ions métalliques à action toxique de composés insolubles (comme

le chromate de plomb), provoquant ainsi divers effets génétiques et notamment l'induction de micronuclei dans les cellules branchiales de *Mytilus galloprovincialis* (Gola *et al.*, 1986).

S'agissant des divers hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH), contrairement aux études expérimentales les touchant et pour lesquelles on dispose d'une littérature considérable, ces composés se présentent toujours sous forme de mélanges complexes dans les environnements. Jusqu'à 500 PAH distincts ont été identifiés en un même site, avec de nombreux autres composés organiques et inorganiques, dans des sédiments proches de zones urbaines (Malins *et al.*, 1984). La cancérogénicité de divers PAH et des mélanges complexes contenant des PAH a été évaluée dans une série des Monographies du CIRC (IARC, volumes 32 à 35, 1983-1985), avec des indications de leurs propriétés toxiques, mutagènes et tératogènes. Une question controversée est de savoir si des combinaisons de divers PAH peuvent entraîner des effets additifs, synergiques ou antagonistes en fonction de toute une série de facteurs tels que la quantité et les caractères chimiques des composés ainsi que de la disponibilité d'enzymes métabolisantes et/ou de substrats dans l'organisme-hôte. Il convient de remarquer que la mutagénicité du benzo(a)pyrène dans le test de réversion sur *Salmonella* n'a pas été modifiée par des dispersants du pétrole, alors qu'elle était inhibée par l'adjonction de pétrole brut et de ses extraits, indépendamment de la présence de dispersants (Petrilli *et al.*, 1980). On a également observé une suppression de la mutagénicité du benzo(a)pyrène en présence d'autres mélanges complexes comme des fractions de sables bitumineux (Shahin et Fournier, 1978), des fractions d'huile de schiste (Pelroy et Petersen, 1979) et des huiles minérales (Hermann *et al.*, 1980), et on a attribué cette suppression à l'inhibition de l'activation métabolique de ce promutagène (Haugen et Peak, 1983). Il est vraisemblable que le même mécanisme explique, l'inhibition de la mutagénicité du benzo(a)pyrène par un composé métallique, à savoir le sel de chrome hexavalent bichromate de sodium (Petrilli et De Flora, 1982).

La réaction possible entre un nitrite et des composés aminés pour former des dérivés *N*-nitrosés est une question d'un intérêt tout particulier. Sur plus de 300 composés de cette famille chimique dont la cancérogénicité a été recherchée, 90% au moins ont produit des tumeurs chez 40 espèces animales (Bartsch *et al.*, 1985). La formation de composés *N*-nitrosés se produit habituellement dans le milieu acide de l'estomac et peut être prévenue en présence d'acide ascorbique ou de divers autres inhibiteurs (Bartsch *et al.*, 1988). Le poisson représente l'une des sources les plus caractéristiques de précurseurs nitrosables, en raison notamment de quantités notables de diméthylamine et de triméthylamine. Ce dernier composé résulte de la métabolisation bactérienne d'oxyde de triméthylamine, un produit final du métabolisme de l'azote chez le poisson, après la mort (Jebsen et Riaz, 1977). On a constaté que la consommation par l'homme de poisson s'accompagnait d'une augmentation significative de l'excrétion urinaire des méthylamines (Zeisel et DaCosta, 1986), et le mélange de nitrite avec des homogénats de poisson dans un milieu acide simulé entraînait la formation, inhibable par un ascorbate, de dérivés mutagènes et cancérigènes (Marquardt *et al.*, 1977; Weisburger *et al.*, 1980; Stich *et al.*, 1982). On peut débattre de la question de savoir si une formation importante de composés *N*-nitrosés peut se produire également dans l'eau de mer et les organismes marins, en tenant compte de ce que tant du nitrite que des amines secondaires se trouvent à très faibles concentrations dans les eaux naturelles. On a pu mettre en évidence la formation de diméthylnitrosamines dans des eaux usées ou des eaux lacustres recevant à la fois de fortes concentrations de nitrite et de diméthylamine ou triméthylamine (Ayanaba et Alexander, 1974). En outre, on a observé que l'exposition *in vivo* de *Salmo gairdneri* à de l'eau de lac enrichie par des quantités sublétales de nitrite de sodium entraînait la formation de dérivés mutagènes et dommageables pour l'ADN dans le muscle de poisson (De Flora et

Arillo, 1983). Il reste à établir si ces observations s'appliquent également et sont pertinentes au milieu marin dans des conditions réelles.

3.2.4 Transformations photomédiées

La composante UV du rayonnement solaire représente peut-être le mutagène le plus largement répandu dans la nature. De fait, son incidence sur le cancer humain est bien établie, encore qu'assez mal définie dans plusieurs aspects qualitatifs et quantitatifs. En raison de la faible capacité de pénétration des longueurs d'onde dommageables pour l'ADN en milieu aqueux, il est peu probable que la lumière solaire ait d'importantes conséquences directes sur les biotes marins, bien qu'on ne puisse exclure des effets potentiels.

Une possibilité plus plausible est que les composantes de la lumière solaire interagissent avec les polluants répandus à la surface de l'eau de mer ou dans la partie supérieure de la colonne d'eau, produisant ainsi des modifications dans leur structure moléculaire et leur activité biologique (Payne et Phillips, 1985). Dans quelques cas, il peut se produire une photodégradation de certains composés, comme il a été constaté par exemple avec des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Fox et Olive, 1979; Valerio et Lazzarotto, 1985; Holloway *et al.*, 1987). Un autre exemple nous est fourni par les dispersants d'hydrocarbures dont la capacité d'induction d'un dommage non réparable de l'ADN dans *E. coli* a été réduite après exposition à la lumière solaire (De Flora *et al.*, 1985), ce qui est à mettre en rapport avec l'observation selon laquelle la toxicité des dispersants d'hydrocarbures pour *Artemia* était diminuée en présence de lumière solaire (Moraitou-Apostolopoulou et Verriopoulos, 1987).

La possibilité de conversion de molécules inactives en dérivés génotoxiques par suite d'effets photodynamiques revêt un intérêt encore plus grand. Un rayonnement ultraviolet lointain a converti de la dieldrine et du p,p'-DDE, mais non du p,p'-DDT, qui sont généralement classés comme cancérigènes non génotoxiques, en faibles mutagènes directs lors du test de réversion sur *Salmonella* (De Flora *et al.*, 1989a). Ce type de rayonnement n'atteint habituellement pas la surface de la terre, mais il est parfois utilisé dans de petits appareils d'épuration de l'eau. Le rayonnement solaire est capable d'activer des promutagènes/procancérigènes en dérivés à action directe, comme on l'a observé avec plusieurs hydrocarbures aromatiques polycycliques, des amines aromatiques et des aflatoxines (passés en revue par De Flora *et al.*, 1989a). Des mélanges complexes, comme les combustibles de synthèse dérivés du charbon et du schiste, ont également été activés par la lumière (Selby *et al.*, 1987). La photoactivation, qui pouvait être avant tout imputée aux longueurs d'onde du proche ultraviolet, n'est pas survenue en atmosphère d'azote, mais a été amplifiée en atmosphère d'oxygène pur. On sait que l'interaction entre rayonnement et oxygène aboutit à la formation d'oxygène à l'état singulet qui peut oxyder des promutagènes en intermédiaires réactifs. La photoactivation des mutagènes est en rapport avec la durée et l'intensité de l'exposition à la lumière solaire dans la mesure où le phénomène est suivi de la dégradation de mutagènes directs après une exposition prolongée à la lumière. Néanmoins, une fois formés et transférés dans l'obscurité, les mutagènes photoactivés sont extrêmement stables, comme on l'a vu par exemple avec la 2-amino-3,4-diméthylimidazo [4,5-f] quinoline (MeIQ), dont le photodérivé a maintenu inchangée la mutagénicité directe même après 2 ans et 3 mois de stockage à la température ambiante (De Flora *et al.*, 1989a).

La photoactivation est en rapport avec les caractères structurels des composés irradiés. Par exemple, l'analyse d'une série d'amines aromatiques structurellement apparentées, à savoir le 2-amino-fluorène, le 2-acétylamino-fluorène, le 4-

acétylaminofluorène, le 1-aminoanthracène, le 2-aminoanthracène, la 1-naphtylamine et la 2-naphtylamine, a montré que l'activation par la lumière solaire exige que le groupe aminé soit à la position 2 de la molécule de fluorène. De même, l'analyse de deux paires d'arylamines hétérocycliques, à savoir le 3-amino-1,4-diméthyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-1), le 3-amino-1-méthyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-2), la 2-amino-3-méthylimidazo[4,5-*f*]quinoléine(IQ) et la MeIQ, a montré que le Trp-P-1 et le Trp-P-2 ne sont pas photoactivés, tandis que IQ et MeIQ sont extrêmement sensibles à la lumière solaire (De Flora *et al.*, 1989a). Dans le cas des amines aromatiques (Strniste *et al.*, 1986) comme dans celui des amines hétérocycliques (Hirose *et al.*, 1990), l'acquisition d'une mutagénicité directe dépend de la conversion dans les nitrodérivés correspondants.

Le phénomène de la photoactivation est susceptible d'avoir des conséquences manifestes sur la dissémination dans l'environnement de mutagènes et de cancérigènes qui, à la différence de leurs précurseurs non irradiés, sont censés avoir une incidence plus directe sur les tissus exposés, sans que ne soit aucunement nécessaire une nouvelle activation métabolique dans l'organisme-hôte. Cependant, l'applicabilité des constatations relevées en laboratoire aux conditions prévalant sur le terrain et notamment au milieu marin justifie la poursuite des études. Il convient de noter que la fixation du benzo(a)pyrène à l'ADN et d'autres macromolécules dans l'éponge *Tethya lyncurium* recueillie dans le nord de la mer Adriatique et dans les eaux côtières californiennes de l'océan Pacifique ne s'est produite qu'en présence de lumière (Zahn *et al.*, 1981, 1982 et 1983). Comme les éponges n'ont pas d'activité oxygénase à fonctions mixtes décelable, on a avancé l'hypothèse que les photodérivés du benzo(a)pyrène stables pourraient être transportés aux couches du fond et réagir avec les macromolécules des éponges à l'obscurité (Zahn *et al.*, 1982).

3.2.5 Processus de bioaccumulation et de bioamplification

Les produits chimiques en traces, y compris les substances dangereuses, peuvent être présents dans les organismes aquatiques supérieurs par suite de bioamplification à travers la chaîne alimentaire. Le méthylmercure est le composé prototype pour cette sorte de processus de bioaccumulation qui est également caractéristique des radionucléides à période longue. Des informations spécifiques sur les substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes sont assez rares, et toute une série de phénomènes complexes rendent plutôt problématique la compréhension des mécanismes sous-jacents. Comme les poissons migrateurs représentent certains des prédateurs les plus élevés dans le milieu aquatique, la survenue de processus de bioaccumulation peut contribuer à la dissémination de substances dangereuses dans les organismes marins même à distance des milieux pollués (Kurelec *et al.*, 1989). La concentration des polluants dans les biotes marins ne dépend pas seulement du niveau trophique des organismes concernés dans le réseau alimentaire mais aussi de leur longévité, de leur taux de croissance et de leur poids corporel ainsi que des caractères des polluants eux-mêmes, tels que les coefficients de solubilité et de partage eau/lipides dans les tissus hôtes, la rémanence, la vitesse du métabolisme, l'excrétion, etc. En outre, il convient de prendre en compte que, pour certains polluants, l'apport par ingestion est moins important que l'apport à partir de l'eau traversant les branchies. C'est le cas des hydrocarbures de pétrole, pour lesquels l'apport direct à partir de l'eau de mer ou des sédiments paraît être plus important que l'accumulation à travers la chaîne alimentaire (Landner, 1976). Par contre, les pesticides organochlorés sont médiocrement disponibles à partir de l'eau de mer en raison de leur très faible solubilité, et ils s'accumulent de préférence à travers le réseau trophique (Kerr et Vass, 1973). Cependant, à la lumière d'études plus récentes, la situation n'est même pas claire pour les polluants consistant en hydrocarbures chlorés (PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990). Comme exemple s'appliquant aux métaux dangereux, l'arsenic ne paraît pas être bioamplifié dans

les chaînes alimentaires marines, bien qu'il soit bioaccumulé par plusieurs espèces. Ainsi, les algues marines contiennent de l'arsenic à des concentrations 2.000 à 5.000 fois supérieures à celles de l'eau de mer (GESAMP no 28, 1986).

Un autre exemple notoire de bioconcentration de polluants à partir de l'eau de mer est fourni par des bivalves comme les moules qui peuvent agir comme filtres non sélectifs, filtrant jusqu'à 1,5 litre d'eau de mer par heure, et accumulant ainsi les micro-organismes et les substances nocives qui sont présentes en quantités traces dans le milieu environnant (Mix, 1986). C'est pourquoi, comme il est signalé à la section 4.1.3.4, les moules peuvent être utilisées non seulement comme indicateurs de la pollution chimique, radioactive ou microbiologique, mais aussi comme cibles des gènes toxiques de l'eau de mer. On peut en dire autant des éponges qui sont également des organismes filtres vivant dans les régions benthiques du plateau continental et filtrent un litre d'eau à chaque heure par 10 grammes de ces biotes (Vogel, 1977).

3.3 Sources et apport

Les processus naturels, les eaux usées urbaines générales et les effluents industriels ou agricoles spécifiques peuvent expliquer la pollution de l'eau de mer par les substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes. L'importance respective des sources naturelles et anthropogènes varie selon le type de polluant, souvent avec une contribution mixte. Toutefois, la source de pollution par les produits chimiques organiques de synthèse est toujours anthropique (Magos, 1989). La charge de pollution annuelle d'origine tellurique de la Méditerranée, qu'elle prenne naissance dans la zone côtière à partir de sources domestiques, industrielles ou agricoles, ou qu'elle soit véhiculée par les cours d'eau, a fait l'objet d'estimations provisoires pour un certain nombre de polluants. Les paramètres estimés comprenaient le volume total rejeté, la matière organique, les éléments nutritifs (phosphore et azote), certains composés organiques spécifiques (détergents, phénols, huiles minérales), plusieurs métaux (mercure, plomb, chrome, zinc), les matières en suspension, les pesticides organochlorés, et les radionucléides. Il en a été conclu que 60 à 65% de la charge totale provient des sources côtières, dont la moitié de l'industrie, un quart des eaux usées domestiques et un quart de l'agriculture approximativement (Helmer, 1977; UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1984). Il est également évident que, pour toutes sortes de raisons, ces estimations sont incertaines et que l'on peut les considérer exactes avec une marge d'erreur d'environ un ordre de grandeur (Helmer, 1977). Il s'avère aussi extrêmement difficile de quantifier l'apport spécifique de substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes, en raison notamment des incertitudes de la classification de ces substances dangereuses et du manque d'études systématiques.

L'apport atmosphérique de polluants constitue une source supplémentaire de contamination de l'eau de mer. Selon le GESAMP (1980), l'échange de matières à travers l'interface air/mer peut s'effectuer comme suit:

(a) Transport descendant

Gazeux

- (i) humide - incorporation dans les précipitations
- (ii) sec - transfert direct à travers l'interface air/mer

Particulaire

- (iii) entraînement par la pluie
- (iv) lavage par la pluie

Sec

- (v) dépôt gravitationnel/brownien
- (vi) piégeage par les bulles d'écume

(b) **Transport ascendant**

Gazeux

- (vii) évaporation moléculaire à partir de la surface
- (viii) purge par bulles

Particulaire

- (ix) éclatement de bulles et pulvérisation.

Voici les principales sources de pollution par les hydrocarbures en Méditerranée selon le PNUE/OMI/COI (1987):

- (1) suintements naturels et érosion de roches sédimentaires;
- (2) déversements accidentels et déversements opérationnels (production d'eau) provenant des installations de production pétrolières offshore;
- (3) déchets du raffinage et du stockage des hydrocarbures;
- (4) transport maritime comprenant:
 - (a) rejets opérationnels des navires-citernes (eaux de ballast, de cales et de lavage des citernes);
 - (b) opérations aux terminaux et mises en soute (par ex., déversements accidentels, ruptures d'oléoducs ou de réservoirs de stockage);
 - (c) travaux sur cale sèche;
 - (d) eaux de cale et fioul (eaux des salles de machines, boues de fioul, ballast huileux des réservoirs de carburant);
 - (e) déversements accidentels des navires-citernes et autres navires;
- (5) navigation de plaisance;
- (6) immersions en mer;
- (7) précipitations atmosphériques;

- (8) eaux usées municipales;
- (9) eaux usées industrielles (en dehors du raffinage);
- (10) ruissellement urbain;
- (11) pollution véhiculée par les cours d'eau.

On a estimé à 635.000 tonnes/an l'apport total d'hydrocarbures de pétrole en Méditerranée. Plus de la moitié de cet apport (330.000 tonnes) est représentée par les hydrocarbures déversés accidentellement par les navires-citernes, par les opérations de ballastage et de chargement, par les pertes d'eaux de cale et des citernes. La quantité déversée imputable aux rejets municipaux et industriels se monte respectivement à 160.000 et 110.000 tonnes, tandis qu'une contribution moins importante bien qu'appréciable (35.000 tonnes) est attribuée au dépôt atmosphérique (PNUE/COI, 1988).

Les hydrocarbures halogénés peuvent contaminer le milieu marin par le ruissellement des terres agricoles, les cours d'eau et les rejets de déchets industriels et municipaux. Selon les conclusions du projet Med X de MED POL-Phase I, la charge totale de pesticides organochlorés véhiculée dans dix aires régionales de la mer Méditerranée par le ruissellement de surface, que ce soit directement ou par l'intermédiaire des cours d'eau, s'établissait à 90 tonnes/an (intervalle de variation: 50 à 200) (UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1984). En outre les pesticides organochlorés et les polychlorobiphényles peuvent être présents dans l'eau de mer par suite de dépôt atmosphérique. Les échanges air/mer, selon les mécanismes sus-mentionnés, peuvent être responsables de la contamination de l'eau de mer par les hydrocarbures halogénés, même à distance des sources de pollution (PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990).

Les métaux peuvent être libérés dans le milieu marin à partir de sources naturelles et anthropiques. Par exemple, le cadmium, comme d'autres métaux - traces, atteint l'eau de mer par les cours d'eau et le ruissellement de surface à la suite d'altérations géologiques par les agents atmosphériques et de l'érosion de l'écorce terrestre. L'activité volcanique dans les grands fonds marins et dans l'atmosphère peut également contribuer à sa dissémination naturelle. Les principales sources anthropiques comprennent les industries métallurgiques, les mines métalliques et les boues d'épuration, mais les eaux usées domestiques et mixtes dans lesquelles le cadmium se trouve en proportions élevées par comparaison avec d'autres métaux-traces, apportent également une contribution. Dans les eaux usées de plusieurs villes méditerranéennes, on a relevé des concentrations de cadmium variant de 0,1 à 25 $\mu\text{g l}^{-1}$ (PNUE/FAO/OMS, 1989). L'arsenic est libéré dans l'environnement comme constituant de pesticides, ou à la suite de fonte ou de grillage de minerais sulfurés, de la combustion de combustibles fossiles, de la lixiviation de déchets exposés provenant d'opérations d'extraction minière et de l'érosion accélérée du sol. Le drainage fluvial de zones comportant des gisements importants de minerais arsénifères constitue également des sources notables d'arsenic (GESAMP 28, 1986). Bien que la présence d'arsenic dans le milieu marin puisse également résulter de l'activité volcanique, de la combustion de végétation et des intempéries continentales, sa libération à partir de sources anthropiques paraît excéder celle qui est imputable à des processus naturels (Mackenzie *et al.*, 1979).

3.4 Niveaux relevés en Méditerranée

La Méditerranée occupe un volume de 3,7 millions de km³, et elle communique avec l'océan Atlantique par l'étroit goulot du détroit de Gibraltar (15 km de large et 365 m de profondeur). La Méditerranée est donc une mer presque fermée, avec une période de renouvellement de ses eaux égale à 80 ans, ce qui entrave la dilution dans les eaux océaniques et favorise l'accumulation de polluants dangereux à longue vie. Par exemple, en dépit du fait que la Méditerranée ait été jusqu'à présent épargnée par des déversements accidentels massifs, on estime qu'elle est relativement plus polluée que toute autre mer sur laquelle on dispose de données (PNUE, 1980). Cependant, comme on le verra plus loin dans le présent document, une telle hypothèse n'est pas étayée par les données quantitatives concernant les hydrocarbures de pétrole dans les sédiments.

Plusieurs études, dont bon nombre ont été menées dans le cadre du programme MED POL, ont permis de rechercher la concentration de composés mentionnés sur la liste des substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans l'eau de mer, les sédiments et les biotes de la Méditerranée. Les données concernant certains polluants dangereux ont récemment fait l'objet d'une analyse détaillée dans des numéros spécifiques de la Série des rapports techniques du PAM, par exemple les hydrocarbures de pétrole (PNUE/FAO/OMS) et les composés organohalogénés (PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990), ainsi que dans un rapport récent consacré à l'état du milieu marin méditerranéen (UNEP, 1989).

Pour récapituler, un grand nombre d'éléments-traces potentiellement nocifs ont été étudiés en Méditerranée. Dans les études MED POL, priorité a été donnée au mercure et au cadmium, car les enquêtes préliminaires avaient indiqué que l'un et l'autre éléments se trouvaient dans les biotes marins à des concentrations élevées. Des données analytiques plus anciennes relatives aux éléments-traces et faisant état pour le cadmium d'une fourchette allant de valeurs inférieures à 0,05 pour atteindre des valeurs de 0,60 µg ℓ⁻¹ dans les eaux du large en Méditerranée (UNEP, 1978) sont à prendre avec quelque réserve en raison de plusieurs insuffisances techniques. Dans des analyses plus récentes, les intervalles signalés vont de 0,004 à 0,017 µg ℓ⁻¹ pour les eaux du large. Cependant, certaines zones côtières de l'Espagne et de l'Italie présentent des concentrations de cadmium supérieures à celles du large (PNUE/FAO//OMS, 1989). Les concentrations de cadmium dans les sédiments de zones côtières recevant des effluents industriels, des déchets solides et des eaux usées domestiques, ainsi que dans les deltas et estuaires fluviaux sont considérablement supérieures aux valeurs de fond de la Méditerranée. On a enregistré dans les biotes marins des concentrations extrêmement variables en fonction de la position de l'organisme dans la chaîne alimentaire, des tissus examinés ainsi que de la concentration et des formes chimiques (formes ioniques, par exemple) du cadmium dans l'eau de mer (PNUE/FAO/OMS, 1989). Des problèmes analogues de spéciation et d'analyse chimique se rencontrent également avec d'autres métaux qui peuvent devenir nocifs sous certaines conditions, tels que l'arsenic et le chrome.

On dispose d'une ample bibliographie sur la présence d'hydrocarbures de pétrole dans les écosystèmes marins, et le nombre des données communiquées pour la région méditerranéenne n'a cessé de croître au cours des dix dernières années, en grande partie à la suite des activités menées dans le cadre des projets MED POL. Dans l'ensemble, les hydrocarbures de pétrole dissous/dispersés (DDPH) dans les eaux du large en Méditerranée présentent des concentrations inférieures à 10 µg ℓ⁻¹, la fraction aliphatique des hydrocarbures pétrogènes étant plus abondante que la fraction aromatique. Les concentrations de DDPH sont beaucoup plus élevées, c'est-à-dire supérieures à 10 µg ℓ⁻¹, près du rivage et notamment au voisinage des zones industrialisées ou des embouchures

de cours d'eau (UNEP, 1989). Si l'on compare avec les données sur les DDPH communiquées pour d'autres régions, la distribution des résultats dans les zones de la Méditerranée autorise à penser qu'on a affaire à deux groupes différents correspondant à des concentrations respectivement inférieures et supérieures à $0,4 \mu\text{g l}^{-1}$ (IOC, 1981). Les données disponibles sur les goudrons pélagiques indiquent que, entre 1969 et 1983, les concentrations moyennes variaient, en Méditerranée, de $0,5$ à 130 mg m^{-2} , la mer Ionienne étant la zone la plus polluée. Les valeurs courantes pour les zones du large paraissent ne pas dépasser 5 mg m^{-2} , alors que dans les eaux voisines du rivage les concentrations se situent dans une fourchette de 10 à 100 mg m^{-2} (PNUE/COI, 1988). Les quantités moyennes de goudrons sur les plages de Méditerranée s'échelonnaient de $0,2$ à 4.388 g m^{-2} (Golik, 1986). De même que les goudrons flottants, les goudrons sur les plages ont eu tendance à décroître très fortement lors des dernières années, suite à l'interdiction, depuis 1978, du déballastage des eaux huileuses et de la libération de composés huileux dans la mer (PNUE/COI, 1988). On dispose de données trop rares pour établir un profil de répartition des hydrocarbures de pétrole dans les sédiments de la Méditerranée. D'une manière générale, les résultats analytiques communiqués jusqu'à présent évoquent une contamination modérée des sédiments, par comparaison avec d'autres régions (PNUE/COI, 1988). Fort peu d'études ont trait aux hydrocarbures de pétrole dans les organismes marins de la Méditerranée, la plupart de ces derniers ayant été prélevés le long du littoral espagnol. Les moules présentaient des concentrations bien supérieures à celles du poisson recueilli dans la même zone. Les niveaux relevés dans des moules (*Mytilus galloprovincialis*) du delta de l'Ebre étaient de l'ordre de 100 à $300 \mu\text{g g}^{-1}$ (Risebrough et al., 1983), soit équivalents à ceux enregistrés dans les ports et baies très pollués de la Californie selon une technique d'analyse identique.

On dispose d'un certain nombre de données sur la contamination de la mer Méditerranée par les hydrocarbures halogénés. Là encore, des problèmes analytiques compliquent la comparaison des données obtenues par divers laboratoires. En outre, les concentrations dans l'eau de mer de plusieurs membres de cette famille chimique se situent en dessous des limites de détection ou sont trop faibles pour une détermination quantitative. Pour les PCB, leurs concentrations dans des échantillons d'eau de mer variaient entre $0,2$ et 38 ng l^{-1} . Dans les eaux côtières de l'Adriatique Nord, la plupart des échantillons étaient en deçà du seuil de détection des PCB ($0,1 \text{ ng l}^{-1}$) et du p,p'-DDT ($0,05 \text{ ng l}^{-1}$). Les niveaux de lindane dans les eaux du large, dans le bassin oriental, variaient de $0,06$ à $0,12 \text{ ng l}^{-1}$, avec une concentration plus élevée dans les matières particulières que dans la phase dissoute de l'eau de mer (UNEP, 1978; PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990). Bien que les PCB demeurent une classe importante de polluants en Méditerranée, des données comparables ont permis de constater qu'une diminution de leurs concentrations s'était produite au fil des années, vraisemblablement en raison des restrictions imposées aux rejets industriels dans de nombreux pays. Mais entre-temps, d'autres hydrocarbures chlorés comme le lindane et l'hexachlorobenzène acquièrent une importance croissante dans la région méditerranéenne (Burns et al., 1985). La concentration de PCB dans des sédiments du large, en Méditerranée, se situait entre $0,8$ et $9,0 \mu\text{g kg}^{-1}$, alors que dans les sédiments côtiers, elle subissait les incidences de "sites critiques" tels que les émissaires d'eaux usées, ce qui expliquait des valeurs de l'ordre même de quelques mg kg^{-1} . Les concentrations moyennes dans les sédiments côtiers de la Méditerranée centrale étaient comprises entre $4,5$ et $390 \mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDT et entre $0,1$ et $2,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'hexachlorocyclohexane (HCH). Là encore, les niveaux enregistrés étaient conditionnés par l'existence de "sites critiques" dans les zones étudiées (UNEP, 1989; PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990). Il en va de même pour les données concernant les biotes de Méditerranée, avec des moyennes de PCB s'échelonnant de $1,5$ à $815 \mu\text{g kg}^{-1}$, selon des évaluations portant principalement sur les moules et le rouget. Les plus hauts niveaux de pesticides organochlorés ont été relevés

dans le thon (*Thunnus thynnus*). Les intervalles de variation observés s'établissaient à 0,1-343 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDT, à 0,4-325 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDD, à 1,5-600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDE, à 0,4-6,2 Mg kg^{-1} pour la dieldrine, à 0,2-2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'aldrine, à 0,7-20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'hexachlorocyclohexane, et à 0,4-19 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le lindane (UNEP, 1989).

La réunion consultative tenue à Athènes en juin 1988 a approuvé une liste de polluants prioritaires pour l'étude pilote de surveillance continue qui a été menée dans certaines zones de la façade méditerranéenne nord de l'Espagne, de la mer Ligurienne, du delta de l'Ebre et de la côte est de l'Adriatique entre 1989 et 1990. La liste figure sur le tableau 1 (WHO, 1988).

Les concentrations d'arsenic total dans les moules variaient de 11,00 à 18,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans le delta de l'Ebre, de 11,2 à 23,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans la mer Ligurienne, et de 0,91 à 49,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans l'Adriatique. Les fourchettes enregistrées pour d'autres espèces étaient de 7,54 à 61,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ (*Merluccius merluccius*), de 15,3 à 71,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ (*Pagellus erythrinus*), de 18,1 à 55,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ (*Solea vulgaris*) et de 2,04 à 15,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ (*Diplodus annularis*), toutes ces valeurs étant recueillies dans l'Adriatique. Les concentrations relevées dans les sédiments variaient de 14,2 à 30,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans le delta de l'Ebre, et de 1,70 à 44,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans l'Adriatique. Les résultats sont présentés sur le tableau 2 (Stegnar, 1991).

Les concentrations de divers hydrocarbures halogénés, à savoir les PCB, les PCC (Toxaphène), le mirex, les isomères du DDT, l'hexachlorobenzène (HCB) et les isomères de l'hexachlorocyclohexane (HCH) ont été analysées par Kanitz *et al.* (1990) dans *Mullus barbatus*, *Xiphia gladius* et *Mytilus galloprovincialis* dans diverses zones de la mer Ligurienne. A l'exception de HCH-delta et du mirex, tous les polluants ont été systématiquement décelés dans les échantillons analysés, avec des variations quantitatives notables en fonction des organismes, du site d'échantillonnage et de la saison. Les résultats sont donnés sur le tableau 3.

Les concentrations d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH) dans les moules ont été relevées pour 13 sites jalonnant le littoral ligurien entre 1989 et 1991 (Piccardo et Valerio, 1991). Les PAH étudiés comprenaient l'anthracène, le pyrène, le fluoranthène, le benzo(a)anthracène, le benzo(b)fluoranthène et le dibenzo(a,h)anthracène. Les concentrations de chaque PAH présentaient d'amples variations entre les différents sites. Les résultats figurent sur le tableau 4.

Dans le cadre du même projet pilote, un certain nombre d'organisme marins ainsi que de sédiments provenant du delta de l'Ebre et de la côte de Barcelone ont fait l'objet d'une recherche des PCB (divers congénères), des pesticides organochlorés et des PAH. Plusieurs amines aromatiques ont également été identifiées dans des sédiments. Des échantillons de poisson et de moules prélevés en mer Ligurienne (voir tableau 3) ont aussi donné lieu à une analyse croisée (Albaiges et Bayona, 1991).

Dix-huit congénères distincts de PCB ont été déterminés au total dans des tissus de *Mytilus galloprovincialis* et de *Mullus Barbatus*. En général, cette dernière espèce a présenté une charge plus élevée que la première lorsqu'on comparait les espèces recueillies dans la même zone. Le profil de répartition des congénères de PCB pour ces deux espèces différait de celui observé pour les oeufs de l'oiseau marin *Ardea purpurea*. Les résultats sont reproduits sur le tableau 5. Les valeurs des PCB totaux décelées dans les espèces *Mytilus* et *Mullus* au cours de l'étude en question étaient plus faibles que celles signalées dans les comptes rendus publiés au cours de la dernière décennie et, en admettant l'inter-comparabilité des protocoles d'analyse, il pourrait s'agir là d'un indice de la réduction des émissions de ces composés dans les zones côtières concernées.

Tableau 1

Substances et groupes de substances retenus pour leur importance relative comme polluants marins cancérigènes

AGENT	OBSERVATIONS CONCERNANT L'ANALYSE	SOURCE	SURVEILLANCE CONTINUE
1. As III + As V	Spéciation de As total	Pesticides Déchets chimiques	Sédiments, biotes benthiques
2. Cd + composés 3. Composés de Cr (VI) 4. Ni + composés			NON NON NON
5. Be + composés	Recherche bibliographique	Incinération	Sédiments, biotes
6. Pb + composés (inorganiques)			NON
7. PAH	Composés à fraction cyclique 4-7	Huiles usées, goudrons de houille, ruissellement urbain	Sédiments, biotes benthiques
8. HC hal. faible pds moléc.	**	Solvants	?
9. PCB 10. PBB 11. PCC 12. Mirex 13. DDT 14. HCB 15. HCH	Divers congénères * Toxaphène * Y compris isomères et dérivés * Tous les isomères * Tous les isomères *	Effluents industriels et urbains Agriculture	Biotes
16. PCDD + PCDF	Divers congénères	Incinération	Biotes
17. Chlorophénols 18. Benzène 19. 1,4 Dioxane 20. Amitrole	**		? NON NON NON
21. Amines aromatiques		Colorants	Sédiments
22. NTA ***		Ménages	Eau de mer

- * Peuvent être déterminés par un protocole d'analyse unique (analyse de groupe)
- ** Analyse à large spectre pour déterminer les divers composés
- *** Non inclus dans la liste du CIRC, mais identifié comme agent mutagène non cancérigène
- ? Non précisé

Tableau 2

Concentrations d'arsenic total dans les moules, le poisson et les sédiments de certaines zones de Méditerranée, 1989-1990.
Les résultats (fourchettes et moyennes) sont exprimés en $\mu\text{g g}^{-1}$ poids sec (Stegnar, 1991)

	DELTA DE L'EBRE	MER LIGURIENNE			MER ADRIATIQUE		
		Ouest	Centrale	Est	Nord	Centrale	Sud
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	11,0-12,0 (11,2) 15,2-18,6 (17,2) 10,2-12,5 (11,2) 14,6-16,3 (15,5)	21,7-23,2 (22,6)	13,3-15,2 (14,9)	11,2-12,2 (12,0)		0,91-20,5 (10,6) 11,7-49,1 (25,9)	
<i>Mullus barbatus</i>		66,4-74,2 (68,8)	45,6-53,9 (51,2)	34,6-39,2 (36,6)	52,6-71,7 (61,1)	21,9-60,4 (40,1)	125,0-160,0 (145,0)
<i>Merluccius merluccius</i>					48,4-61,7 (56,2)	7,54-36,6 (20,92)	18,0-25,1 (21,75)
<i>Pagellus erythrinus</i>					55,9-71,2 (64,9)	15,3-42,2 (28,0)	
<i>Solea vulgaris</i>						18,1-23,2 (21,0)	43,4-55,3 (50,4)
<i>Diplodus annularis</i>						2,04-15,2 (16,16)	
Sédiments, 150 μm	14,2-19,9 (17,3)				1,70-7,20 (4,18)	6,6-27,6 (18,6)	2,9-5,4 (4,1)
Sédiments, 80 μm	24,4-30,5 (27,9)					20,3-44,2 (30,37)	

Tableau 3

Niveaux d'hydrocarbures chlorés dans le poisson et les moules de trois zones de la mer Ligurienne, 1989. Les données sont exprimées en μg^{-1} poids sec.
M = Mai, N = novembre, nd = en dessous des limites détectables
(Kanitz et al., 1990)

		<i>Mullus barbatus</i>			<i>Xiphias gladius</i>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		
		Est	Centrale	Ouest	Ouest	Est	Centrale	Ouest
Toxaphène	M	30,10	18,78	34,75	26,92	168,29	89,97	109,31
	N	10,33	54,76	29,58	-	155,61	87,74	173,55
Aroclor 1260	M	153,85	705,27	576,28	619,85	221,83	117,39	52,57
	N	162,77	1273,15	2519,03	-	85,19	70,49	53,82
Aroclor 1254	M	244,34	698,62	261,93	983,70	341,06	313,05	203,36
	N	110,51	718,22	2915,61	-	1060,52	677,06	399,18
PCB total	M	398,18	1403,89	848,77	1603,55	562,89	430,44	255,94
	N	273,29	1991,37	5434,64	-	1145,70	747,55	452,99
HCH-alpha	M	1,14	0,86	0,08	0,22	2,45	2,22	2,55
	N	0,82	0,99	1,81	-	0,68	1,73	1,60
HCH-Bêta	M	2,09	1,49	0,08	0,13	3,98	3,71	1,50
	N	1,47	1,78	3,72	-	1,62	4,14	2,79
HCH-gamma	M	0,99	0,97	0,15	0,32	1,69	1,87	1,91
	N	1,47	1,65	3,58	-	0,49	2,30	1,81
HCH-delta	M	0,49	0,22	nd	0,13	0,77	nd	nd
	N	nd	nd	nd	-	0,23	nd	nd
HCH total	M	5,86	3,53	0,31	0,80	8,89	7,80	5,96
	N	3,75	4,43	9,11	-	3,02	8,17	6,20
HCB	M	0,08	12,13	0,27	1,08	0,77	0,90	0,71
	N	1,04	1,12	1,54	-	2,38	3,28	3,00
Mirex	M	nd	nd	102,52	nd	nd	nd	nd
	N	nd	nd	nd	-	54,18	nd	nd
p,p'-DDE	M	35,62	40,32	9,75	250,57	32,94	24,38	15,79
	N	58,35	54,29	172,52	-	67,37	23,86	29,83
o,p'-DDD	M	3,43	0,33	0,81	4,27	3,06	2,85	2,89
	N	0,52	0,53	0,34	-	4,72	4,60	4,24
o,p'-DDT	M	1,94	0,97	0,27	21,28	0,36	0,23	0,30
	N	0,23	0,59	0,84	-	0,27	0,46	0,47
p,p'-DDD	M	6,97	5,47	3,79	19,81	11,15	12,28	7,88
	N	2,97	13,23	4,19	-	14,81	8,63	2,27
p,p'-DDT	M	0,34	12,87	3,02	88,55	9,92	3,28	1,57
	N	5,67	13,23	9,14	-	1,62	2,07	0,77
DDT total	M	48,31	59,97	17,65	384,49	57,37	43,02	28,42
	N	67,74	81,87	186,73	-	88,79	39,62	37,59

Tableau 4

Concentrations de PAH (ng g⁻¹) dans des moules prélevées le long de la côte ligurienne entre 1989 et 1991. (Piccardo et Valerio, 1991)

SITE	An	Py	Flu	BaA	BbF	BaP	BkF	BP-DBA
1	3,33	48,95	80,24	39,26	28,86	8,27	9,95	6,20
2	1,72	15,07	26,69	10,24	13,84	6,90	4,27	3,67
2	0	18,65	32,01	26,22	14,90	4,88	0,51	3,76
3	0,88	8,66	8,48	4,60	7,50	3,95	4,73	1,16
4	1,93	13,37	11,10	6,02	7,80	3,47	2,77	1,48
5	0	2,73	1,80	1,39	1,68	0,57	0,16	1,1
6	0,95	3,07	2,31	1,46	3,07	1,47	0,66	0,72
6	0,58	4,29	6,29	0	0,25	0,17	0,28	1,08
7	0,87	2,72	0,80	0	0,65	0,31	0,08	0,29
8	0,55	3,39	0,62	0	2,12	0,62	0,02	0,89
9	0	10,27	3,20	6,19	6,50	2,85	4,45	4,29
10	0	1,23	0,32	0	0,49	0,13	0,34	1,39
11	0,75	3,21	5,24	0	1,27	0,21	0,55	1,76
12	0	2,94	4,96	0	0,75	0,20	0,59	0,97
13	0,70	2,46	2,02	0	1,57	0,63	0	0,44

Sites 2 et 6 échantillonnés à deux reprises
Site 13 - site "témoin"

An = Anthracène
 Py = Pyrène
 Flu = Fluoranthène
 BaA = Benzo(a)anthracène
 BbF = Benzo(b)fluoranthène
 BaP = Benzo(a)pyrène
 BkF = Benzo(k)fluoranthène
 BP-DBA = Benzo(g,h,i)fluoranthène, Dibenzo(a,h)anthracène

Vingt pesticides organochlorés ont été aussi au total systématiquement déterminés. Les résultats sont reproduits sur le tableau 6. Dans la plupart des cas, on a observé une répartition généralement ubiquitaire qui traduisait une large échelle de pollution, bien que dans le cas de quelques isomères du DDT, des HCH et du HCB, les concentrations aient été plus faibles que celles signalées dans les publications antérieures. Dans le cas des PAH, divers composés parents variant de 3 à 6 cycles aromatiques et leurs dérivés alkylés ont été identifiés dans *Mytilus galloprovincialis* et dans des sédiments. Les niveaux dans l'environnement étaient dans l'ensemble comparables à ceux communiqués précédemment pour la région méditerranéenne. Les résultats sont donnés sur le tableau 7, où le rapport entre phénanthrènes parents et phénanthrènes monoalkylés manifeste la contribution respective des sources pyrolytiques et des sources fossiles de pollution. Ces dernières prédominaient dans les échantillons provenant de zones soumises à l'influence de cours d'eau. Inversement, les sources pyrolytiques l'emportaient nettement dans les autres sites d'échantillonnage.

4. EVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES MARINS

4.1 Effets sur les organismes marins

Lorsqu'on évalue les effets nocifs éventuels des polluants sur les biotes marins, il convient de prendre en compte la voie d'exposition de même que les caractères toxicocinétiques et métaboliques inhérents au polluant lui-même et à la complexité des mécanismes de l'organisme-hôte. L'exposition du poisson peut se produire soit par voie respiratoire après absorption de produits chimiques véhiculés par l'eau à travers les branchies soit par voie digestive après ingestion de produits chimiques alimentaires. Par conséquent, la répartition différente des polluants dans l'eau et dans le régime alimentaire est un facteur crucial conditionnant la toxicocinétique chez le poisson et sa sensibilité aux substances nocives, ce que l'on doit garder à l'esprit dans l'interprétation des études en laboratoire et des études sur le terrain. Alors qu'il existe des variations phylogéniques dans les voies métaboliques, les réponses chez le poisson simulent très étroitement celles survenant chez les mammifères (Hodson, 1987). C'est pourquoi, comme on le verra aux prochaines sections, les effets à long terme chez le poisson sont en grande partie comparables à ceux se produisant chez les mammifères.

4.1.1 Effets métaboliques

Le signal d'alarme le plus précoce de l'exposition des organismes marins à des polluants potentiellement nocifs consiste en l'induction des voies métaboliques qui sont responsables de la biotransformation des polluants en question dans les cellules-hôtes. Il est notoire que la plupart des xénobiotiques subissent dans l'organisme divers processus pharmacocinétiques et métaboliques qui tendent théoriquement à transformer les composés non polaires (liposolubles) en dérivés davantage polaires (hydrosolubles), favorisant ainsi leur excrétion par l'organisme. Toutefois, les mêmes mécanismes conduisent souvent à l'activation de précurseurs inertes (procancérigènes/promutagènes/protéatogènes) en métabolites intermédiaires (proximaux) et finaux, lesquels, en raison de leur électrophilie, peuvent se fixer par covalences à des sites nucléophiles d'ADN et d'autres macromolécules cellulaires (comme l'ARN ou les protéines), formant ainsi des adduits cancérogènes sur ADN et sur protéines.

Tableau 5

Répartition des divers congénères de PCB dans les biotes (ng.g⁻¹, poids sec)
de 3 zones de la Méditerranée, 1989-1990
(Albaiges et Bayona, 1991)

IUPAC No.	COTE BARCELONAISE						DELTA DE L'EBRE						MER LIGURIENNE					
	Mytilus sp.			Mullus sp.			Mytilus sp.			Ardea sp. oeufs			Mytilus sp.			Mullus sp.		
	Max	Min	Moy*	Max	Min	Moy*	Max	Min	Moy*	Max	Min	Moy*	Max	Min	Moy*	Ouest	Centrale	Est
28+31	3,5	0,08	3,0	8,7	0,1	3,0	1,6	0,6	0,4	80,7	0,4	120	0,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
52	3,0	0,04	4,4	17,3	0,2	6,1	0,8	n.d.	0,3	18,7	0,3	41,5	0,3	n.d.	n.d.	2,9	13,5	n.d.
44	4,5	n.d.	-	n.q.	-	-	1,6	n.d.	n.d.	-	n.d.	21,3	n.d.	-	-	-	1,8	1,4
101	11,5	0,4	8,5	37,6	0,5	13,1	1,4	0,3	n.d.	-	n.d.	46	n.d.	n.d.	n.d.	5,3	8,2	4,1
118	4,5	0,98	8,6	60,6	2,3	22,7	n.d.	0,3	n.d.	-	174	174	n.d.	n.d.	4,7	17,5	n.d.	
153	16,9	2,4	9,1	96,6	1,7	35,4	8,7	4,5	7,1	8,5	11,1	11,1	7,1	n.d.	21,6	17,3	33,8	
138+163	21,7	3,1	14,7	145,9	5,0	56,8	6,7	2,2	n.d.	-	14,3	14,3	n.d.	24	17,8	21,9	n.d.	
187	14,6	6,1	7,8	n.q.	n.q.	7,2	7,2	n.d.	n.d.	-	6,4	6,4	n.d.	18	7,3	n.d.	51,8	
128	7,3	0,7	3,4	n.q.	n.q.	1,1	1,1	0,4	n.d.	-	60	60	n.d.	10	n.d.	8,2	7,7	
156	n.d.	0,8	3,4	44,3	0,9	2,5	1,2	n.d.	n.d.	0,8	0,3	0,3	n.d.	n.d.	n.d.	6,5	n.d.	
180	0,4	0,8	3,4	44,3	0,9	2,5	1,2	n.d.	n.d.	-	0,3	0,3	n.d.	4,8	2,3	4,1	31,5	
170	n.d.	-	-	n.d.	n.q.	n.q.	n.q.	n.q.	n.d.	2,5	-	-	n.d.	5	0,9	5	16,8	
ΣPCB _{cong}	80	15	62,9	411	11	140	30	8	7,8	-	495	495	7,8	60,1	66	110	147	
ΣPCB ₁₂₅₄	201	201	201	201	201	201	74	27	26	-	739	739	26	-	171	270	221	

* Moyenne de trois échantillons
n.d. Non détecté
n.q. Non quantifié

Tableau 6
Répartition des pesticides organochlorés dans les biotes (ng.g⁻¹, poids sec)
de 3 zones de la Méditerranée, 1989-1990
(Albaiges et Bayona, 1991)

	COTE BARCELONAISE			DELTA DE L'EBRE			MER LIGURIENNE							
	Mytilus sp.			Mytilus sp.			Arcea sp. oeufs		Mytilus sp.			Mytilus sp.		
	Max	Min	Moy*	Max	Min	Max	Max	Min	Ouest	Centrale	Est	Ouest	Centrale	Est
Méhoxychlore	63,9	n.d.	-	n.d.		n.d.	n.d.		8,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dieldrine	n.d.	n.d.		n.d.		181	181	7,9	2,3	0,5	n.d.	n.d.	0,9	n.d.
Heptachlor	20	n.d.		2,8	2,1	n.d.	n.d.			n.d.	1,0	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan I + II	23,9	5,3	15,5	6,1	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	n.d.	10,2	n.d.	n.d.	n.d.
HCB	1,3	0,5	0,8	1,6	0,8	15,1	15,1	10,4	n.d.	n.d.	n.d.	0,2	0,4	n.d.
α-HCH	2,9	0,2	1,2	1,0	0,3	11	11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,9	0,1	n.d.
γ-HCH	2,7	1,6	2,3	1,5	n.d.	11,3	11,3		n.d.	n.d.	n.d.	2,5	0,4	n.d.
o,p'-DDT	29,3	n.d.	-	10,7	n.d.	115	115	8,9	14,1	n.d.	5,7	3,1	n.d.	n.d.
p,p'-DDT	27,1	3,4	11,8	5,4	n.d.	84	84	n.d.	9,0	n.d.	4,1	1,7	n.d.	12,7
p,p'-DDD	11,5	n.d.	-	12,1	3,2	64	64	6,1	4,0	5,4	0,8	0,1	n.d.	n.d.
o,p'-DDE	17,1	n.d.	-	3,9	2,5	0,14	0,14	n.d.	8,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,9
p,p'-DDE	151	51	96	42	31	152	152	4,2	20,5	33,9	36	36	34	43

* Moyenne de trois échantillons
n.d. Non détecté
n.q. Non quantifié

Tableau 7

Répartition des PAH dans les sédiments (ng g⁻¹, poids sec) et les biotes (ng g⁻¹, poids sec) de 3 zones de la Méditerranée, 1989-1990

(Albaiges et Bayona, 1991)

COMPOSE (no.)	COTE BARCELONAISE					DELTA DE L'EBRE			MER LIGURIENNE
	Sédiments (profondeur en m)					Sédiments (profondeur en m)			<i>Mytilus sp.</i>
	A	B	C	<i>Mytilus sp.</i>		D	E	<i>Mytilus sp.</i>	
	10	40	43	<i>Mytilus sp.</i>		30	520		<i>Mytilus sp.</i>
Phénanthrène (1)	30	405	57	15	16	9,2	16	32	38
Anthracène	10	150	16	n.d.	1,3	0,6	1,3	n.d.	14
C ₁ -Phénanthrènes	107	271	71	113	17,1	14,1	17,1	195	89
Fluoranthène (2)	97	757	373	19	30,7	17,8	30,7	8	322
Pyrène (3)	42	715	314	34	25,4	12,6	25,4	7	571
Benz[a]anthracène (4)	68	274	270	7	15,2	6,1	15,2	3	372
Chrysène + Triphénylène (5)	45	451	338	54	36,5	13,9	36,5	8	448
Benzo[b+j+k]fluoranthènes (6)	98	749	797	31	69	2,6	69	n.d.	310
Benzo[a]fluoranthène (7)	n.d.	129	58	n.d.	24	0,5	24	n.d.	51
Benzo[e]pyrène (8)	29	364	369	20	30	3	30	n.d.	158
Benzo[a]pyrène (9)	33	525	452	6	15,2	0,2	15,2	n.d.	18
Perylene (10)	9	166	155	46	3	40	3	n.q.	n.q.
Indeno[1,2,3-cd]pyrène (11)	31	240	361	n.q.	40	8,7	40	n.q.	n.q.
Benzo[ghi]perylene (12)	82	749	474	n.q.	28	9,4	28	n.d.	n.q.
∑PAHs	681	5945	4105	346	351	139	351	253	2391
Ph/∑C ₁ Ph	0,28	1,49	0,8	0,13	0,93	0,66	0,93	0,16	0,42
Fl/Py	2,3	1,06	1,19	0,55	1,21	1,41	1,21	1,18	0,56

L'équilibre entre les mécanismes d'activation et de désactivation est extrêmement fragile et il est régi par des réactions biochimiques complexes, souvent interconnectées ou se succédant en cascade, qui se produisent principalement dans le réticulum endoplasmique (fractions microsomales), mais aussi dans la fraction soluble du cytoplasme (fractions cytosoliques) ou dans d'autres structures cellulaires comme les mitochondries ou les noyaux eux-mêmes. Sans entrer dans le détail, mentionnons que deux grands groupes de réactions sont en jeu, également dans les organismes aquatiques, à savoir les réactions de la phase I, telles que l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse, aboutissant à la création de nouveaux groupes fonctionnels (Buhler et Williams, 1989), et les réactions de la phase II, comportant la conjugaison de produits de la phase I avec des groupes fonctionnels ioniques ou polaires endogènes, se composant d'importants groupes chimiques ou de composés entiers tels que des sucres ou des acides aminés (Fouremant, 1989). Dans la biotransformation, un rôle central est joué par les oxygénases à fonctions mixtes (MFO) qui possèdent des cytochromes P-450, une famille d'hémoprotéines contenant du fer, comme l'oxydase terminale. Les niveaux d'activité cytochrome P-450 et benzo(a)pyrène-hydroxylase dans les microsomes hépatiques de diverses espèces marines sont indiqués sur le tableau 8.

Deux principaux caractères des MFO et d'autres activités de métabolisation des xénobiotiques méritent attention chez les biotes marins, en liaison avec le problème de la pollution marine. Le premier tient à ce que les niveaux "constitutifs" de ces enzymes ne varient pas seulement selon l'espèce et la souche animale mais aussi à l'échelon individuel (Lech et Vodcink, 1984). Des promutagènes et procancérigènes typiques tels que l'aflatoxine B1 (Loveland *et al.*, 1987) et le benzo(a)pyrène (Varanasi *et al.*, 1986) sont réputés pour être bioactivés par le foie de poisson. Dans tous les cas, il se produit une large variabilité des activités enzymatiques responsables parmi différentes espèces de vertébrés marins (Bend et James, 1979; Funari *et al.*, 1987), en fonction aussi du sexe et de la période de l'année (Buhler et Williams, 1989; Lafaurie *et al.*, 1989). Le poisson est également capable de réparer l'ADN endommagé, comme l'indique par exemple la présence de l'O⁶-méthylguanine-ADN-méthyltransférase à des niveaux comparables à ceux des rongeurs (Nakatsuru *et al.*, 1987). Cette enzyme joue un rôle important dans la réparation des lésions produites par les agents chimiques alkylants comme les composés *N*-nitrosés qui sont également cancérigènes chez le poisson (voir section 4.1.2).

D'une manière générale, de nombreux invertébrés possèdent une très faible capacité intrinsèque à transformer les xénobiotiques (James, 1989). Cependant, on a signalé la présence du système MFO chez 18 espèces d'invertébrés marins appartenant à 4 embranchements différents (annélidés, arthropodes, échinodermes et mollusques). Ce système multi-composantes est situé dans le réticulum endoplasmique de divers tissus comme l'estomac, l'hépatopancréas et la glande verte des crustacés, ainsi que l'intestin des polychètes (Lee, 1981). Bien que les mollusques tels que les moules, les clams et les huîtres puissent atteindre des charges corporelles très élevées de contaminants dans les milieux pollués, les résultats des études métaboliques se sont avérés quelque peu contradictoires (James, 1989). Dans certaines études, des spectres typiques de cytochromes P-450 ont été décelés dans la glande digestive et les branchies d'espèces de bivalves comme *Mytilus edulis*, *Macrocallista maculata* et *Arca zebra*, les niveaux de P-450 et de la vitesse du métabolisme du benzo(a)pyrène étant les plus élevés dans la glande digestive (Stegeman, 1985). Toutefois, l'activité benzo(a)pyrène-hydroxylase cytochrome P-450-dépendante n'a pu être détectée dans ces bivalves marins, comme l'ont confirmé plusieurs études (Britvic et Kurelec, 1986). En revanche, on a constaté que la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* possédait une MFO à teneur en FAD capable d'activer les amines aromatiques, mais non le benzo(a)pyrène, ainsi que des enzymes détoxifiantes telles que l'UDP-glycoronyl-transférase et la β -glucuronidase (Kurelec *et al.*, 1986). Quelques études

in vivo ont montré que les métabolites des PHA donnent lieu à une excrétion médiocre chez certains invertébrés marins, si bien que ceux-ci pourraient constituer des sources alimentaires de métabolites potentiellement bioactifs, même en l'absence de composés parents (James, 1989).

Le second caractère frappant des enzymes de métabolisation de cancérigènes tient à ce que leurs activités peuvent être modulées par des facteurs exogènes, notamment alimentaires et environnementaux. Il est notoire que ce phénomène se produit chez les mammifères, et on l'a également vérifié dans les organismes marins. En particulier, l'induction par les xénobiotiques d'activités MFO dans le foie de poisson, mais aussi dans d'autres tissus ou biotes marins, a fait l'objet d'investigations lors d'un grand nombre d'études en laboratoire et sur le terrain menées dans le monde entier, y compris dans la région méditerranéenne. Des polluants nocifs typiques, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH), les polychlorobiphényles (PCB), les polybromobiphényles (PBB) et les hydrocarbures de pétrole sont très efficaces pour induire des activités MFO et d'autres activités enzymatiques. La stimulation des MFO s'accompagne généralement d'une hausse moins prononcée des cytochromes P-450 totaux. On a proposé la surveillance de ces paramètres biochimiques comme moyen de discrimination de la qualité du milieu aquatique et comme système d'alerte précoce pour l'évaluation des incidences de polluants nocifs. Cette réaction d'adaptation "rapide" peut être suivie, après une exposition prolongée, d'une réaction d'adaptation "lente" conduisant à l'hyperplasie du foie chez le poisson (voir Payne, 1984, et Payne *et al.*, 1987, pour des synthèses récapitulatives à ce sujet).

Les exemples d'induction d'activités enzymatiques chez le poisson capturé dans des eaux de mer ou des eaux fluviales en Méditerranée comprennent: stimulation de l'activité arylhydrocarbure-hydroxylase (AHH) dans la blennie (*Blennius pava*) exposée à un déversement d'hydrocarbures (Kurelec *et al.*, 1981) en mer Adriatique, ou dans le chevesne (*Leuciscus cephalus*), le barbeau (*Barbus barbus*) et le hotu (*Condrostoma nasus*) vivant dans les eaux polluées de la Save, une rivière de la Yougoslavie (Kezic *et al.*, 1983); stimulation de l'AHH, de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la 6-phosphogluconate-déshydrogénase, déviation vers la gauche des cytochromes P-450 et diminution de la glutathion-peroxydase et de la glutathion-S-transférase dans le sparailon commun (*Diplodus annularis*) vivant dans un milieu portuaire pollué de la mer Ligurienne (Bagnasco *et al.*, 1991). Dans la même étude, la pollution de l'eau de mer a fortement accru l'activation métabolique par des préparations hépatiques de benzo(a)pyrène-trans-7,8-diol et d'arylamine-3-amino-1-méthyl-5H-pyrido(4,3)indole (Trp-P-2), et dans le même temps elle a réduit leur capacité à détoxifier le mutagène direct 2-méthyl-6-chloro-9-[3-(2-chloroéthyl)aminopropylamino] acridine (ICR 191). Une hyperplasie hépatique considérable a également été observée. Le suivi de la benzo(a)pyrène monooxygénase (BPMO) enregistrée dans les blenniidés à un site proche de Rovinj, en Adriatique Nord, avant et après l'accident de déversement pétrolier du Nouvel An 1977 a présenté un intérêt tout particulier (Kurelec *et al.*, 1977). Un groupe inter-laboratoires, mentionné sous le sigle GICBEM, a été créé en France et en Italie en vue de mener des activités de surveillance des systèmes de bioprotection d'organismes marins représentatifs des écosystèmes côtiers dans la mer Méditerranée. Des données préliminaires concernant une activité MFO, l'éthoxyrésorufine-O-déséthylase (EROD), et les enzymes détoxifiantes époxyde-hydrolase et glutathion-S-transférase chez le rouget barbet (*Mullus barbatus*) et les Serranidés (*S. scriba* et *S. Cabrilla*) capturés dans la zone côtière méditerranéenne de la France et la Corse, semblent indiquer une corrélation entre l'activité EROD et les niveaux présumés de pollution locale (Lafaurie *et al.*, 1989).

Le poisson possède également des mécanismes de détoxification contre des polluants inorganiques comme les métaux. L'un de ces mécanismes est imputable à la présence de métallothionéines, c'est-à-dire de protéines fixant certains métaux lourds, dont on a constaté que la présence dans le foie de poisson était renforcée comme réaction d'adaptation à la pollution par les métaux (Roch *et al.*, 1982). Le chrome hexavalent est réduit à sa forme trivalente non toxique par le mucus branchique et cutané du poisson, en fonction des groupes sulhydryles fixés aux protéines (Arillo et Melodia, 1990), et le même processus s'accomplit au niveau du foie de poisson, comme on a pu le vérifier tant chez *Salmo gairdneri* (De Flora *et al.*, 1982) que chez *Diplodus annularis* (Bagnasco *et al.*, 1991), grâce à des mécanismes non enzymatiques (par ex., baisse du glutathion) et des mécanismes catalysés par des enzymes inductibles.

Chez des vertébrés marins présentant des activités enzymatiques faibles ou non décelables, plusieurs études ont été concordantes avec une inductibilité médiocre par les facteurs environnementaux, selon des évaluations portant sur les moules (*Mytilus edulis*), les homards (*Homarus americanus*), les oursins (*Strongylocentrosus droebachiensis*), les gastéropodes (*Littorina littorea*), les arénicoles (*Nereis* spp.) et les étoiles de mer (*Asterias* spp.) (Payne, 1977; Payne *et al.*, 1983; Moore *et al.*, 1989), ainsi que sur les éponges (Zahn *et al.*, 1982). Une légère induction a été observée dans des huîtres (*Crasostrea virginica*) exposées aux PCB (Anderson, 1977) et dans des moules exposées aux PCB et aux PBB (Payne *et al.*, 1983). On a décelé une hausse des cytochromes P-450 dans les arénicoles (*Nereis* spp.), les crabes appelants (*Uca pugilator* et *Uca rapax*) et les crabes bleus (*Callinectes sapidus*) exposés à des déversements d'hydrocarbures (Lee *et al.*, 1981) et dans des moules (*Mytilus galloprovincialis*) vivant dans des eaux de mer polluées par les hydrocarbures (Gilewicz *et al.*, 1984).

En outre, une stimulation de l'activité NADP- néotétrazolium-réductase s'est produite dans les cellules sanguines de moules et de littorines recueillies dans une zone polluée par les hydrocarbures (Moore, 1985), et une stimulation du cytochrome P-450 et du cytochrome b-5 s'est produite dans la glande digestive de moules exposées à du carburant diesel (Livingstone, 1985). Dans toutes les études précitées, on a surveillé des biotes vivant en dehors de la région méditerranéenne. Récemment, Kurelec et Krca (1989) ont recherché la présence de glucuronides, les principaux produits terminaux du métabolisme de la plupart des agents chimiques cancérigènes, dans des populations naturelles de moules (*Mytilus galloprovincialis*) de zones polluées et non polluées de l'Adriatique Nord. Ils en ont toutefois conclu que l'essai de mutagénicité par dosage des glucuronides de la moule et des aglucones correspondant ne paraît pas être un biosurveillant utile des cancérigènes aquatiques. Néanmoins, Rodriguez-Ariza *et al.* (1990) ont trouvé des activités significativement accrues de plusieurs enzymes détoxifiantes (superoxyde-dismutase, catalase, glutathion-transférase, glutathion-peroxydase, et cytochrome P-450) et d'enzymes ancillaires (glutathion-réductase et glucose-6-phosphate-déshydrogénase) non seulement dans des espèces de poisson (*Mugil* spp.) mais aussi dans des espèces de mollusques (*Chamaelea gallina*, *Ruditapes decussata* et *Crassostrea gigas*) vivant dans des zones contaminées des eaux côtières espagnoles (andalouses).

Tableau 8

Activités cytochrome P-450 et benzo(a)pyrène (BaP)-hydroxylase microsomales hépatiques d'espèces marines. Reproduit d'après Buhler et Williams (1989).

ESPÈCES	Cytochrome P-450 (nmol/mg protéine)	BaP-hydroxylase	
		(nmol/min/mg protéine)	FU* /min/mg protéine)
TÉLÉOSTÉENS			
Spare doré	0,62	0,69	-
	0,61	1,23	-
Rondeau mouton	0,27	3,0-3,8	3,1
Saumon coho	-	0,28	-
	-	0,13	-
	-	0,12	-
	-	0,027	-
Mulet	0,047	-	2,9
	-	0,053	-
Flet brillant	-	0,040	-
Vivaneau des mangroves	-	-	-
<i>Orthopristis chrysoptera</i> (Mummichog)	0,025	-	6,3
	-	-	5,1
Bar commun	-	-	4,1
	-	-	3,6
Limande-plies rouge	-	-	2,54
	0,17	-	0,7-6,4
Chabot	0,12-0,60	-	-
Grand tambour	-	0,90	-
Morue	0,15	-	0,53
Flet du sud	-	-	0,51
Anguille	0,11	-	0,25
Maquereau	-	0,21	-
Lampris	-	-	< 0,07
	-	-	0,004
ELASMOBRANCHES			
Requin nurse	0,47	-	1,4
Pastenagre atlantique	0,50	-	0,77
Grande raie	0,29-0,36	-	0,30
Petite raie	0,32	-	0,17
Raie émoussée	0,30	-	0,15
Raie épineuse	-	-	0,12
Squale	0,23-0,29	-	0,07
Pastenagre du sud	0,31	-	ND ^b
CRUSTACÉS^c			
Crabes:			
<i>Uca pugnax</i>	0,14-0,23	-	0,133-0,517
<i>Callinectes sapidus</i>	0,04-0,19	-	0,018-0,127
	0,18	-	0,008
	-	0,057 (F) ^d	-
	-	0,00075 (M) ^d	-
<i>Menippe mercenaria</i>	0,20-1,00	-	0,008
<i>Libinia sp.</i>	0,36-0,56	-	0,002-0,011
<i>Sesarma cinerum</i>	0,31-0,51	-	ND-0,003

ESPÈCES	Cytochrome P-450 (nmol/mg protéine)	BaP-hydroxylase	
		(nmol/min/mg protéine)	FU ^a /min/mg protéine)
Crabes: (suite)			
<i>Una minax</i>	0,06-0,14	-	ND-0,001
<i>U. pugilator</i>	0,09-0,16	-	ND
Homards:			
<i>Homarus americanus</i>	-	-	0,025-0,065
	-	-	n.d.-0,02
	-	-	< 0,01
Langoustes:			
<i>Panulirus argus</i>	0,91	-	0,03
MOLLUSQUES^e			
Patelle:			
<i>Balanus eburneus</i>	0,11	0,043	-
Moules:			
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,047	0,024	-
<i>M. edulis</i>	0,047	0,054	-
	0,134	0,019-0,031	-
Bigorneau:			
<i>Littorina littorea</i>	-	0,046	-
Gastropodes:			
<i>Tegula funebris</i>	-	0,073	-
<i>Thais haemastoma</i>	-	0,001-0,013	-
Mye:			
<i>Mya arenaria</i>	-	-	ND
Huître européenne:			
<i>Ostrea edulis</i>	-	-	ND
AUTRES EMBRANCHEMENTS			
Etoile de mer:^e			
<i>Asterias sp.</i>	-	-	0,08
Oursin:			
<i>Strongylocentrotus sp.^e</i>	-	-	0,08
<i>S. purpuratus^f</i>	-	-	0,040
Arénicole:^f			
<i>Arenicola sp.</i>	-	-	ND
<p>^a Activité exprimée en unités de fluorescence (FU) plus ou moins définies selon les auteurs: par exemple, 1 FU est l'intensité fluorescente des métabolites BaP hydroxylés à une longueur d'onde d'excitation de 400 nm et une longueur d'onde d'émission de 525 nm qui est égale en intensité fluorescente à une solution de 3 µg de sulfate de guanine par millilitre dans 0,1 N H₂SO₄.</p> <p>^b ND, non détecté</p> <p>^c Hépatopancréas</p> <p>^d Mâle (M) et femelle (F)</p> <p>^e Glande digestive</p> <p>^f Larves</p>			

L'examen des résultats indique que l'induction des MFO ou d'autres activités enzymatiques de métabolisation des xénobiotiques constitue un indice sensible de la pollution. Ces systèmes enzymatiques peuvent agir soit comme mécanisme protecteur soit comme système d'activation de la production de substances intermédiaires cancérigènes. En outre, ils peuvent influencer sur l'accumulation et la biodisponibilité dans les organismes marins comestibles.

4.1.2 Effets cancérigènes

4.1.2.1 Etudes de cancérogénicité expérimentale

Les essais de cancérogénicité animale, qui sont habituellement réalisés chez des espèces de rongeurs, sont un moyen utile de compléter ou d'étayer les conclusions des études épidémiologiques menées chez l'homme. De même, les essais de cancérogénicité chez le poisson ou d'autres organismes marins peuvent s'avérer utiles comme modèles expérimentaux prédictifs de la cancérogénicité chez l'homme et/ou comme cibles pour l'évaluation des effets nocifs des polluants marins dans les organismes marins eux-mêmes. Les facteurs influant sur la cancérogénèse expérimentale dans les modèles de poisson en laboratoire ont fait l'objet d'une synthèse (Bailey *et al.*, 1989). Comme on l'a déjà mentionné à la section 2, le poisson a été également utilisé avec succès dans des études d'anti-cancérogénicité afin d'évaluer les propriétés cancéroprotectives de certains inhibiteurs.

Rares ont été les études de cancérogénicité menées sur les invertébrés aquatiques. Trois types de néoplasmes ont été induits chez des moules d'eau douce traitées par des composés *N*-nitrosés (Khydoley et Sirenko, 1978). Des lésions suspectes ont été observées dans des huîtres exposées à des hydrocarbures aromatiques polycycliques et à la diéthylnitrosamine (Couch *et al.*, 1979; Winstead et Couch, 1988), et des néoplasmes rénaux se sont développés dans des huîtres exposées expérimentalement à des sédiments fortement contaminés (Gardner *et al.*, 1988). Il est assez intrigant que dans un cas seulement (Khydoley et Sirenko, 1978) un trouble prolifératif des cellules sanguines ait été induit expérimentalement, une telle affection étant le néoplasme le plus courant rencontré parmi les mollusques dans les conditions naturelles (voir section 4.1.2.2).

Le tableau 9 fournit une liste partielle des composés chimiques ou mélanges complexes qui ont été testés chez des poissons de mer ou d'eau douce dans des conditions de laboratoire (Couch, 1989). Cette liste comprend également plusieurs composés d'origine anthropique polluant l'eau de mer, les sédiments et les biotes, et qui ont été classés comme cancérigènes potentiels à la section 3.1.2. Il est manifeste que les résultats obtenus chez le poisson sont similaires à ceux obtenus chez les espèces mammifères (Couch et Coutney, 1987; Hinton *et al.*, 1988; Prince Masahito *et al.*, 1988), ce qui dénote vraisemblablement les analogies existant entre poissons et mammifères dans la métabolisation des cancérigènes (voir section 4.1.1).

Tableau 9

Spectre des agents et types d'agents testés dans le système cancérigène du poisson.
Reproduit d'après Couch (1989)

COMPOSÉS	RÉFÉRENCES REPRÉSENTATIVES
Amines aromatiques Acétylaminofluorène (+) ¹	Pliss et Khudoley, 1975; Sato <i>et al.</i> , 1973
Composés azoïques 0-aminoazotoluène (+) 4-diméthylaminoazobenzène (+) Aminotriazole	Halver, 1967; Hatanaka <i>et al.</i> , 1982; Pliss et Khudoley, 1975
Composés organiques halogénés² Bis(2-chloroéthyl)éther (S) Bromodichlorométhane (m) Bromoforme (m) Tétrachlorure de carbone (m,s) (+) Chlorodibromométhane (m) Chloroforme (m) Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (s) (+) Dichlorure d'éthylène (s) Pentachlorophénol (s) Trichloroéthylène (s)	Halver, 1967; Hawkins <i>et al.</i> , 1988; Walker <i>et al.</i> , 1985
Mycotoxines Aflatoxine B-1 (+) Aflatoxine G.1 (+) Aflatoxine L/L-1 (+) Aflatoxine M-1 (+) Aflatoxine Q-1 (+) Sterigmatocystine (+) Versicolorine A (+) Ochratoxine A & B (-)	Doster <i>et al.</i> , 1972; Halver, 1967; Hatanaka <i>et al.</i> , 1982; Hendricks <i>et al.</i> , 1978, 1980a,b,c,d,e,f; Matsushima et Sugimura, 1976; Sato <i>et al.</i> , 1973; Schoenhard <i>et al.</i> , 1981; Sinnhuber <i>et al.</i> , 1974; Wales et Sinnhuber, 1972; Wolf et Jackson, 1967
Composés N-nitrosés N-nitrosodiéthylamine (+) N-nitrosododiméthylamine (+) Nitrosomopholine (+) N-méthyl-N-nitrosurée (+) N-éthyl-N-nitrosurée (-) Dibutylnitrosamine (-) N-méthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (+)	Aydrin et Bulay, 1983; Couch et Courtney, 1987; Egami <i>et al.</i> , 1981; Halver, 1967; Hatanaka <i>et al.</i> , 1982; Hendricks <i>et al.</i> , 1980b, 1984; Ishikawa, <i>et al.</i> , 1975; Khudoley, 1984; Kimura <i>et al.</i> , 1981, 1982-83, 1984; Klaunig <i>et al.</i> , 1984; Koenig et Chasar, 1984; Kyono-Hamaguchi, 1984; Pliss et Khudoley, 1975; Sato <i>et al.</i> , 1973; Schwab <i>et al.</i> , 1978a,b; Schultz et Schultz, 1984; Simon et Lapis, 1984; Stanton, 1965

COMPOSÉS	RÉFÉRENCES REPRÉSENTATIVES
Dérivés d'origine végétale Braken (-) Acides gras cyclopropénoïdes (+) Repas de noix de cycas(+) Cysasine (-) Gossypol (-) Méthylmazoxyméthanol acétate (+) Alcaloïdes de pyrrolizidine (<i>Senecio</i>) (-)	Aoki et Matsudaira, 1977, 1984; Fournie <i>et al.</i> , 1987; Hawkins <i>et al.</i> , 1985a,b, 1986; Hendricks <i>et al.</i> , 1980c,d, 1981a, 1983, 1984; Herman, 1970; Lee <i>et al.</i> , 1968, 1971; Schoenhard <i>et al.</i> , 1981; Sinnhuber <i>et al.</i> , 1976; Stanton, 1965
Hydrocarbures aromatiques polynucléaires Benzo (a)pyrène (+) 7,12-diméthylbenz(a)anthracène (+) 3-méthylcholanthrène (+)	Ermer, 1970; Hendricks <i>et al.</i> , 1982, 1985; Kimura <i>et al.</i> , 1984; Pliss et Khudoley, 1975; Schultz et Schultz, 1984
Composés divers β-aminoproprinoitrile (-) Benzidine (?) Carbarzone (+) Diéthylstilbestrol (+) Nifurpirinol (+) Nifurpirinol (+) Acide tannique (+) Thioacétamide (-) Thio-urée (+) Trifluraline (-) Uréthane (+)	Couch <i>et al.</i> , 1981; Halver, 1967; Hendricks <i>et al.</i> , 1980a, 1981b; Kimura <i>et al.</i> , 1984; Levy, 1962; Martin, 1982; Pliss et Khudoley, 1975
¹ (+) - néoplasie induite expérimentalement chez une ou plusieurs espèces de poisson (-) - pas de lésions néoplasiques induites expérimentalement (?) - néoplasie possible, mais résultats douteux ² Agents testés isolément (2) ou en mélanges (m)	

Sur le plan du mécanisme, il y a lieu de remarquer que les études utilisant des hybrides de poisson d'eau douce ont autorisé à penser qu'un gène responsable de tumeur, appelé Tu, qui est présent sur des sites distincts de chromosomes spécifiques, peut agir comme gène suppresseur dans les cellules somatiques du poisson. Le mécanisme moléculaire de la cancérogénèse peut comporter une altération des gènes régulateurs, aboutissant à une dépression de Tu et pouvant résulter de translocations, délétions et cross-over dans les chromosomes structurels déterminants et les séquences rétrovirales liées à l'oncogène (Anders *et al.*, 1984).

4.1.2.2 Etudes sur le terrain

On a observé des affections néoplasiques chez toutes sortes d'animaux aquatiques comprenant des mollusques bivalves, des amphibiens, des poissons osseux et des requins (Payne et Rahimtula, 1989). Les premières observations ont été effectuées en 1964 par Dawe et coll. qui ont décelé des néoplasmes hépatiques chez des espèces de poissons démersaux recueillis dans le Deep Creek Lake (Maryland, Etats-Unis) et suspecté une association à la pollution chimique. Les néoplasies dans les organismes aquatiques ont toujours été proposées comme indicateur des risques cancérigènes pour l'homme (Black, 1984). La biologie et la signification pathogénique de ces tumeurs ont récemment fait l'objet d'un examen approfondi (GESAMP, 1992).

Parmi les invertébrés marins, on a signalé dans un certain nombre d'études que les huîtres, les clams et les moules étaient atteints d'affections néoplasiques épizootiques présumées (ces études ont été notamment analysées par: Lauckner, 1983; Sparks, 1985; Couch et Harshbarger, 1985; Mix, 1986; Bolognesi, 1989; Baumann, 1989; Couch, 1989). Les tumeurs relevées étaient d'origine gonadique (ovariennes et testiculaires) et, avant tout, d'origine cellulaire sanguine présumée. Ces dernières tumeurs, qui sont comparables aux formes leucémiques chez les mammifères, ont été diversement appelées sarcomes, néoplasmes hématopoïétiques ou troubles prolifératifs cellulaires sanguins. Un cancer branchial a également été décrit dans les clams. Les prévalences totales variaient de 1 pour 5.000 huîtres examinées à 8-12% de plusieurs centaines de clams, huîtres ou moules (Couch, 1989). Les causes possibles avancées comprenaient une prédisposition génétique (Couch et Harshbarger, 1985), des rétrovirus de type C (Oprandy *et al.*, 1981) et des produits chimiques cancérigènes (Khudoley et Syrenco, 1978). Toutefois, il convient de noter que l'on a décelé des néoplasmes dans des bivalves recueillis en eaux côtières aussi bien contaminées que propres (Lauckner, 1983; Couch et Harshbarger, 1985; Mix, 1986). A l'exception de l'observation de tumeurs sanguines dans des spécimens d'huître plate européenne prélevés dans des eaux côtières yougoslaves (Alderman *et al.*, 1977), tous les autres rapports ont trait à des zones hors-Méditerranée comme l'Europe du Nord (Angleterre et Irlande), le Japon, l'Australie, l'Amérique du Sud (Chili), le Canada et plus particulièrement les Etats-Unis (côtes atlantique et pacifique, golfe du Mexique) (Bolognesi, 1989; Couch, 1989).

De même, les études sur l'apparition de lésion néoplasiques parmi les populations de poissons osseux marins ont toutes été réalisées dans des zones extérieures à la Méditerranée. Le tableau 10 récapitule les résultats obtenus en Amérique du Nord et au Japon (Couch, 1989). D'autres données sont disponibles, par exemple pour l'Australie (Hard *et al.*, 1979), l'Irlande (Mulcahy, 1976), la Suède (Ljunberg, 1976; Falkmer *et al.*, 1976 et 1977), les Pays-Bas (Eggens et Vethaak, 1989). La prévalence des tumeurs chez toutes sortes de poisson a varié de 0 à 32% pour les tumeurs hépatiques, de 0 à 58,6% pour les papillomes épidermiques, de 0,01 à 2,8% pour les papillomes buccaux, de 0 à 47% pour les chromatophoromes, de 0,1 à 16% pour les lymphosarcomes, et de 0 à 11,4% pour les tumeurs pseudobranchiales. Des observations plus limitées ont été communiquées dans le cadre d'études sur les épithéliomas malpighiens (0,03%), les fibrosarcomes (0,7%), les lipomes et les ostéomes (0,05%). Il est manifeste que, de même que pour les mammifères, tous ces chiffres sont influencés par des variations génétiquement déterminées entre espèces, entre souches et entre individus, ainsi que par des facteurs environnementaux.

Tableau 10

Antécédents d'apparitions importantes de lésions néoplasiques dans le poisson osseux marin d'Amérique du Nord et du bassin pacifique. Reproduit d'après Couch (1989)

ESPÈCE-HÔTE	LÉSIONS NÉOPLASIQUES	LOCALISATION GÉOGRAPHIQUE	SOURCE
<i>Genyonemus lineatus</i> (Ombrine blanche)	Papillomes buccaux, papillomes épidermiques, néoplasmes hépatiques	Californie du Sud	Russel et Kotin, 1957; Young, 1964; Mearns et Sherwood, 1974, 1977; Malins <i>et al.</i> , 1988
<i>Pseudopleuronectes americanus</i> (Sole vraie)	Papillomes épidermiques	Californie du Sud	Young, 1964; Mearns et Sherwood, 1977
<i>Mugil cephalus</i> (Mulet à grosse tête)	Fibrosarcomes	Nord du golfe du Mexique	Edwards et Overstreet, 1976
Pleuronectidés (Poissons plats)	Papillomes épidermiques; lésions d'organes internes y compris des néoplasmes	Puget Sound	Stich <i>et al.</i> , 1976; McCain <i>et al.</i> , 1977, 1982, 1988; Pierce <i>et al.</i> , 1978; Malins <i>et al.</i> , 1980, 1982, 1984, 1988
Pleuronectidés (Poissons plats)	Papillomes épidermiques	Ile Hokkaido, Japon	Oishi <i>et al.</i> , 1976; Stich <i>et al.</i> , 1977a, 1977b
<i>Microgadus tomcod</i> (Poulamon de l'Atlantique)	Néoplasmes hépatiques	Estuaire de l'Hudson	Smith <i>et al.</i> , 1979
<i>Microgadus proximus</i> (Poulamon du Pacifique)	Néoplasmes hépatiques	Puget Sound	Malins <i>et al.</i> , 1980, 1982
<i>Nibea mitsukurii</i> (Sciaenide homimbe)	Chromatophoromes	Japon	Kimura <i>et al.</i> , 1984
<i>Leptocottus aramatus</i> (Chabot du Pacifique)	Néoplasmes hépatiques	Puget Sound	Malins <i>et al.</i> , 1984
<i>Fundulus grandis</i> (Choquemort des golfes)	Chromatophoromes	Nord du golfe du Mexique	Couch, 1985
<i>Pseudopleuronectes americanus</i> (Limande-plate rouge)	Néoplasmes hépatiques	Port de Boston	Murchelano et Wolke, 1985

Les tumeurs observées chez le poisson ont été, selon les auteurs, attribuées à des facteurs génétiques, à des agents infectieux (virus, parasites ou agents non précisés), à des composés chimiques spécifiques, ou à la pollution en général. Souvent, aucune association avec des agents étiologiques présumés n'a pu être signalée. L'origine incriminée variait avec le type de tumeur. Ainsi, les virus ont été incriminés dans la survenue de tous les lymphosarcomes, ce qui concorde avec la notion selon laquelle les virus ARN occasionnent des lymphomes et des sarcomes chez les mammifères. On a également suspecté des agents infectieux de jouer un rôle dans près de la moitié des études consacrées aux papillomes épidermiques. En revanche, dans presque toutes les études, les tumeurs hépatiques ont été attribuées à la pollution de l'eau de mer et/ou des sédiments. L'exposition du foie aux substances ingérées a été associée, tant dans des études expérimentales que sur le terrain, à diverses affections hépatiques, notamment des néoplasmes hépatiques tels que le cancer hépatocellulaire et l'épithélioma cholangio-cellulaire et d'autres lésions hépatiques comme la cholangiofibrose (adénofibrose), l'hépatite spongieuse, la dégénérescence graisseuse avancée, et la nécrose (Couch, 1989). Les nombreuses études menées au cours des 15 dernières années sur des espèces démersales ayant des habitudes territoriales restreintes, comme les pleuronectidés (poissons plats), capturées dans la masse d'eau du Puget Sound, sont exemplaires à cet égard. Il est convaincant que sur les 300 spécimens ou plus prélevés dans des zones non polluées, aucune n'a présenté de tumeurs hépatiques, tandis que 1,1 à 32,3% des spécimens prélevés dans des zones du Puget Sound recevant des rejets urbains et industriels ont été atteints par la maladie. Diverses sortes d'agents chimiques organiques et inorganiques ont été détectées dans les sédiments de zones polluées et, notamment dans le cas des hydrocarbures aromatiques, on a pu établir une corrélation avec la prévalence des hépatomes. En outre, on a trouvé une corrélation entre la prévalence des hépatomes et la concentration de métabolites de PAH dans la bile de poisson (Krahn *et al.*, 1986).

4.1.3 Mutagénicité et autres effets connexes

Un grand nombre de tests à court terme, permettant de prédire la cancérogénicité et les malformations congénitales dans la descendance, ont été mis au point au cours des vingt dernières années. Ces tests, grâce auxquels on évalue divers types de dommage de l'ADN et d'autres effets terminaux (comme une transformation cellulaire), se sont avérés utiles comme moyens de dépistage des substances dangereuses et comme modèles expérimentaux pour comprendre leurs mécanismes. De plus, on a exploité ces méthodes de laboratoire ou autres pour obtenir des indices d'exposition biologiques, par exemple pour surveiller l'exposition d'êtres humains ou d'autres organismes vivants à des agents génotoxiques et, dans certains cas, pour évaluer les risques mutagènes et cancérigènes. Il est probable que ces tests ont une connotation analogue pour les organismes marins.

4.1.3.1 Détection des mutagènes dans l'eau de mer, les sédiments et les organismes marins

Diverses méthodes de concentration, qui ont été plus souvent utilisées pour l'eau douce, l'eau potable ou les effluents, ont servi également de temps à autre à concentrer les génotoxines à partir de l'eau de mer, lesquelles ont fait ensuite l'objet de tests de mutagénicité dans des systèmes bactériens. On dispose aussi d'études restreintes pour la Méditerranée. Par exemple, des extraits concentrés à l'hexane d'eau de mer du nord de l'Adriatique prélevée à 50 m de la côte yougoslave, ont induit une faible réponse mutagène après activation métabolique par des fractions post-mitochondriales de foie de carpe, alors qu'un échantillon prélevé à 500 m au large donnait des résultats négatifs (Kurelec *et al.*, 1989). Des eaux estuariennes et des eaux de la mer Tyrrhénienne recueillies dans le port de Livourne et le long du littoral toscan, concentrées au moyen de cartouches C18 Sep-Pak, ont présenté une

activité mutagène directe (Migliore *et al.*, 1989). Inversement, la méthode au bleu coton (Hayatsu, 1990) a permis de concentrer des amines aromatiques à partir d'eau de mer expérimentalement contaminée, mais elle n'a pas réussi à concentrer des mutagènes décelables à partir d'échantillons prélevés tant dans une zone non polluée de la mer Ligurienne que dans une zone polluée du port de Gênes (Bagnasco *et al.*, 1990).

Des systèmes de tests à court terme peuvent également être utilisés pour déceler la mutagénicité de sédiments pollués. Par exemple, des extraits sédimentaires provenant de zones côtières au large de Barcelone ont présenté une réponse positive au test microsomal sur *Salmonella* (Grifoll *et al.*, 1988). Des extraits de sédiments fortement contaminés du port de Black Rock (Connecticut, USA) ont été mutagènes dans des souches de *S. typhimurium*, ils ont induit une réparation SOS dans *E. coli* après activation métabolique, et ils ont éliminé la coopération métabolique dans des cellules V79 de hamster chinois, ce qui est un indicateur d'activité tumoro-facilitante potentielle (Jackim *et al.*, 1989).

L'évaluation de la mutagénicité dans les organismes marins fournit un indice fiable d'exposition aux substances mutagènes et potentiellement cancérigènes. Les mollusques bivalves semblent représenter des indicateurs idéaux d'exposition *in situ*, et on les a proposés pour la biosurveillance de la concentration de mutagènes provenant d'eau de mer polluée, par exemple le long des eaux côtières du pays de Galles (Parry *et al.*, 1976), dans des eaux estuariennes du littoral atlantique des Etats-Unis (Sparks *et al.*, 1981) et dans la mer Adriatique (Frezza *et al.*, 1982). Des extraits éthanoliques de 3 espèces de mollusques vivant dans le sud de l'Espagne (Andalousie) ont révélé une mutagénicité directe de type oxydatif dans des souches *E. coli* et *S. typhimurium his⁻* testées par l'essai de mutations avancées ARA (Rodriguez-Ariza *et al.*, 1990). La surveillance de la mutagénicité de la bile de poisson, qui contient des métabolites de polluants, également en rapport avec la prévalence de tumeurs hépatiques (voir section 4.1.2.2), a été proposée pour évaluer l'exposition à des agents mutagènes subissant une biotransformation au niveau du foie (Van Kreijl *et al.*, 1982).

4.1.3.2 Détection des adduits de substances cancérigènes sur l'ADN dans les organismes marins

Comme on l'a examiné à la section 4.1.1, la fixation covalente à l'ADN d'un composé chimique électrophile pour former des adduits représente le premier événement crucial de l'initiation du cancer (Miller, 1978). C'est pourquoi la mesure des adduits de cancérigènes sur l'ADN fournit un indicateur direct non seulement de l'exposition mais aussi du dommage génétique produit par un agent cancérigène donné, lequel n'a pas à être indirectement présumé à partir de la pollution de l'environnement local ni inféré de la survenue de tumeurs. La détection des adduits cancérigènes sur l'ADN ou sur des protéines a ouvert de nouvelles perspectives dans des domaines tels que l'épidémiologie moléculaire et la dosimétrie moléculaire, en permettant d'évaluer le dommage effectif de l'ADN indépendamment des variations entre espèces, entre souches, entre individus, ou même au sein d'un même individu, des mécanismes en cause (par exemple, toxicocinétique, métabolisme, réparation de l'ADN) dans l'initiation du cancer. Dans le cadre de techniques nombreuses et très diverses d'évaluation d'indices d'exposition biologiques (De Flora, 1990), plusieurs méthodes ont été mises au point en vue de détecter les adduits de cancérigènes sur l'ADN et l'on dispose déjà de quelques applications à l'étude des organismes marins.

La plus simple des méthodes consiste à traiter les animaux avec des cancérigènes radioactifs dont la capacité à fixer l'ADN est alors déterminée. Cette technique a été utilisée pour détecter la fixation du principal métabolite du benzo(a)pyrène, à savoir le 7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo(a)pyrène, sur l'ADN hépatique des espèces de poisson benthique

Parophrys vetulus (carlottin) et *Platichthys stellatus* (plie du Pacifique) (Varanasi *et al.*, 1986) ainsi que la fixation de l'aflatoxine B1 sur l'ADN hépatique de *Salmo gairdneri* (truite arc-en-ciel) et *Oncorhynchus kisutch* (saumon coho), aboutissant à la formation de 8,9-dihydro-8-(N7-guanyl)-9-hydroxyaflatoxine B1 et d'autres adduits mineurs. La plus forte capacité de former des adduits spécifiques reflétait le métabolisme plus efficace par le cytochrome P-450 et était en rapport avec une sensibilité accrue à la cancérrogénicité de l'aflatoxine B1 (Bailey *et al.*, 1988). De même, l'inhibition par l'aroclor 1254 de la formation des mêmes adduits de l'aflatoxine B1 chez la truite arc-en-ciel était en rapport avec l'anticancérrogénicité de l'aroclor (Shelton *et al.*, 1986) (voir section 2). Du benzo(a)pyrène radiomarqué a été également utilisé pour étudier la fixation sur l'ADN de ses photodérivés chez les éponges (Zahn *et al.*, 1981) (voir section 3.2.4).

D'autres méthodes plus récentes comportent des dosages immunologiques au moyen d'anticorps spécifiques des adduits sur l'ADN, ou la mesure de spectres de fluorescence spécifique, par exemple dans le cas de l'adduit benzo(a)pyrène sur l'ADN. La technique la plus avancée disponible jusqu'à ce jour est celle du post-marquage à ^{32}P (Gupta *et al.*, 1982) qui offre les avantages d'être extrêmement sensible en décelant 1 adduit par 10^9 - 10^{10} nucléotides ainsi que de déceler des adduits sur l'ADN formés par des cancérigènes inconnus, lesquels, dans certains cas, peuvent être identifiés ultérieurement au moyen de protocoles d'analyse. Cette technique a servi à détecter des adduits nucléotidiques formés par toutes sortes de volumineux composés aromatiques hydrophobes de l'environnement avec l'ADN hépatique d'*Ictalurus nebulosus* (silure nain) prélevé dans des affluents des Grands Lacs. Ce poisson est exposé à des niveaux élevés d'hydrocarbures aromatiques polycycliques fixés sur des sédiments, et il est atteint d'une haute fréquence de cancer du foie (Dunn *et al.*, 1987). Des zones radioactives diagonales et plusieurs points distincts indiquant une exposition à des composés génotoxiques ont été également décelés à l'autoradiographie dans l'ADN hépatique de carlottins prélevés dans des sites contaminés du Puget Sound, Etat de Washington, Etats-Unis, et de limandes-plies rouges prélevées dans le port de Boston, Maryland. Ces adduits étaient absents sur l'ADN de carlottin prélevé dans un site aux sédiments faiblement pollués (Varanasi *et al.*, 1989).

L'exposition expérimentale de la moule *Mytilus galloprovincialis* au 2-aminofluorène s'est accompagnée de la formation de deux adduits sur l'ADN des glandes digestives, avec une fréquence de 1 adduit par $1-4 \times 10^9$ nucléotides. En revanche, l'exposition au benzo(a)pyrène n'a produit aucun adduit ou qu'un adduit ponctuel très faible, ce qui traduit, comme on l'a déjà vu (section 4.1.1), la capacité différentielle des tissus de moule à métaboliser ces deux agents cancérigènes (Kurelec *et al.*, 1988). Dans la même étude, on a noté que, contrairement à l'absence d'adduit ponctuel dans les silures nains élevés en aquarium propre (Dunn *et al.*, 1987), des échantillons d'ADN de moule, de carpe et de brème recueillis dans des eaux apparemment propres de la mer Adriatique ont présenté un à plusieurs faibles adduits (Kurelec *et al.*, 1988). Cet aspect a été approfondi par Kurelec et coll. (1989) qui ont trouvé 4 à 9 adduits sur l'ADN hépatique de plusieurs espèces de poisson d'eau douce et de *Mugil auratus* capturé dans deux zones de la mer Adriatique nord. Un trait dominant des adduits sur l'ADN des poissons était la spécificité liée à l'espèce. On a relevé avec surprise que, au sein de chaque espèce, les spécimens capturés dans la zone non polluée donnait pratiquement des profils d'adduits identiques à ceux observés dans les spécimens capturés dans la zone polluée (voir section 3.1.1). Il convient de remarquer à cet égard que les poissons analysés avaient des coutumes territoriales restreintes (Kurelec *et al.*, 1989). Une autre étude effectuée sur *Mytilus galloprovincialis* a mis en évidence la présence de 6 à 10 adduits sur l'ADN de la glande digestive de moule, quel que fût le degré de pollution. Cependant, des adduits sur ADN liés à la pollution ont été décelés dans des moules juvéniles prélevées au voisinage d'une raffinerie de pétrole (Kurelec *et al.*, 1990).

Comme il a été proposé, en plus de l'analyse de l'ADN hépatique, les techniques de post-marquage à ^{32}P devraient permettre la détection d'adduits sur ADN dans des tissus extra-hépatiques comme le sang et les gonades, ce qui pourrait être utile dans les études des processus de reproduction défectueux chez le poisson (Varanasi *et al.*, 1989).

4.1.3.3 Dommmage et réparation de l'ADN dans les organismes marins

Il est possible de recourir à diverses techniques pour évaluer les altérations des molécules d'ADN entraînées par l'exposition *in vivo* d'organismes à des génotoxines, et pour évaluer la réparation ultérieure de l'ADN. Un exemple de ce type d'évaluation est fourni par des études sur l'éponge *Tethya lyncurium* prélevée dans la mer Adriatique Nord, exposée expérimentalement à du benzo(a)pyrène en présence de lumière (se reporter à la section 3.2.4 pour un examen détaillé du problème de la photoactivation). Ces études ont montré que le dommage et la réparation de l'ADN dans ces organismes semblent différer de ceux de la plupart des eucaryotes (Zahn *et al.*, 1983). Plus concrètement, l'ADN bicaténaire (bc) isolé et purifié de l'éponge après traitement par le benzo(a)pyrène était intercalé entre des fragments monocaténaires (mc). Le traitement par la nucléase S1, qui attaque l'ADN mc, rompt le brin intact en face des positions où l'autre brin a été coupé, et les fragments d'ADN bc sont caractérisés au moyen du microscope électronique. Sous des conditions de réparation possible, les ruptures monocaténaires ont complètement disparu de l'ADN des éponges dans un délai de 3 semaines au cours duquel on a observé une synthèse importante d'ADN (Zahn *et al.*, 1983).

Dans une étude récente, on a constaté que le benzo(a)pyrène occasionnait des types analogues de dommage de l'ADN que l'on évaluait en mesurant les ruptures monocaténaires par la technique d'éluion alcaline dans l'hémolymphe du crabe *Maja crispata* et dans le foie du poisson *Gambusia affinis*. Cette constatation se prêtait à diverses interprétations, en fonction des effets réciproques au sein du métabolisme du benzo(a)pyrène (activation/détoxication), de l'interaction des métabolites actifs avec l'ADN et de l'efficacité de la réparation du dommage de l'ADN (Bihari *et al.*, 1989).

4.1.3.4 Altérations cytogénétiques dans les organismes marins

Les analyses cytogénétiques peuvent détecter des altérations génomiques grossières, concernant le nombre et/ou la structure des chromosomes, qui peuvent être visualisées au microscope optique. Depuis de nombreuses années, ces techniques ont servi à évaluer l'exposition à des agents clastogéniques *in vitro* et *in vivo*, en laboratoire ou sur le terrain. En dépit de quelques difficultés techniques, l'évaluation des aberrations chromosomiques (CA), des échanges entre chromatiques soeurs (SCE) et des micronuclei (MN) a également été appliquée aux vertébrés et invertébrés marins (voir l'analyse récapitulative de De Flora *et al.*, 1991b). Les SCE résultent d'un échange réciproque de fragments d'ADN entre des chromatides soeurs, ce que l'on peut détecter dans des cellules subissant deux cycles de réplication en présence de bromodésoxyuridine. Les MN peuvent être issus de fragments d'ADN résultant de dommage chromosomique et/ou de la ségrégation de matériel génétique au cours de la mitose.

Un certain nombre d'études de laboratoire ont visé à mettre au point et à valider des techniques cytogénétiques dans des organismes aquatiques expérimentalement exposés à des clastogènes connus. Les modifications cytogénétiques chez des polychètes (*Neanthes arenaceodentata*) ont été proposées comme modèle de toxicologie génétique marine (Pesch et Pesch, 1980). Plusieurs études ont été menées sur des moules bivalves qui, comme on l'a déjà vu pour d'autres effets terminaux, semblent être des bioindicateurs idéaux d'exposition

en raison de leur capacité de concentration des polluants locaux. La fréquence des MN dans le tissu branchial de *Mytilus galloprovincialis* a été systématiquement accrue après exposition à des clastogènes connus (Gola *et al.*, 1986; Majone *et al.*, 1987, 1990; Migliore *et al.*, 1989; Scarpato *et al.*, 1990). Des aspects méthodologiques, comme les techniques de coloration, ont été aussi explorés (Majone *et al.*, 1988). La fréquence des SCE a été étudiée dans des larves de *Neanthes arenaceodentata* (Pesch et Pesch, 1980), dans des larves (Harrison et Jones, 1982; Jones et Harrison, 1987) et du tissu branchial (Dixon et Clarke, 1982) de *Mytilus edulis*, et dans des oeufs en croissance (Brunetti *et al.*, 1986) et du tissu branchial (Brunetti *et al.*, 1989) de *Mytilus galloprovincialis*. Des résultats négatifs ont été également communiqués. Par exemple, le composé organostannique "antialissures" bis(tributylétain)oxyde n'a pas permis d'induire des aberrations chromosomiques et des SCE dans des larves de *Mytilus edulis* (Dixon et Prosser, 1986). D'autres études expérimentales ont recherché les altérations cytogénétiques dans divers tissus de poisson. Ainsi, on a évalué l'induction des SCE dans *Umbra limi* (Kligerman, 1979) et dans *Notobranchius rachowi* (Van der Gaag et Van de Kerkhoff, 1985); l'induction de MN dans les érythrocytes de *Heteropneustes fossilis* (Das et Nanda, 1986); l'induction de CA dans divers tissus de *Boleophthalmus dussumieri* (Krisnaja et Rege, 1982); l'induction de CA et de SCE dans des lymphocytes cultivés *in vitro* de *Anguilla rostrata* et de *Opsanus tau* (Ellingham *et al.*, 1986) et dans le tissu hématopoïétique de cette dernière espèce exposée *in vivo* (Maddock *et al.*, 1984) ainsi que des lymphocytes de culture de *Leptococcus armatus* (Zahour *et al.*, 1984). Dans l'ensemble, les MN semblent avoir été plus appropriés que les SCE comme effet final étudié dans le tissu branchial car ils peuvent être observés au cours de l'interphase, tandis que les SCE ne peuvent être décelées que lors des métaphases, lesquelles sont peu fréquentes dans le tissu branchial. De fait, seule une fraction réduite de la population cellulaire branchiale subit la mitose, comme on a pu le vérifier dans des moules (Dixon et Clarke, 1982; Brunetti *et al.*, 1989) et dans des espèces de poisson (Kligerman 1979; Alink *et al.*, 1980; Van der Gaag et Van der Kerkhoff, 1985). Inversement, les oeufs de moule en croissance sont une cible tout à fait adéquate pour l'induction des SCE car ils contiennent une population de cellules activement proliférantes avec des mitoses fréquentes (Brunetti *et al.*, 1986 et 1989). Le recours à l'anticorps antikinétochore a permis d'opérer la distinction entre les micronuclei résultant de fragments acentriques ou de chromosomes déphasés dans les cellules de *Mytilus galloprovincialis* (De Flora *et al.*, 1991b).

On a déjà utilisé les techniques cytogénétiques pour surveiller l'exposition de poisson ou de moules à des polluants dans les conditions *in situ*, ou pour évaluer les altérations chromosomiques après exposition en laboratoire à de l'eau polluée. L'induction de CA a été observée dans des oeufs et larves de poisson recueillis dans des zones polluées de la côte atlantique des Etats-Unis (Longwell et Hugues, 1980). On a relevé des fréquences accrues de SCE dans le vers *N. incisa* prélevé dans des populations vivant à l'état sauvage sur des sédiments pollués (Jackim *et al.*, 1989). Les fréquences de MN et de SCE ont été surveillées dans le tissu branchial de *Mytilus galloprovincialis* prélevé dans des eaux côtières de l'Italie du Nord, à savoir la lagune de Venise (Adriatique Nord) et le golfe de La Spezia (mer Ligurienne) (Brunetti *et al.*, 1988). La fréquence des MN et des ruptures monocaténares d'ADN était significativement accrue dans les branchies de *Mytilus galloprovincialis* prélevé dans le port de Gênes (mer Ligurienne), par comparaison avec une zone de référence, et cette fréquence était en rapport avec une concentration plus élevée de PAH dans le même tissu (Bolognesi *et al.*, 1990). Scarpato et coll. (1990) ont prélevé des moules adultes à une station du golfe de La Spezia et ont transféré une partie d'entre elles dans le port de Livourne et dans l'estuaire du Fiume Morto (Fleuve Mort) en mer Tyrrhénienne. Dans les cellules branchiales des moules exposées à ces eaux polluées, les MN ont été notablement accrus, par comparaison avec les moules restées à leur station d'origine, à partir de la deuxième semaine d'exposition, et cet accroissement s'est poursuivi pendant au moins 16 autres semaines.

Dans l'ensemble, les analyses cytogénétiques de populations naturelles de moules ou de poissons fournissent un effet terminal précieux de biosurveillance. Toutefois, plusieurs facteurs interviennent dans cette évaluation, comme l'âge, qui ne peut souvent pas être inféré, la taille des animaux qui est également influencée par les éléments nutritifs, et la sélection due aux polluants toxiques qui conduit à une diminution manifeste du dommage chromosomique dans la population survivante (Brunetti *et al.*, 1989). La surveillance *in situ* peut aussi être affectée par une variabilité considérable entre les individus, ce qui a été souligné, par exemple, pour les fréquences de SCE dans des larves non exposées de *M. Edulis* surveillées sur une période de 2 ans (Jones et Harrison, 1987).

L'oursin constitue un organisme-cible particulièrement intéressant. Les altérations cytogénétiques qui peuvent être produites par des agents génotoxiques dans des embryons traités ou des embryons après exposition des adultes ou des gamètes, constituent l'un des divers effets sublétaux qui peuvent être étudiés dans ces systèmes de métazoaires ubiquistes. Les aberrations mitotiques étudiées chez l'oursin comprennent les chromosomes erratiques, les fragments attachés, les ponts, les fuseaux multipolaires et les fragments acentriques (Pagano *et al.*, 1982a, 1982b, 1986; Hose et Puffer, 1983; Hose *et al.*, 1983; Hose, 1985; Dinnel *et al.*, 1988). L'induction de MN a également été signalée après une exposition de l'oursin violet à des niveaux environnementaux de benzo(a)pyrène (Hose *et al.*, 1985).

4.1.4 Effets tératogènes

Stricto sensu, la tératogénicité a trait aux effets de tout agent chimique xénobiotique ou condition environnementale sur le développement structurel ou fonctionnel de l'embryon ou fœtus (Lansdown, 1990). Certains des tests à court terme pour les agents tératogènes ont été établis dans des organismes aquatiques. En particulier, les embryons de diverses espèces de poisson tels que le medaka du Japon, le poisson-zèbre, la truite arc-en-ciel et le vairon, ont servi à évaluer les effets de produits chimiques sur la croissance des oeufs et des embryons (Faustman, 1988; Anderson, 1990). Les effets terminaux surveillés comprenaient la létalité, des malformations spécifiques (surtout de l'appareil squelettique), le retard de croissance, le retard d'éclosion et des altérations fonctionnelles comme la nage déficiente. Toute une série de composés, notamment des métaux, des pesticides et des mélanges complexes, ont été testés quant à leur toxicité pour le développement (revus par Faustman, 1988).

Parmi les invertébrés, les effets terminaux concernant la tératogénèse ont été étudiés dans les artémies, en particulier dans les nauplius d'*Artemia salina* (Kerster et Schaffer, 1983; Sleet et Brendel, 1985), et plus spécifiquement dans l'oursin. Plusieurs espèces d'oursin, y compris celles qui vivent en Méditerranée (comme *Paracentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Psammechinus microtuberculatus*) peuvent être utilisées pour l'évaluation des effets tératogènes, dans le cadre de la surveillance de toute une série de paramètres qui peut être effectuée au long des multiples stades de la vie de ces organismes. Plus concrètement, comme l'ont exposé en détail Dinnel et coll. (1988), les expositions sublétales à des agents toxiques peuvent provoquer des modifications du comportement chez des oursins adultes (chimiotactisme alimentaire, réaction corrective, évitement des prédateurs), des troubles de la croissance (respiration, maturation des gonades, régénération des piquants, morphologie anormale), une bioaccumulation (concentrations dans les gonades, concentrations cytosoliques, incorporation de protéines marquées dans les ovocytes) et des effets sur les gamètes (expositions *in vivo* au cours de la gamétogénèse). Diverses altérations du développement peuvent se produire chez les embryons après une exposition des adultes, des gamètes ou des embryons eux-mêmes; on peut notamment observer un retard de croissance, une morphologie anormale, une synthèse réduite d'ADN et, comme on en a déjà fait état à la

section 4.1.3.4, des aberrations mitotiques et la formation de micronuclei. L'exposition *in vivo* d'adultes ou l'exposition *in vitro* de gamètes peut aboutir à des effets nocifs sur les gamètes, tels que des effets sur le développement (exposition des spermatozoïdes et/ou des oeufs) et sur la fécondation (motilité des spermatozoïdes, morphologie des spermatozoïdes, consommation d'oxygène, chimiotactisme, taux de fécondité, soulèvement membranaire) (Dinnel *et al.*, 1988).

L'essai biologique sur l'oursin de mer a été proposé pour les études de toxicité liée à la pollution marine par Kobayashi (1971), Hangström et Lönning (1973) et il a servi par la suite à tester un certain nombre d'agents physiques et chimiques (voir l'analyse de Pagano *et al.*, 1986). L'une des techniques proposées pour l'évaluation de la toxicité des effluents déversés dans les eaux marines et/ou estuariennes est le test de la fécondation des spermatozoïdes d'oursin (Dinnel *et al.*, 1987) qui a également été recommandé par l'Environmental Protection Agency des Etats-Unis sous forme d'un protocole normalisé (Nacci *et al.*, 1987). Le test biologique sur les spermatozoïdes et l'embryon d'oursin (*Sphaerechinus granularis*) a été appliqué, dans une approche toxicologique pluridisciplinaire, pour évaluer les effets de la pollution par les eaux usées des eaux côtières de la façade méditerranéenne de la France (baie de Toulon). Les résultats obtenus ont montré que la fréquence des malformations larvaires était fonction du niveau d'exposition aux eaux usées municipales (Pagano *et al.*, 1989).

4.2 Estimation des risques pour les organismes marins

Les pas importants accomplis ces dernières années dans les domaines de la cancérogénèse, de la mutagénèse et de la tératogénèse ont permis une meilleure compréhension des mécanismes en jeu et un affinement des méthodes disponibles d'évaluation des risques. Néanmoins, plusieurs aspects d'ordre conceptuel et pratique restent à approfondir et à mieux élucider.

D'après les données dont on dispose, il est manifeste que les biotes marins vivant dans des zones contaminées par des polluants nocifs, ceux du moins qui se sont avérés être cancérigènes, mutagènes et/ou tératogènes dans les mêmes organismes, sont plus susceptibles de présenter des effets pervers. Comme chez l'homme et chez d'autres espèces terrestres, une exposition de cette nature dans les organismes marins ne signifie pas automatiquement la survenue d'effets pathologiques. En raison des interactions des polluants avec les mécanismes de défense de l'hôte et d'éventuelles expositions concomitantes à des agents protecteurs (voir section 2), les conséquences qui en résultent pour la santé des organismes marins doivent être considérés en termes de risque accru chez les individus exposés par rapport aux individus non exposés.

Cependant, à la lumière de nos connaissances actuelles, toute tentative d'estimation et de prédiction des risques spécifiques pour les organismes marins vivant en Méditerranée serait scientifiquement contestable pour toute une série de raisons qui ont été examinées à des sections précédentes. Ces raisons peuvent se récapituler comme suit:

- a) le caractère incertain et incomplet qui grève encore l'identification et la classification provisoire des cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans l'ensemble du milieu marin (3.4);
- b) le manque d'un réseau de surveillance systématique des polluants nocifs dans les eaux, sédiments et biotes de la Méditerranée (4.1);

- c) les modifications des propriétés biologiques des polluants résultant de facteurs physiques (3.2.1), de transformations microbiologiques (3.2.2), d'interactions chimiques (3.2.3) et de transformations photomédiées (3.2.4);
- d) les incidences possibles de la pollution à distance des sources apparentes, par suite des échanges air/mer (3.3), et notamment des phénomènes de bioaccumulation et des processus de bioamplification à travers la chaîne alimentaire chez les espèces migratrices (3.2.5);
- e) le nombre extrêmement limité d'études locales et la rareté des données scientifiques disponibles sur les effets sanitaires néfastes parmi les biotes méditerranéens (4.1);
- f) la difficulté à évaluer les relations dose-effet et à extrapoler les faibles doses normalement rencontrées dans l'environnement des fortes doses délivrées expérimentalement. Il s'agit là d'un obstacle général auquel se heurtent les études toxicologiques, notamment pour la prédiction des effets à long terme;
- g) les variations prononcées de sensibilité aux agents chimiques nocifs, non seulement entre divers embranchements, espèces, souches et individus, mais encore au sein d'un même individu, en fonction du stade du cycle vital, des rythmes circadiens et saisonniers, des réactions d'adaptation aux polluants ou de facteurs alimentaires ou environnementaux autres que les polluants (4.1);
- h) le rôle encore non identifié des constituants naturels de l'eau de mer comme facteur déroutant dans la détermination de certains effets nocifs (3.1.1). Par exemple, dans certaines études comme celles ayant trait aux adduits de cancérigènes sur ADN chez les vertébrés et les invertébrés (4.1.3.2) ou aux néoplasmes chez les mollusques (4.1.2.2), on n'a relevé aucune différence entre les organismes prélevés dans des zones apparemment propres et ceux prélevés dans des zones polluées.

5. EVALUATION DU RISQUE POUR L'HOMME

5.1 Considération d'ordre général

La toxicologie s'occupe de la reconnaissance du type de dommage qu'un produit chimique déterminé peut occasionner (identification du risque) et de la probabilité qu'a ce dommage de résulter d'un type particulier d'exposition au produit chimique (évaluation du risque).

Chez l'homme et d'autres espèces mammifères, les agents chimiques présents dans l'environnement peuvent pénétrer dans l'organisme par trois voies principales: l'ingestion (dans l'eau et les aliments), l'inhalation et l'absorption percutanée. Dès qu'il a pénétré, le produit chimique est rapidement réparti dans l'ensemble de l'organisme, il y est métabolisé, puis excrété. La plupart des agents chimiques sont rapidement excrétés, mais certains sont éliminés avec difficulté et sont stockés dans l'organisme, notamment dans les os et les graisses. Le stockage peut intervenir au niveau d'organes internes (comme le foie et le rein).

Le métabolisme est une étape importante pour rendre les agents chimiques inoffensifs mais, dans certains cas, un métabolite intermédiaire toxique peut être produit. Certains produits chimiques n'ont pas besoin d'être métabolisés pour exercer un effet toxique.

Le risque est classé en quatre grandes catégories: la toxicité systémique, la mutagénicité, la cancérogénicité et la toxicité liée à la reproduction.

La toxicité systémique résulte habituellement de l'ingestion accidentelle ou intentionnelle d'une dose élevée d'un produit chimique particulier. Chez l'homme, de pareils accidents sont dus à l'exposition industrielle ou à la contamination accidentelle des aliments par d'importantes quantités d'une substance toxique. Parfois, des doses élevées de produits chimiques peuvent être ingérés délibérément lors d'une tentative de suicide. Des épisodes de la sorte donnent une idée du niveau de tolérance chez l'homme de telle ou telle substance.

Les études de toxicité chez l'animal sont réalisées lorsque les données sur la toxicité systémique d'une substance chez l'homme sont insuffisantes ou non disponibles. Il existe toute une gamme d'études de ce type, depuis les études aiguës à dose unique, comme la DL₅₀, jusqu'aux études à court terme (14-28 jours) ou à plus long terme durant 90 jours ou pouvant atteindre une année. Ces études sont habituellement menées chez des rongeurs, mais on a également recours à d'autres espèces, comme les chiens.

Les données de toxicité systémique fournissent des renseignements sur le ou les organes altérés par l'agent chimique (organe-cible) et sur la dose la plus faible pour laquelle des effets nocifs sont observés. A partir des données de cette nature, on peut tirer certaines indications quant aux niveaux d'inocuité, comme l'apport quotidien admissible et l'apport hebdomadaire tolérable provisoire.

La mutagénicité est le pouvoir que possède un produit chimique d'induire dans le génome (ADN) des modifications qui sont transmissibles à la progéniture. Cette propriété est évaluée à partir de tests *in vitro* sur les bactéries, les champignons, les levures, etc., et à partir de tests *in vivo* chez la souris ou le rat. Des systèmes de tests permettant la détection de la mutagénicité chez l'homme sont en cours de mise au point. L'expérience a montré que la plupart des produits chimiques cancérigènes chez l'homme et chez l'animal sont mutagènes dans un ou plusieurs des tests mentionnés. Ces tests de mutagénicité et autres tests connexes sont employés comme tests "à court terme" en vue de prédire l'activité cancérigène et d'autres effets pathologiques en fonction des modifications génomiques se produisant dans les cellules somatiques ou germinales.

On emploie habituellement le terme de cancérogénicité pour désigner la propriété qu'a un corps chimique de provoquer le cancer chez l'homme ou chez l'animal. Comme le développement d'un cancer chez l'homme nécessite un long délai, il peut ne pas être possible d'établir une relation de cause à effet entre l'apparition d'un cancer et l'exposition à un agent chimique spécifique chez un seul et même individu. Pour surmonter cette difficulté, on mène des études épidémiologiques sur des groupes de population. Ces études évoquent fréquemment un certain degré d'association entre une incidence accrue d'un type particulier de cancer et l'exposition à un produit chimique ou à un mélange de produits chimiques.

Il est très rare de pouvoir tirer d'études épidémiologiques une preuve concluante d'une relation de cause à effet entre un produit chimique suspecté et un cancer, si bien que l'on recherche des indices supplémentaires dans les résultats des études de cancérogénicité menées en expérimentation animale, principalement chez le rat et la souris. Tout comme l'homme, les animaux sont sensibles à la formation de cancer, notamment lorsqu'ils

approchent de la vieillesse. Ils se sont également avérés être sensibles à la formation de cancer par les produits chimiques qui sont réputés pour être cancérigènes chez l'homme. Bien que l'interprétation des études de cancérogénicité expérimentales soit souvent malaisée, il est incontestable que des investigations de cette nature fournissent des renseignements précieux sur les risques de cancérogénicité. D'une manière générale, les études de cancérogénicité s'attachent aux aspects suivants:

1. relation dose-réponse;
2. réduction de la latence;
3. nature biologique de la tumeur, caractère malin ou bénin; et
4. pouvoir génotoxique ou non de l'agent cancérigène lors des tests à court terme.

Dans les études de cancérogénicité, il est habituel d'administrer à l'animal le produit testé à des doses très fortes afin d'assurer une exposition suffisante. Par contre, les concentrations des produits chimiques décelés dans l'environnement et auxquels l'homme est exposé sont très faibles. La question de savoir si, même à des niveaux faibles, les cancérigènes peuvent présenter un risque, bien que généralement tenu pour minime, est quelque peu controversée. Elle concerne notamment les substances dites "cancérigènes génotoxiques", mais dans une moindre mesure les cancérigènes non génotoxiques pour lesquels le calcul d'une dose inoffensive à partir du niveau à effet nul est jugé approprié (Grasso *et al.*, 1991).

Une estimation du risque présenté par de faibles doses de cancérigènes est habituellement effectuée par des comités nationaux et internationaux d'experts sur la base d'un risque admissible que l'on cite couramment comme équivalent à 1 cas de cancer sur 10^8 habitants. Telle est l'approche soutenue par l'OMS (1989). Une autre approche, défendue par certaines organisations environnementales, consiste à employer des formules mathématiques pour estimer l'incidence des tumeurs à faibles doses échappant à la portée de l'observation expérimentale d'après l'incidence des tumeurs obtenue avec les fortes doses utilisées en expérimentation animale. Ces estimations mathématiques, dites "extrapolation des faibles doses à partir des fortes doses", ont été vivement critiquées car elles reposent sur des hypothèses invérifiables (comme celles de l'oncogénèse "mono-coup" et "multi-coups", d'une sensibilité équivalente de l'homme et du rat aux cancérigènes chimiques, de la forme de la courbe dose-réponse au-dessous des niveaux de dose expérimentalement vérifiables). Du fait de ces incertitudes, un très grand nombre de formules mathématiques ont été proposées. Quand plusieurs d'entre elles ont été appliquées à un ensemble particulier de données afin d'estimer une dose admissible, les chiffres obtenus variaient de plusieurs ordres de grandeur (Butterworth, 1989). Les enseignements de cette nature ont généralement dissuadé de recourir à ces formules.

Dans le présent document, aucune extrapolation mathématique n'a été tentée, et le niveau d'une dose admissible repose sur les estimations établies par divers comités nationaux et internationaux.

La toxicologie concernant la reproduction comporte les effets sur la fécondité, la foetotoxicité et la tératologie (malformations foetales). Ces tests sont d'ordinaire pratiqués à des doses élevées afin de maximaliser l'exposition, et l'on estime habituellement le niveau d'exposition inoffensif à partir du "niveau exempt de tout effet observable" obtenu dans le modèle expérimental.

En raison du manque de données sur les effets mutagènes et tératogènes attribuables chez l'homme à des sources marines, on s'attachera avant tout dans la présente section aux effets cancérigènes. Même dans ce domaine, les renseignements sur le risque encouru par l'homme sont pratiquement absents et l'on a dû recourir à des données d'autres sources pour une évaluation provisoire du risque.

5.2 Evaluation des polluants prioritaires

Lors de la Consultation sur les polluants marins cancérigènes et mutagènes en Méditerranée qui s'est tenue à Athènes en juin 1989 afin de mettre une dernière main aux dispositions du projet pilote de surveillance évoqué à des sections précédentes et de convenir à grands traits de la portée et de la teneur du présent document, la priorité a été accordée aux polluants ci-après:

- arsenic
- hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH)
- polychlorobiphényles (PCB)
- polybromobiphényles (PBB)
- toxaphène
- mirex
- dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)
- hexachlorobenzène (HCB)
- hexachlorocyclohexane (HCH)
- acide nitrilotriacétique (NTA) et ses sels
- hydrocarbures halogénés à faible poids moléculaire
- polychlorodibenzodioxine (PCDD) et polychlorofuranes.

Dans chaque cas, l'évaluation de la cancérogénicité pour l'homme repose sur les résultats de tests à court terme, d'essais de cancérogénicité chez l'animal et d'études épidémiologiques. Les voies d'exposition ainsi que les niveaux d'exposition autres que ceux directement liés au milieu marin sont également pris en considération en vue de fournir une indication: a) de la charge totale d'exposition, et b) de la contribution possible des sources marines à cette dernière. Les limites, sous forme d'apports quotidiens admissibles recommandées par divers organismes, sont données sur le tableau 11. Il convient de noter que ces apports prennent en compte la somme totale des effets sur la santé et pas les seuls risques de cancérogénicité.

5.2.1 Arsenic

L'arsenic est très répandu dans l'écorce terrestre, principalement sous forme d'arséniures de cuivre, de nickel et de fer. La concentration d'arsenic est particulièrement faible dans l'eau de mer où l'arséniate l'emporte sur l'arséniure et a tendance à être métabolisé par des bactéries et des champignons pour former des dérivés méthylés (De Renzi *et al.*, 1989). En dépit des faibles niveaux de composés arsenicaux décelés dans l'eau de mer (0,001-0,008 mg/l) (Penrose *et al.*, 1977), le poisson et les crustacés notamment contiennent des quantités appréciables de cet élément dans leurs tissus (0,2-200 mg/kg). Dans les organismes marins l'arsenic est converti en formes organiques de sorte que l'arsenic inorganique dépasse rarement 1 mg/kg et ne constitue que 2 à 10% de la teneur en arsenic total des produits comestibles de la mer (De Renzi *et al.*, 1989).

Malgré l'importance toxicologique de cet élément, un Groupe de travail du CIRC (IARC, 1980) n'a pu disposer d'aucun résultat de mutagénicité *in vitro*. Un test létal dominant soigneusement effectué chez la souris s'est avéré négatif (IARC, 1980). Cependant, on a constaté que des composés arsenicaux induisaient une létalité accrue chez des bactéries déficientes en réparation ainsi que des anomalies chromosomiques chez la drosophile et dans des cellules de mammifères (De Renzi *et al.*, 1989).

Tableau 11

Apports quotidiens admissibles pour certains produits chimiques

PRODUIT CHIMIQUE	LIMITES D'APPORT ORAL TOLÉRABLE OU ADMISSIBLE	AUTORITÉ
Arsenic	0,015 mg/kg pc/semaine ou 0,105 mg/personne/semaine	JECFA 1989
PAH	10-30 µg/personne/jour*	OMS 1989
PCB	0,1-40 µg/personne/jour	Divers pays in OMS 1985
PBB	20 µg/personne/jour	NTP 1982
Toxaphène	Estimé à environ 100 pg/personne/jour*	D'après l' EPA 1976, 1987
Mirex	Estimé à environ 7 µg/personne/jour*	D'après l'EPA 1976
DDT	0,02 mg/kg pc/jour ou 1,4 mg/personne/jour	FAO/OMS 1985
HCB	0,6 µg/kg pc/jour ou 42 µg/personne/jour	OMS 1975
HCH	1,8 mg/personne/jour	EPA 1988
PCDD	Pas d'apport oral quotidien admissible mais un chiffre de 60 µg d'apport quotidien considéré comme tolérable par le gouvernement britannique	HMSO 1989

* Apport estimé - pas nécessairement considéré comme tolérable (se reporter au texte)

Selon le CIRC (IARC, 1980), les tests de cancérogénicité effectués chez des animaux auxquels on avait administré de l'arsenic par diverses voies n'ont pas mis en évidence une incidence accrue de tumeurs dans un organe quelconque, mais des études ultérieures ont permis de soutenir que le cancer du poumon chez la souris et une faible incidence de cancers de l'appareil respiratoire chez le hamster avaient été induits par l'instillation intratrachéale d'anhydride arsénieux (IARC, 1987).

On dispose d'indices tant circonstanciels qu'épidémiologiques selon lesquels l'arsenic est cancérigène pour l'homme et produit des tumeurs du poumon, de la peau et du foie (IARC, 1980). Les tumeurs du poumon résultent d'une exposition professionnelle à l'arsenic. Selon Blejer et Wagner (1976), le "niveau à effet nul pour les tumeurs du poumon pourrait se situer dans l'intervalle très faible des microgrammes (1 à 40 µg/m³ d'arsenic respirable)".

Des données épidémiologiques recueillies à Taïwan fournissent une ligne directrice pour évaluer le risque de formation de cancer par la voie orale. Le niveau d'arsenic relevé

dans l'eau de boisson de la population présentant un taux élevé de cancer de la peau était de 0,01 à 1,8 mg/litre (Tseng *et al.*, 1968). Le niveau d'arsenic dans les populations témoins présentant les niveaux attendus ("de fond") de cancer de la peau était approximativement égal au dixième de la plus faible dose occasionnant un cancer de la peau chez l'homme (0,001 à 0,002 mg/litre) (Tseng, 1977).

Des tumeurs du foie sont survenues chez quelques travailleurs viticoles exposés à des doses élevées de pesticides renfermant de l'arsenic (IPCS, 1981), et chez quelques patients traités par des préparations médicinales contenant de l'arsenic (IARC, 1987).

Tant l'arsenic (III) que l'arsenic (V) sont toxiques pour l'homme. Les effets aigus comportent des lésions gastro-intestinales profondes entraînant des vomissements et une diarrhée graves, des crampes musculaires et un retentissement cardiaque (IPCS, 1981). On a signalé que la dose mortelle d'oxyde d'arsenic (III) se situait entre 70 et 180 mg (Vallee *et al.*, 1960).

L'arsenic est tératogène chez la souris, le rat et le hamster quand il est administré à fortes doses par voie parentérale (IARC, 1980). Il s'est avéré embryotoxique mais non tératogène quand il était administré par voie orale (IARC, 1980).

Selon deux études réalisées par Nordstorm et coll. (1978, 1979), on a observé une incidence accrue d'avortements et de malformations dans la progéniture de femmes qui avaient travaillé dans des fonderies ou vécu à proximité. Les émissions de ces fonderies contenaient d'autres éléments métalliques si bien qu'il est impossible de dire si l'arsenic était en cause.

Dans les zones non polluées, l'apport par inhalation est de 0,05 µg/m³ ou moins; près des centrales et des fonderies, il est d'environ 1 µg/m³ (IPCS, 1981). Les aérosols provenant des embruns contribuent à l'apport d'arsenic dans les zones voisines du rivage, mais la quantité absorbée à partir de ces sources est très réduite (De Renzi *et al.*, 1989).

Aux états-Unis, une exposition professionnelle à une limite supérieure de 10 µg/m³ (moyenne pondérée sur le temps - période de 8 heures) est tolérée pour l'arsenic inorganique, et à une limite supérieure de 0,5 mg/m³ pour l'arsenic organique (US, OSHA, 1979).

Les niveaux dans l'eau de boisson sont variables; des concentrations atteignant 1,8 mg/litre ont été enregistrées. Les niveaux moyens sont considérablement inférieurs à cette valeur.

La norme internationale de l'OMS pour l'arsenic inorganique dans l'eau de boisson est de 0,05 mg/litre (WHO, 1971). Dans la Communauté européenne, une limite de 0,1 mg/litre (maximale) est tolérée dans l'eau de boisson.

En 1989, le JEFCA a fixé un apport quotidien tolérable provisoire de 0,015 mg/kg pc pour l'arsenic inorganique, tout en attirant l'attention sur le fait que la marge de sécurité est étroite car cet apport est proche des niveaux qui sont connus pour provoquer des troubles cutanés et le cancer chez l'homme. Le JEFCA a également noté que l'exposition à des niveaux d'arsenic inorganique n'occasionnant pas d'arsenicisme ne paraît pas faire courir un risque cancérigène (WHO, 1989). Les arsenicaux organiques ne semblent pas constituer un motif de préoccupation (WHO, 1989).

Selon le GESAMP (1991), l'apport quotidien tolérable provisoire n'est pas dépassé par la consommation de 150 g/produits de la mer/7 jours/semaine, même si la teneur en arsenic des produits de la mer s'élève jusqu'à 10 µg d'arsenic total/g. Un certain nombre d'échantillons de poisson analysés en Méditerranée excèdent ce niveau, sur la base du poids humide. Par contre, comme la majeure partie de l'arsenic contenu dans les produits de la mer s'y trouve sous la forme organique, le risque pour la santé n'est pas aussi important qu'il l'aurait été si l'arsenic ne s'y était trouvé que sous la forme inorganique.

5.2.2 Hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH)

Les PAH sont principalement formés par la combustion incomplète de matières organiques, notamment de combustibles fossiles. Une proportion réduite semble être formée par la décomposition naturelle de la végétation (Grasso, 1984).

Le pouvoir cancérigène relatif de quelques PAH et produits renfermant des PAH est indiqué sur le tableau 12. Tous les PAH cancérigènes sont également mutagènes avec divers tests de mutagénicité (IARC, 1983).

Les PAH possédant quatre à sept cycles fusionnés se sont avérés être cancérigènes en expérimentation animale, notamment par badigeonnage de la peau. Quelques PAH (3-méthylcholanthène, diméthylbenzo(a)anthracène, benz(a)pyrène et dibenz(a,h)anthracène) ont donné naissance à des tumeurs quand ils étaient donnés dans l'alimentation. Ces tumeurs comprenaient des adénocarcinomes mammaires, des épithéliomas malpighiens de l'estomac, des fibrosarcomes et des leucémies (Lo *et al.*, 1978).

Tableau 12

Cancérogénicité de quelques PAH et produits renfermant des PAH

1	2A	2B	3
Goudron de houille Huile minérales (non raffinées)	Benzo(a)pyrène Dibenz(a,h)anthracène	Benzofluoranthènes Dibenz(a,i)peridines Dibenzopyrènes	Anthracène Anthanthrène Benzofluorènes Benzo(e)pyrène Pyrène
Groupe 1 = cancérigène chez l'homme " 2A = probablement cancérigène chez l'homme " 2B = éventuellement cancérigène chez l'homme " 3 = inclassable			

D'après le CIRC (IARC, 1987)

Bien que des produits contenant des PAH aient entraîné des tumeurs de la peau chez l'homme par contact direct ainsi que des cancers du poumon par inhalation d'émanations riches en PAH, il ne semble pas qu'on dispose d'éléments épidémiologiques indiquant que les PAH alimentaires contribueraient dans une mesure appréciable au risque de cancer chez l'homme (IARC, 1983). Les tentatives faites pour établir une relation entre l'incidence élevée

de cancer de l'estomac au Japon et les PAH cancérigènes de l'alimentation ne sont pas convaincantes puisque d'autres facteurs comme la fougère, qui est un mets apprécié au Japon, peuvent tout autant être incriminés (Grasso, 1984). Et l'hypothèse avancée selon laquelle l'incidence élevée du cancer de l'estomac en Islande pourrait être imputable à l'important apport de poisson et de viande fumés (Lo *et al.*, 1978) est tout aussi peu convaincante puisque d'autres régions du monde où il existe un apport comparable de PAH ne présentent pas cette incidence élevée du cancer en question. En outre, en dépit du fait que les PAH sont, semble-t-il, abondamment répandus dans les végétaux comestibles, rien n'indique que les végétariens aient une plus forte incidence de cancer de l'estomac que le reste de la population.

La principale voie d'exposition aux PAH consiste en l'inhalation d'air contaminé soit par la pollution urbaine soit par le tabagisme. Les quantités inhalées varient considérablement. Les niveaux courants d'exposition de BaP (communément considéré comme un marqueur du PAH total) par l'atmosphère urbaine peuvent varier de $0,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ à $74 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Hoffman et Wynder, 1976). Par la fumée de cigarette, ils peuvent varier de 25 à $252 \mu\text{g}/100$ cigarettes chez les fumeurs et de 10 à $1010 \text{ng}/\text{m}^3$ dans les environnements pollués par la fumée de cigarette (IARC, 1983).

L'alimentation et l'eau de boisson ont une part voisine dans la contribution à l'exposition de l'homme aux PAH. L'apport oral total de PAH à partir de ces sources (d'après la concentration de BaP) est estimé à $1,6-16 \mu\text{g}/\text{jour}/\text{personne}$ aux Etats-Unis (IARC, 1983). La contribution des produits comestibles de la mer à ce chiffre varie fortement en fonction de la quantité de poisson et d'autres organismes marins dans le régime alimentaire et de la teneur en PAH de leurs tissus.

Dans l'ensemble, le poisson provenant d'eaux non polluées ne contient pas de quantités détectables de PAH (Io, 1978) mais, dans les zones polluées par les PAH, on fait part qu'il peut en contenir 1.000 à 100.000 fois plus que le poisson des eaux propres (Weldre *et al.*, 1977; IARC, 1983). La situation prévalant dans les zones de la Méditerranée englobées dans le récent projet pilote de surveillance continue est indiquée sur les tableaux 4 et 7.

Il n'a pas été fixé d'apport quotidien admissible pour les PAH totaux, mais on dispose de quelques niveaux admissibles pour les PAH de l'eau de boisson. L'Environmental Protection Agency des Etats-Unis a publié une concentration admissible pour le BaP de l'eau de boisson, soit $0,028 \mu\text{g}/\text{litre}$ (GESAMP, 1991), tandis que la directive OMS (WHO, 1984) pour le BaP de l'eau de boisson est de $0,01 \mu\text{g}/\text{litre}$ représentant 0,1-0,3% des PAH totaux ingérés que l'on a estimés à $10-30 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{jour}$. Pour ces estimations, on admet que le BaP est un marqueur des PAH totaux. Rugen (1989) a proposé que les concentrations admissibles d'autres PAH soient basées sur la concentration en BaP avec un facteur déterminé à partir du pouvoir cancérigène relatif du BaP.

Selon le GESAMP (1991), la consommation de $150 \text{g}/\text{jour}$ de poisson ou de mollusques/crustacés provenant d'eaux non polluées et contenant environ $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ de PAH ne devrait pas augmenter de manière appréciable l'apport alimentaire de PAH. La consommation de poisson (notamment de mollusques/crustacés) provenant d'eaux polluées devrait accroître notablement l'apport de PAH et pourrait comporter un risque inacceptable. A cet égard, le montant total des divers PAH enregistrés simultanément dans les mêmes spécimens de moules dépasse largement le niveau précité dans certaines zones de la Méditerranée (voir tableaux 4 et 7).

5.2.3 Polychlorobiphényles (PCB)

Les polychlorobiphényles (PCB) ont été largement utilisés dans les appareils électriques tels que condensateurs et transformateurs et, dans une moindre mesure, dans les appareils hydrauliques et calorifères. Ces derniers sont habituellement considérés comme des systèmes clos et qui, lorsqu'ils sont en service, ne sont guère susceptibles de contaminer notablement l'environnement. La collecte, le stockage et l'élimination impropres des déchets contenant des PCB peuvent toutefois s'accompagner d'une contamination accrue de l'environnement (WHO, 1988).

Les PCB ont donné des résultats négatifs dans plusieurs tests de mutagenicité *in vitro*, mais on a signalé que le 4-chlorobiphényle avait induit une réparation de l'ADN dans des cellules CHO (IARC, 1987). Chez un groupe de 15 travailleurs soumis à une exposition aiguë aux PCB, on n'a pas relevé dans les lymphocytes d'incidence accrue des aberrations chromosomiques ou des échanges entre chromatides soeurs (SCE) (Elo *et al.*, 1985).

Les études de cancérogénicité chez l'animal ont révélé que les mélanges de PCB contenant une quantité importante d'homologues plus fortement chlorés engendraient une incidence élevée de cancers hépatocellulaires chez le rat quand ils étaient administrés à des niveaux alimentaires compris entre 100 et 1000 mg/kg. Chez des rats et des souris, des nodules hyperplasiques sont apparus au niveau du foie à une dose de 25 mg/kg (NCL, 1978; Norback *et al.*, 1985). Lors d'une expérimentation, de l'Aroclor 1254 a entraîné de rares tumeurs hépatiques chez le rat, mais il a accru l'incidence de l'adénocarcinome de l'estomac et de la métaplasie intestinale (Ward, 1985).

Chez l'homme, les principaux effets d'une exposition prolongée aux PCB consistent en acné chlorique (une affection cutanée défigurante), en neuropathie et en toxicité hépatique. Ces effets ont été observés sous des conditions d'exposition professionnelle à 0,1 mg/m³ - 1,44 mg/m³ pendant 5 à 14 mois (Meigs *et al.*, 1954) et après l'ingestion d'huile de riz accidentellement contaminée par des PCB (dose totale de 633 mg sur une période de quelques semaines) et par des PCDF (3,4 mg) et du PCQ (596 mg) (Habayuchi *et al.*, 1979).

Les PCB, comme les autres hydrocarbures chlorés, sont aisément stockés dans les graisses et s'éliminent très lentement (WHO, 1988).

Plusieurs études épidémiologiques ont été menées sur des groupes de travailleurs exposés aux PCB en raison de leur profession. Bien que, dans certaines de ces études, on ait relevé une incidence plus forte que prévue de divers types de cancer, on n'a pu en tirer de conclusions solides car on ne pouvait écarter d'importants facteurs déroutants, tels qu'une exposition à d'autres produits chimiques. Dans une étude où l'exposition en cause concernait principalement ou exclusivement les PCB, le résultat a été négatif (Brown, 1987; Shalat *et al.*, 1989; WHO, 1988). Des assertions selon lesquelles des nouveau-nés de mères exposées professionnellement aux PCB présentaient un faible poids à la naissance ou des altérations du comportement n'ont pas été étayées (Fein *et al.*, 1984).

Il semblerait que les produits comestibles de la mer soit la principale source de PCB pour des populations entières. L'apport peut être très variable, notamment en fonction des quantités et de l'origine du poisson d'eau douce ou de mer consommé (WHO, 1988; GESAMP, 1991). Une analyse des notifications de PCB dans les produits de la mer (GESAMP, 1991) indique que les parties comestibles des poissons vertébrés peuvent contenir plusieurs centaines de µg de PCB par kg. Des données concernant la Méditerranée figurent sur les tableaux 3 et 5. Aux Etats-Unis, un niveau de tolérance de 5.000 µg/kg de PCB a été

fixé, puis ultérieurement réduit à 2.000 µg/kg (Mearns, 1988). Selon Bennett (1983), il a été estimé que l'apport alimentaire de PCB variait de 5 à 100 µg/jour, soit un apport moyen de 24 µg/jour. Les apports moyens quotidiens acceptables d'origine alimentaire pour les PCB sont donnés ci-dessous (OMS, 1985):

PAYS	µg/jour/Personne
Pays-Bas	< 11,6
Allemagne	< 6,4
Royaume Uni	< 40,0
Canada	< 0,1
Japon	< 15,0
Etats-Unis	< 0,1 - 1,9

L'apport de PCB à partir de l'air et de l'eau est comparativement plus réduit que celui provenant de l'alimentation. Par exemple, la teneur de l'air en PCB a varié de < 36 ng/m³ (Hollande) à 1 ng/m³ (Norvège). Les concentrations dans l'eau de boisson se situent entre 0,1 et 0,5 ng par litre.

Un individu consommant 150 g de poisson par jour contenant 1 µg/g de PCB (soit une concentration supérieure à celles trouvées en Méditerranée) devrait ingérer 150 µg de PCB (ou 2µg/kg pc approximativement). Ce niveau est inférieur de plusieurs ordres de grandeur aux niveaux occasionnant des symptômes chez l'homme ou des effets nocifs en expérimentation animale. On peut ajouter à cela qu'il y a pas de données épidémiologiques établissant l'existence chez l'homme d'un cancer induit par l'exposition aux PCB, et que chez l'animal le cancer du foie a été provoqué par un mécanisme non génotoxique, ce qui permet de confirmer en partie qu'à ce niveau d'apport des effets nocifs n'ont guère de chances de se produire chez l'homme.

Néanmoins, des niveaux d'environ 2 µg/kg pc/jour sont bien supérieurs aux niveaux moyens acceptables d'apport quotidien recommandés par plusieurs pays (voir ci-dessus), si bien qu'on doit témoigner d'une certaine prudence avant d'accepter des niveaux d'apport de cet ordre.

5.2.4 Polybromobiphényles (PBB)

Les PBB sont, comme les PCB, des composés extrêmement stables qui persistent très longtemps dans l'environnement (dans le sol et l'eau, par ex.) (Jacobs *et al.*, 1976) et dans les graisses de l'organisme (Stross *et al.*, 1979); on les rencontre principalement dans l'eau et les sédiments au voisinage des sites où ils sont fabriqués. Ils ne sont pas mutagènes lors des tests *in vitro* et *in vivo* (IARC, 1986) mais on a signalé des cancers hépatocellulaires chez des souris et des rats ayant reçu de 0,1 à 10 mg/kg pc d'hexabromobiphényle (Fire Master FF1). L'incidence accrue de tumeurs s'est manifestée aux niveaux de 3,0 et 10 mg/kg pc

chez les rats et au niveau de 10 mg/kg pc chez les souris (Gupta *et al.*, 1983; NTP, 1983; Kimbrough *et al.*, 1981). On a relevé une faible augmentation, non statistiquement significative, de cancers hépatocellulaires dans le progéniture de rates Sherman traitées par le Fire Master FF1 à raison de 200 mg/kg pc au cours de la gestation (Groce et Kimbrough, 1984).

En expérimentation animale, les PBB provoquent de l'hépatomégalie et sont de puissants inducteurs de l'activité des oxydases à fonctions mixtes. Ils présentent une toxicité aiguë d'ordre faible ($DL_{50} > 17$ g/kg pc/rat) (IARC, 1986).

Les doses de PBB élevées, proches de celles occasionnant une toxicité maternelle, sont toxiques pour les foetus de rat et induisent des malformations foetales. Les faibles doses n'entraînent pas d'effets de cette nature (IARC, 1986).

Chez des exploitants agricoles du Michigan accidentellement exposés à des niveaux élevés de PBB, on a enregistré une forte prévalence d'épreuves fonctionnelles hépatiques pathologiques. En outre, les numérations de lymphocytes T et de lymphocytes B étaient plus faibles que prévu et on a fait état de taux plus élevés de troubles dermatologiques, neurologiques et musculo-squelettiques (Anderson *et al.*, 1978a, 1978b). Cependant, on n'a signalé aucune incidence accrue de tumeurs dans ce groupe d'exploitants agricoles du Michigan ou dans une cohorte réduite de travailleurs soumis pendant plusieurs années à une exposition professionnelle (IARC, 1986).

En novembre 1974, la Food and Drug Administration (FDA) des Etats-Unis a adopté des limites supérieures admissibles de 0,3 mg/kg dans les matières grasses du lait, de la viande et de la volaille et de 0,05 mg/kg dans les oeufs entiers (environ 20 µg/jour/personne en postulant un apport de 60 g de protéines) (Di Carlo *et al.*, 1978; NTP, 1982).

Il semblerait que les PBB constituent avant tout un risque à proximité des zones où ils sont fabriqués, utilisés ou stockés. Comme les PCB, ils ne sont pas mutagènes et ils sont cancérigènes à fortes doses en expérimentation animale, si bien qu'il est peu probable que des apports de l'ordre de 20µg par jour occasionnent des effets nocifs.

On dispose d'assez peu de données sur les teneurs en PBB des produits comestibles de la mer. En raison de la similitude des effets toxiques des PBB et de ceux des PCB, il est souhaitable de retenir des niveaux d'apport quotidien proche du chiffre considéré comme admissible par la FDA pour les aliments d'origine terrestre. Dans ces conditions, les niveaux enregistrés dans les moules en certaines zones de la Méditerranée étaient très faibles (Albaiges and Bayona, 1991).

5.2.5 Toxaphène

Le toxaphène est un insecticide principalement utilisé en Amérique du Nord contre les ravageurs du coton, mais également employé dans d'autres zones. Il est présent avant tout dans les eaux fluviales recevant des effluents des usines où il est fabriqué ou recevant les eaux de ruissellement des cultures où il est répandu (IARC, 1979b). Il n'est que lentement biodégradable (Nash *et al.*, 1973) et s'accumule dans les graisses de l'organisme. On a constaté qu'il est mutagène pour *S. typhimurium* sans activation métabolique. Le test létal dominant, mené par voie orale et intra-péritonéale, s'est avéré négatif.

Le toxaphène est modérément toxique. La DL_{50} est de 90 mg/kg pc chez le rat (Gaines, 1960). Il induit diverses enzymes microsomaux hépatiques (Kinoshita *et al.*, 1966)

et une hypertrophie centro-lobulaire du foie (Ortega *et al.*, 1957). Le toxaphène n'est pas embryotoxique et il est tératogène aux niveaux de dose induisant une toxicité maternelle (IARC, 1979b).

La cancérogénicité du toxaphène a été étudiée chez le rat et la souris. Chez des souris, des doses moyennes pondérées pour tenir compte du temps, administrées par voie orale à raison de 99 mg/kg (faible dose) et de 198 mg/kg (forte dose) pendant environ 90-91 semaines, ont entraîné une incidence élevée de cancers hépatocellulaires aussi bien dans les groupes "forte dose" que dans les groupes "faible dose". Chez des rats, des doses moyennes pondérées pour tenir compte du temps, administrées par voie orale à raison de 1080 ou 1112 mg/kg (femelles et mâles respectivement) et 540 ou 556 mg/kg (femelles et mâles respectivement), ont entraîné une incidence élevée de tumeurs de la thyroïde dans les groupes "fortes doses" de l'un et l'autre sexes. Aucune tumeur hépatique n'a été induite (NCL, 1979).

Chez l'homme, la dose létale aiguë a été estimée entre 2 et 7 g par personne. On n'a relevé aucune incidence de tumeurs chez 199 personnes qui étaient ou avaient été employées à la fabrication du toxaphène entre 1949 et 1977 pour des périodes variables de 6 à 26 ans (Ottoboni, 1977).

Des niveaux de tolérance du toxaphène de 0,1 à 7 mg/kg ont été fixés pour les fruits et légumes, et de 5 mg/litre pour les eaux navigables. Dans le poisson-chat provenant d'étangs commerciaux, on a relevé des teneurs moyennes de 1,98 mg/kg (Hawthorne *et al.*, 1974).

Selon les lignes directrices de l'EPA, des limites maximales de 0,005 ppm, 6 ppm et 0,0007 ppm sont tolérées dans l'eau, l'huile de graines de soja non raffinée, les produits agricoles, viande, poisson et volaille crus (EPA, 1976, 1987). Si l'on admet une consommation de 500 g d'aliments divers, l'apport toléré de toxaphène est alors d'environ 100 pg par jour.

Les tumeurs du foie induites par le toxaphène chez la souris sont probablement une conséquence déclenchée par l'activité des oxydases à fonctions mixtes (Grasso et Hinton, 1991). Les tumeurs de la thyroïde chez le rat sont probablement dues à un trouble de l'équilibre hormonal thyroïdien du type déclenché par les inducteurs de l'activité MFO (Grasso et Hinton, 1991). De fait, le toxaphène a été classé par le CIRC dans la catégorie 2b ("probablement cancérigène chez l'homme") (IARC, 1987). Néanmoins, en raison du test de mutagénicité positif pour *S. typhimurium*, on ne peut exclure entièrement quelque effet direct sur le génome.

Si l'on tient compte des superficies géographiques restreintes où on l'utilise et de ses applications agricoles limitées, il est peu probable qu'il présente un risque pour l'ensemble de la population, mais il pourrait présenter ce risque pour les communautés de pêcheurs vivant à proximité des zones de son emploi commercial.

5.2.6 Mirex

Le mirex a été utilisé comme pesticide et ralentisseur de feu, principalement aux Etats-Unis (IARC, 1979b), mais aussi dans d'autres régions, y compris la Méditerranée. Dans les zones proches des surfaces où il a été épandu, il pénètre dans la plupart des produits alimentaires et sa rémanence est de plusieurs mois.

Les tolérances admises aux Etats-Unis pour les résidus de Mirex dans les produits alimentaires sont les suivantes: 0,1 mg/kg dans le gras de viande et 0,01 mg/kg dans ou sur tout produit agricole cru (U.S. EPA, 1976). Dans un régime alimentaire varié, cela donne une valeur d'environ 7 µg/personne/jour.

Les tests de mutagénicité pour *Salmonella* ont été négatifs. Un test létal dominant a également été négatif.

Le mirex a été testé pour sa cancérogénicité dans deux souches de souris à un niveau de dose unique (10 mg augmenté à 26 mg/kg pc). On a relevé une incidence bien plus élevée de cancers hépatocellulaires dans les souris traitées par comparaison avec les souris témoins (Innes *et al.*, 1969). Le mirex a également été administré à des rats pendant 18 mois à raison de 50 ou 100 ppm dans le régime alimentaire. On a enregistré dans les groupes traités une incidence de tumeurs hépatocellulaires qui était en rapport avec la dose. Aucune de ces tumeurs n'est apparue chez les témoins (Utland *et al.*, 1977). Dans une étude plus récente, le mirex a induit une augmentation statistiquement significative de tumeurs du foie, de la médullo-surrénale et de l'épithélium à cellules transitionnelles du rein (NTP, 1987).

Comme le mirex est un puissant inducteur de l'activité MFO, il est probable que les tumeurs du foie chez les rats et les souris ont été provoquées par un mécanisme non génotoxique. De fait, le CIRC (IARC, 1987) l'a classé dans une catégorie inférieure de risque cancérigène (2B) pour l'homme.

Le mirex est relativement peu toxique. La DL₅₀ chez le rat commence à 600-700 mg/kg pc. Il occasionne une hépatomégalie à des niveaux de 1 à 10 mg/kg, une activité MFO accrue et des altérations graisseuses. A doses élevées, il a induit une nécrose hépatocellulaire (Kendall, 1974; Villeneuve *et al.*, 1977). A des doses entraînant une toxicité maternelle, on a relevé une réduction des foetus et quelques anomalies foetales. Des doses plus faibles n'ont pas eu d'effets (IARC, 1979d).

Les niveaux les plus élevés de résidus enregistrés en Méditerranée au cours de la récente étude pilote de surveillance (voir tableau 3) s'établissaient à 26,49 µg/kg chez le poisson et à 12,04 µg/kg chez les moules (sur la base du poids frais dans l'un et l'autre cas), soit des niveaux inférieurs à ceux qui sont autorisés dans le gras de la viande animale aux Etats-Unis. Si l'on retient un apport quotidien de 150 g de produits de la mer contenant 30 µg/kg de mirex, il s'ensuit que l'apport quotidien de mirex devrait être approximativement de 4,5 µg/personne, soit un apport inférieur à celui toléré pour l'alimentation mais qui ne prend pas en compte les autres sources.

5.2.7 Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)

Le DDT est un insecticide à large spectre, efficace contre toutes sortes d'insectes nuisibles. Il est stable dans la plupart des conditions environnementales et résiste à une dégradation complète par les enzymes présentes dans les micro-organismes du sol et les organismes supérieurs. Sa rémanence dans l'environnement est principalement due au fait qu'il est liposoluble et pratiquement insoluble dans l'eau (WHO, 1979).

Le DDT n'a pas été mutagène lors du test sur *S. typhimurium* ou pour les champignons. Il a induit des aberrations chromosomiques mais non des micronuclei dans les cellules médullaires et les spermatoocytes de souris. Ces effets n'ont pas été observés dans les cellules médullaires de rat. Il a occasionné des mutations létales dominantes chez

la drosophile mais il a été négatif dans les test d'anomalies chromosomiques, de mutations ou de synthèse non programmée d'ADN dans des cellules humaines *in vitro*.

Les études épidémiologiques de Laws (1973) et de l'OMS (WHO, 1979) portant sur des travailleurs fortement exposés n'ont pas permis de mettre en évidence des indices de cancérogénicité du DDT chez l'homme. En dépit du nombre restreint des cas de ces études, la période d'observation a duré plusieurs années, ce qui confère une certaine crédibilité aux résultats négatifs. Dix-neuf études épidémiologiques sur divers groupes de population exposés au DDT ont fait l'objet d'une revue analytique par le CIRC (IARC, 1987). Le CIRC est parvenu à la conclusion que les preuves d'une cancérogénicité du DDT chez l'homme étaient insuffisantes (IARC, 1987).

Le DDT est un composé de toxicité modérément aiguë. La DL₅₀ orale chez le rat est de 500 à 2.500 mg/kg pc, et chez la souris de 300 à 1.600 mg/kg pc en suspension aqueuse. Quand il est dissous dans l'huile, sa DL₅₀ est environ du tiers à la moitié de sa DL₅₀ en suspension aqueuse (WHO, 1979).

A des niveaux posologiques proches de la dose létale, des effets nocifs se manifestent au niveau du SNC et du foie. Les effets sur le SNC comprennent de l'hyperirritabilité, des tremblements et des convulsions. Les effets hépatiques consistent en nécrose hépatocellulaire en foyer (WHO, 1979). A des niveaux posologiques inférieurs, l'hépatomégalie et la stimulation de l'activité MFO ont été fonction de la dose (Conney, 1967).

On n'a pas signalé chez l'homme d'effets pathologiques de l'exposition au DDT par l'inhalation et la voie cutanée, même dans des conditions de niveaux d'exposition élevés tels que les pulvérisations de l'intérieur des habitations lors de campagnes anti-paludéennes ou que son application abondante lors d'épouillages massifs de troupes et de civils au cours de la Seconde Guerre mondiale (WHO, 1979).

Les seuls effets du DDT pouvant être mis en évidence dans la population générale sont le stockage du composé et de quelques-uns de ses dérivés dans les tissus ainsi que leur excrétion dans l'urine et le lait (Laug *et al.*, 1951; Denes, 1962). Dans les cas d'exposition plus forte, on a également mis en évidence une capacité accrue de métabolisation, plus rapide que la moyenne, du DDT lui-même ou d'un médicament test (comme la phénylbutazone) (Kolmodin *et al.*, 1969; Poland *et al.*, 1970).

Des doses très fortes de DDT comme celles qui peuvent être ingérées accidentellement ou lors d'une tentative de suicide induisent des troubles du SNC qui se caractérisent par une incoordination, des tremblements, une anesthésie et des convulsions. On ne connaît pas la dose létale chez l'homme, mais il semblerait que des doses dépassant 300 mg puissent entraîner des symptômes toxiques et le décès (WHO, 1979).

L'alimentation représente la principale source d'apport de DDT dans la population générale. Au point culminant de l'utilisation du DDT, cet apport était de 0,04 mg/personne/jour, l'eau contribuant pour 1/1000e à cette quantité.

L'exposition au DDT par l'alimentation varie d'un pays à l'autre. Cette variation peut aller du triple au décuple. La concentration du DDT non métabolisé dans le tissu musculaire (viande) se situe, en maintes régions du monde, au dessous du seuil de détection (Villeneuve, 1987), mais dans les zones très polluées, elle peut être en moyenne de 50 µg/kg. Les concentrations dans le foie de poisson et l'huile de foie sont généralement dix fois plus élevées que celles du muscle - la plus haute valeur relevée étant de 7000 µg/kg (Magos,

1989). La plupart des concentrations de produits DDT dans les mollusques/coquillages paraissent être inférieures à 100 µg/kg (Magos, 1989). Des données récentes concernant la Méditerranée figurent sur les tableaux 3 et 6.

L'apport quotidien admissible a été fixé à 0,02 mg/kg pc (FAO/WHO, 1984).

Le DDT a induit des tumeurs hépatiques chez le rat et la souris à des niveaux très élevés d'administration. Les études de mutagénicité n'étaient pas concordantes, ce qui autorise à penser que la mutagénicité du DDT est faible ou douteuse. Ces résultats, conjointement à l'absence de toute preuve épidémiologique de cancérogénicité chez l'homme, laissent supposer que le risque cancérogène pour l'homme est effectivement très faible. Les calculs de l'apport quotidien en apportent une certaine confirmation. Ainsi, si l'on retient une consommation de 150 g/jour de poisson dans une communauté de pêcheurs et une moyenne de 50 µg/kg de DDT dans le poisson (ce qui correspond approximativement aux concentrations en Méditerranée), l'apport quotidien serait de 0,125 µg/kg pc. Cette valeur représente le 1/160e de l'apport quotidien admissible.

5.2.8 Hexachlorobenzène (HCB)

Le HCH est principalement utilisé pour lutter contre les champignons qui attaquent les graines d'oignon, de sorgho et de blé; on l'emploie aussi comme agent de protection du bois. La teneur en HCB du produit des diverses qualités commerciales varie de 12 à 80%, le reste se composant d'impuretés (IARC, 1979d).

Lors des études de mutagénicité, le HCB a été négatif pour le test létal dominant chez la souris ainsi que pour les tests *in vitro* sur *Saccharomyces cerevisiae* et d'autres organismes (Gorski *et al.*, 1985; Guerzoni *et al.*, 1976). Le HCB ne s'est pas avéré mutagène lors d'une étude menée récemment dans plusieurs systèmes (Siekel *et al.*, 1991). Dans les études de cancérogénicité, on a enregistré un accroissement statistiquement significatif de tumeurs hépatiques chez des rats nourris avec 100 ou 200 mg/kg pc de HCB. On n'a pas observé de tumeurs chez des rats nourris à raison de 50 mg/kg pc ou chez les témoins (Cabral *et al.*, 1979). On a enregistré, chez des hamsters traités à raison de 50, 100, ou 200 mg/kg pc de HCB, un accroissement statistiquement significatif de tumeurs hépatiques (hépatomes et hémangiosarcomes) qui était fonction de la dose (Cabral *et al.*, 1979).

Le HCB a entraîné une tératogenèse minimale quand il était administré à fortes doses (Khers, 1974; IARC, 1979).

Bien qu'il semble exister une association entre la porphyrie d'origine congénitale et le cancer hépatocellulaire chez l'homme (Kordac, 1972; Axelson, 1986), on n'a observé aucun excédent de cancer du foie 25 ans après une épidémie de porphyrie due à la consommation accidentelle de céréales fortement contaminées par le HCB (Peters, 1982). Pour cette épidémie, on a estimé que l'apport quotidien avait été de 50 à 200 mg/kg de HCB sur une période relativement longue (se comptant en mois) avant que les symptômes ne se manifestent. Les études de suivi de 32 de ces patients ont montré qu'un métabolisme anormal des porphyrines et une symptomatologie évolutive avaient persisté sur un délai de 20 ans après l'épidémie (Peters *et al.*, 1978; Peters, 1976), ce qui autorise à penser que le cours de la porphyrie induite par le HCB pourrait être différent de celui de la maladie d'origine congénitale pour autant qu'il s'agisse de l'association au cancer du foie.

Selon le CIRC (IARC, 1987), on ne dispose pas de communications signalant une association directe entre le HCB et le cancer chez l'homme.

La DL₅₀ chez le rat se situe entre 3.500 et 10.000 mg/kg pc. La mort survient par suite des effets neurotoxiques (Booth et McDowell, 1975).

L'administration répétée à des rats de HCB à des niveaux de dose assez élevés (environ 500 mg/kg poids corporel) a entraîné une porphyrie, une immunosuppression, une hépatomégalie et l'induction de l'activité MFO (den Tonkelaar *et al.*, 1978; Loose *et al.*, 1977; Kimbrough et Linder, 1974; Grant *et al.*, 1974; Stonard, 1975).

Diverses estimations de l'apport de HCB par l'alimentation, dans laquelle les quantités sont généralement faibles, ont été établies. Aux Etats-Unis, cette estimation variait de 0,4 à 0,08 µg/jour/personne (U.S. F.D.A.). En Italie, elle était de 4,11 µg/personne/jour. Au Japon, elle peut être de 18 µg/kg (Leoni et D'Arca, 1976, d'après des chiffres communiqués par Morita *et al.*, 1975).

Une dose de 0,6 µg a été établie pour l'apport quotidien admissible conditionnel chez l'homme (36 µg pour un individu de 60 kg) (WHO, 1975). Selon les lignes directrices de l'EPA, l'apport par l'eau sur une longue période (plusieurs mois) ne devrait pas dépasser 50-175 µg/litre (U.S. P.H.S. 1990).

La consommation de 150 g de poisson contenant 3,26 µg/kg (poids frais) de HCB (la quantité la plus élevée enregistrée au cours du projet pilote de surveillance continue 1989-90) devrait entraîner un apport juste inférieur à 0,5 µg, soit une fraction de l'apport quotidien admissible conditionnel. A ces faibles niveaux, il est peu probable que le HCB présente un risque cancérigène pour l'homme. Les données épidémiologiques négatives ne font que conforter cette opinion.

5.2.9 Hexachlorocyclohexane (HCH)

Huit isomères du HCH ont été identifiés. Les plus couramment trouvés dans les préparations commerciales sont les isomères *a*, *g* et *d*. L'isomère *g* (lindane) est le plus actif comme insecticide et la plupart des préparations techniques de HCH en contiennent une proportion importante (jusqu'à 99,9%). On réserve la désignation de lindane aux préparations foncièrement pures de l'isomère *g*. Le HCH n'est que lentement biodégradable dans le sol (IARC, 1979c).

Le lindane, comme d'autres hydrocarbures chlorés servant d'insecticides, est stocké dans la graisse de l'organisme humain (Solly et Shanks, 1974).

Le *a*-HCH, le *b*-HCH et le lindane n'ont pas été mutagènes dans les bactéries, les levures ou la drosophile. Le lindane a induit des aberrations chromosomiques dans des cellules végétales et des ruptures chromatidiennes dans des lymphocytes humains *in vitro* (IARC, 1979c).

Les quatre isomères communs, ainsi que la qualité technique de HCH, ont été testés pour leur cancérogénicité chez le rat et la souris. L'isomère *a* a induit des tumeurs hépatiques chez la souris et le rat, l'isomère *b*, le lindane et le HCH (technique) chez la souris seulement. Les tumeurs induites chez la souris par ces isomères sont apparues à des doses supérieures à 100 mg/kg poids corporel dans des études sur la durée de vie. Chez le rat, les doses de *a*-HCH efficaces pour l'obtention de tumeurs hépatocellulaires étaient de l'ordre de 300 mg/kg/régime alimentaire ou supérieures (IARC, 1979c). Des néoplasmes lymphoréticulaires étaient également induits chez des souris de lignée pure par le HCH de qualité technique (Kayhyap *et al.*, 1979).

On a décelé un accroissement discutable de tumeurs thyroïdiennes chez des rats traités avec du lindane à des doses de 236 et 472, et chez des rates à des doses de 135 et 270 mg/kg poids corporel (IARC, 1979c).

Des études de cancérogénicité ont également été menées chez le chien et le hamster, mais on a estimé qu'elles ne convenaient pas à l'évaluation du risque pour l'homme (IARC, 1987).

On a signalé une incidence accrue de cancers du poumon chez 285 travailleurs qui avaient procédé à des applications de divers pesticides, dont le HCH, dans un cadre agricole. Bien que l'incidence de tumeurs ait été supérieure à celle prévue en raison du tabagisme, la présence d'autres produits chimiques (comme des solvants) ne permet pas d'attribuer au lindane cette hausse de l'incidence (Barthel, 1981). Dans des études épidémiologiques postérieures, des auteurs ont fait valoir l'existence d'une association entre l'exposition au HCH et l'apparition de leucémies, sarcomes des parties molles et lymphomes. Ces études ont été jugées insuffisantes pour l'évaluation du risque cancérigène pour l'homme résultant d'une exposition au HCH (IARC, 1987).

La CL_{50} des isomères *a*, *b*, *d*, et du HCH technique dépasse 500 mg/kg chez le rat et la souris. Celle de l'isomère *g* est d'environ 86 mg/kg chez la souris et d'environ 100 mg/kg chez le rat (OMS, 1969).

Les doses de lindane comportant une toxicité aiguë chez le rat provoquent de la diarrhée, des convulsions et une insuffisance respiratoire (Chen et Boyd, 1968). Des doses plus faibles entraînent une hépatomégalie, une induction de l'activité MFO et des altérations graisseuses ou une nécrose en foyer du foie (Schulte-Hermann, 1974; Fitzhugh *et al.*, 1950).

Le lindane est embryotoxique mais non tératogène (IARC, 1979).

La concentration de lindane ou HCH dans les denrées alimentaires a considérablement varié d'un pays à l'autre dans les années 60 et 70 quand ce produit a fait l'objet d'une utilisation étendue comme pesticide (par exemple: apport quotidien moyen: Etats-Unis, 3 µg/jour; Espagne: 11,52 µg/jour; Japon, 3,5 µg/jour). Les restrictions imposées à son emploi ont été suivies d'une diminution considérable des résidus dans l'alimentation et, partant, de son apport quotidien (IARC, 1979c).

Un apport quotidien admissible maximal de lindane pour l'homme a été établi à 0-0,01 mg/kg pc/jour (WHO, 1976). La directive actuelle de l'EPA pour l'apport oral s'établit à 1,8 mg/jour (EPA, 1988).

Si l'on retient un apport quotidien de 150 g de poisson contenant 1,20 mg/kg de lindane (soit approximativement la moyenne des niveaux relevés en Méditerranée), la quantité ingérée devrait être de 180 µg ou d'environ 3 µg/kg pc chez un homme pesant 60 kg, ce qui représente le tiers de l'apport admissible maximum fixé en 1976. A ce niveau de dose, il y a peu de chances que le HCH présente un risque cancérigène pour l'homme. On peut en trouver une nouvelle confirmation dans le fait que, en dépit d'une exposition professionnelle prolongée, on n'ait aucun élément évoquant une incidence accrue de tumeurs parmi les travailleurs concernés. En outre, rares sont les tumeurs induites en expérimentation animale, malgré les fortes doses administrées.

5.2.10 Acide nitrilotriacétique (NTA) et ses sels

Le NTA est un acide aminocarboxylique qui peut séquestrer des ions métalliques sous forme de complexes hydrosolubles (Anderson *et al.*, 1985). Un grand nombre de tests de mutagénicité et de clastogénicité ont été réalisés sur le NTA et ses sels. Certains résultats *in vitro*, essentiellement dans les tests d'anomalies chromosomiques, étaient positifs. Un test portant sur la drosophile a été positif, mais un second s'est avéré négatif. Deux tests *in vitro* chez la souris ont été négatifs. Tous les résultats positifs ont été obtenus à des concentrations très élevées, proches des valeurs létales (IARC, 1990).

Chez la souris, l'administration de NTA à raison de 7.500 ou 15.000 ppm dans le régime alimentaire pendant 18 mois a entraîné chez les mâles un accroissement statistiquement significatif des adénocarcinomes rénaux qui était fonction de la dose. Chez les femelles, on n'a observé que pour la plus forte dose une très faible incidence du même type de tumeur. L'expérimentation a pris fin au bout de 21 mois (NCI, 1977). Chez des rats nourris avec les mêmes concentrations de NTA pendant 18 mois et sacrifiés au bout de 24 mois, on a relevé un accroissement, qui était fonction de la dose, des adénomes tubulocellulaires et des adénocarcinomes chez les mâles, et des épithéliomas malpighiens et à cellules transitionnelles de la vessie urinaire chez les femelles. Dans les deux sexes, l'incidence des tumeurs pour la plus forte dose était statistiquement significative (NCI, 1977).

Le sel trisodique de NTA (monohydrate) a également été testé pour la cancérogénicité chez la souris à raison de 2.500 et 5.000 ppm dans le régime alimentaire pendant 18 mois. Les souris étaient sacrifiées au bout de 21 mois. On n'a relevé aucune tumeur de l'appareil urinaire, mais quelques animaux du groupe traité ont contracté des tumeurs hématopoïétiques. Le même sel a été testé chez le rat à raison de 200, 2.000 ou 20.000 ppm dans l'eau de boisson pendant 104 semaines. On a observé des adénomes tubulocellulaires et des adénocarcinomes ainsi que des épithéliomas à cellules transitionnelles chez les mâles et les femelles des groupes traités. L'incidence des épithéliomas à cellules transitionnelles et des adénomes tubulocellulaires était en rapport avec la dose et statistiquement significative.

On a observé une augmentation statistiquement significative de l'incidence des tumeurs tubulaires chez le rat quand le NTA a été administré dans l'eau de boisson à raison 1.000 ppm (Goyer *et al.*, 1981), mais le sel disodique administré à raison de 5.000 ppm à des rats ou des souris dans le cadre d'études classiques sur la durée de vie n'a pas permis d'obtenir des tumeurs (Greenblatt et Lijinski, 1974; Lijinski *et al.*, 1973). Il n'existe pas de données épidémiologiques concernant la cancérogénicité du NTA chez l'homme.

Le NTA et ses sels ne sont pas métabolisés dans l'organisme des mammifères et ils sont excrétés intacts dans l'urine. La teneur des reins en NTA est plus élevée que celle de tout autre tissu. Des études à court terme menées chez des rats et des souris traités à des niveaux élevés (comparables à ceux qui ont produit des tumeurs lors des études de cancérogénicité chez les rongeurs) de NTA ou de ses sels sodiques ont permis d'observer des dommages tubulocellulaires rénaux, des ulcérations et une hyperplasie de l'épithélium de l'appareil urinaire (Anderson *et al.*, 1985).

La principale voie d'exposition chez l'homme est l'eau de boisson. La Food and Drug Administration des Etats-Unis a approuvé l'emploi du NTA (sel trisodique) comme additif dans l'eau des chaudières servant à préparer la vapeur qui viendra en contact avec les aliments. Il ne doit pas dépasser 5 mg/litre (ppm) dans l'eau d'alimentation des chaudières et ne doit pas être utilisé quand la vapeur entre en contact avec le lait et les produits laitiers (IARC, 1990).

L'exposition professionnelle est limitée à 1 mg/m³/8 heures en moyenne pondérée sur le temps ou à 2 mg/m³ STEL (Monsanto Co. 1985).

Des études concernant les effets du NTA sur la reproduction et la toxicité prénatale ont été réalisées chez la souris, le rat et le lapin. On n'a pas observé d'effets tératogènes mais, dans une seule étude, on a décelé des malformations de la vessie chez des foetus de rat (IARC, 1990). De plus, on ne dispose pas d'éléments selon lesquels le NTA ou ses sels accroîtraient la toxicité des métaux lourds sur la reproduction en expérimentation animale (MacClain et Siekeirka, 1975).

Les données indiquent que, chez la souris et le rat, le cancer rénal a été induit par des niveaux de dose qui étaient manifestement néphrotoxiques dans les tests à court terme, ce qui donne à penser que l'apparition des tumeurs a résulté du dommage cellulaire et de la réparation subséquente. Des études sur la mutagénicité aux résultats douteux étayaient l'opinion selon laquelle les tumeurs rénales ont été induites par un mécanisme non génotoxique. Au faible niveau présent dans l'eau, il est peu probable que le NTA et ses sels fassent courir un risque cancérigène à l'homme.

5.2.11 Hydrocarbures halogénés à faible poids moléculaire (solvants)

Ces composés sont utilisés en très grand nombre dans l'industrie et ils finissent souvent par se retrouver dans l'eau de boisson et la mer.

Etant donné la multiplicité des composés en jeu, il est difficile de faire un choix ne vue d'un examen et d'une évaluation plus spécifiques. Le CIRC s'est attaché à recenser ceux qui semblent avoir suscité les plus grandes préoccupations (tableau 13). La brève évaluation qui suite repose sur des données tirées du CIRC (IARC, 1979a).

Le seul solvant de ce groupe qui ait donné des résultats incontestablement positifs au test de mutagénicité est le 1,2-dichloroéthane. Il a été positif dans plus d'un système test et les résultats ont été nettement linéaires sur une large gamme de concentrations dans un système test au moins (drosophile). Les autres solvants recensés comme positifs sur le tableau n'ont été testés que chez les procaryotes (IARC, 1979a).

Les valeurs de la DL₅₀ indiquent que les composés énumérés possèdent une vaste gamme de potentiel toxique. Le tétrachlorure de carbone paraît être le plus toxique et le tétrachloroéthylène le moins toxique. Les concentrations dans l'eau de boisson sont généralement de plusieurs ordres de grandeur inférieures à la DL₅₀ et l'on peut par conséquent admettre qu'ils ne présentent guère, voire aucun risque toxique pour l'homme. si l'on postule que la concentration dans l'eau de mer n'excède pas notablement celle de l'eau de boisson, le risque toxique imputable à ces composés devrait être minime, sinon totalement absent.

Tous les solvants recensés sur le tableau sont cancérigènes. La plupart d'entre eux induisent des cancers du foie chez le rat ou la souris, ou dans les deux espèces. Comme bon nombre de ces solvants sont non mutagènes ou d'une mutagénicité douteuse, les cancers ont dû apparaître par suite de quelque mécanisme non génotoxique. C'est là le mécanisme le plus probable dans le cas du tétrachlorure de carbone, du chloroforme, du tétrachloroéthylène et du 1,1,2-trichloroéthane, puisque ces composés sont indubitablement non mutagènes. Cette hypothèse est confortée par le fait que la nécrose du foie a été observée dans les tests à court terme pour des niveaux proches de ceux utilisés dans les études de cancérogénicité, et il est désormais généralement admis que des épisodes répétés de nécrose et de régénération sont susceptibles d'aboutir à la formation de tumeurs (Grasso *et al.*, 1991).

Tableau 13

Profil toxicologique de quelques hydrocarbures halogénés à faible poids moléculaire (solvants)

(d'après des données tirées du CIRC (IARC, 1979a)

	DL ₅₀ MG/KG/PC	NÉCROSE DU FOIE	MUTAG.	TÉRATOG.	CANCÉR.	ORGANE
Tétrachlorure de carbone	2,92-12,1	+ve	-ve	Foeto-toxique	+ve	Foie (R et S) Glande mammaire (R) ?
Chloroforme	120-1188	+ve	-ve	"	+ve	Foie (S) Rein (R)
1,2-dichloroéthane	jusqu'à 700	+ve*	+ve	ND	+ve	Poumon, tissu hématopoïétique (S, R) Estomac antérieur (R) Glande mammaire (R)
Dichlorométhane	jusqu'à 2000	+ve	+ve	-ve	? +ve	Poumon (S)
Hexachloroéthane	4,5	+ve	ND	ND	+ve	Foie (S) Rein (R)
1,1,2,2-Tétrachloroéthane	250-820	+ve	+ve	+ve	+ve	Foie (S, R)
Tétrachloroéthylène	> 5000	+ve	-ve	-ve	+ve	Foie (S, R)
1,1,1-Trichloroéthane**	> 5000	+ve	+ve	-ve	+ve	Foie (S)
1,1,2-Trichloroéthane	jusqu'à 835	+ve*	-ve	ND	+ve	Foie (S, R) Surrénales (S)
Trichloréthylène	189-7200	+ve	+ve	-ve	+ve	Foie (S) Poumon
Dépression SNC	(**) Stimule l'activité MFO			(*) Nécrose rénale également		ND = pas de renseignements disponibles
S = Souris	R = Rat					

Les mêmes remarques sont valables pour le dichloroéthane, le 1,1,1,1-tétrachloroéthane, le 1,1,1-trichloroéthane et le trichloroéthylène, bien qu'on ne puisse entièrement écarter la possibilité qu'un mécanisme génotoxique soit en partie responsable du développement de ces tumeurs.

Le 1,2-dichloroéthane paraît relever d'une catégorie différente de celles des autres solvants. Il a donné naissance à des tumeurs dans plusieurs organes et est incontestablement mutagène. Il est vraisemblable qu'au moins certaines de ces tumeurs (comme les hémangiosarcomes) aient été provoquées par un mécanisme génotoxique. On ne peut affirmer avec certitude dans quelle mesure ces résultats cancérogènes et mutagènes peuvent être attribués au composé parent ou aux impuretés qui peuvent être présentes. Néanmoins, la préparation commerciale de ce solvant paraîtrait présenter un plus grand risque cancérogène pour l'homme que n'importe lequel des autres solvants.

5.2.12 Polychlorodibenzodioxines (PCDD) et polychlorodibenzofuranes (PCDF)

Environ 75 PCDD et 135 PCDF ont été identifiés dans l'environnement, mais des données d'une qualité suffisante pour évaluer le risque pour l'homme n'existent que pour le 2,3,7,8-tétra-CDD (TCDD). Pour les autres congénères et isomères, les données toxicologiques sont limitées à l'exposition aiguë ou à court terme ou aux études *in vitro*. La plupart de ces isomères et congénères ont été détectés par des analyses spécifiques d'isomères de divers échantillons environnementaux tels que les déchets industriels, le sol, les déchets municipaux et le tissu adipeux humain (IPCS, 1989; WHO, 1988a).

En l'absence de données suffisantes pour évaluer le risque imputable à ces composés chimiques, plusieurs modèles ont été proposés afin de rapporter la toxicité des PCDF et des PCDD dans l'environnement à celle du TCDD. Les résultats de ces modèles sont appelés "Equivalent toxique TCDD" (TTE).

Les valeurs du TTE pour les divers composés varient d'un modèle à l'autre, mais elles représentent toujours une fraction seulement des valeurs pour le TCDD, ce qui indique que les divers congénères et isomères étudiés sont moins toxiques que le TCDD.

Si chaque composé devait être considéré aussi toxique que le TCDD, on surestimerait le risque toxique imputable à ce groupe de composés. Une surestimation de cet ordre signifierait que tout calcul d'une dose tolérée pour ce groupe de composés aurait un "facteur de sécurité" intégré.

Dans la présente section, on s'attachera essentiellement à la mutagénicité et à la cancérogénicité du TCDD, mais des données relatives à d'autres isomères et congénères seront incluses, s'il y a lieu, pour contribuer à l'évaluation du risque cancérogène et toxique imputable à ce groupe de composés.

Un chercheur a constaté que le TCDD était mutagène dans les souches de *S. typhimurium* TA 1532 et de *E. coli* Sol 4. D'autres chercheurs ont obtenu des résultats négatifs sur 4 souches de *S. typhimurium* (TA 1532, 1535, 1537 et 1538). Un test de transformation cellulaire utilisant des cellules rénales de hamster a été positif, mais un test létal dominant chez la souris et une étude cytogénétique de la moelle osseuse de rat ont donné des résultats négatifs (Giri, 1986; WHO, 1988a).

Les études réalisées chez le rat ont montré que la liaison covalente à l'ADN est de 4 à 6 ordres de grandeur plus faible que celle de la plupart des agents chimiques cancérogènes

et que la liaison à l'ADN est équivalente à une molécule de TCDD par ADN de 35 cellules (Poland et Glover, 1975).

Les tumeurs du foie, des cornets nasaux et de la voûte palatine ont accusé un accroissement statistiquement significatif chez des rats Sprague-Dawley des deux sexes ayant reçu 0,1 µg/kg pc (dose maximale). En outre, on a relevé un accroissement statistiquement significatif des tumeurs du foie chez des femelles ayant reçu 0,01 et 0,1 µg/kg pc. Chez les femelles, les tumeurs du poumon ont été significativement accrues à la plus forte dose. A la plus faible dose (0,001), on n'a enregistré aucun accroissement de tumeurs dans l'un et l'autre sexes (Kociba *et al.*, 1978). Dans des études ultérieures, on n'a relevé aucun accroissement des tumeurs du foie et de la thyroïde au plus fort niveau de dose chez des rats auxquels on a administré du TCDD en quantités comparables à celles de l'expérimentation de Kociba (NIH, 1982a). On n'a pas décelé de tumeurs du poumon et de la voûte palatine dans l'expérimentation du NIH. Chez la souris, des tumeurs du foie et de la thyroïde ont été observées à des doses de 2 µg/kg/semaine (dose maximale). Des doses plus faibles n'ont pas augmenté l'incidence de tumeurs dans quelque organe que ce fût (NIH, 1982b; WHO, 1989a).

Il n'existe aucun indice fiable d'une cancérogénicité ou tératogénicité du TCDD pour l'homme (Fara et del Corno, 1985; WHO, 1989a; IARC, 1987).

Le TCDD est foetotoxique et tératogène chez la souris et le rat à des doses variant de 0,5 µg/kg à 3 µg/kg. Des effets nocifs sur la reproduction (réduction de la fécondité) ont été observés avec des régimes alimentaires contenant 18 mg/kg pc/jour. Chez le singe, le niveau de dose à effet nul est d'environ 200 mg/kg pc (WHO, 1989a).

Le TCDD est extrêmement toxique pour toutes les espèces mammifères testées. La DL₅₀ orale se situe dans une fourchette comprise entre le µg et quelques mg/kg. Elle est de 2 µg/kg pc chez le cobaye, l'une des espèces les plus sensibles à la toxicité du TCDD. Le TCDD est un puissant inducteur de l'activité MFO et provoque une hépatomégalie marquée (WHO, 1989a).

Le principal type d'exposition au TCDD se produit lors de la fabrication des 2,4,5-trichlorophénols où il se rencontre sous forme d'impuretés. Moins couramment, l'exposition peut également avoir lieu à la suite de la fuite ou de l'explosion de cuves à réaction. Sous ces conditions de forte exposition, les effets nocifs se sont produits au niveau de la peau (acné chlorique, hyperkératose ou hyperpigmentation) et du foie (fibrose modérée, hausse des transaminases sériques) et d'autres organes comme le SNC (Crow, 1970; Kimbrough, 1974; WHO, 1989a).

L'alimentation est la principale source d'apport de TCDD chez l'homme. On a décelé ce produit dans toutes sortes d'aliments d'origine animale ou végétale. Les données sont fragmentaires (WHO, 1988a), mais on estime qu'un homme de 70 kg a un apport quotidien moyen de 0,8 pg/kg pc/jour de TCDD d'origine animale et de 0,4 pg/kg pc/jour de TCDD provenant du poisson consommé (en postulant un apport de 70 g de graisses animales et de 10 g de poisson), soit au total 1,2 pg/kg pc/jour.

L'exposition par inhalation est censée être responsable d'un apport de 0,1 pg/kg pc/jour. Quant à l'exposition par l'eau de boisson ou d'autres sources non professionnelles, elle est tenue pour négligeable (WHO, 1988a).

Les PCDF étaient présents dans des mélanges de PCDD testés pour la cancérogénicité chez l'animal. Les modifications biochimiques provoquées par les PCDF dans les tests à court terme sont très similaires à celles provoquées par les PCDD et consistent en hépatomégalie et en accroissement de l'activité MFO.

Les PCDF se rencontrent comme contaminants lors de la fabrication de composés aromatiques chlorés et ils peuvent aussi se former à la suite de combustion (IPCS, 1989). Leur rythme de dégradation est très lent si bien que leur délai de rémanence dans l'environnement est considérable. Ils sont très médiocrement solubles dans l'eau mais aisément solubles dans les lipides. Ils ont tendance à se concentrer dans les aliments et dans les graisses de l'organisme de l'homme et des animaux (IPCS, 1989). On n'a décelé aucune activité mutagène lorsqu'on a testé les TCDF sur des souches TA98 et TA 100 de *S. typhimurium* et sur *S. cerevisiae* (IPCS, 1989). On ne dispose pas de données concernant la cancérogénicité des PCDF chez l'animal ou chez l'homme.

La DL₅₀ orale du TCDF est d'environ 1 mg/kg chez le rat et supérieure à 6 mg/kg la souris. Chez le cobaye, la DL₅₀ sur 80 jours a été de 1-2 µg. Chez le singe, la DL₅₀ se situe entre 1000 et 1500 µg/kg (IPCS, 1989; WHO, 1988).

Des études à court terme chez le rat, à des niveaux de 1 à 10 µg de PCDF et à la même concentration que celle relevée dans l'huile de riz contaminée occasionnant le "Yusho", ont entraîné une élévation des enzymes sériques hépatiques, de l'hépatomégalie et l'induction de l'activité MFO (Oishi, 1977; Hori *et al.*, 1986). L'atrophie du thymus a également été observée chez ces animaux tout comme chez des souris alimentées à raison de 100 µg/TCDF/kg régime alimentaire ou de doses supérieures. Chez des cobayes, des morts sont survenues au cours d'une période de 88 jours d'administration de TCDF dans l'alimentation à raison de 1-2 µg/kg de poids corporel (Ioannou *et al.*, 1983).

On a signalé que les PCDF occasionnaient de l'acné chez l'homme (Braun, 1955); Vos et Kolman (1970) ont estimé que les PCDF expliquent les propriétés acnéigènes de certains mélanges commerciaux de PCB.

En l'absence de toute étude épidémiologique ou concernant la cancérogénicité des PCDF, on ne peut procéder à aucune évaluation directe du risque de cancérogénicité qu'ils représentent pour l'homme. Toutefois, sur la base des observations formulées plus haut dans la présente section, on peut se forger une certaine idée du risque présenté par les PCDF et les PCDD en tenant compte du risque présenté par le TCDD.

L'OMS n'a pas établi un niveau admissible ou toléré pour le TCDD. Cependant, le Comité gouvernemental sur la toxicité, Royaume-Uni, a recommandé une directive de 60 pg par adulte (HMSO, 1989). Il souligne que la directive intègre d'importants facteurs de sécurité et note que l'apport alimentaire moyen a avoisiné ou dépassé la norme de la directive pendant de nombreuses années sans nocivité apparente. Des directives analogues ont été établies pour d'autres produits chimiques.

5.3 Conclusions

Les composés examinés dans la section 5 sont notoirement très répandus dans l'environnement et ont suscité de vives préoccupations quant aux risques sanitaires qu'ils pourraient faire courir.

L'arsenic, notamment sous sa forme inorganique, est reconnu pour être cancérigène chez l'homme et a occasionné des cancers de la peau dans certaines communautés dont l'eau de boisson est tirée de formations géologiques riches en arsenic. Les produits comestibles de la mer sembleraient contribuer dans une mesure importante à la quantité d'arsenic dans le régime alimentaire s'ils constituent une source principale de protéines. Heureusement, la majeure partie de l'arsenic présent dans les produits de la mer s'y trouve sous sa forme organique qui est moins toxique et cancérigène que sa forme inorganique, ce qui conforte dans l'idée de son innocuité. Néanmoins, il convient de s'employer au mieux à limiter l'apport aux niveaux recommandés par diverses autorités.

Les PAH comprennent un certain nombre de composés à 4-6 noyaux qui sont fortement cancérigènes pour l'animal quand ils sont administrés par voie percutanée et ils sont présents dans des produits qui sont étroitement associés chez l'homme au cancer de la peau (comme la suie, l'huile minérale brute) et au cancer du poumon (émanations des fours à coke). Chez l'animal, les PAH administrés par voie orale sont cancérigènes pour l'estomac antérieur, une région anatomique absente chez l'homme (Nagayo, 1973), mais on ne dispose pas de données établissant que des PAH ont occasionné un cancer de l'estomac ou autre chez l'homme. Néanmoins, il serait prudent de maintenir le niveau de contamination aussi bas que possible dans l'environnement en vue de réduire son apport dans la chaîne alimentaire humaine.

Les autres composés examinés dans la présente section relèvent de la vaste catégorie des hydrocarbures chlorés. Ils sont tous hépatocancérigènes pour le rat et la souris, mais des études épidémiologiques menées sur ceux qui sont les plus répandus dans l'environnement (DDT, HCB, TCDD, etc.) n'ont pas permis d'évoquer une association au cancer chez l'homme, même quand l'exposition a été forte et prolongée.

Selon des données scientifiques solides, le cancer du foie chez les rongeurs résulte souvent d'un dommage hépatocellulaire prolongé (Grasso et Hinton 1991). A des niveaux voisins des doses utilisées dans les études de cancérogénicité, certains effets nocifs allant de l'hépatomégalie à la nécrose hépatocellulaire ont été observés, ce qui autorise à penser que les tumeurs du foie pourraient avoir résulté de ces faits pathologiques. Ce point de vue est étayé par la constatation que les tests de mutagénicité pratiqués pour ces composés dans plusieurs systèmes *in vitro* et *in vivo* se sont avérés négatifs ou douteux. Dans ces conditions, il n'est guère probable que la très petite quantité de composés chimiques aboutissant dans les produits comestibles de la mer présente un risque de cancer.

Il y a quelques exceptions à cette vue d'ordre général. La dioxine est extrêmement toxique en expérimentation animale et bien qu'on ait observé peu d'effets nocifs chez les personnes exposées à des doses assez importantes lors d'accidents industriels, il convient d'être prudent quand on envisage l'exposition prolongée chez l'homme car sous ces conditions la réaction peut être différente de ce qu'elle est après une exposition importante unique.

Le dichlorométhane est une autre exception à cette règle. Il est génotoxique dans un certain nombre de systèmes et a occasionné des tumeurs dans plus d'un organe, ce qui donne à penser que la cancérogénicité du composé pourrait, dans une certaine mesure, être due à sa génotoxicité.

Nonobstant ces réserves, on peut conclure que, à condition que l'apport par les produits comestibles de la mer reste dans les limites fixées par les instances compétentes et que cet apport n'ajoute pas significativement à la charge imputable aux aliments d'origine

terrestre, il n'est guère probable qu'on ait affaire à des effets nocifs tels que le cancer apparaissant dans des communautés qui dépendent des produits de la mer pour leurs moyens d'existence.

6. MESURES ANTIPOLLUTION

6.1 Mesures antipollution existant aux niveaux national et international

La justification scientifique des mesures législatives contre la pollution chimique de l'environnement, milieu marin y compris, se fonde sur la toxicité globale de la ou des substances chimiques concernées pour l'homme ou pour d'autres organismes vivants, et dans ce cadre toxicologique global sont pris en compte les risques cancérigènes, tératogènes et/ou mutagènes.

Dans le cas des composés organohalogénés, dont un certain nombre ont été examinés dans le présent document, les dispositions légales actuelles les régissant sont récapitulées, d'après les informations disponibles, sur le tableau 14. La situation concernant d'autres produits chimiques est moins claire, bien que, dans de nombreux pays, ils soient visés complètement ou partiellement par la législation de portée générale et/ou les dispositions administratives portant sur la pollution de l'eau et/ou les produits chimiques dangereux dans leur ensemble. En Espagne, la loi de 1985 sur les eaux ne comporte pas de disposition explicite pour les eaux côtières, mais elle réglemente les rejets dans les cours d'eau qui pourraient polluer la mer. Les règlements mis en vigueur en 1986 en application de cette loi prescrivent les valeurs limites pour un grand nombre de substances (arsenic et pesticides notamment) dans les effluents. En Italie, la loi de 1976 sur la protection des eaux contre la pollution (qui comprennent expressément les eaux marines) fixe des valeurs limites pour plusieurs substances dans les effluents, y compris l'arsenic. La législation française fixe aussi des valeurs limites pour les concentrations de polluants dans les effluents, mais elle ne mentionne pas expressément les substances passées en revue dans le présent document. Toutes les législations précitées sont complétées dans chaque pays par d'autres dispositions en application des Directives de la CEE sur les composés organohalogénés.

Un certain nombre de pays méditerranéens ont récemment promulgué une législation sur la prévention et la lutte contre la pollution marine d'origine tellurique. Cette législation est principalement destinée à appliquer les dispositions du Protocole d'Athènes de 1980. Dans la majorité des cas, s'agissant des valeurs limites de concentration dans les effluents, l'eau et les produits comestibles de la mer, il ne semble pas que des règlements spécifiques autres que ceux énumérés sur le tableau 14 aient été émis. Dans le cas des Etats méditerranéens membres de la CEE, la législation nationale est basée sur les Directives pertinentes de la CEE.

Au niveau international, en ce qui concerne les composés organohalogénés, la Directive du Conseil de la CEE 76/769/CEE du 27 juillet 1976 (CEE, 1976a) limite l'utilisation des PCB et des PCT aux appareils électriques à circuits fermés, fluides hydrauliques, condensateurs, etc. La Directive du Conseil 76/403/CEE du 6 avril 1976 (CEE, 1976b) réglemente l'élimination de ces substances. La Communauté européenne a fixé des limites de rejet pour certains composés organohalogénés (tableau 15) et des objectifs de qualité à l'intention des pays désireux d'appliquer cette option.

Sur un plan plus général, la Directive du Conseil de la CEE 76/464/CEE du 4 mai 1976 (CEE, 1976c) sur la pollution occasionnée par certaines substances dangereuses dans

les milieux aquatiques de la Communauté comprend "les substances à l'égard desquelles il a été prouvé qu'elles possèdent des propriétés cancérigènes dans le milieu aquatique ou par l'intermédiaire de celui-ci". Comme dans le cas du Protocole pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, cette disposition permet de viser doublement des substances cancérigènes relevant de groupes chimiques classés en rubriques distinctes dans la même annexe et dans le même temps elle s'applique à d'autres substances ayant les mêmes propriétés et qui ne sont pas déjà visées. Une communication en date du 22 juin 1982 adressée par la Commission au Conseil (CEE, 1982) contient une liste de 129 substances chimiques, tirées de divers groupes, qui sont considérées comme des candidates potentielles à l'inclusion finale dans la liste 1 de la Directive de 1976. Sur les 21 substances retenues comme prioritaires au sein de cette liste, l'arsenic et ses composés minéraux, la benzidine et les PAH (en particulier le 3,4-benzopyrène et le 3,4-benzofluoranthène) sont placés sous la rubrique spécifique des cancérigènes.

6.2 Mesures proposées pour la Méditerranée

Le présent document ne s'occupe uniquement que des risques cancérigènes, tératogènes et mutagènes associés aux substances chimiques qui y sont examinées. Les mesures proposées se limitent à ces aspects et n'excluent en aucune manière toute mesure corrective ou régulatrice qui pourrait être nécessaire soit pour des motifs de toxicité et/ou de risque globaux soit en raison de tout risque autre que cancérigène, tératogène ou mutagène présenté par les substances en question.

S'agissant des risques pour les organismes marins, on a expliqué en détail à la section 4.4 pourquoi il est impossible de parvenir à toute estimation fiable de ces risques. Pour cette raison, la principale action à long terme qui est nettement indiquée pour la Méditerranée consiste à acquérir davantage de données ainsi qu'il est spécifié aux paragraphes a) à h) de la section précitée. En dehors de données d'intérêt mondial et non purement méditerranéen dont la contribution devrait être recherchée sans la considérer comme un objectif primordial, les besoins propres à la région comprennent des études sur le terrain en vue de déterminer les niveaux et (autant que possible) les effets, appuyées par des projets de recherche pertinents axés sur les conditions écologiques spécifiques à la Méditerranée.

Eu égard à la sophistication relative des travaux concernés, des arrangements pourraient être conclus pour que certains aspects soient traités dans le cadre de projets inter-laboratoires sur une base bilatérale ou multilatérale.

S'agissant des risques pour la santé humaine, il ressort dans l'ensemble que le risque cancérigène proprement dit paraît être faible par rapport aux risques globaux résultant des propriétés générales des substances en question. Un autre facteur important dont il convient de tenir compte dans pratiquement chaque cas est que la consommation de produits comestibles de la mer ne constitue pas la seule source d'apport humain et, le plus souvent, ne représente pas une fraction importante de l'apport total. Toute mesure légale ou réglementaire envisagée pour les produits comestibles de la mer devrait d'abord prendre en compte les dimensions mondiales du problème, s'il y a lieu l'importance de la contribution des effets de la pollution marine par l'intermédiaire de la consommation de produits de la mer à l'exposition totale, sur la base des niveaux enregistrés dans les diverses matrices environnementales servant de sources d'exposition et des modes de consommation alimentaire de groupes de population.

Tableau 14**Dispositions légales relatives aux composés organohalogénés dans les pays méditerranéens**

PAYS	DISPOSITIONS
Algérie	Interdictions totale des PCB, DDT et lindane
Chypre	Emploi réglementé des pesticides, interdiction de l'utilisation de l'aldrine/dieldrine, des agents de conservation. Le DDT dans le poisson ne devrait pas dépasser 5 mg kg ⁻¹
Egypte	*
Espagne	Directives CEE en vigueur
France	Directives CEE en vigueur. Contrôle de la production. Interdiction de l'utilisation des drines, DDT, HCH, HCB, toxaphène et DBCP dans l'agriculture
Grèce	Directives CEE en vigueur
Israël	Norme d'effluent industriel de 0,02 mg l ⁻¹ d'eaux usées
Italie	Directives CEE en vigueur. Valeur indicative de 5 mg kg ⁻¹ pour les PCB dans le poisson. Norme d'effluent de 0,05 mg l ⁻¹ pour les pesticides organohalogénés
Liban	*
Libye	Contrôle de l'importation et de la fabrication de tous les composés organohalogénés
Malte	Les PCB, les PCT et les pesticides chlorés ne sont pas fabriqués et leur importation et utilisation est interdite
Maroc	*
Monaco	Directives CEE en vigueur
Syrie	*
Tunisie	*
Turquie	*
Yougoslavie	Critères de qualité du milieu pour tous les composés organohalogénés variant de 0,001 à 0,1 mg l ⁻¹ selon la catégorie de l'eau. Pour les produits comestibles de la mer: PCB, 3 mg kg ⁻¹ ; DDT 1,0 mg kg ⁻¹ , HCH (alpha, bêta, gamma) 0,1 mg kg ⁻¹ , HCH (gamma) 0,5 mg kg ⁻¹ (pesticides sur la base d'un poids humide de matières grasses)

* Pas de renseignements communiqués

Tableau 15

Limite CEE fixées pour les rejets industriels (mg l⁻¹, moyennes mensuelles)

SECTEUR INDUSTRIEL	LIMITE	DATE D'APPLICATION	DIRECTIVE
1. Production de HCH	2	01.10.1988	84/491/EEC
2. Extraction de lindane	2	"	"
3. Production de HCH et extraction de lindane	2	"	"
4. Production de CCl ₄	1,5	01.01.1988	86/280/EEC
5. Production de chlorométhanes	1,5	01.01.1988	"
6. Production de CFC	Pas de limite fixée		"
7. Production de DDT	0,7 0,2	01.01.1988 01.01.1991	" "
8. Production de PCP	1	01.01.1988	"
9. Production de drines	2	01.01.1988	88/347/EEC
10. Production et traitement de HCB	1	01.01.1990	"

Sur cette base et compte tenu des données pertinentes présentées aux diverses sections du présent document, il n'apparaît pas que, pour la plupart des substances chimiques passées en revue, l'imposition de mesures légales ou d'autres mesures réglementaires sous forme de normes d'émission pour les rejets d'effluents dans le milieu marin ou de limites supérieures de concentration dans les produits de la mer sur une base régionale commune puisse se justifier uniquement en se fondant sur les risques cancérigènes. Il convient de souligner que cela n'exclut en aucune manière que de telles mesures puissent finalement s'avérer nécessaires soit en raison d'effets non cancérigènes ou de combinaison d'effets, soit en raison de circonstances (permanentes ou sporadiques) prévalant en des sites déterminés.

Le seul grand motif de préoccupation est celui des niveaux de PAH relevés dans les mollusques/crustacés de certaines zones de la Méditerranée, qui pourraient présenter un risque de cancer non acceptable, du moins pour les gros consommateurs de produits de la mer, en tenant uniquement compte de ces derniers et sans parler de leur combinaison avec d'autres sources non marines d'apport. Il pourrait s'agir là d'un problème localisé plutôt que général. Toutefois, il convient que les autorités nationales et locales prennent des initiatives immédiates en vue de déterminer les niveaux de PAH dans les produits comestibles de la mer, les moules notamment, dans les zones où l'on a des raisons de suspecter la présence de niveaux élevés. A cet égard, compte tenu des sources et des voies de cheminement de ces substances jusqu'au milieu marin, un exercice de ce genre pourrait être assez complexe.

Outre qu'ils fourniraient un tableau plus précis de la situation aux autorités nationales et qu'ils leur permettraient de prendre toute mesure particulière dictée par leurs propres circonstances, des renseignements complets sur les niveaux de PAH dans les produits de la mer de l'ensemble de la région conduiraient à déterminer s'il convient ou non de mettre au point des mesures antipollution communes à un stade ultérieur et à déterminer aussi la forme exacte que devraient revêtir ces mesures.

Tableau 16

Objectifs de qualité CEE pour certains composés organohalogénés

COMPOSE	OBJECTIFS DE QUALITE
HCH (total)	20 ng ℓ^{-1} dans les eaux territoriales à proximité des points de rejet. 100 ng ℓ^{-1} dans les milieux aquatiques superficiels intérieurs affectés par des rejets
CCl ₄	12 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ dans tous les types d'eaux
DDT	10 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ pour le p'p-DDT et 25 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ pour le DDT total en vigueur à compter du 1.1.1988 pour tous les types d'eaux
PCP	2 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ pour tous les types d'eaux à compter du 1.1.1988
Drines	30 ng ℓ^{-1} pour toutes avec un maximum de 5 ng pour l'endrine
HCB	0,03 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ pour toutes les eaux à compter du 1.1.1990

Remarque: Les objectifs sont assortis de la phrase: "La concentration du (composé organohalogéné) dans les sédiments et/ou les mollusques et/ou les crustacés et/ou le poisson ne doit pas augmenter significativement avec le temps".

7. REFERENCES

- Albaiges, J. (1991). *Monitoring of carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Mediterranean*. Unpublished report.
- Alderman, D.J., P. Van Banning and A. Perez-Colomer (1977). Two European oyster (*Ostrea edulis*) mortalities associated with an abnormal haemocytic condition. *Aquaculture*, **10**:335-340.
- Ames, B.N., R. Magaw and S. Gold (1987). Ranking possible carcinogenic hazards. *Science*, **236**:271-279.
- Anders, F., M. Scharti, A. Barnekow and A. Anders (1984). *Xiphophorus* as an *in vivo* model for studies on normal and defective control of oncogenes. *Adv. Cancer Res.*, **42**:191-275.
- Anderson, D., (1990). *in vitro* methods for teratology testing. In: *Experimental Toxicology: The Basic Principles*, D. Anderson and D.M. Conning, eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 335-347.
- Anderson, H.A., E.C. Holstein, S.M. Daum, L. Sarkosi and I.J. Selikoff (1978a). Liver function tests among Michigan and Wisconsin dairy farmers. *Environ. Health Perspect.*, **23**:333-339.
- Anderson, H.A., R. Lillis, I.J. Selikoff, K.D. Roseman, J.A. Valciukas and S. Freedman (1978b). Unanticipated prevalence of symptoms among dairy farmers in Michigan and Wisconsin. *Environ. Health Perspect.*, **23**:217-226.
- Anderson, R.C., W.E. Bishop and R.L. Campbell (1985). A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrilotriacetic acid. *Crit. Res. Toxicol.*, **15**:1-102.
- Anderson, R.S. (1977). *Benzo(a)pyrene metabolism in the American oyster (Crassostrea virginica)*. US Environmental Protection Agency. EPA-600/378-009, 25 pp.
- Aoki, K. and H. Matsudaira (1977). Induction of hepatic tumors in teleost (*Oryzias latipes*) after treatment with methylazoxymethanol acetate. *J. Nat. Cancer Inst.*, **59**:1747-1749.
- Aoki, K. and H. Matsudaira (1984). Factors influencing methylazoxymethanol acetate initiation of liver tumors in *Oryzias latipes*: Carcinogen dosage and time of exposure. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:345-351.
- Arillo, A. and F. Melodia (1990). Protective effect of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere*, **20**:397-402.
- Ayanaba, A. and M. Alexander (1974). Transformations of methylamines and formation of a hazardous product, dimethylnitrosamine, in samples of treated sewage and lake water. *J. Environ. Qual.*, **3**:83-89.
- Aydrin, N.E. and O.M. Bulay (1983). Effects of dialkyl nitrosamines on the induction of hepatomas in *Brachydanio rerio* fish species. *Doga. Bilim. Dergisi.*, **7**:1-7.

- Axelsson, O. (1986). A review of porphyria and cancer and the missing link with human exposure to hexachlorobenzene. In: C.R. Morris and J.P.R. Cabral Eds. "Hexachlorobenzene. Proceedings of an international symposium". (IARC Scientific Publication No.77), IARC, Lyon.
- Bagnasco M., A. Camoirano, S. De Flora, F. Melodia and A. Arillo (1991). Enhanced liver metabolism of mutagens and carcinogens in fish living in polluted seawater. *Mutat. Res.*, **262**:129-137.
- Bailey, G.S., D.E. Williams, J.S. Wilcox, P.M. Loveland, R.A. Coulombe and J.D. Hendricks (1988). Aflatoxin B1 carcinogenesis and its relation to DNA adduct formation and adduct persistence in sensitive and resistance salmonid fish. *Carcinogenesis*, **9**:1919-1926.
- Bailey, G.S., D.E. Goeger and J.D. Hendricks (1989). Factors influencing experimental carcinogenesis in laboratory fish models. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 253-268.
- Barthel, E. (1981). Increased incidence of lung cancer in pesticide-exposed male agricultural workers. *J. Toxicol and Environ. Health*, **8**:1027-1040.
- Bartsch, H., H. Ohshima, J. Nair and B. Pignatelli (1986). Modifiers of endogenous nitrosamine synthesis and metabolism. In: *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms*, D.M. Shankel, P.E. Hartman, T. Kada and A. Hollaender, eds., Plenum, New York, pp. 87-101.
- Bartsch, H., H. Ohshima and B. Pignatelli (1988). Inhibitors of endogenous nitrosation. Mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutat. Res.*, **202**:307-324.
- Baumann P.C. (1989). PAH, metabolites, and neoplasia in feral fish populations. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 269-289.
- Bend, J.R. and M.O. James (1979). Xenobiotic metabolism in marine and freshwater species. *Biochem. Biophys. Perspect. Mar. Biol.*, **4**:125-188.
- Bennett, D.G. (1983). Exposure of man to environmental PCB - an exposure commitment assessment. *Sci. Total Environ.*, **19**:101-111.
- Bihari, N., R. Batel, and R.K. Zahn (1989). The use of alkaline elution procedure to measure DNA damage in crab haemolymph treated with benzo(a)pyrene. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme) Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 121-127.
- Black, J.J. (1984). Aquatic animal neoplasia as an indicator for carcinogenic hazards to man. In: *Hazard Assessment of Chemicals-Current Developments*. J.Saxena, ed., New York, Academic Press Inc., Vol.3, pp. 181-232.

- Blejer, H.P. and W. Wagner (1976). Case study 4: Inorganic arsenic - ambient level approach to the control of occupational cancerogenic exposures. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **271**:179-186.
- Bolognesi, C. (1989). Carcinogenic and mutagenic effects of pollutants in marine organisms: a review. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 65-83.
- Bolognesi, C., M. Parrini, F. Valerio, M.T. Piccardo and C. Pellegrino (1990). *Genotoxic effects and tissues concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussel: a comparison study*. 4th Intern. Conf. Environ. Contamination, Barcelona, Spain, October 1-4.
- Booth, N.H. and J.R. McDowell (1975). Toxicity of hexachlorobenzene and associated residues in edible animal tissues. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **166**:591-595.
- Braun, W. (1955). *Chloracne*. Monographs with the Journal Berufsdermatosen. Aulendorf i Wurt. Edit Cantor Vol.1.
- Britvic, S. and B. Kurelec (1986). Selective activation of carcinogenic aromatic amines to bacterial mutagens in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **85C**:111-114.
- Brown, D.P. (1987). Mortality of workers exposed to polychlorinated biphenyls - an update. *Arch. Environ. Health*, **42**:333-339.
- Brunetti, R., I. Gola and F. Majone (1986). Sister-chromatid exchange in developing eggs of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. (Bivalvia). *Mutat. Res.*, **174**:207-211.
- Brunetti, R., F. Majone, I. Gola and C. Beltrame (1988). The micronucleus test: examples of application to marine ecology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **44**:65-68.
- Brunetti, R., F. Majone, M. Zordan and A.G. Levis (1989). Cytogenetic alterations in *Mytilus galloprovincialis* as indicators of genotoxic pollutants in the marine environment: methodological aspects. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 101-110.
- Buhler, D.R. and D.E. Williams (1989). Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals: hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes). In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 151-184.
- Burns, K.A., J.P. Villeneuve and S.W. Fowler (1985). Fluxes and residence times of hydrocarbons in the coastal Mediterranean: How important are the biota? *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, **20**:313-330.

- Butterworth, B.E. (1989). Non-genotoxic carcinogens in the regulatory environment. *Reg. Tox. Pharm.*, **9**:244-256.
- Cabral, J.R.P., P. Shubik, T. Mollner and F. Raitano (1977). Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature (Lond.)*, **269**:510-511.
- Cabral, J.R.P., T. Mollner, F. Raitano and P. Shubik (1979). Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. *Int. J. Cancer*, **23**:47-51.
- CEE (1976a). Directive du Conseil du 6 avril 1976 sur l'élimination des polychlorobiphényles et des polychloroterphényles (76/403/CEE); *Journal Officiel des Communautés européennes*, **L108**: 41-32.
- CEE (1976b). Directive du Conseil du 27 juillet 1976 sur les mesures législatives, réglementaires et administratives dans les Etats membres portant sur la limitation de la commercialisation et de l'utilisation de certaines substances et préparations dangereuses; *Journal Officiel des Communautés européennes*, **L262**: 201-203.
- CEE (1976c). Directive du Conseil du 4 mai 1976 sur la pollution occasionnée par certaines substances dangereuses rejetées dans le milieu aquatique de la Communauté (76/464/CEE). *Journal Officiel des Communautés européennes*, **L129** 23-29.
- CEE (1982). Communication de la Commission au Conseil sur les substances dangereuses qui pourraient être incluses dans la liste I de la Directive du Conseil 76/464/CEE. *Journal Officiel des Communautés européennes*, **C176**: 3-10.
- Cerniglia, C.E. and M.A. Heitkamp (1989). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the aquatic environment. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 41-68.
- Chen, C.P. and E.M. Boyd (1968). The acute oral toxicity of gamma benzene hexachloride (Abs No.377). *Can. Fed. Biol. Soc.*, **11**:135.
- Conney, A.H. (1967). Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharm. Rev.*, **19**:317-366.
- Costa, R., A. Russo, M. Zordan, A. Pacchierotti, A. Tavella and A.G. Levis (1988). Nitroacetic acid (NTA) induces aneuploidy in Drosophila and mouse germline cells. *Environ. Mol. Mutagenesis*, **12**:397-407.
- Couch, J.A. (1985). Prospective study of infectious and noninfectious diseases in oysters and fishes in three Gulf of Mexico estuaries. *Diseases of Aquatic Organisms*, **1**:59-82.
- Couch, J.A. (1989). Review of North American and Pacific basin experience and knowledge of carcinogens and marine species (unpublished report).
- Couch, J.A. and L.A. Courtney (1987). Hepatocarcinogenesis in an estuarine fish: induced neoplasms and related lesions with comparisons to mammalian lesions. *J. Nat. Cancer Inst.*, **79**:297-322.

- Couch, J.A. and J.C. Harshbarger (1985). Effects of carcinogenic agents on aquatic animals: an environmental and experimental overview. *Environ. Carcinogenesis Revs.*, **3**:63-105.
- Couch, J.A., L.A. Courtney, J.T. Winstead and S.S. Foss (1979). The American oyster (*Crassostrea virginica*) as an indicator of carcinogens in the aquatic environment. In: *Animal Monitors of Environmental Pollutants*, Nat. Acad. Sci, pp. 65-84.
- Couch, J.A., L.A. Courtney, and S.S. Foss (1981). Laboratory evaluation of marine fishes as carcinogen assay subjects. In: *Phyletic Approaches to Cancer*, C.J. Dawe, J.C. Harshbarger, S. Kondo, T. Sugimura and S. Takayama, eds., Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 125-139.
- Crow, K.D. (1970). *Chloracne*. A critical review including a comparison of two series of cases of acne from chlornaphthalene and pitch fumes. *Trans. St. John's Hospital Dermatol. Soc.*, **56**:79-99.
- Das, R.K. and N.K. Nanda (1986). Induction of micronuclei in peripheral erythrocytes of fish *Heteropneustes fossilis* by mitomycin C and paper mill effluent. *Mutat. Res.*, **175**:67-71.
- Dashwood, R.H., D.N. Arbogast, A.T. Fong, J.D. Hendricks and G.S. Bailey (1988). Mechanisms of anti-carcinogenesis by indole-3-carbinol: detailed *in vivo* DNA binding dose-response studies after dietary administration with aflatoxin B1. *Carcinogenesis*, **9**:427-432.
- Davis, P.W. and Middaugh, D.P. (1978). A revised review on the impact of chlorination process upon marine ecosystem. In: *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*, R.L. Jolley, ed., Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Vol.1, pp.
- Dawe, C.J., M.F. Stanton and F.J. Schwartz (1964). Hepatic neoplasms in bottom-feeding fishes of Deep Creek Lake, Maryland. *Cancer Res.*, **24**:1194-1201.
- De Flora, S. (1982). Biotransformation and interaction of chemicals as modulators of mutagenicity and carcinogenicity. In: *Environmental Mutagens and Carcinogens*, T. Sugimura, S. Kondo and H. Takebe, eds., University of Tokyo Press, Tokyo/Alan R. Liss, Inc., New York, pp. 527-541.
- De Flora, S. (1990a). Mechanistic approaches to the primary prevention of cancer. In: *Primary Prevention of Cancer*, W.J. Eylembosch and M. Kirsch-Volders, eds., Raven Press, New York, in press.
- De Flora, S. (1990b). Development and application of biomarkers exploitable for human exposure monitoring. *Teratog. Carcinog. Mutag.*, **10**:211-214.
- De Flora, S. and A. Arillo (1983). Mutagenic and DNA damaging activity in muscle of trout exposed *in vivo* to nitrite. *Cancer Lett.*, **20**:147-155.
- De Flora, S. and C. Ramel (1988). Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. *Mutat. Res.*, **202**:285-306.

- De Flora, S., P. Zanicchi, C. Bennicelli and A. Arillo (1982). Influence of liver S-9 preparations from rats and rainbow trout on the activity of four mutagens. *Toxicol. Lett.*, **10**:345-349.
- De Flora, S., G.P. De Renzi, A. Camoirano, M. Astengo, C. Basso, P. Zanicchi and C. Bennicelli (1985). Genotoxicity assay of oil dispersants in bacteria (mutation, differential lethality, SOS DNA-repair) and yeast (mitotic crossing-over). *Mutat. Res.*, **158**:19-30.
- De Flora, S., A. Camoirano, A. Izzotti, F. D'Agostini and C. Bennicelli (1989a). Photoactivation of mutagens. *Carcinogenesis*, **10**:1089-1097.
- De Flora, S., P. Zanicchi, C. Bennicelli, A. Camoirano, C. Basso, M. Bagnasco, A. Izzotti and G.S. Badolati (1989b). Genotoxicity, biotransformations and interactions of marine pollutants, as related to genetic and carcinogenic hazards. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 3-31.
- De Flora, S., A. Camoirano, A. Izzotti, P. Zanicchi, M. Bagnasco and C.F. Cesarone (1991a), Antimutagenic and anticarcinogenic mechanisms of aminothiols. In: *Anti-carcinogenesis and Radiation Protection: Strategies in Protection from Radiation and Cancer*, F. Nygaard and A.C. Upton, eds., Plenum Press, New York, pp. 275-285.
- De Flora S., P. Zanicchi, M. Bagnasco, R. Brunetti, F. Majone and A.G. Levis (1991b). Metabolic and genetic effect of marine pollution on aquatic organisms. In: *Trends in Biological Dosimetry*, B. Gledhill and F. Mauro, eds., Wiley-Liss, New York, NY, pp. 69-78.
- De Marco, A., M. Romanelli, M.A. Stazi and E. Vitagliano (1986). Induction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with nitrilotriacetic acid (NTA). *Mutat. Res.*, **171**:145-148.
- De Renzi, G.P., G. Rallo, A. Capri, S. Agostino and C. Angioni (1989). Carcinogenic hazards from arsenic in seawater, seafood and marine aerosols. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 191-198.
- Den Tonkelaar, E.M., H.G. Verschuuren, J. Bankorska, T. de Vries, R. Kroes and G.J. van Esch (1978). Hexachlorogenzene toxicity in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **43**:137-145.
- Denes, A. (1962). Problems of food chemistry concerning residues of chlorinated hydrocarbons. *Nahrung*, **6**:48-56.
- Department of the Environment. *Dioxins in the environment*. Pollution Paper No.27. HMSO 1989.
- Di Carlo, F.J., J. Seifer and V.J. De Carlo (1978). *Assessment of the hazards of polybrominated biphenyls*. (EPA-560/6-77-037 PB 285, 532). Washington D.C., U.S. Environmental Protection Agency.

- Dinnel, P.A., J.M. Link and Q.J. Stober (1987). Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **16**:23-32.
- Dinnel, P.A., G. Pagano and P.S. Oshida (1988). A sea urchin test system for marine environmental monitoring. In: *Echinoderm Biology*, R.D. Burke, P.V. Mladenov, P. Lambert and R.L. Parsley, eds., A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 611-619.
- Diplock, A.T. (1984). Biological effects of selenium and relationships with carcinogenesis. *Tox. Environ. Chem.*, **8**:305-311.
- Dixon, D.R. and K.R. Clarke (1982). Sister chromatid exchange: a sensitive method for detecting damage caused by exposure to environmental mutagens in the chromosome of adult *Mytilus edulis*. *Mar. Biol. Lett.*, **3**:163-172.
- Doster, R.C., R.O. Sinnhuber and J.H. Wales (1972). Acute intraperitoneal toxicity of ochratoxin A and B in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Food Cosmet. Toxicol.*, **10**:85-92.
- Dunn, B.P., J.J. Black and A. Maccubbin (1987). ³²P-postlabeling analysis of aromatic DNA adducts in fish from polluted areas. *Cancer Res.*, **47**:6543-6548.
- Edwards, R.H. and R.M. Overstreet (1976). Mesenchymal tumors of some estuarine fishes of the Northern Gulf of Mexico. I. Subcutaneous tumors, probably fibrosarcomas, in the striped mullet, *Mugil cephalus*. *Bull. Mar. Sci.*, **26**:33-40.
- Egami, N., Y. Kyono-Hamaguchi, H. Mitani and A. Shima (1981). Characteristics of hepatoma produced by treatment with diethylnitrosamine in the fish, *Oryzias latipes*. In: *Phyletic Approaches to Cancer*, C.J. Dawe, J.C. Harshbarger, S. Kondo, T. Sugimura and S. Takayama, eds., Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 217-226.
- Eggens, M. and D. Vethaak (1989). PAHs and PCBs in relation to liver tumors in fish in The Netherlands (Abstract), *Mutat. Res.*, **216**:310-311.
- Ellingham, T.J., E.A. Christensen and M.B. Maddock (1986). *in vitro* induction of sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of the oyster toadfish and American eel. *Environ. Mutag.*, **8**:555-569.
- Elo, O., H. Vuojolahti, J. Janhunen and J. Ranatanen (1985). Recent PCB accidents in Finland. *Environ. Health. Perspect.*, **30**:127-129.
- EPA (1976). *Code of Federal regulations*. U.S. Environmental Protection Agency, 40 CFR 180.138. Washington D.C.
- EPA (1985). *Health assessment document for polychlorinated dibenzo-p-dioxins*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment (EPA) 600/6-84/0146. Washington D.C.
- EPA (1988). *Integrated risk information system (IRIS)*. Cincinnati O.H. Environmental Criteria and Assessment Office. Cincinnati Ohio, to Bruce Means. July 15, 1988.
- EPA (1987). *Drinking water criteria document for Toxaphene*. U.S. Environmental Protection Agency. Office of drinking water. EPA 600/87-2-025. Washington D.C.

- Ermer, M. (1970). Versuche mit cancerogenen mitteln bei kurzlebigen fischarten. *Zool. Anz.*, **184**:175-193.
- Falkmer, S., S.O. Emdin, Y. Ostberg, A. Mattisson, M.-L. Johansson and R. Fange (1976). Tumor pathology of the hagfish, *Myxine glutinosa*, and the river lamprey, *Lampetra fluviatilis*. *Prog. Exper. Tumor Res.*, **20**:217-250.
- Falkmer, S., S. Marklund, P.E. Mattisson and C. Rappe (1977). Hepatomas and other neoplasms in the Atlantic hagfish (*Myxine glutinosa*): a histopathologic and chemical study. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **298**:342-355.
- FAO/WHO (1985). *Pesticide residues in food - 1984 evaluations*. FAO Plant Production and Protection Paper 67, Rome.
- Fara, G.M. and G. del Corno (1985). Pregnancy outcome in the Seveso area after TCDD contamination. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **163B**:279-285.
- Faustman, E.M. (1988). Short-term tests for teratogens. *Mutat. Res.*, **205**:335-384.
- Fein, G.G., J.L. Jacobson, S.W. Jacobson, Schwartz and J.K. Dowler (1984). Prenatal exposure to PCBs: Effects on birth size and gestational age. *J. of Pediatrics*, **102**:315-320.
- Fitzhugh, O.G., A.A. Nelson and J.P. Frawley (1950). The chronic toxicities of technical benzene hexachloride and its alpha, beta and gamma isomers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **100**:59-66.
- Fouremant, G.L. (1989). Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals: hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes). In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 185-202.
- Fournie, J.W, W.E. Hawkins, R.M. Overstreet and W.W. Walker (1987). Exocrine pancreatic neoplasms induced by methylazoxymethanol acetate in the guppy (*Poecilia reticulata*). *J. Nat. Cancer Inst.*, **78**:715-725.
- Fox, M.A., and S. Olive (1979). Photooxidation of anthracene on atmospheric particulate matter. *Science*, **205**:582-583.
- Frezza, D., B. Pegoraro and S. Presciuttini (1982). A marine host-mediated assay for the detection of mutagenic compounds in polluted sea waters. *Mutat. Res.*, **104**:215-223.
- Friberg, L. (1988). The GESAMP evaluation of potentially harmful substances in fish and other seafood with special reference to carcinogenic substances. *Aquatic Tox.*, **11**:379-393.
- Funari, E., A. Zoppini, A. Verdina, G. De Angelis and L. Vittozzi (1987). Xenobiotic-metabolizing enzyme systems in test fish. I. Comparative studies of liver microsomal monooxygenases. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **13**:24-31.
- Gaines, T.B. (1960). The acute toxicity of pesticides to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2**:88-99.

- Gardner, G.R., P.P. Yevich and J.C. Harshbarger (1988). Neoplastic disorders in American oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to contaminated sediment in the laboratory and in the field. (Abstract) *Proc. of Society for Invert. Path. Aug. 14-18, 1988*, San Diego, California.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) (1986). Review of Potentially Harmful Substances: Arsenic, Mercury and Selenium. *GESAMP Rep. Stud., No. 28*, 172 pp.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) (1990). Review of Potentially Harmful Substances. Choosing priority organochlorines for marine hazard assessment. *GESAMP Rep. Stud., No. 42*, 10 pp.
- GESAMP (1992). *Cancer risks from seafood* (in preparation).
- Gilewicz, M., J.R. Guillaume, D. Charles, M. Leveau and J.C. Bertrand (1984). Effects of petroleum hydrocarbons on the cytochrome P-450 content of the mollusc bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Biol. (Berl.)*, **80**:155-159.
- Giri, A.K. (1986). Mutagenic and genotoxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. A review. *Mut. Res.*, **168**:241-248.
- Goeger, D.E., D.W. Shelton, J.D. Hendricks and G.S. Bailey (1986). Mechanisms of anti-carcinogenesis by indole-3-carbinol: effect on the distribution and metabolism of aflatoxin B1 in rainbow trout. *Carcinogenesis*, **7**:2025-2031.
- Goeger, D.E., D.W. Shelton, J.D. Hendricks, C. Pereira and G.S. Bailey (1988). Comparative effect of dietary butylated hydroxyanisole and b-naphtoflavone on aflatoxin B1 metabolism, DNA adduct formation, and carcinogenesis in rainbow trout. *Carcinogenesis*, **9**:1793-1800.
- Gola, I., R. Brunetti, F. Majone and A.G. Levis (1986). Applications of the micronucleus test to a marine organism treated with NTA and insoluble heavy metals. *Atti Ass. Genet. It.*, **32**:95-96.
- Golik, A. (1985). Accumulation of tar balls on the beach. Israel. *Oceanogr. Limnol. Res.*, **3**:pp.10.
- Gorski, T., E. Gorska, D. Gorecka and M. Sikora (1985). Hexachlorobenzene is non genotoxic in short-term tests. In: C.R. Morris and J.P.R. Cabral eds. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". IARC Scientific Publication No.77). IARC, Lyon.
- Goyer, R.A., H.L. Falk, M. Hogan, D.D. Feldman and W. Richter (1981). Renal tumours in rats given trisodium nitrolotri-acetic acid in drinking water for 2 years. *J. Nat. Cancer Inst.*, **66**:869-880.
- Grant, D.L., F. Iverson, G.V. Hatina and D.C. Villeneuve (1974). Effects of hexachlorobenzene on liver porphyrin levels and microsomal enzymes in the rat. *Environ. Physiol. Biochem.*, **4**:159-165.

- Grasso, P. (1984). Carcinogens in Food. In: *"Chemical Carcinogens", 2nd Edition*. Ed. C.E. Searle, Ch. 19, Vol.2.
- Grasso, P. (1989). Cancer risk from low-level carcinogens in the marine environment. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 203-213.
- Grasso, P. and R.H. Hinton (1990). Evidence for and possible mechanisms of non-genotoxic carcinogenesis in rodent liver. *Mut. Res.*, **248**:271-290.
- Grasso, P., M. Sharratt and J. Cohen (1991). Role of persistent non-genotoxic tissue damage in rodent cancer and relevance to humans. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **31**:253-287.
- Greenblatt, M. and W. Lijinsky (1974). Carcinogenesis and chronic toxicity of nitrilotriacetic acid in Swiss mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, **52**:1123-1126.
- Groce, D.F. and R.D. Kimbrough (1984). Stunted growth, increase mortality and liver tumours in offspring of polybrominated biphenyls (PBB) dosed Sherman rats. *J. Toxicol. and Environ. Health*, **14**:695-706.
- Guerzoni, M.E., L. del Cupolo and I. Ponti (1976). Mutagenic activity of pesticides (Italy). *Riv. Sci. Tecnol. Aliment Nutr. Um.*, **6**:161-165.
- Gupta, B.N., E.E. McConnell, J.A. Goldstein, M.W. Harris and J.A. More (1983). Effects of polybrominated biphenyl mixture in the rat and mouse. II Lifetime study. *Toxicol. App. Pharmacol.*, **68**:19-35.
- Gupta, R.C., M.V. Reddy and K. Randerath (1982). ³²P-postlabeling analysis of nonradioactive aromatic carcinogen DNA adducts. *Carcinogenesis*, **3**:1081-1092
- Hagström, B.E. and S. Lønning (1973). The sea urchin egg as a testing object in toxicology. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **32** (supplement):1-49.
- Halver, J.E. (1967). Crystalline aflatoxin and other vectors for trout hepatoma. In: *Trout Hepatoma Research Conference Papers*, J.E. Halver and I.A. Mitchell, eds., Res. Rep. 70, Bur. Sport Fish Wildl., Washington, D.C., 78-102.
- Hard, G.C., R. Williams and J. Lee (1979). Survey of demersal fish in Port Phillip Bay for incidence of neoplasia. *Austr. J. Marine Freshwater Res.*, **30**:187-193.
- Harrison, F.L. and I.M. Jones (1982). An *in vivo* sister chromatid exchange assay in the larvae of the mussel *Mytilus edulis*: response to 3 mutagens. *Mutat. Res.*, **105**:235-242.
- Hartman, P.E. and D.M. Shankel (1990). Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. *Environ. Molec. Mutag.*, **15**:145-182.

- Hatanaka, J., N. Doke, T. Harada, T. Aikawa and M. Enomoto (1982). Usefulness and rapidity of screening for the toxicity and carcinogenicity of chemicals in medaka, *Oryzias latipes*. *Japan J. Exp. Med.*, **52**:243-253.
- Haugen, D.A. and M.J. Peak (1983). Mixtures of polycyclic aromatic compounds inhibit mutagenesis in the *Salmonella*/microsome assay by inhibition of metabolic activation. *Mutat. Res.*, **116**:257-269.
- Hawkins, W.E., R.M. Overstreet, W.W. Walker and C.S. Manning (1985a). Tumor induction in several small fish species by classical carcinogens and related compounds. In: *Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*, R.L. Jolley, R.J. Bull, W.P. Davis, S. Katz, M.H. Roberts and V.A. Jacobs, eds., Lewis Publishers Inc., Chelsea, Michigan, pp. 429-438.
- Hawkins, W.E., R.M. Overstreet, J.W. Fournie and W.W. Walker (1985b). Development of aquarium fish models for environmental carcinogenesis: Tumor induction in seven species. *J. Appl. Toxicol.*, **5**:261-264.
- Hawthorn, J.C., J.H. Ford and G.P. Markin (1974). Residues of mirex and other chlorinated pesticides in commercially raised catfish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **11**:258-264.
- Hawkins, W.E., J.W. Fournie, R.M. Overstreet and W.W. Walker (1986). Intraocular neoplasms induced by methylazoxymethanol acetate in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *J. Nat. Cancer Inst.*, **76**:453-465.
- Hawkins, W.E., R.M. Overstreet and W.W. Walker (1988). Carcinogenicity tests with small fish species. *Aquatic Toxicol.*, **11**:113-128.
- Hayabuchi, H., T. Yoshimura and M. Kuratsune (1979). Consumption of toxic rice oil by "Yusho" patients and its relation to clinical response and latent period. *Food Cosmet. Toxicol.*, **17**:455-461.
- Hayatsu, H. (1990). Blue cotton. Broad possibility in assessing mutagens/carcinogens in the environment. In: *Advances in Mutagenesis Research*, G. Obe, ed., Springer-Verlag, Berlin, Vol. 1, pp. 1-26.
- Helmer, R. (1977). Pollutants from land-based sources in the Mediterranean. *Ambio*, **6**:312-316.
- Hemminki, K. and P. Vineis (1985). Extrapolation of the evidence on teratogenicity of chemicals between humans and experimental animals: chemicals other than drugs. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, **5**:251-318.
- Hendricks, J.D., R.O. Sinnhuber, J.E. Nixon, J.H. Wales, G.B. Putnam, P.M. Loveland, M.S. Masri and D.P.H. Hsieh (1978). *Carcinogenicity of aflatoxin to rainbow trout and its potentiation by cyclopropene fatty acids* (Abstract). *Fed. Proc.*, **37**:451.
- Hendricks, J.D., T.P. Putnam and R.O. Sinnhuber (1980a). Null effect by dietary Aroclor 1254 on hepatocellular carcinoma incidence in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to aflatoxin B1 as embryos. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **4**:9-16.

- Hendricks, J.D., R.A. Scanlan, J.L. Williams, R.O. Sinnhuber, and M.P. Grieco (1980b). The carcinogenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine to the livers and kidneys of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed as embryos. *J. Nat. Cancer Inst.*, **64**:1511-1519.
- Hendricks, J.D., R.O. Sinnhuber, P.M. Loveland, N.E. Pawlowski and J.E. Nixon (1980c). Hepatocarcinogenicity of glandless cotton seeds under refined cotton seed oil to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Science*, **208**:309-310.
- Hendricks, J.D., R.O. Sinnhuber, J.E. Nixon, J.H. Wales, M.S. Masri and D.P.H. Hsieh (1980d). Carcinogenic response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to aflatoxin Q1 and synergistic effects of cyclopropenoid fatty acids. *J. Nat. Cancer Inst.*, **64**:523-527.
- Hendricks, J.D., R.O. Sinnhuber, M. Henderson and D.R. Buhler (1981a). Liver and kidney pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to dietary pyrrolizidine (Senecio) alkaloids. *Exper. Molec. Pathol.*, **35**:170-183.
- Hendricks, J.D., W.T. Stott, T.P. Putnam and R.O. Sinnhuber (1981b). Enhancement of aflatoxin B1 hepatocarcinogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) embryos by prior exposure of gravid females to dietary Aroclor 1254. *Proc. 4th Ann. Symp. Aquatic Toxicol. Am. Soc. Test. Mater., Phila. Spec. Tech. Publ.*, **737**:203-214.
- Hendricks, J.D., T.R. Meyers, D.W. Shelton and R.O. Sinnhuber (1982). Liver neoplasia and induction of mixed function oxidase enzymes in the rainbow trout following dietary exposure to benzo(a)pyrene. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **23**:258.
- Hendricks, J.D., D.W. Shelton, J.L. Castel, T.R. Meyers and R.O. Sinnhuber (1983). Carcinogenicity of methylazoxymethanol acetate (MAMA) to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) embryos, with and without prior exposure to Aroclor 1254 (PCB). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **24**:254.
- Hendricks, J.D., T.R. Meyer, J.L. Castel, J.E. Nixon, P.M. Loveland and G.S. Bailey (1984). Rainbow trout embryos: Advantages and limitations for carcinogenesis research. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:129-137.
- Hendricks, J.D., T.R. Meyers, D.W. Shelton, J.L. Castel and G.S. Bailey (1985). Hepatocarcinogenicity of benzo(a)pyrene to rainbow trout by dietary exposure and intraperitoneal injection. *J. Nat. Cancer Inst.*, **74**:839-851.
- Hennings, H., P.M. Blumberg, G.R. Pettit, C.L. Herald, R. Shores and S.H. Yuspa (1987). Bryostatins 1, an activator of protein kinase C, inhibits tumor promotion by phorbol esters in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis*, **8**:1343-1346.
- Herman, R.L. (1970). Effects of gossypol on rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, **2**:293-303.
- Hermann, M., O. Chaudé, N. Weill, H. Bedouelle and M. Hofnung (1980). Adaptation of the *Salmonella*/mammalian microsome test of the determination of the mutagenic properties of mineral oils. *Mutat. Res.*, **77**:327-339.
- Hinton, D.E., J.A. Couch, S.J. Teh and L.A. Courtney (1988). Cytological changes during progression of neoplasia in selected fish species. *Aquatic Toxicol.*, **11**:77-112.

- Hirose, M., K. Wakabayashi, S. Grivas, S. De Flora, N. Arakawa, M. Nagao and T. Sugimura (1990). Formation of a nitro derivative of 2-amino-3,4-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoline by photo-irradiation. *Carcinogenesis*, **11**:869-871.
- Hodson, P.V. (1987). The effect of toxic chemicals on fish. *Water Quality Bull.*, **12**:Nx3, 95-99, 127.
- Hoffman and E.L. Wynder (1976). Experimental respiratory carcinogenesis. In: "*Chemical Carcinogens*". Ed. C.E. Searle, ACS Monograph 173. **7**:324-361.
- Holloway, M.P., M.C. Biaglow, E.C. McCoy, M. Anders, H.S. Rosenkranz and P.C. Howard (1987). Photochemical instability of 1-nitropyrene, 3-nitrofluoranthene, 1,8-dinitropyrene and their parent polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat. Res.*, **187**:199-207.
- Hori, S.S., H. Obane, R. Tanaka and T. Kashimoto (1986). Comparative toxicity in rats of polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated quaterphenyls (PCQs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) present in rice oil causing "Yusho". *Eisi Kagaku*, **32**:13-21.
- Hose, J.E. (1985). Potential uses of sea urchin embryos for identifying toxic chemicals: Description of a bioassay incorporating cytologic, cytogenetic and embryologic endpoints. *J. Appl. Toxicol.*, **5**:245-254.
- Hose, J.E. and H.W. Puffer (1983). Cytologic and cytogenetic anomalies induced in purple sea urchin embryos (*Strongylocentrotus purpuratus* s.) by parenteral exposure to benzo(a)pyrene. *Mar. Biol. Lett.*, **4**:87-95.
- Hose, J.E., H.W. Puffer, P.S. Oshida and S.M. Bay (1983). Developmental and cytogenetic abnormalities induced in the purple sea urchin by environmental levels of benzo(a)pyrene. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **12**:319-325.
- Howard, B.M., K. Clarkson and R.L. Bernstein (1979). Simple prenylated hydroquinone derivatives from the marine urochordate *Aplidium californicum*. Natural anticancer and antimutagenic agents. *Tetrahedron Lett.*, **46**:4449-4452.
- IARC (1972-1990). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*, Volumes 1-49. IARC, Lyon.
- IARC (1979a). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:371-574. IARC, Lyons.
- IARC (1979b). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:327-348. IARC, Lyons.
- IARC (1979c). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:195-239. IARC, Lyons.
- IARC (1979d). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:155-168. IARC, Lyons.
- IARC (1979e). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:283-295. IARC, Lyons.

IARC (1980). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some metals and metallic compounds*, 23:39-142. IARC, Lyons.

IARC (1983). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Compounds, Part I. Volume 32*. IARC, Lyons.

IARC (1986). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons and pesticide residues*, 41:261-292. IARC, Lyons.

IARC (1987). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Overall evaluations of carcinogenicity. An updating of IARC Monographs Volume 1-42:Suppl.7*. IARC, Lyons.

IARC (1990). Nitrotriacetic acid and its salts. In: "*IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans*", 48:181-214. IARC, Lyons.

Innes, J.R.M., B.M. Ullard and M.G. Valerio *et al.* (1969). Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumourigenicity in mice. A preliminary note. *J. Nat. Cancer Inst.*, 42:1101-1114.

Ioannou, Y.M., L.S. Birnbaum and H.B. Matthews (1983). Toxicity and distribution of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in male guinea-pigs. *J. Toxicol. Environ. Health*, 12:541-553.

IOC (1981). *Global oil pollution. The IGOSS Pilot Project on Marine Pollution (Petroleum) Monitoring*. Levy, E.M., M. Ehrhardt, D. Kohnke, E. Sobotchenko, T. Suzuoki and A. Tokuhiko, eds., Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, 35 pp.

Ishikawa, T., T. Shimamine and S. Takayama (1975). Histologic and electron microscopy observations of diethylnitrosamine-induced hepatomas in small aquarium fish (*Oryzias latipes*). *J. Nat. Cancer Inst.*, 55:906-916.

Jackim, E., G.G. Pesch, A.R. Malcolm and G.R. Gardner (1989). Application of biomarkers to predict responses of organisms exposed to contaminated marine sediments. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 165-175.

Jacobs, L.W., S.F. Chou and J.M. Tiedje (1976). Fat of polybrominated biphenyls (PBBs) in soils. Persistence and plant uptake. *J. Agric. Food Chem.*, 24:1198-1201.

James, M.O. (1989). Biotransformation and disposition of PAH in aquatic invertebrates. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 69-91.

Jaylet, A., P. Deparis, V. Ferrier, S. Grinfeld and R. Siboulet (1986). A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the newt *Pleurodeles waltl* to detect mutagens in fresh-water pollution. *Mutat. Res.*, 164:245-257.

- Jebsen, J.W. and M. Riaz (1977). Breakdown products of trimethylamine oxide in airdried stockfish. Means of enhancing the formation of formaldehyde and dimethylamine. *Fish Dir. Skr. Ernoering.*, 1:145-153.
- Jones, M.I. and F.L. Harrison (1987). Variability in the frequency of sister chromatid exchanges in larvae of *Mytilus edulis*: implications for field monitoring. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 113:283-288.
- Kanisawa, M. and H.A. Schroeder (1967). Life term studies on the effects of arsenic, germanium, tin and vanadium on spontaneous tumors in mice. *Cancer Res.*, 27:1192-1195.
- Kanitz, S., Y. Franco, E. Raffo and S. Palumbo (1990). *Monitoring of carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Ligurian Sea*. Unpublished report.
- Karmali, R.A. (1989). Elicosanoids and omega-3 fatty acids. *Prev. Med.*, 18:776.
- Kashyap, S.K., S.K. Nigam, R.C. Gupta, A.B. Karnik and S.K. Chatterjee (1977). Carcinogenicity of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) in pure inbred Swiss mice. *Int. J. Cancer*, 19:725-729.
- Kashyap, S.K., S.K. Nigam, R.C. Gupta, A.B. Karnik and S.K. Chatterjee (1979). Carcinogenicity of hexachlorocyclohexane (BHC) in pure inbred Swiss mice. *J. Environ. Sci. Health*, 14:305-308.
- Kendall, N.W. (1974). Acute hepatotoxic effects of mirex in the rat. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12:617-621.
- Kerr, S.R. and W.P. Vass (1973). Pesticide residues in aquatic invertebrates. In: *Environmental Pollution by Pesticides*, C.A. Edwards, ed., London, Plenum Press, pp. 134-180.
- Kerster, H.W. and D.J. Schaffer (1983). Brine shrimp (*Artemia salina*) nauplii as a teratogen test system. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 7:435-446.
- Kezic, N., S. Britvic, M. Protic, J.E. Simmons, M. Rijavec, R.K. Zahn and B. Kurelec (1983). Activity of benzo(a)pyrene monooxygenase in fish from the Sava river, Yugoslavia: correlation with pollution. *Sci. Tot. Environ.*, 27:59-69.
- Khers, K.S. (1974). Teratogenicity and dominant lethal studies on hexachlorobenzene in rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 12:471-477.
- Khudoley, V.V (1984). Use of aquarium fish, *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*, as test species for evaluation of nitrosamine carcinogenicity. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, 65:65-70.
- Khudoley, V.V and O.A. Syrenko (1978). Tumor induction by N-nitroso compounds in bivalve molluscs *Unio pictorum*. *Cancer Lett.*, 4:349-354.
- Kimbrough, R.D. (1974). The toxicity of polychlorinated polycyclic compounds and related chemicals. *CRC Critical Rev. Toxicol.*, 2:445-498.

- Kimbrough, R.D. and R.E. Linder (1974). The toxicity of technical hexachlorobenzene in the Sherman strain rat. A preliminary study. *Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol.*, **8**:653-654.
- Kimbrough, R.D., D.F. Groce, M.P. Kower and V.W. Burse (1981). Induction of liver tumours in female Sherman strain rats by polybrominated biphenyls. *J. Nat. Cancer Inst.*, **66**:535-538.
- Kimoshita, F.K., J.P. Frawley and P. Du Bois (1966). Quantitative measurements of induction of hepatic microsomal enzymes by various dietary levels of DDT and toxaphene in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **9**:505-513.
- Kimura, I., H. Kitaori, K. Yoshizaki, K. Tayma, M. Ito and S. Yamada (1981). Development of tumors in rainbow trout following embryonic exposure to N-nitroso compounds. In: *Phyletic Approaches to Cancer*, C.J. Dawe, J.C. Harshbarger, S. Kondo, T. Sugimura and S. Takayama, eds., Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 241-252.
- Kimura, I., M. Ando, N. Kinae, Y. Wakamatsu, K. Ozota and J.C. Harshbarger (1982-83). *Annual Report. Aichi Cancer Center Research Institute, Nagoya, Japan*, 60 pp.
- Kimura, I., N. Taniguchi, H. Kumai, I. Tomita, N. Kinae, K. Yoshizaki, M. Ito and T. Ishikawa (1984). Correlation of epizootiological observations with experimental data: Chemical induction of chromatophoromas in the croaker, *Nibea mitsukuri*. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:139-154.
- Kisugi, J., H. Kamiya and M. Yamazaki (1987). Purification and characterization of aplysianin E, an antitumor factor from sea hare eggs. *Cancer Res.*, **47**:5649-5653.
- Klaunig, J.E., B.A. Parut and P.J. Goldblatt (1984). Preliminary studies on the usefulness of medaka, *Oryzias latipes*, embryos in carcinogenicity testing. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:155-161.
- Kligerman, A.D. (1979). Induction of sister chromatid exchanges in the central mudminnow following in vivo exposure to mutagenic agents. *Mutat. Res.*, **64**:205-217.
- Kobayashi, N. (1971). Fertilized sea urchin eggs as an indicator material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Publ. SETO Mar. Biol. Lab.*, **28**:376-406.
- Kociba, R.J., D.G. Keyes, R.W. Lisowe and R.P. Kalnins *et al.* (1978). Results of a two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8,-tetradichlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **46**:279-303.
- Koenig, C.C and M.P. Chasar (1984). Usefulness of the hermaphroditic marine fish, *Rivulus marmoratus*, in carcinogenicity testing. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:15-33.
- Kolb Meyers, V. (1988). Registry of toxic effects of chemical substances as a source for compiling a list of teratogens. In: *Teratogens: Chemicals Which Cause Birth Defects*, V. Kolb Meyers, ed., Elsevier Amsterdam, pp. 42-238.
- Kolmodin, B., D.L. Azarnogg and F. Sjoquist (1969). Effect of environmental factors on drug metabolism: Decreased plasma half life of antipyrine in workers exposed to chlorinated hydrocarbon insecticides. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **10**:638-642.

- Kordac, V. (1972). Frequency of occurrence of hepatocellular carcinoma with porphyria cutanea tarda in long-term follow up. *Neoplasma*, **19**:135-139.
- Krahn, M.M., L.D. Rhodes, M.S. Myers, L.K. Moore, W.D.Jr. MacLeod and D.C. Malins (1986). Associations between metabolites of aromatic compounds in bile and the occurrence of hepatic lesions in English sole (*Parophrys vetulus*) from Puget Sound, Washington. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**:61-67.
- Krishnaja, A.P. and M.S. Rege (1982). Induction of chromosomal aberrations in fish *Boleophthalmus dussumieri* after exposure *in vivo* to mitomycin C and heavy metals mercury, selenium and chromium. *Mutat. Res.*, **102**:71-82.
- Kurelec, B. and S. Krca (1989). Glucuronides in mussel *Mytilus galloprovincialis* as a possible biomonitor of environmental carcinogens. *Comp. Biochem. Physiol.*, **92C**:371-376.
- Kurelec, B., S. Britvic, M. Rijavec, W.E.G. Müller and R.K. Zahn (1977). Benzo(a)pyrenemonooxygenase induction in marine fish Molecular response to oil pollution. *Mar. Biol.*, **44**:211-216.
- Kurelec, B., Z. Matijasevic, M. Rijavec, M. Alacevic, S. Britvic, W.E.G. Müller and R.K. Zahn (1979). Induction of benzo(a)pyrene monooxygenase in fish and the Salmonella test as a tool for detecting mutagenic/carcinogenic xenobiotics in the aquatic environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **21**:799-807.
- Kurelec, B. and B. Pivcevic (1989). Distinct glutathione-dependent enzyme activities and a verapamil-sensitive binding of xenobiotics in a fresh-water mussel *Anodonta cygnea*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **164**:934-940.
- Kurelec, B., S. Britvic, S. Krca and R.K. Zahn (1986). Metabolic fate of aromatic amines in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Biol.*, **91**:523-527.
- Kurelec, B., M. Chacko and R.C. Gupta (1988). Postlabeling analysis of carcinogen-DNA adducts in mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Environ. Res.*, **24**:317-320.
- Kurelec, B., A. Garg, S. Krca, M. Chanko and R.C. Gupta (1989). Natural environment surpasses polluted environment in inducing DNA damage in fish. *Carcinogenesis*, **10**:1337-1339.
- Kurelec, B., A. Garg, S. Krca and R.C. Gupta (1990). DNA adducts in marine mussel *Mytilus galloprovincialis* living in polluted and unpolluted environments. In: *Biomarkers of Environmental Contamination*, J.F. McCarthy and L.R. Shugart, eds., Lewis Publishers, pp. 217-227.
- Kyono-Hamaguki, Y. (1984). Effects of temperature and partial hepatectomy on the induction of liver tumours in *Oryzias latipes*. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:337-344.
- L&IS (Library and Information Services of the Marine Biological Association of the United Kingdom)(1988). *Levels of Carcinogens in the Marine Environment. Parts 1 and 2*, The Laboratory Plymouth.

- Lafaurie, M., J. Giudicelli, S. Carrire, P. Lemaire, A. Mathieu and Y. Negre (1989). Pollutant biotransformation in marine teleost fish: use in environmental health evaluation. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 141-152.
- Landner, L. (1976). *Classification of toxic substances, bioaccumulation and transformation, danger to organisms and man*. Fourth FAO/SIDA Training Course on Aquatic Pollution in Relation to the Protection of Living Resources. Bioassays and Toxicity Testing, Lysekil, Sweden, 13 October-29 November, 1975.
- Lansdown, A.B.G. (1990). Perspective on the evaluation of reproductive toxicity and teratogeny. In: *Experimental Toxicology: The Basic Principles*, D. Anderson and D.M. Conning, eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 213-241.
- Lauckner, G. (1983). Diseases of mollusca: Bivalvia. In: *Diseases of Marine Animals, Biol. Aust. Helgoland*, O. Kinne, ed., Hamburg, Vol. II, pp. 477-962.
- Laug, E.P., F.M. Kunze and C.S. Prickett (1951). Occurrence of DDT in human fat and milk. *Am. Med. Assoc. Arch. Indust. Hyg. Occup. Med.*, **3**:245-246.
- Laws, E.R. Jr., W.C. Maddrey, A. Culey and V.W. Bursa (1973). Long-term occupational exposure to DDT. *Arch. Environ. Health*, **15**:766-775.
- Leary, J.V., R. Kfir, J.J. Sims and D.W. Fulbright (1979). The mutagenicity of natural products from marine algae. *Mutat. Res.*, **68**:301-306.
- Lech, J.J. and M.J. Vodcnik (1984). Biotransformation of chemicals by fish: an overview. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:355-358.
- Lee, R.F. (1981). Mixed function oxygenases (MFO) in marine invertebrates. *Marine Biology Lett.*, **2**:87-105.
- Lee, D.J., J.H. Wales, J.L. Ayres and R.O. Sinnhuber (1968). Synergism between cyclopropanoid fatty acids and chemical carcinogens in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cancer Res.*, **28**:2312-2318.
- Lee, D.J., J.H. Wales and R.O. Sinnhuber (1971). Promotion of aflatoxin induced hepatoma growth in trout by methyl malvalate and stercolate. *Cancer Res.*, **31**:960-963.
- Lee, R.F., S.C. Singer and D.S. Page (1981). Responses of cytochrome P-450 systems in marine crab and polychaetes to organic pollutants. *Aquatic Toxicol.*, **1**:355-365.
- Levy, B.M. (1962). Experimental induction of tumor-like lesions of the notochord of fish. *Cancer Res.*, **22**:441-444.
- Lijinsky, W., M. Greenblatt and C. Kommineni (1973). Feeding studies of nitrilotriacetic acid and derivatives in rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, **50**:1061-1063.

- Livingstone, D.R. (1985). Responses of detoxification/toxification enzyme system of molluscs to organic pollutants and xenobiotics. *Mar. Pollut. Bull.*, **16**:158-164.
- Ljungberg, O. (1976). Epizootiological and experimental studies of skin tumors in northern pike (*Esox lucius* L.) in the Baltic Sea. *Progr. Exp. Tumor Res.*, **20**:156-165.
- Lo, M.T. and E. Sandi (1978). Polycyclic aromatic hydrocarbons (polynuclears) in food. *Residue Reviews*, **68**:36-86.
- Longwell, A.C. and J.B. Hughes (1980). Cytologic, cytogenetic and development state of Atlantic mackerel eggs from sea surface waters of the New York Bight, and prospects for biological effects monitoring with ichthyoplankton. *Rapp. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.*, **179**:275-291.
- Loose, L.D., K.H. Pittman, K.F. Benitz and J.B. Silkworth (1977). Polychlorinated biphenyl and hexachlorobenzene induced humoral immuno-suppression. *J. Reticuloendothelial Soc.*, **22**:253-271.
- Loveland, P.M., J.S. Wilcox, N.E. Pawlowski and G.S. Bailey (1987). Metabolism and DNA binding of aflatoxicol and aflatoxin B1 *in vivo* and in isolated hepatocytes from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Carcinogenesis*, **8**:1065-1070.
- Mackenzie, F.T., R.J. Lantzy and V. Paterson (1979). Global trace metals cycles and predictions. *Math. Geol.*, **11**:99-142.
- Maddock, M.B., H. Northrup and T.J. Ellingham (1986). Induction of sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations in hematopoietic tissue of a marine fish following *in vivo* exposure to genotoxic carcinogens. *Mutat. Res.*, **172**:165-175.
- Majone, F., R. Brunetti, I. Gola and A.G. Levis (1987). Persistence of micronuclei in the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*, after treatment with mitomycin C. *Mutat. Res.*, **191**:157-161.
- Majone, F., C. Beltrame and R. Brunetti (1988). Frequencies of micronuclei detected on *Mytilus galloprovincialis* by different staining techniques after treatment with zinc chloride. *Mutat. Res.*, **209**:131-134.
- Majone, F., R. Brunetti, O. Fumagalli, M. Gabriele and A.G. Levis (1990). Induction of micronuclei by mitomycin C and colchicine in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mutat. Res.*, **224**:147-151.
- Malins, D.C. and A. Jensen, eds. (1988). Aquatic Toxicology - Toxic Chemicals and Aquatic Life: Research and Management. *Aquatic Toxicol.*, **11**:444 pp.
- Malins, D.C., B.B. McCain, D.W. Brown, A.K. Sparks and H.O. Hodgins (1980). *Chemical Contaminants and Biological Abnormalities in Central and Southern Puget Sound*. NOAA Technical Memorandum OMPA-2, NTIS, Washington, D.C., 295 pp.
- Malins, D.C., B.B. McCain, D.W. Brown, A.K. Sparks, H.O. Hodgins and S.-L. Chan (1982). *Chemical Contaminants and Abnormalities in Fish and Invertebrates from Puget Sound*. NOAA Technical Memorandum OMPA-19, NTIS Washington, D.C., 168 pp.

- Malins, D.C., B.B. McCain, D.W. Brown, S.-L. Chan, M.S. Myers, J.T. Landahl, P.G. Prohaska, A.J. Friemand, L.D. Rhodes, D.G. Burrows, W.D. Gronlund and H.O. Hodgins (1984). Chemical pollutants in sediments and diseases of bottom-dwelling fish in Puget Sound, Washington. *Environ. Sci. Technol.*, **18**:705-713.
- Malins, D.C., B.B. McCain, J.T. Landahl, M.S. Myers, M.M. Krahn, D.W. Brown, S.-L. Chan and W.T. Robal (1988). Neoplastic and other diseases in fish in relation to toxic chemicals: an overview. *Aquatic Toxicol.*, **11**:43-67.
- Marine Biological Association of the United Kingdom (1970). *Torrey Canyon Pollution and Marine Life*, Y.E. Smith, ed., University Press, Cambridge, U.K.
- Marquardt, H. *et al.* (1977). Mutagenic activity of nitrite-treated foods: human stomach cancer may be related to dietary factors. *Science*, **196**:1000-1001.
- Martin, B.J. (1982). *Development of a Carcinogen Assay System Utilizing Estuarine Fishes*. EPA-600/3-82-091, U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Gulf Breeze, Florida, 50 pp.
- Masahito (Prince), T. Ishikawa and H. Sugano (1988). Fish tumors and their importance in cancer research. *Jpn. J. Cancer Res.*, **79**:545-555.
- Matheson, D.H. (1977). *Nitrioltriactic Acid (NTA) in the Canadian Environment* (Scientific Series No.74), Ottawa, Inland Waters Directorate Water Quality Branch.
- Matsushima, T. and T. Sugimura (1976). Experimental carcinogenesis in small aquarium fishes. *Prog. Exper. Tumor Res.*, **20**:367-379.
- McCain, B.B., K.V. Pierce, S.R. Wellings and B.S. Miller (1977). Hepatomas in marine fish from an urban estuary. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**:1-2.
- McCain, B.B., M.S. Myers, U. Varanasi, D.W. Brown, L.D. Rhodes, W.D. Gronlund, D.G. Elliot, W.S. Palsson, H.O. Hodgins and D.C. Malins (1982). *Pathology of Two Species of Flatfish from Urban Estuaries in Puget Sound*. USEPA Final Report. EPA-600/7-82-001. NTIS, Washington D.C., 100 pp.
- McCain, B.B., D.W. Brown, M.M. Krahn, M.S. Myers, R.C. Jr. Clark, S.-L. Chan and D.C. Malins (1988). Marine pollution problems, North American West Coast. *Aquatic Toxicol.*, **11**:143-162.
- McClain, R.M. and J.J. Siekierka (1975). The effects of various chelating agents on the teratogenicity of lead nitrate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**:434-442.
- McElroy, A.E., J.W. Farrington and J.M. Teal (1989). Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 1-39.
- Mearns, A.J. and M. Sherwood (1974). Environmental aspects of fin erosion and tumours in Southern California Dover sole. *Trans. Amer. Fish Soc.*, **4**:799-810.

- Mearns, A.J. and M. Sherwood (1977). Distribution of neoplasms and other diseases in marine fishes relative to the discharge of waste water. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **298**:210, 224.
- Mearns, A.J. (1988). Inventory and trends of chlorinated pesticide and PCB concentrations in U.S. fishes and invertebrates. *Aquat. Toxicol.*, **11**. Abstract II No. 5,418.
- Meigs, J.W., J.J. Albom and B.L. Kartin (1954). Chloracne from an unusual exposure to Aroclor. *JAMA*, **154**:1417-1418.
- Migliore, L., F. Di Marino and R. Scarpato (1989). Detection of mutagenic/ carcinogenic compounds in the marine environment. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 111-120.
- Miller, E.C. (1978). Some current perspectives on chemical carcinogenesis in human and experimental animals: presidential address. *Cancer Res.*, **38**:1479-1496.
- Mix, M.C. (1986). Cancerous diseases in aquatic animals and their association with environmental pollutants: a critical literature review. *Marine Environ. Res.*, **20**:1-141.
- Monsanto Co (1985). *Material Safety Data Sheet: NTA Powder and NTA 40% solution*. St Louis, MO.
- Moore, M.N. (1985). Cellular responses to pollutants. *Mar. Pollut. Bull.*, **16**:134-139.
- Moore, M.N., D.R. Livingstone and J. Widdows (1989). Hydrocarbons in marine mollusks: biological effects and ecological consequences. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 291-328.
- Moraitou-Apostolopoulou, M. and G. Verriopoulos (1987). The importance of temperature and light conditions on the toxicity of oil, oil dispersant and oil/dispersant mixture to *Artemia salina* and metabolic responses of *Artemia salina* to oil/dispersant mixture. In: *Research on the Toxicity, Persistence, Bioaccumulation, Carcinogenicity and Mutagenicity of Selected Substances (Activity G). Final Reports on Projects Dealing with Toxicity (1983-85)*, UNEP/FAO, Athens, pp. 63-77.
- Morita, M., F. Ushio, T. Nishizawa, S. Fukano, M. Doguchi and S. Mimura (1975). Hexachlorobenzene in foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **16**:53-54 (Chem Abstr 83: 56836h).
- Mower, H.F. (1983). Mutagenic compounds contained in seaweeds. In: *Carcinogens and Mutagens in the Environment*, H.F. Stich, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 81-85.
- Mulcahy, M.F. (1976). Epizootiological studies of lymphomas in northern pike in Ireland. *Prog. Exp. Tumor Res.*, **20**:129-140.

- Munson, R.O. (1976). A note on toxaphene in environmental samples from the Chesapeake Bay region. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **16**:491-494.
- Murchelano, R.A. and R.E. Walke (1985). Epizootic carcinoma in the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, *Science*, **228**:587-589.
- Nacci, D.E., R. Walsh and E. Jackim (1985). Guidance manual for conducting sperm cell tests with the sea urchin, *Arbacia punctulata*, for use in testing complex effluents. In: *Aquatic Toxicity Testing Manual*. U.S.E.P.A. Environmental Res. Lab., Narragansett, R.I. 34 pp.
- Nagayo, T. (1973). Tumours of the stomach. In: *"Pathology of tumours in laboratory animals". Part I. Tumours of the rat*. Ed. V.S. Turusov 101-118. IARC Sci. Ser. No.5. IARC, Lyon.
- Nakatsuru, Y., N. Nemoto, K. Nakagawa, P. Masahito and T. Ishikawa (1987). O6-Methylguanine DNA methyltransferase activity in liver from various fish species. *Carcinogenesis*, **8**:1123-1127.
- National Cancer Institute (1977). *Bioassays of nitrilotriacetic acid (NTA) and Nitrilotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate Na₃ NTA H₂O* (NCI-CG-Tr-6µ DHEW Pull No (NIH) 77-806). Bethesda MD. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare.
- National Cancer Institute (1978). *Bioassay of Aroclor 1254 for possible carcinogenicity*. Cas No.27323 - 18 - 8 (DHEW publication No (NIH) 78-838). Washington D.C., U.S. Report of Health, Education and Welfare.
- National Cancer Institute (1979). *Bioassay of Toxaphene for possible carcinogenicity*. DHE Publ. No (NIH) 79-837. Carcinogenesis Testing Program, Division of Cancer Cause and Prevention, Bethesda, MD.
- National Toxicology Program (1982). *Third Annual Report on carcinogens*. Washington D.C., U.S. Government Printing Office 247-248.
- National Toxicology Program (1983). *Carcinogenesis studies of polybrominated biphenyl mixture* (Fire Master FF-D in F344/N rats and B6C3F1 mice). (Gavage Studies). Tech. Rep. Ser. No.244, Research Triangle Park, NC, U.S. Dept. of Health and Human Services.
- National Toxicology Program (1987). *Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Mirex in F344 rats*. National Toxicology Program Tech. Rep. (NTP TR 313).
- NIH (1982a). *Carcinogenesis bioassay of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (Cas No. 1746-01-6) in Swiss-Webster mice (dermal study). Bethesda MD, National Institute of Health, 1982 (NTP Tech. Rep. Ser. No.201).
- NIH (1982b). *Carcinogenesis bioassay of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (Cas No. 1746-01-6) in Osborne-Mendel rats and B6C3F1 mice (gavage study). Bethesda MD, National Institute of Health 1982 (NTP Tech. Rep. Ser. No.209).

- Nixon, J.E., J.D. Hendricks, N.E. Pawlowski, C.B. Pereira, R.O. Sinnhuber and G.S. Bailey (1984). Inhibition of aflatoxin B1 carcinogenesis in rainbow trout by flavone and indole compounds. *Carcinogenesis*, **5**:615-619.
- Norback, D.H. and R.H. Weltmann (1985). Polychlorinated biphenyl induction of hepatocellular carcinoma in the Sprague-Dawley rat. *Environ. Health Perspect.*, **30**:97-105.
- Nordisk Expertgrupp (1988). *Nordisk Dioxinriskbedömning*, Nordisk Ministerråd, Kmbenhavn, 129 pp.
- Nordstrom, S., L. Beckman and I. Nordenson (1979). Occupational and environmental risks in and around a smelter in Northern Sweden. VI Congenital malformations. *Hereditas*, **90**:297-302.
- Oishi, S. (1977). Influence of polychlorinated dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to serum protein components in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**:773-777.
- Oishi, K., F. Yamazaki and T. Harada (1976). Epidermal papillomas of flatfish in the coastal waters of Hokkaido, Japan. *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**:2011-2017.
- Olsen, C.R., N.H. Cutshall and I.L. Larsen (1982). Pollutant: particle association and dynamics in coastal marine environment: a review. *Mar. Chem.*, **11**:501-533.
- Oprandy, J.J., P.W. Chang, A.D. Pronovost, K.R. Cooper, R.S. Brown and V.J. Yates (1981). Isolation of a viral agent causing hematopietic neoplasia in the soft-shell clam, *Mya arenaria*. *J. Invertebr. Pathol.*, **38**:45-51.
- Ortega, O., W.J. Hajes and W.F. Durham (1957). Pathological changes in the liver of rats after feeding low levels of various insecticides. *Arch. Pathol.*, **64**:614-622.
- Ottoboni, A. (1977). *Rebuttal to the philosophy and methodology employed by EPA in its RPAR Program and to the presumption that it constitutes a chronic risk to humans*. September, Berkeley, G.A., Dept. of Health, State of California, Health and Welfare Agency: 2-24.
- Pagano, G., A. Esposito, P. Bove, M. De Angelis, A. Rota, E. Vamvakinos and G.G. Giordano (1982a). Arsenic-induced developmental defects and mitotic abnormalities in sea-urchin development. *Mutat. Res.*, **104**:351-354.
- Pagano, G., P. Bove, M. De Angelis, A. Esposito, A. Rota and G.G. Giordano (1982b). Mercury-induced developmental defects and mitotic abnormalities in sea-urchin development. *Mutat. Res.*, **97**:210.
- Pagano, G., M.C. Pollaro, G. Corsale, A. Esposito, E. Ragucci, G.G. Giordano and N.M. Trieff (1986). The sea urchin: Bioassay for the assesement of damage from environmental contaminants. In: *Community Toxicity Testing*, J. Jr. Cairns, ed., ASTM STP 920. Amer. Soc. for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 66-92.

- Pagano, G., G. Corsale, A. Esposito, P.A. Dinnel and L.A. Romana (1989). Use of sea urchin sperm and embryo bioassay in testing the sublethal toxicity of realistic pollutant levels. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 153-163.
- Parry, J.M., D.J. Tweats and M.A.J. Al-Mossawi (1976). Monitoring the marine environment for mutagens. *Nature*, (London), **264**:538-540.
- Payne, J.F. (1977). Mixed function oxidases in marine organisms in relation to petroleum hydrocarbon metabolism and detection. *Mar. Pollut. Bull.*, **8**:112-116.
- Payne, J.F. (1984). Mixed-function oxygenase in biological monitoring programs: review of potential usage in different phyla of aquatic animals. In: *Ecotoxicological Testing for the Marine Environment*, G. Persoone, E. Jaspers and C. Claus, eds., State Univ. Ghent. and Inst. Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium, Vol. 1, pp. 625-655.
- Payne, J.F. and A. Rahimtula (1989). Monitoring for mutagens and carcinogens in the aquatic environment: an overview. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 227-248.
- Payne, J.F. and C.R. Phillips (1985). Photochemistry of petroleum in water. *Environ. Sci. Technol.*, **19**:569.
- Payne, J.F., J. Kiceniuk, R. Misra, G. Fletcher and R. Thompson (1983). Sublethal effects of petroleum hydrocarbons on adult American lobsters (*Homarus americanus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**:705-717.
- Payne, J.F., L.L. Fancey, A.D. Rahimtula and E.L. Porter (1987). Review and perspective on the use of mixed-function oxygenase enzymes in biological monitoring. *Comp. Biochem. Physiol.*, **86C**:233-245.
- Pelroy, R.A. and M.R. Petersen (1979). Use of Ames test in evaluation of shale oil fractions. *Environ. Health Perspect.*, **30**:191-203.
- Penrose, W.R., H.B.S. Conacher, R. Black, J.C. Meranger, W. Miles, H.M. Cunningham and W.R. Squires (1977). Implications of inorganic/organic interconversion on fluxes of arsenic in marine food webs. *Environ. Health Perspect.*, **19**:53-59.
- Pesch, G.G. and E. Pesch (1980). *Neanthes arenaceodentata* (Polychaeta: Annelida), a proposed cytogenetic model for marine genetic toxicology. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **37**:1225-1228.
- Peters, H.A. (1976). Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. *Fed. Proc.*, **35**:2400-2403.
- Peters, H.A., D.J. Cripps and A. Gocmen (1978). Porphyria 20 years after hexachlorogenzene exposure (Abstract No. PP10). *Neurology*, **28**:333.

- Peters, H.A., A. Gocmen, D.J. Cripps, G.T. Bryan and L. Dogramaci (1982). Epidemiology of hexachlorobenzene-induced porphyria in Turkey. Clinical and laboratory follow-up after 25 years. *Arch. Neurol.*, **39**:744-49.
- Petrilli, F.L. and S. De Flora (1982). Interpretations on chromium mutagenicity and carcinogenicity. In: *Mutagens in Our Environment*, M. Sorsa and H. Vainio, eds. Alan R. Liss, Inc., New York, NY, pp. 453-464.
- Petrilli, F.L., G.P. De Renzi and S. De Flora (1980). Interaction between polycyclic aromatic hydrocarbons, crude oil and oil dispersants in the *Salmonella* mutagenesis assay. *Carcinogenesis*, **1**:51-56.
- Piccardo, M.T. and F. Valerio (1991). *A Mussel Watch Program to monitor PAHs pollution along the Ligurian coast : Preliminary results*. Unpublished report.
- Pierce, K.V., B.B. McCain and S.R. Wellings (1978). Pathology of hepatomas and other liver abnormalities in English sole (*Parophrys vetulus*) from the Duwamish River estuary, Seattle, Washington. *J. Nat. Cancer Inst.*, **60**:1445-1453.
- Pliss, G.B. and V.V. Khudoley (1975). Tumour induction by carcinogenic agents in aquarium fish. *J. Nat. Cancer Inst.*, **55**:129-136.
- PNUE (1985a). Rapport de la quatrième réunion ordinaire des parties contractantes à la convention pour la protection de la mer Méditerranée et des Protocoles y relatifs, Gênes, 9-13 septembre 1985. Document UNEP/IG.56.5, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/COI (1988). Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les hydrocarbures de pétrole. Série des rapports techniques du PAM, no. 19, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/FAO/OMS (1989). Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le cadmium et les composés de cadmium. Série des rapports techniques du PAM, no 34, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/FAO/OMS/AIEA (1990). Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les composés organohalogénés. Série des rapports techniques du PAM, no. 39, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- Poland, A., D. Smith, R. Kuntzman, M. Jacobson and A.H. Conney (1970). Effect of intensive occupational exposure to DDT on phenylutazone and cortisol metabolism in human subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **11**:724-732.
- Poland, A. and E. Glover (1975). Genetic expression of aryl hydrocarbon hydroxylase by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: Evidence for a receptor mutation in genetically non-responsive mice. *Mol. Pharmacol.*, **11**:389-398.
- Rav-Acha, Ch., H.I. Shuval, E. Avisar, S. Ben-Zakin, D. Alkaslasi, Y. Zelicovitz (1989). Mutagenicity of chlorinated seawater from cooling systems of power plants. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 33-54.

- Rijavec, M., S. Britivic, M. Protic and B. Kurelec (1981). Detection of the presence of xenobiotics in seawater samples from the Rijeka Bay applying benzo(a)pyrene monooxygenase induction. *Thalassa Jugoslavica*, **17**:245-250.
- Risebrough, R.W., B.W. De Lappe, W. Walker, B.R. Simoneti, G. Grimalt, J. Albaiges, J. Garcia, A. Ballester and M. Marino (1983). Applications of the Mussel Watch concept in studies of the distribution of hydrocarbons in the coastal zone of the Ebro Delta. *Mar. Pollut. Bull.*, **14**:181-187.
- Roch, M., J.A. Mc Carter, A.T. Matheson, M.J.R. Clark and R.W. Olafson (1982). Hepatic metallothionein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as an indicator of metal pollution in the Campbell River system. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**:1596-1601.
- Rodriguez-Ariza, A., E. Martinez-Lara, P. Pascual, N. Abril, G. Dorado, J. Peinado, J.A. Barcena, C. Pueyo and J. Lopez-Barea (1990). Biochemical and genetic toxicology in molluscs and fishes from spanish litoral areas with different levels of contamination (Abstract). In: *Trends in Biological Dosimetry, October 22-27, 1990*, Lerici (La Spezia), Italy.
- Rossi, L., M. Ravera, G. Repetti and L. Santi (1977). Long-term administration of DDT or phenobarbital-Na in Wistar rats. *Int. J. Cancer*, **19**:179-185.
- Rugen, P.J., C.D. Stern and S.H. Lamm (1989). Comparative carcinogenicity of the PAHs as a basis for acceptable exposure levels (AELS) in drinking water. *Reg. Tox. Pharm.*, **9**:273-283.
- Russel, F.E. and P. Kotin (1957). Squamous papillomas in the white croaker. *J. Nat. Cancer Inst.*, **6**, 857-861.
- Sato, S., T. Matsushima, N. Tanaka, T. Sugimura and F. Takashima (1973). Hepatic tumours in the guppy (*Lebistes reticulatus*) induced by aflatoxin B₁, dimethylnitrosamine, and 2-acetylaminofluorene. *J. Nat. Cancer Inst.*, **50**:767-778.
- Scarpato, R., L. Migliore, G. Alfinito-Cognetti and R. Barale (1990). Induction of micronuclei in gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* exposed to polluted marine waters. *Mar. Poll. Bull.*, **21**:74-80.
- Schoenhard G.L., J.D. Henricks, J.E. Nixon, D.J. Lee, J.H. Wales, R.O. Sinnhuber and N.E. Pawlowski (1981). Aflatoxinol-induced hepatocellular carcinoma in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the synergistic effects of cyclopropanoid fatty acids. *Cancer Res.*, **41**:1011-1014.
- Schulte-Hermann, R. (1974). Induction of liver growth by xenobiotic compounds and other stimuli. *CRC Critical Rev. Toxicol.*, **3**:97-150.
- Schultz, R.J. and M.E. Schultz (1984). Characteristic of a fish colony of *Poeciliopsis* and its use in carcinogenicity studies with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and diethylnitrosamine. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:5-13.

- Schwab, M., S. Abdo, R. Ahuja, G. Koollinger, A. Anders and F. Anders (1978a). Genetics of susceptibility in the flatfish/swordtail tumor system to develop fibrosarcoma and rhabdomyosarcoma following treatment with N-methyl- N-nitrosourea (MNU). *Z. Krebsforsch.*, **91**:301-315.
- Schwab, M., J. Haas, S. Abdo, R. Ahuja, G. Kollinger, A. Anders and F. Anders (1978b). Genetic basis of susceptibility for development of neoplasms following treatment with N-methyl-N-nitrosourea (MNU) or X rays in the flatfish/swordtail system. *Experientia*, **34**:780-782.
- Selby, C.P., J. Calkins, H.G. Enoch, C.W. Wright and B.W. Wilson (1987). Chemical basis for photomutagenicity in synthetic fuels and correlations with carcinogenicity. *Mutat. Res.*, **188**:287-299.
- Shahin, M.M. and F. Fournier (1978). Suppression of mutation induction and failure to detect mutagenic activity with Athabasa tar sand fractions. *Mutat. Res.*, **58**:29-34.
- Shalat, S.L., L.D. True, L.E. Flemming and P.E. Pace (1989). Kidney cancer in utility workers exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs). *Brit. J. Ind. Med.*, **46**:823-824.
- Shapiro, B.M. and E.T. Turner (1988). Oxidative stress and the role of novel thiol compounds at fertilization. *Biofactors*, **1**:85-88.
- Shelton, D.W., D.E. Goeger, J.D. Hendricks and G.S. Bailey (1986). Mechanisms of anti-carcinogenesis: the distribution and metabolism of aflatoxin B1 in rainbow trout fed Aroclor 1254. *Carcinogenesis*, **7**:1065-1071.
- Siekel, P., I. Chalupa, J. Beno, M. Blasko, J. Novotny and J. Burian (1991). A genotoxic study of hexachlorobenzene and pentachloroanisole. *Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis*, **11**:55-60.
- Simon, K. and K. Lapis (1984). Carcinogenesis studies on guppies. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **65**:71-81.
- Sinnhuber, R.O., D.J. Lee, J.H. Wales, M.K. Landers and A.C. Keyl (1974). Hepatic carcinogenesis of aflatoxin M1 in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and its enhancement by cyclopropene fatty acids. *J. Nat. Cancer Inst.*, **53**:1285-1288.
- Sinnhuber, R.O., J.D. Hendricks, G.B. Putnam, J.H. Wales, N.G. Pawlowski, J.E. Nixon and D.J. Lee (1976). Sterculic acid, a natural occurring cyclopropene fatty acid, a liver carcinogen to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fed. Proc.*, **35**:505.
- Sleet, R.B. and K. Brendel (1985). Homogeneous populations of *Artemia* nauplii and their potential use for *in vitro* testing in developmental toxicology. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, **5**:41-54.
- Smith, C.E., T.H. Peck, R.J. Klauda and J.B. McLaren (1979). Hepatomas in Atlantic tomcod *Microgadus tomcod* (Walbaum) collected in the Hudson River estuary in New York. *J. Fish Diseases*, **2**:313-319.
- Solly, S.R.B. and V. Shanks (1974). Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human fat in New Zealand. *N.Z. J. Sci.*, **17**:535-544.

- Sparks, A.K. (1985). *Synopsis of Invertebrate Pathology: Exclusive of Insects*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands, 401 pp.
- Sparks, T.H., J.R. Baylis and C.W.J. Chang (1981). Comparison of mutagen accumulation in 3 estuarine species using the *Salmonella*/microsome activation system. *Mutat. Res.*, **85**:133-139.
- Stanton, M.F. (1965). Diethylnitrosamine-induced hepatic degeneration and neoplasia in the aquarium fish *Brachydanio rerio*. *J. Nat. Cancer Inst.*, **34**:117-130.
- Stegeman, J.J. (1985). Benzo(a)pyrene oxidation and microsomal enzyme activity in the mussel (*Mytilus edulis*) and other bivalve mollusc species from the Western North Atlantic. *Marine Biology*, **89**:21-30.
- Stegnar, P. (1991). Arsenic concentrations in fish, mussels and sediments. Unpublished reports.
- Stich, H.F., A.B. Acton and B.P. Dunn (1976). Carcinogens in estuaries, their monitoring and possible hazard to man. In: *Environmental Pollution and Carcinogenic Risk*, IARC Sci. Publ., Vol. 13, pp. 83-94.
- Stich, H.F., A.B. Acton, K. Oishi, F. Yamazaki, T. Harada, T. Hibino and H.G. Moser (1977a). Systematic collaborative studies on neoplasms in marine animals as related to the environment. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **298**:374-388.
- Stich, H.F., A.B. Acton, B.P. Dunn, K. Oishi, F. Yamazaki, T. Harada, G. Peters and N. Peters (1977b). Geographic variations in tumor prevalence among marine fish populations. *Int. J. Cancer*, **20**:780-791.
- Stich, H.F., C. Wu and W. Powrie (1982). Enhancement and suppression of genotoxicity of food by naturally occurring components in these products. In: *Environmental Mutagens and Carcinogens*, T. Sugimura, S. Kondo and H. Takebe, eds., University of Tokyo Press, Tokyo / Alan R. Liss, New York, pp. 347-353.
- Stonard, M.D. (1975). Mixed type hepatic microsomal enzyme induction by hexachlorobenzene. *Biochem. Pharmacol.*, **24**:1959-1963.
- Stott, W.T. and R.O. Sinnhuber (1978). Trout hepatic enzyme activation of aflatoxin B1 in a mutagen assay system and the inhibitory effect of PCBS. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **19**:35-41.
- Strniste, G.F., J.W. Nichols, R.T. Okinaka and T.W. Whaley (1986). 2-nitrofluoren-9-one: a unique mutagen formed in the photo-oxidation of 2-aminofluorene. *Carcinogenesis*, **7**:499-502.
- Stross, J.K., R.K. Nixon and M.D. Anderson (1979). Neuropsychiatric findings in patients exposed to polybrominated biphenyls. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **320**:368-372.
- Tseng, W.P., M.H. Chu, S.W. How, J.M. Fong, C.S. Lin and S. Yeh (1968). Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. *J. Nat. Cancer Inst.*, **40**:453-463.

- Tudor, M. and I. Katavic (1987). Research on the effects of oil dispersants on marine organisms. In: *Research on the Toxicity, Persistence, Bioaccumulation, Carcinogenicity and Mutagenicity of Selected Substances (Activity G). Final Reports on Projects Dealing with Toxicity (1983-85)*, UNEP/FAO, Athens, pp. 47-61.
- Ulland, B.M., N.P. Page, R.A. Squire, E.K. Weisburger and R.L. Cypher (1977). A carcinogenicity assay of mirex in Charles River C D rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, **58**:133-140.
- UNEP (1980). *Summary Reports on the Scientific Results of MED POL I*, Document UNEP/IG.18/INF.3, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1989). *State of the Mediterranean marine environment*. MAP Technical Reports Series No. 28, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA (1984). *Pollutants from land-based sources in the Mediterranean*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 32, Geneva.
- UNEP (1985b). *Report of the Meeting of Experts on the technical implementation of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from land-based Sources, Athens, 9-13 December 1985*. Document UNEP/WG.125/10, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/IMO/IOC (1987). *Assessment of the present state of pollution by petroleum hydrocarbons in the Mediterranean Sea*. Document UNEP/WG.160/11, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/WHO (1988). *Consultation on carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Mediterranean, Athens, 23-25 June 1988, Summary report*. Document EUR/ICP/CEH 060(S). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- U.S. Environmental Protection Agency (1976). *Dodecachlorooctahydro 1,3,4-metheno-2H cyclobuto(ed)pentalene - tolerances for residues*. U.S. Code Fed. Regul., Title 40, Part 180, **251**:343.
- United States Public Health Service. *Toxicological profile for Hexachlorobenzene*. Washington, D.C., 1990.
- Vairavamurthy, A. and K. Mopper (1987). Geochemical formation of organosulphur compounds (thiols) by addition of H₂S to sedimentary organic matter. *Nature (London)*, **329**:623-625.
- Valerio, F. and A. Lanzarotto (1985). Photochemical degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in real and laboratory conditions. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **23**:135-151.
- Vallee, B.L., D.D. Ulmer and W.E.C. Wacker (1960). Arsenic toxicology and biochemistry. *AMA Arch. Ind. Health*, **21**:132-151.
- Van der Gaag, M.A. and J.F.J. van de Kerkhoff (1985). The development of an *in vivo* SCE assay in the fish *Nothobranchius rachowi*. *4th Intern. Conf. Environ. Mutag., Stockholm, June 1985*, Abstr. p. 40.

- Van Kreijl, C.F., A.C. Van den Burg and W. Slooff (1982). Accumulation of mutagenic activity in bile fluid of river Rhine fish. In: *Mutagens in Our Environment*, M. Sorsa and H. Vainio, eds. New York, Alan R. Liss, pp. 287-296.
- Varanasi, U., M. Nishimoto, W.L. Reichert and B.-T. Le Eberhart (1986). Comparative metabolism of benzo(a)pyrene and covalent binding to hepatic DNA in English sole, starry flounder, and rat. *Cancer Res.*, **46**:3817-3824.
- Varanasi, U., J.E. Stein and M. Nishimoto (1989). Biotransformation and disposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fish. In: *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*, U. Varanasi, ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 93-149.
- Venier P., C. Gava, M. Zordan, V. Bianchi, A.G. Levis, S. De Flora, C. Bennicelli and A. Camoirano (1987). Interactions of chromium with nitrilotriacetic acid (NTA) in the induction of genetic effects in bacteria. *Toxicol. Environ. Chem.*, **14**:201-218.
- Villeneuve, D.L., A.P. Yagminas, I.A. Marino, I. Chu and L.M. Reynolds (1977). Effects of food deprivation in rats previously exposed to Mirex. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **38**:266-270.
- Vogel, S. (1977). Current-induced flow through living sponges in nature. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**:2069-2071.
- Vos, J.G. and J.H. Kolman (1970). Comparative toxicological study with polychlorinated biphenyls in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis and tissue residues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**:656-668.
- Walker, W.W., R.M. Overstreet, C.S. Manning and W.E. Hawkins (1985). Development of aquarium fish models for environmental carcinogenesis: an intermittent-flow exposure system for volatile, hydrophobic chemicals. *J. Appl. Toxicol.*, **5**:250-255.
- Ward, J.M. (1985). Proliferative lesions in the glandular stomach and liver in F344 rats fed diets containing Aroclor 1254. *Environ. Health Perspect.*, **60**:89-95.
- Weisburger, J.H., H. Marquardt, N. Hirota, H. Mori and G.M. Williams (1980). Induction of cancer of the glandular stomach in rats by an extract of nitrite-treated fish. *J. Nat. Cancer Inst.*, **64**:163-166.
- Weidre, J.A., M.A. Rachu, A.P. Ilitzby, L.G. Lochow and N.J. Schereweschew (1977). On the investigation of carcinogenic hydrocarbons, especially benz(a)pyrene in water in the ESSR. *Water Res.*, **3**:147-152.
- WHO (1969). 1968 Evaluations of some pesticide residues in food. *WHO/Food Add.69*, **35**:17-31.
- WHO(1971). *International standard for drinking water. 3rd Edition*, WHO, Geneva, P.32.
- WHO (1973). Trace elements in human nutrition. Report of a WHO Expert Committee. *WHO Org. Tech. Rep. Ser.*, **532**:49-50.

- WHO (1975). 1974 Evaluations of some pesticide residues in food. *WHO Pesticide Residues Series*, 4:397-405.
- WHO (1976). 1975 Evaluations of some pesticide residues in food. *WHO Pesticide Residues Series*, 5:267-271, 396.
- WHO (1979). DDT and its derivations. *Environmental Health Criteria No.9*, WHO, Geneva.
- WHO (1981). Arsenic. *Environmental Health Criteria No.18*. International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva.
- WHO (1984). *Guidelines for drinking water quality*, Vols 1 and 2, World Health Organization, Geneva.
- WHO (1985). *Organohalogen compounds in human milk and related hazards. Report on a WHO Consultation, Bilthoven, 1985*. WHO Regional Office for Europe, 1985. (Unpublished document ICP/CEH 501/m05).
- WHO (1988). PCBs, PCDDs and PCDFs in breast milk: Assessment of Health Risks. *Environ. Health*, 29, WHO, Copenhagen.
- WHO (1989a). Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and dibenzofurans. *Environmental Health Criteria No.88*, International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva.
- WHO (1989b). *Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants*. The 33rd meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Series 24.
- Wilbourn, J. and T. Kauppinen (1989). Carcinogens evaluated in IARC Monographs 1 to 42 that could possibly occur in the marine environment. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 217-225.
- Winstead, J.T. and J.A. Couch, Enhancement of protozoan pathogen (*Perkinsus marinus*) infections in American oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to the chemical carcinogen N-nitroso-diethylamine (DNA). *Diseases of Aquatic Toxicol.* In press.
- Wolf, P.H. and E.W. Jackson (1967). Hepatoma in salmonids: The role of cottonseed products and species differences. In: *Trout Hepatoma Research Conference Papers*, J.E. Halver and I.A. Mitchell, eds. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Washington, D.C., Vol. 70, pp. 29-33.
- Young, P.H. (1964). Some effects of sewer effluent on marine life. *Cal. Fish Game*, 50:33-41.
- Zafiriou, O.C. (1975). Reaction of methyl halides with sea water and marine aerosols. *J. Mar. Res.*, 33:75.

- Zahn, R.K. (1989). DNA alterations by pollution and the problem of risk quantification. In: *Carcinogenic, Mutagenic, and Teratogenic Marine Pollutants: Impact on Human Health and the Environment* (published on behalf of World Health Organization Regional Office for Europe and United Nations Environment Programme), Advances in Applied Biotechnology Series, Vol. 5, The Portfolio Publ. Co., The Woodlands, Texas, pp. 177-187.
- Zahn, R.K., G. Zahn, W.E.G. Müller, B. Kurelec, M. Rijavec, R. Batel and R. Given (1981). Assessing consequences of marine pollution by hydrocarbons using sponges as model organisms. *Sci. Tot. Environ.*, **20**:147-169.
- Zahn, R.K., B. Kurelec, G. Zahn-Daimler, W.E.G. Müller, M. Rijavek, R. Batel, R. Given, V. Pondeljak and R. Beyer (1982). The effect of benzo[a]pyrene on sponges as model organisms in marine pollution. *Chem. Biol. Interact.*, **39**:205-220.
- Zahn, R.K., G. Zahn-Daimler, W.E.G. Müller, M.L. Michaelis, B. Kurelec, M. Rijavek, R. Batel and N. Bihari (1983). DNA damage by PAH and repair in a marine sponge. *Sci. Tot. Environ.*, **26**:137-156.
- Zahour, H.R., M.L. Laudolt and R.M. Kocan (1984). Sister chromatid exchanges in cultured peripheral blood leukocytes of the cold water marine fish, Pacific staghorn sculpin (*Leptocottus armatus*): a feasible system for assessing genotoxic marine pollutants. In: *Sister Chromatid Exchanges*, R.B. Tice and A. Hollander, eds., Plenum, New York, pp. 493-508.
- Zeisel, S.H. and K.A. DaCosta (1986). Increase in human exposure to methylamine precursors of N-nitrosamines after eating fish. *Cancer Res.*, **46**:6136-6138.