



**MEDITERRANEAN ACTION PLAN
MED POL**

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME



WORLD HEALTH ORGANIZATION

**ASSESSMENT OF THE STATE OF POLLUTION IN THE MEDITERRANEAN SEA BY
CARCINOGENIC, MUTAGENIC AND TERATOGENIC SUBSTANCES**

**EVALUATION DE L'ETAT DE LA POLLUTION DE LA MER MEDITERRANEE
PAR LES SUBSTANCES CANCERIGENES, TERATOGENES ET MUTAGENES**

MAP Technical Reports Series No. 92

In collaboration with:



UNEP
Athens, 1995

Note: The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of UNEP or WHO concerning the legal status of any State, Territory, city or area, or of its authorities, or concerning the delimitation of their frontiers or boundaries. The views expressed in the papers of this volume are those of the authors and do not necessarily represent the views of either UNEP or WHO.

Note: Les appellations employées dans ce document et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part du PNUE ou de l'OMS aucune prise de position quant au statut juridique des états, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les vues exprimées dans les articles de ce volume sont celles de leurs auteurs et ne représentent pas forcément les vues du PNUE, ou de l'OMS.

© 1994 United Nations Environment Programme
P.O. Box 18019, Athens, Greece

ISBN 92-807-1436-8

This publication may be reproduced in whole or in part and in any form for educational or non-profit purposes without special permission from the copyright holder, provided acknowledgement of the source is made. UNEP would appreciate receiving a copy of any publication that uses this publication as a source.

No use of this publication may be made for resale or for any other commercial purpose whatsoever without prior permission in writing from UNEP.

For bibliographic purposes this volume may be cited as:

UNEP/WHO: Assessment of the state of pollution in the Mediterranean Sea by carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances. MAP Technical Reports Series No. 92 UNEP, Athens, 1995.

Pour des fins bibliographiques, citer le présent volume comme suit:

PNUE/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances cancérigènes, tératogènes et mutagènes. MAP Technical Reports Series No. 92 UNEP, Athens, 1995.



**MEDITERRANEAN ACTION PLAN
MED POL**

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME



WORLD HEALTH ORGANIZATION

**ASSESSMENT OF THE STATE OF POLLUTION IN THE MEDITERRANEAN SEA BY
CARCINOGENIC, MUTAGENIC AND TERATOGENIC SUBSTANCES**

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

MAP Technical Reports Series No. 92

In collaboration with:



This volume is the ninety second of the Mediterranean Action Plan Technical Reports Series.

This series contains selected reports resulting from the various activities performed within the framework of the components of the Mediterranean Action Plan: Pollution Monitoring and Research Programme (MED POL), Blue Plan, Priority Actions Programme, Specially Protected Areas and Regional Marine Pollution Emergency Response Centre for the Mediterranean.

Ce volume constitue le quatre vingt douzième de la série des Rapports techniques du Plan d'action pour la Méditerranée.

Cette série comprend certains rapports élaborés au cours de diverses activités menées dans le cadre des composantes du Plan d'action pour la Méditerranée: Programme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution (MED POL), Plan Bleu, Programme d'actions prioritaires, Aires spécialement protégées et Centre régional méditerranéen pour l'intervention d'urgence contre la pollution marine accidentelle.

PREFACE

The United Nations Environment Programme (UNEP) convened an Intergovernmental Meeting on the Protection of the Mediterranean (Barcelona, 28 January - 4 February 1975), which was attended by representatives of 16 States bordering the Mediterranean Sea. The meeting discussed the various measures necessary for the prevention and control of pollution of the Mediterranean Sea, and concluded by adopting an Action Plan consisting of three substantive components:

- Integrated planning of the development and management of the resources of the Mediterranean Basin (management component);
- Co-ordinated programme for research, monitoring, exchange of information and assessment of the state of pollution and protection measures (assessment component);
- Framework convention and related protocols with their technical annexes for the protection of the Mediterranean environment (legal component).

All components of the Action Plan are inter-dependent and provide a framework for comprehensive action to promote both the protection and the continued development of the Mediterranean ecoregion. No component is an end in itself. The Action Plan is intended to assist the Mediterranean Governments in formulating their national policies related to the continuous development and protection of the Mediterranean area and to improve their ability to identify various options for alternative patterns of development and to make choices and appropriate allocations of resources.

The Co-ordinated Mediterranean Research and Monitoring Programme (MED POL) was approved as the assessment (scientific/technical) component of the Action Plan.

The general objectives of its pilot phase (MED POL - Phase I), which evolved through a series of expert and intergovernmental meetings, were:

- to formulate and carry out a co-ordinated pollution monitoring and research programme taking into account the goals of the Mediterranean Action Plan and the capabilities of the Mediterranean research centres to participate in it;
- to assist national research centres in developing their capabilities to participate in the programme;
- to analyse the sources, amounts, levels, pathways, trends and effects of pollutants relevant to the Mediterranean Sea;
- to provide the scientific/technical information needed by the Governments of the Mediterranean States and the EEC for the negotiation and implementation of the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related protocols;
- to build up consistent time-series of data on the sources, pathways, levels and effects of pollutants in the Mediterranean Sea and thus to contribute to the scientific knowledge of the Mediterranean Sea.

Based on the recommendations made at various expert and intergovernmental meetings, a draft Long-term (1981-1990) Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean (MED POL-Phase II) was formulated by the Secretariat of the Barcelona Convention (UNEP), in co-operation with the United Nations Agencies which were responsible for the technical implementation of MED POL-Phase I, and it was formally approved by the Second Meeting of the Contracting Parties of the Mediterranean Sea against pollution and its related protocols and Intergovernmental Review Meeting of Mediterranean Coastal States of the Action Plan held in Cannes, 2-7 March 1981.

The general long-term objectives of MED POL-Phase II were to further the goals of the Barcelona Convention by assisting the Parties to prevent, abate and combat pollution of the Mediterranean Sea area and to protect and enhance the marine environment of the area. The specific objectives were designed to provide, on a continuous basis, the Parties to the Barcelona Convention and its related protocols with:

- information required for the implementation of the Convention and the protocols;
- indicators and evaluation of the effectiveness of the pollution prevention measures taken under the Convention and the protocols;
- scientific information which may lead to eventual revisions and amendments of the relevant provisions of the Convention and the protocols and for the formulation of additional protocols;
- information which could be used in formulating environmentally sound national, bilateral and multilateral management decisions essential for the continuous socio-economic development of the Mediterranean region on a sustainable basis;
- periodic assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea.

The monitoring of, and research on, pollutants affecting the Mediterranean marine environment reflects primarily the immediate and long-term requirements of the Barcelona Convention and its protocols, but also takes into account factors needed for the understanding of the relationship between the socio-economic development of the region and the pollution of the Mediterranean Sea.

Research and study topics included initially in the MED POL - Phase II were:

- development of sampling and analytical techniques for monitoring the sources and levels of pollutants. Testing and harmonization of these methods at the Mediterranean scale and their formulation as reference methods. Priority will be given to the substance listed in the annexes of the Protocol for the prevention of pollution of the Mediterranean Sea by dumping from ship and aircraft and the Protocol for the protection of the Mediterranean Sea against pollution from land-based sources (activity A);
- development of reporting formats required according to the Dumping, Emergency and Land-Based Sources Protocols (activity B);

- formulation of the scientific rationale for the environmental quality criteria to be used in the development of emission standards, standards of use or guidelines for substances listed in annexes I and II of the Land-Based Sources Protocol in accordance with Articles 5, 6 and 7 of that Protocol (activity C);
- epidemiological studies related to the confirmation (or eventual revision) of the proposed environmental quality criteria (standards of use) for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (activity D);
- development of proposals for guidelines and criteria governing the application of the Land-Based Sources Protocol, as requested in Article 7 of that Protocol (activity E);
- research on oceanographic processes, with particular emphasis on surface circulation and vertical transport. Needed for the understanding of the distribution of pollutants through the Mediterranean and for the development of contingency plans for cases of emergency (activity F);
- research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances listed in annexes of the Land-Based Sources Protocol and the Dumping Protocol (activity G);
- research on eutrophication and concomitant plankton blooms. Needed to assess the feasibility of alleviating the consequences and damage from such recurring blooms (activity H);
- study of ecosystem modifications in areas influenced by pollutants, and in areas where ecosystem modifications are caused by large-scale coastal or inland engineering activity (activity I);
- effects of thermal discharges on marine and coastal ecosystems, including the study of associated effects (activity J);
- biogeochemical cycle of specific pollutants, particularly those relevant to human health (mercury, lead, survival of pathogens in the Mediterranean Sea, etc.) (activity K);
- study of pollutant-transfer processes (i) at river/sea and air/sea interface, (ii) by sedimentation and (iii) through the straits linking the Mediterranean with other seas (activity L);

The Contracting Parties at their 6th Ordinary Meeting (Athens, October 1989) agreed to:

- (a) Re-orient the research activities within MED POL in order to generate information which will also be useful for the technical implementation of the LBS protocol in addition to supporting monitoring activities;
- (b) replace as from 1990 research activities A-L by the following five new research areas:

Research area I - Characterization and measurement

This area will include projects which cover the characterization (identification of chemical or microbiological components) and measurement development and testing of methodologies of specified contaminants;

Research area II - Transport and dispersion

This area will include projects which aim at improving the understanding of the physical, chemical and biological mechanisms that transport potential pollutants from their sources to their ultimate repositories. Typical topics will be atmospheric transport and deposition, water movements and mixing, transport of contaminants by sedimentation and their incorporation in biogeochemical cycles. Priority will be given to the provision of quantitative information ultimately useful for modelling the system and contributing to regional assessments;

Research area III - Effects

This area will include projects relevant to the effects of selected contaminants, listed in Annexes I and II of the LBS and Dumping protocols, to marine organisms, communities and ecosystems or man and human populations. Priority will be given to effects and techniques providing information useful for establishing environmental quality criteria;

Research area IV - Fates/Environmental transformation

This area will include projects studying the fate of contaminants (including microorganisms) in the marine environment such as persistence or survival, degradation, transformation, bioaccumulation etc. but excluding transport and dispersion which is dealt in area II;

Research area V - Prevention and control

This area will include projects dealing with the determination of the factors affecting the efficiency of waste treatment and disposal methods under specific local conditions as well as the development of environmental quality criteria and common measures for pollution abatement;

- (c) define target contaminants or other variables at periodic intervals depending on the progress of implementation of the LBS protocol;
- (d) select project proposals on the basis of their intrinsic scientific validity, their Mediterranean specificity, and encourage whenever possible bilateral and multilateral projects among Mediterranean countries from the north and the south of the basin.

As in MED POL - Phase I, the overall co-ordination and guidance for MED POL - Phase II is provided by UNEP as the secretariat of the Mediterranean Action Plan (MAP). Co-operating specialized United Nations Agencies (FAO, UNESCO, WHO, WMO, IAEA, IOC) are responsible for the technical implementation and day-to-day co-ordination of the work of national centres participating in monitoring and research.

This ninety second volume of the MAP Technical Reports Series contains the final report of a pilot study, carried out within the framework of MED POL Phase II, on the state of pollution of the Mediterranean Sea by selected carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances, together with the effects of Mediterranean environmental factors on the fate of such substances.

PREFACE

Le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE) a convoqué une réunion intergouvernementale sur la protection de la Méditerranée (Barcelone, 28 janvier - 4 février 1975) à laquelle ont pris part des représentants de 16 Etats riverains de la mer Méditerranée. La réunion a examiné les diverses mesures nécessaires à la prévention et à la lutte antipollution en mer Méditerranée, et elle s'est conclue sur l'adoption d'un Plan d'action comportant trois éléments fondamentaux:

- Planification intégrée du développement et de la gestion des ressources du bassin méditerranéen (élément "gestion");
- Programme coordonné de surveillance continue, de recherche, d'échange de renseignements et d'évaluation de l'état de la pollution et des mesures de protection (élément "évaluation");
- Convention cadre et protocoles relatifs avec leurs annexes techniques pour la protection du milieu méditerranéen (élément juridique).

Tous les éléments du Plan d'action étaient interdépendants et fournissaient le cadre d'une action d'ensemble en vue de promouvoir, tant la protection que le développement continue de l'écorégion méditerranéenne. Aucun élément ne constituait une fin à lui seul. Le Plan d'action était destiné à aider les gouvernements méditerranéens à formuler leurs politiques nationales en matière de développement continu et de protection de zone de la Méditerranée et à accroître leur faculté d'identifier les diverses options s'offrant pour les schémas de développement, d'arrêter leurs choix et d'y affecter les ressources appropriées.

Le programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la Méditerranée (MED POL) a été approuvé au titre de l'élément "évaluation" (scientifique/technique) du Plan d'action.

Sa phase pilote (MED POL - Phase I) avait les objectifs généraux ci-dessous, élaborés au cours d'une série de réunions d'experts et de réunions intergouvernementales:

- formuler et exécuter un programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution en tenant compte des buts du Plan d'action pour la Méditerranée et de l'aptitude des centres de recherche méditerranéens à y participer;
- aider les centres de recherche nationaux à se rendre plus aptes à cette participation;
- étudier les sources, l'étendue, le degré, les parcours, les tendances et les effets des polluants affectant la mer Méditerranée;
- fournir l'information scientifique et technique nécessaire aux gouvernements des pays méditerranéens et à la Communauté économique européenne pour négocier et mettre en oeuvre la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et les protocoles y relatifs;

- constituer des séries chronologiques cohérentes de données sur les sources, les cheminements, les degrés et les effets des polluants de la mer Méditerranée et contribuer par là à la connaissance scientifique de cette mer.

Sur la base des recommandations énoncées lors des diverses réunions d'experts et réunions intergouvernementales, un projet de programme à long terme (1981 - 1990) de surveillance continue et de recherche en matière de pollution (MED POL - Phase II) a été formulé par le secrétariat de la Convention de Barcelone (PNUE), en coopération avec les organismes des Nations Unies chargés de l'exécution technique de MED POL - Phase I, et il a été officiellement approuvé lors de la deuxième réunion des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et aux Protocoles y relatifs et réunion intergouvernementale des Etats riverains de la mer Méditerranée chargée d'évaluer l'état d'avancement du Plan d'action, qui s'est tenue à Cannes du 2 au 7 mars 1981.

L'objectif général à long terme de la Phase II du MED POL était de concourir à la réalisation des objectifs de la Convention de Barcelone en aidant les Parties contractantes à prévenir, réduire et combattre la pollution dans la zone de la mer Méditerranée ainsi qu'à protéger et améliorer le milieu marin dans cette zone. Les objectifs particuliers étaient de fournir constamment aux Parties contractantes à la Convention de Barcelone et aux Protocoles y relatifs:

- les renseignements dont elles avaient besoin pour appliquer la Convention et les protocoles;
- des indications et une évaluation de l'efficacité des mesures prises pour prévenir la pollution en application de la Convention et des protocoles;
- des renseignements scientifiques qui pourraient servir à réviser et modifier les dispositions pertinentes de la Convention et des protocoles et à rédiger des protocoles additionnels;
- des informations qui pourraient servir à formuler sur les plans national, bilatéral et multilatéral, les décisions de gestion, respectueuses de l'environnement, qui seraient indispensables à la poursuite du développement socio-économique de la région méditerranéenne;
- une évaluation périodique de l'état de pollution de la mer Méditerranée.

La surveillance continue des polluants affectant le milieu marin de la Méditerranée ainsi que la recherche menée à leur sujet répondent en premier lieu aux prescriptions immédiates et à long terme de la Convention de Barcelone et des protocoles y relatifs, mais elles tiennent également compte des facteurs requis pour la compréhension des relations existant entre le développement socio-économique de la région et la pollution de la mer Méditerranée.

Les sujets de recherche et d'étude inclus initialement dans MED POL Phase II étaient les suivants:

- mise au point de techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance des sources et des niveaux de pollution. Essai et harmonisation de ces méthodes à l'échelle

méditerranéenne, et formulation de méthodes de référence. Substances figurant sur les listes de priorité des protocoles sur les opérations d'immersion et sur la pollution d'origine tellurique (activité A);

- mise au point de la présentation type des rapports à soumettre en application des protocoles relatifs à l'immersion, à la pollution résultant de situations critiques et à la pollution d'origine tellurique, (activité B);
- élaboration des fondements scientifiques des critères de qualité de l'environnement qui serviront à définir des normes d'émission, des normes d'usage ou des directives concernant les substances énumérées dans les annexes I et II du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique, conformément aux articles 5, 6 et 7 de ce protocole (activité C);
- études épidémiologiques relatives à la confirmation (ou révision éventuelle) des critères de la qualité de l'environnement (normes d'usage) proposés pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (activité D);
- mise au point de projets de directives et de critères régissant l'application du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique, conformément à l'article 7 de ce protocole (activité E);
- recherches sur les processus océaniques, et particulièrement sur la circulation en surface et les déplacements verticaux. Cette information est nécessaire à la connaissance de la répartition des polluants en Méditerranée et à la mise au point de plans pour parer aux situations critiques (activité F);
- recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation et le caractère cancérigène et mutagène de certaines substances énumérées dans les annexes du protocole relatif à la pollution d'origine tellurique et du protocole relatif aux opérations d'immersion (activité G);
- recherches sur l'eutrophisation et les floraisons de plancton qui l'accompagnent. Cette information est nécessaire pour évaluer la possibilité de prévenir les effets et les dégâts causés par ces floraisons périodiques (activité H);
- étude des modifications de l'écosystème dans les zones soumises à l'influence des polluants et dans celles où ces modifications sont dues à d'importantes activités industrielles sur la côte ou à l'intérieur des terres (activité I);
- effets des pollutions thermiques sur les écosystèmes marins et côtiers, y compris l'étude des effets connexes (activité J);
- cycle biogéochimique de certains polluants intéressant particulièrement la santé (mercure, plomb, survie des organismes pathogènes dans la mer Méditerranée, etc.) (activité K);
- étude des processus de transfert des polluants (i) aux points de contact entre les cours d'eau et la mer et entre l'air et la mer, (ii) par sédimentation et (iii) à travers les détroits qui relient la Méditerranée aux mers voisines (activité L).

Les Parties contractantes au cours de leur sixième réunion ordinaire (Athènes, octobre 1989) ont convenu de:

- (a) réorienter les activités de recherche menées dans le cadre du MED POL en sorte qu'elles engendrent des informations qui soient également utiles pour l'application technique du Protocole tellurique, en plus de l'appui apporté aux activités de surveillance continue;
- (b) à compter de 1990, remplacer les activités A à L par les cinq nouveaux domaines de recherche ci-après:

Domaine de recherche I - Caractérisation et dosage

Ce domaine englobera des projets de recherche en matière de caractérisation (identification de constituants chimiques ou microbiologiques) et de dosage (mise au point et essai de méthodes) de contaminants donnés;

Domaine de recherche II - Transfert et dispersion

Ce domaine englobera des projets visant à approfondir notre connaissance des mécanismes physiques, chimiques et biologiques qui véhiculent les polluants potentiels de leurs sources à leurs dépôts ultimes. Les sujets étudiés porteront notamment sur le transfert et le dépôt atmosphériques, les mouvements et le brassage des eaux, le transfert des contaminants par sédimentation et leur incorporation dans les cycles biogéochimiques. Priorité sera accordée à l'obtention de données quantitatives servant, en dernier ressort, à la modélisation des systèmes et à l'établissement des évaluations régionales;

Domaine de recherche III - Effets

Ce domaine englobera des projets relatifs aux effets de certains contaminants énumérés aux annexes I et II du Protocole tellurique et du Protocole relatif aux situations critiques: effets sur les organismes, les communautés et les écosystèmes marins, effets chez l'homme et parmi les populations humaines. Priorité sera accordée aux effets et techniques fournissant des données utiles pour établir les critères de qualité du milieu;

Domaine de recherche IV - Destinées/transformation dans l'environnement

Ce domaine englobera des projets portant sur l'étude de la destinée des polluants (micro-organismes y compris), dans le milieu marin, et notamment sur la persistance et la survie, la dégradation, la transformation et la bio-accumulation, etc., mais non sur le transfert et la dispersion qui sont traités dans le domaine II;

Domaine de recherche V - Prévention et lutte antipollution

Ce domaine englobera des projets traitant de la détermination des facteurs conditionnant l'efficacité des méthodes d'épuration et d'élimination des déchets sous des conditions locales spécifiques ainsi que de l'établissement de critères de qualité du milieu et de mesures communes de réduction de la pollution;

- (c) définir des contaminants cibles ou d'autres variables à des intervalles périodiques en fonction de l'état de l'avancement de l'application du Protocole tellurique;
- (d) choisir les propositions de projet sur la base de leur valeur scientifique intrinsèque, leur spécificité méditerranéenne et, chaque fois que possible, encourager les projets bilatéraux et multilatéraux entre les pays méditerranéens du nord et du sud du bassin.

Comme lors de la Phase I du MED POL, la coordination et la direction générales de la Phase II étaient assurées par le PNUE, par l'intermédiaire du secrétariat du Plan d'action pour la Méditerranée (PAM). Les organismes spécialisés coopérants des Nations Unies (FAO, UNESCO, OMS, OMM, AIEA, COI) étaient chargés de l'exécution technique et de la coordination quotidienne des travaux des centres de recherche nationaux participant au programme de surveillance continue et de recherche.

Ce quatre vingt douzième volume de la Série des rapports techniques du PAM comprend le rapport final d'une étude pilote, menée dans le cadre de la Phase II du MED POL, sur 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.

TABLE OF CONTENTS

	<u>Page</u>
1. BACKGROUND	1
2. INTRODUCTION	2
3. ASSESSMENT OF POLLUTION	5
3.1 Carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances relevant to marine pollution	5
3.1.1 Naturally occurring substances	5
3.1.2 Substances of anthropogenic origin	5
3.2 Effects of environmental factors on transformation and degradation processes	8
3.2.1 Fate of carcinogens, mutagens and teratogens in the marine environment	8
3.2.2 Microbiological transformations	9
3.2.3 Chemical interactions	9
3.2.4 Light-mediated transformations	11
3.2.5 Bioaccumulation and biomagnification processes	12
3.3 Sources and inputs	13
3.4 Recorded levels in the Mediterranean	15
4. ASSESSMENT OF RISK TO MARINE ORGANISMS	32
4.1 Effects on marine organisms	32
4.1.1 Metabolic effects	32
4.1.2 Carcinogenic effects	37
4.1.2.1 Experimental carcinogenicity studies	37
4.1.2.2 Field studies	39
4.1.3 Mutagenicity and other related effects	42
4.1.3.1 Detection of mutagens in seawater, sediments, and marine organisms	42
4.1.3.2 Detection of carcinogen-DNA adducts in marine organisms	43

	<u>Page</u>	
4.1.3.3	DNA damage and repair in marine organisms	44
4.1.3.4	Cytogenetic alterations in marine organisms	44
4.1.4	Teratogenic effects	46
4.2	Estimated risks to marine organisms	47
5.	ASSESSMENT OF RISK TO MAN	48
5.1	General considerations	48
5.2	Evaluation of priority pollutants	50
5.2.1	Arsenic	52
5.2.2	Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)	53
5.2.3	Polychlorinated biphenyls (PCBs)	55
5.2.4	Polybrominated biphenyls (PBBs)	56
5.2.5	Toxaphene	57
5.2.6	Mirex	58
5.2.7	Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)	59
5.2.8	Hexachlorobenzene (HCB)	60
5.2.9	Hexachlorocyclohexane (HCH)	62
5.2.10	Nitrotriacetic acid and its salts (NTA)	63
5.2.11	Low molecular weight halogenated hydrocarbons (solvents)	64
5.2.12	Polychlorinated dibenzodioxin (PCDD) and polychlorinated Dibenzofurans (PCDF)	66
5.3	Conclusions	68
6.	CONTROL MEASURES	69
6.1	Existing national and international control measures	69
6.2	Action proposed for the Mediterranean	70
6.3	Action approved by the Contracting Parties to the Barcelona Convention	73
7.	REFERENCES	74

1. BACKGROUND

Article 8 of the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution, adopted by the coastal states of the region in Barcelona on 16 February 1976, and in force since 12 February 1978, stipulates that Contracting Parties shall take all appropriate measures to prevent, abate and combat pollution of the Mediterranean Sea area caused by discharges from rivers, coastal establishments or outfalls, or emanating from any other land-based sources within their territories (UNEP, 1982).

In conformity with the provisions of this article and others of a more general nature contained in the Convention, Mediterranean coastal states adopted the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources in Athens on 17 May 1980. The Protocol entered into force on 17 June 1983.

Article 5 of the Protocol stipulates that Contracting Parties shall undertake to eliminate pollution of the Protocol Area from land-based sources by substances listed in Annex I to the Protocol and, to this end, shall elaborate and implement, jointly or individually as appropriate, the necessary programmes and measures. The same article also stipulates that these programmes and measures shall include, in particular, common emission standards and standards for use, and that the standards and time-tables for the implementation of the programmes and measures aimed at eliminating pollution from land-based sources shall be fixed by the Parties and periodically, if necessary, every two years, for each of the substances listed in Annex I, in accordance with the provisions of Article 15 of the Protocol.

Annex I to the Protocol includes, as one of its items, substances having proven carcinogenic, mutagenic or teratogenic properties in or through the marine environment.

Article 7 of the Protocol stipulates that Contracting Parties shall progressively formulate and adopt, in cooperation with the competent international organizations, common guidelines and, as appropriate, standards or criteria dealing in particular with, *inter alia*, the quality of seawater used for specific purposes that is necessary for the protection of human health, living resources and ecosystems.

As of 31 March 1994, the 1976 Barcelona Convention has been ratified, acceded to, or approved by twenty Mediterranean states and by the European Union, and the 1980 Athens Protocol by sixteen Mediterranean coastal states and by the European Economic Community.

At their Fourth Ordinary Meeting held in Genoa from 9 to 13 September 1985, Contracting Parties to the Convention and its related Protocols agreed that, with regard to the technical implementation of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, the Secretariat would propose an order of priority and a realistic time-table for the development of programmes and measures for at least two substances (or groups of substances) annually, including proposed common emission standards and standards for use, required for the implementation of the Protocol and that, in preparing such a proposal, substances listed in Annex I to the Protocol should be accorded priority (UNEP, 1985a). In terms of this decision, a meeting of technical experts on the technical implementation of the Protocol was convened by UNEP in Athens from 9 to 13 December 1985. The meeting agreed on a workplan and time-table which included the phased preparation of assessments of the state of pollution of the Mediterranean Sea by substances listed in Annex I and II to the Protocol, together with proposed control measures

on the basis of such assessments (UNEP, 1985b). It was agreed that such assessment documents should include, *inter alia*, chapters on:

- sources, points of entry and amounts from industrial, municipal and other discharges into the Mediterranean Sea;
- levels of pollution;
- effects of pollution;
- current legal, administrative and technical measures at national and international level.

The workplan and time-table for implementation of the Protocol was approved by Contracting Parties at their Fifth Ordinary Meeting in Athens from 7 to 11 September 1987 (UNEP, 1987).

As part of the preparations for assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances, a Consultation on carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Mediterranean was jointly convened by WHO and UNEP in Athens from 23 to 25 June 1988 (WHO/UNEP, 1988). The meeting agreed on the outline content of the document, and also consolidated preparations for a pilot monitoring study on priority substances. This study was carried out between 1989 and 1991 in selected coastal areas of Italy, Spain and Yugoslavia, by the Institute of Hygiene and Preventive Medicine of the University of Genoa, the Environmental Chemistry Laboratory of the National Institute of Cancer Research, Genoa, the Department of Environmental Biology of the University of Siena, the Department of Environmental Chemistry, Centre for Research and Development, CSIC, Barcelona, and the Department of Nuclear Chemistry, Josef Stefan Institute, Ljubljana.

The present document, overall technical responsibility for which was entrusted to the World Health Organization, has been mainly prepared by Professor S. De Flora, Institute of Hygiene and Preventive Medicine, University of Genoa, Italy, and Professor P. Grasso, Robens Institute, University of Surrey, United Kingdom. It attempts to provide an assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by selected carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances, together with the effects of Mediterranean environmental factors on the fate of such substances, on the basis of information available to date, and to outline the main risks to marine organisms and to man. Some of the substances have already been the subject of previous assessments on overall toxicological grounds. In this document, their treatment has been limited to actual or potential carcinogenic, mutagenic and/or teratogenic effects.

The document also contains, within the framework of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, the measures for control of pollution by carcinogenic, teratogenic and mutagenic substances adopted by the Contracting Parties to the Barcelona Convention and its related Protocols at their eighth ordinary meeting in Antalya, Turkey, 12-15 October 1993.

2. INTRODUCTION

Assessing the state of pollution of the Mediterranean Sea by carcinogenic, mutagenic, and teratogenic agents represents an exceedingly complex exercise. Even more

difficult is the task of delineating the possible adverse consequences of such pollution in exposed marine biota and, indirectly, in the human organism.

The first scientific problem is to categorize marine pollutants as carcinogens, mutagens, and/or teratogens. Provided this first step may be overcome, identification by chemical analysis of a compound allocated into one or more of these categories will not be sufficient to predict the toxicological hazards of seawater, sediments, or biota. In fact, pollutants of marine ecosystems are just components of complex mixtures, and are known to undergo a variety of interactions and biotransformations both in the marine environment and in host organisms. These mechanisms are expected to affect their toxicological properties, either in the sense of activation or, more often, of detoxification.

In addition to these and other problems, which will be discussed in the next sections of this document, an objective approach to the issue of the marine environment as a possible source of carcinogenic, mutagenic, and teratogenic hazards to marine organisms and to humans should take into account the existence of counterbalancing agents in the same *milieu*. This is particularly important in the marine environment, because of the very low concentrations of these types of pollutants. In general, all arguments which are usually forwarded in order to justify the importance of risk factors of environmental source in the pathogenesis of certain diseases, such as cancer, may hold equally well in support of the role of protective factors in the environment. Indeed, the occurrence of chronic-degenerative diseases is the result of the interplay between risk factors and anti-risk factors, and of the impact of these antithetic forces on the homeostasis of the host organisms. For instance, skeletal anomalies in fish can occur not only following exposure to toxic chemicals but also as a deficiency of protective agents, e.g. ascorbic acid, during spinal development (Hodson, 1987).

Organisms possess a formidable defensive machinery against toxic agents, including mutagens, carcinogens and teratogens and interestingly, most, if not all, defense physiological processes can be modulated exogenously. Tens of different mechanisms have been discovered by which antimutagens and anticarcinogens can inhibit the development of these multifactorial and multistep pathological conditions (De Flora and Ramel, 1988). In humans, these mechanisms can be exploited for chemo-preventive measures, providing an additional strategy of primary prevention, which complements the goal of reducing exposure to risk factors.

Under natural conditions, xenobiotics can modulate the host response to aggression by toxic agents. This is also true for organisms living in the marine environment, which have been even proposed as models for assessing the efficacy of antimutagens and anticarcinogens. For instance, fish have been rather extensively used not only in experimental carcinogenicity studies (see section 4.1.2.1) but even in large-scale anticarcinogenicity assays, e.g., in *Salmogairdneri*, where dietary indole-3-carbinol, butylated hydroxyanisole and b-naphthoflavone were found to affect metabolism, DNA adduct formation and hepatocarcinogenicity by aflatoxin B1 (Nixon *et al.*, 1984; Goeger *et al.*, 1986 and 1988; Dashwood *et al.*, 1988).

A variety of potential inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis have been isolated from the marine environment. For instance, more than 20 thiols were found to occur in sediment pore-water samples from Biscaney Bay (Florida) as the result of geochemical formation due to reaction between hydrogen sulphide and sedimentary organic matter. 3-Mercaptopropionic acid was detected as a major thiol, but methane thiol and glutathione were also present in significant concentrations (Vairavamurthy and Mopper, 1987). These

organosulphur compounds are among the most promising protective agents, displaying a large variety of antimutagenic and anticarcinogenic mechanisms (De Flora *et al.*, 1991a). Prenylated hydroquinone derivatives isolated from the marine urochordate *Aplidium californicum* showed antioxidant properties, and protected against cancer and mutation in experimental systems (Howard *et al.*, 1979). Bryostatin 1, a macrocyclic lactone isolated from the marine bryozoan *Bugula neritina*, activated protein kinase C, the major receptor for tumour promoting phorbol esters, and inhibited tumour promotion by these agents in mouse skin (Hennings *et al.*, 1987). An antitumour glycoprotein, aplysianin E, inducing tumour lysis, was purified from the sea hare (*Aplysia kurodai*) eggs (Kisugi *et al.*, 1987). Eggs of marine invertebrates, such as sea urchins, contain about 2 mM glutathione and 5 mM 4-mercaptohistidine, along with its amino- and N1 ring nitrogen-methylated derivatives, referred to as ovolthiols (Hartman and Shankel, 1990). These compounds act as non-enzymatic glutathione peroxidases, serving as antioxidants (Shapiro and Turner, 1988). Of particular interest is the finding that certain aquatic invertebrates appear to be simultaneously resistant to multiple toxic xenobiotics, and are capable of surviving and reproducing in heavily polluted waters. Such a phenomenon has been linked to the production of the membrane glycoprotein P-170, coded by gene *mdr-1*. As also shown in the freshwater mussel *Anodonta cygnea* and in the marine invertebrate *Phylla*, multi-drug resistance is associated with a decreased expression of Phase I metabolizing enzymes (cytochrome P450-dependent monooxygenases) and increased expression of Phase II conjugating enzymes, such as glutathione S-transferase and glutathione peroxidase (Kurelec and Pivcevic, 1989). It is also well known that fish contains large amounts of protective vitamins and long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids, such as eicosapentenoic, docosapentenoic, and docosahexaenoic acids. In rodent studies, feeding fish oil resulted in inhibition of both transplanted and carcinogen-induced mammary tumours, which can be possibly ascribed to displacement of linoleic acid and arachidonic acid in membrane lipids and to inhibition of arachidonic acid metabolism (Karmali, 1989).

Unfortunately, protective factors can quite often behave like double-edge swords and, depending on peculiar conditions, such as route of administration, doses, time and sequence of intake, etc., they can trigger adverse effects. This depends on the multiple properties of several potential inhibitors and on the extreme complexity of the mechanisms regulating the host response to xenobiotics. Thus, essential nutrients having a well known protective role can become a cause of disease and, vice versa, typical pollutants can act as inhibitors of disease development. An example of the former situation is provided by selenium which, mainly as a constituent of the enzyme glutathione peroxidase, is a known antioxidant and anticarcinogen. In fact, a low selenium intake is associated with an increased incidence of certain forms of cancer (Diplock, 1984). On the other hand, an excess of this nutrient is toxic to most organisms, including marine biota (GESAMP 28, 1986). An example of typically hazardous marine pollutants which may protect from cancer is provided by polychlorinated biphenyls (PCBs), which are potent inducers of mixed function oxidases not only in mammals but also in fish. Since this enzyme system shares activation and detoxification properties, in some cases its stimulation can inhibit mutagenesis and carcinogenesis. For instance, the mutagenicity of aflatoxin B1 in the Ames reversion test, in the presence of liver post-mitochondrial fractions from *Salmo gairdneri*, was significantly decreased when fish were pretreated with the PCBs Aroclor 1242, Aroclor 1254, or Aroclor 1260 (Stott and Sinnhuber, 1978). These results are in agreement with several anticarcinogenicity studies in the same fish species, showing the ability of Aroclor 1254 to inhibit liver carcinogenesis and formation of DNA adducts by aflatoxin B1 (Shelton *et al.*, 1986). Another example is arsenic, for which seafood represents the dominant source of intake in humans. Arsenic may potentially cause adverse effects in humans following long-term exposure (GESAMP 28, 1988), but experimental studies in mice have also pointed

out its ability to significantly suppress spontaneous lung tumours (Kanisawa and Schroeder, 1967).

All these considerations are important in estimating the risk from carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances in the marine environment.

3. ASSESSMENT OF POLLUTION

3.1 Carcinogenic, Mutagenic and Teratogenic Substances Relevant to Marine Pollution

3.1.1 Naturally occurring substances

Although it is apparent that man-made chemicals are those causing major concern in environmental (including marine) pollution, it should be preliminarily noted that natural agents are not exempt from carcinogenic, mutagenic and teratogenic hazards. At least according to some views, "natural pesticides" are much more important than "man-made pesticides" as carcinogenic risk factors (Ames *et al.*, 1987). Similar considerations have been specifically addressed to the marine environment (Payne and Rahimtula, 1989). For instance, marine plants produce mutagenic haloforms such as bromoform and dibromochloromethane, as well as the carcinogen chloroform. Polyhalogenated compounds isolated from a marine alga were found to be mutagenic, one of them being 200 times more potent than a typical synthetic mutagen and carcinogen, i.e. EMS (ethyl methanesulfonate), (Leary *et al.*, 1979). It has been considered that the global production of the mutagen and carcinogen methyl iodide may exceed the amount resulting from industrial pollution by a factor of 80 (Payne and Rahimtula, 1989). It has been also suggested that marine algae may be a significant source of methyl chloride, which is the principal halocarbon in the atmosphere (Zafiriou, 1975). A variety of possibly hazardous substances have been detected in species of the seaweed *Asparagopsis* collected from the Gulf of California, from the Caribbean, from Hawaii, and *A. armata* from the Spanish Mediterranean coast (Mower, 1983).

Of great scientific interest is the recent finding that, using the ^{32}P postlabeling technique (see section 4.1.3.2), natural populations of the freshwater fish species *Leuciscus cephalus*, *Barbus barbus*, *Abramis brama*, *Vimba vimba carinata* and *Cyprinus carpio*, and of the marine fish *Mugil auratus*, caught from the Adriatic Sea, revealed the presence of 4 to 9 qualitatively similar adducts to liver DNA. The presence of these carcinogen-DNA adducts was detected irrespective of whether fish was caught from unpolluted or polluted waters, which suggests that a vast majority of DNA modification in fish are caused by natural factors rather than man-made chemicals (Kurelec *et al.*, 1989). Another study, however, reported that the liver DNA of brown bullheads caught from polluted rivers contained several DNA adducts which were undetectable in the liver DNA of aquarium-raised fish (Dunn *et al.*, 1987).

3.1.2 Substances of anthropogenic origin

It is virtually impossible to compile an exhaustive list of carcinogens, mutagens and teratogens relevant to marine pollution. In general, the assessment of these properties is extremely difficult and often controversial from a scientific point of view (see section 4). Chemical families generally include a broad variety of structurally related compounds, whose differential toxicological impact is hardly predictable. To give an example, GESAMP identified as many as 800 chlorinated hydrocarbons having relevance to the marine environment, of

which 58 allocated in the group of low molecular weight (C1 to C3), 249 in the medium molecular weight group (C4 to C6), and 413 in the high molecular weight group (greater than C6). Even disregarding carcinogenicity, mutagenicity, and teratogenicity, there is a gradient of harmful properties of these compounds, without any clear interface or separation between the more harmful and the less harmful (GESAMP, 1990). The analytical identification of potentially hazardous substances in the marine environment is not sufficient to claim that real hazards may result from the same environment. In addition, some of the suspected pollutants, such as metals, are also essential nutrients. Speciation of chemicals, e.g., valence of metals or complexation with organic ligands, should be also taken into account. Finally, it should be also stressed that several recognized carcinogens are hazardous only when inhaled and not following ingestion.

Tentative lists of carcinogens in the marine environment have been prepared by using the data-base available in the IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. Depending on the degree of evidence resulting from epidemiologic surveys in humans and from carcinogenicity assays in animals, and with the support of the indications of short-term tests, suspected agents are categorized by IARC as carcinogenic (Group 1), probably carcinogenic (Group 2A), or possibly carcinogenic (Group 2B) to humans. Compounds for which there is inadequate evidence are classified in Group 3. It should be stressed that such categorization only reflects the strength of evidence of carcinogenicity to humans, and should not be taken as an indication of carcinogenic potency. For instance, it is meaningful that none of the polycyclic aromatic hydrocarbons, which are often potent mutagens *in vitro* and potent carcinogens in animals, can be allocated to Group 1 due to the lack of epidemiologic data for individual compounds.

Based on Supplement 7 of Volumes 1 to 42 of the IARC Monographs (1987), L & IS (1988) reported the following list of 29 suspected carcinogens present in the marine environment:

1. **Metals:** arsenic and nickel (Group 1); cadmium (Group 2A); lead (Group 2B).
2. **Polycyclic aromatic hydrocarbons:** benz(*a*)anthracene and benzo(*a*) pyrene (Group 2A); benzo(*b*)fluorantrene, benzo(*k*)fluorantrene and indeno(1,2,3-*cd*) pyrene (Group 2B); anthracene, benzo(*ghi*)perylene, benzo(*e*)pyrene, chrisene, phenanthrene, pyrene and triphenylene (Group 3).
3. **Chlorinated organics:** polychlorinated biphenyls (Group 2A); DDT, 1,2-dichloroethane, lindane; tetrachloromethane, trichloromethane, toxaphene (Group 2B); aldrin, chlordane, dieldrin, heptachlor, trichloroethylene and vinylidene chloride (Group 3).

Using the same IARC data, Wilbourn and Kauppinen (1989) evaluated that the following Group 1 chemicals or complex mixtures could potentially occur as pollutants in seawater or in marine organisms: coal-tar pitches, coal tar, and mineral oils (local pollution), and soots. For asbestos, benzidine, hexavalent chromium compounds, and nickel compounds, the situation was considered to be uncertain. The most important potential marine pollutants belonging to Group 2A were reported to be polychlorinated biphenyls (PCB), cadmium and cadmium compounds, the polycyclic aromatic hydrocarbons benz(*a*)anthracene, benzo(*a*)pyrene and dibenz(*a,h*)anthracene, and the chreosotes. The group 2A nitrosamines *N*-nitrosodimethylamine and *N*-nitrosodiethylamine have been also found in some fish samples. Among Group 2B compounds, the chlorinated hydrocarbons chloroform, carbon tetrachloride, 1,2-dichloroethane, dichloromethane, and tetrachloro-

ethylene have been detected in various water samples, but only chloroform and tetrachloroethylene have been found in marine organisms. Acrylamide could occur in water when polyacrylamides are used in drilling operations. Pesticides such as lindane, DDT, mirex, and toxaphene can accumulate in fish. The chlorophenols, particularly pentachlorophenol, can be found in biota and could occur as marine pollutants. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-para-dioxin (TCDD) could occur in organisms in areas of local pollution. Many polycyclic aromatic hydrocarbons, several of which have been detected in polluted waters, are classified in Group 2B, which also includes complex mixtures such as diesel fuel (marine), fuel oil (residual), and gasoline (Wilbourn and Kauppinen, 1989).

A primary list of chemicals, groups of chemicals, and industrial process products which are considered to be carcinogenic for humans has been prepared by GESAMP Working Group 13. This list has been expanded by also including animal carcinogens and possible or suspected human carcinogens. Many of these agents, such as arsenic, chlordane, creosote, DDT, dieldrin, hepatochlor, lindane and polychlorinated biphenyls, have been found in marine sediments, waters, and biota (Malins and Jensen, 1988), although this does not automatically imply that they also pose a carcinogenic risk to marine organisms, or to man through the marine route.

Paradoxically, even substances used to abate marine pollution may possess genotoxic properties. This may be the case for oil dispersants, consisting of various mixtures of surfactants, hydrocarbon solvents, and stabilizing agents, which are used as antidotes in case of oil spills. Moreover, although new generation dispersants have a lower toxicity, these products can exert toxic effects to marine biota. For instance, an oil dispersant caused spinal deformities in hatched larvae of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Tudor and Katavic, 1987). Several samples of oil dispersants, either *per se* or mixed with crude oil, were non-mutagenic in the Ames reversion test (Petrilli *et al.*, 1980). Further studies confirmed the inactivity of oil dispersants in the same test as well as in the SOS chromotest in *E. coli*, and in a genotoxicity test using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* (strain D5), evaluating mitotic crossing-over and other genetic effects. However, they produced DNA damage in *E. coli*, as evaluated by assessing the differential toxicity in repair-proficient and -deficient strains (De Flora *et al.*, 1985).

Another important example is provided by nitrilotriacetic acid (NTA), which has been proposed and used, often in controlled amounts, as a substitute for polyphosphates in household laundry detergents. As such, it is a valuable tool for preventing seawater eutrophication, but is also a massive contaminant of marine bodies receiving domestic sewage effluents. NTA is an established animal carcinogen (IARC, Vol. 48, 1990). Although NTA is generally considered to be a non-genotoxic carcinogen, it yielded positive responses in some short-term tests, such as induction of micronuclei in *Vicia faba* and *Allium cepa* roots (De Marco *et al.*, 1986), a DNA-repair test in *E. coli* (Venier *et al.*, 1987), and induction of aneuploidy in *Drosophila* (Costa *et al.*, 1988). With this and other important exceptions, such as halogenated hydrocarbons and certain metals, most carcinogenic pollutants are also genotoxic. On the other hand, there are also several examples of mutagenic substances which have been negative or equivocal in animal carcinogenicity assays, often because they tend to be detoxified in the host organism (De Flora *et al.*, 1989b). The issue of detection of mutagens in seawater, sediments, and marine biota will be discussed in section 4.1.3.1.

According to some views, the processes of mutagenesis, carcinogenesis and teratogenesis may have some common denominators. However, the contribution of genetic damage to teratogenesis is also still under debate within some series of structurally-related pollutants, such as organochlorine and organophosphorus pesticides (Lansdown, 1990). By

late 1985, the Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) included as many as 4,508 names of chemicals associated with reproductive effects. In early 1987, this list had grown to 6,917 entries (Kolb Meyers, 1988). Although the registry also includes typical marine pollutants, a specific list of teratogens in the marine environment is not available. In a survey of the literature on the possible association between malformations and 23 exposures, PCBs and methylmercury were two of the 3 chemicals exhibiting clear evidence for teratogenicity in experimental animals, as well as for a high risk in humans, as inferred from epidemiologic studies (Hemminki and Vineis, 1985). Organophosphorus pesticides were found to possess teratogenic properties, also in aquatic organisms (see section 4.1.4). Several organochlorine pesticides are known to be embryotoxic and carcinogenic in rodents, but it is noteworthy that DDT had opposite effects, by prolonging reproductive life and protecting against the teratogenic effects of other chemicals (Lansdown, 1990). Again, as in the case of carcinogens and mutagens, it should be taken into account that the levels of teratogenic substances in the marine environment would be expected to be very low.

3.2 Effects of Environmental Factors on Transformation and Degradation Processes

3.2.1 Fate of carcinogens, mutagens and teratogens in the marine environment

Once introduced into the marine environment, the fate of carcinogens, mutagens and teratogens depends on a variety of factors, which may lead to their activation or, more frequently, to detoxification. First of all, stability depends on the chemical nature of the molecules of pollutants. In general, direct-acting genotoxins are reactive molecules and hence tend to degrade readily via chemical, biochemical or photochemical decomposition. Much more stable are procarcinogens, promutagens, and proteratogens, which are *per se* inert molecules, requiring conversion into proximal and ultimate metabolites in order to acquire electrophilic properties. Such a conversion usually occurs intracellularly in host organisms, including marine organisms, which possess the inducible metabolic machinery needed for the biotransformation of xenobiotics (see section 4.1.1). However, activation to electrophilic derivatives can also be photodynamically achieved (see section 3.2.4). Non-genotoxic carcinogens, such as the organochlorine pesticides, biodegrade with great difficulty and persist for a long time in the environment (Grasso, 1989). For instance, DDT has been evaluated to have a half-life of up to 15 years in soil (Clement Associates, 1989). Usually, organic and inorganic compounds of metals are also stable. However, their stable forms are often non-toxic, as it is the case with chromium, which is widespread in the environment in its non-toxic, trivalent form.

Hazardous xenobiotics can interact in the marine environment with microorganisms (section 3.2.2), other chemicals (3.2.3), or solar irradiation (3.2.4), to produce either detoxified or activated derivatives, often characterized by an enhanced bioavailability compared to the parent compounds. These processes can be also associated. For instance, it has been suggested that photooxidation of PAHs may enhance their susceptibility to microbial mineralization (McElroy *et al.*, 1989). Another important mechanism is represented by absorption/desorption phenomena between xenobiotics and sediments or suspended particulate matter having a central role as a transport vehicle for toxic pollutants (Landner, 1976). In particular, various mechanisms can account for the association of pollutants with particles in seawater, i. e.:

- (i) precipitation or hydrophobic interactions with the particle surface;

- (ii) co-precipitation with hydrous oxides of iron and manganese either as coatings, or as flocs of the precipitate;
- (iii) incorporation into mineral lattices, organisms or faecal material; or
- (iv) flocculation of colloidal organic and inorganic matter during river and sewage mixing (Olsen *et al.*, 1982).

3.2.2 Microbiological transformations

Several pollutants are accumulated by the bacterial flora populating seawater and marine sediments, and they tend to be transformed intracellularly by various metabolic pathways (Cerniglia and Heitkamp, 1989). Usually, such a transformation leads to detoxified products. Biodegradation is so efficient that bacteria are often exploited in the treatment of both domestic and industrial effluents, as well as in the abatement of specifically metabolized pollutants.

However, in some cases, the products released into the aquatic environment following lysis of bacterial cells may be toxic to higher organisms. The most typical and extensively investigated situation of this type is that of inorganic mercury, which is methylated by a variety of marine bacterial and fungal species to yield methyl mercury. As well known, bioaccumulated organic mercury is more toxic than inorganic mercury to higher organisms, including humans, mainly by affecting their central nervous system, following exposure after birth, especially in early childhood, or via the placenta (GESAMP 28, 1986).

3.2.3 Chemical interactions

Pollutants of the marine environment undergo a large variety of interactions with other pollutants as well as with normal chemical components of the contaminated ecosystem. Combinations of different substances may result either in the sum of their toxic properties (additive effect), or in an enhanced toxicity (synergism), in some instances with multiplicative effects, or in a decreased toxicity (antagonism). The outcome of chemical interactions, often with an extremely high number of combination key is, in the majority of cases, hardly predictable.

Several interactions occurring in the seawater and marine biota bear relevance as far as carcinogenic, mutagenic and teratogenic problems are concerned. For instance, interaction between normal seawater constituents and the chlorine discharged by the cooling system of power plants leads to the formation of a variety of toxic products. The total demand of the Mediterranean Seawater for chlorine is low, in the range of mg/l (Rav-Acha *et al.*, 1989). The chemistry of seawater chlorination is even more intricate than the chemistry of freshwater or effluent chlorination, mainly due to the high bromide concentration in seawater. The reaction of chlorine with bromine produces various brominated species, such as Br_2 , HBrO , BrO^- and BrO_3^- , and interhalogenated compounds are also produced. Instead of chloroamines, bromoamines are formed, with the predominance of dibromoamine. The derivatives resulting from seawater chlorination have various toxic properties, and are known or suspected to behave as mutagens and/or carcinogens (Davies and Middaugh, 1978; Rav-Acha *et al.*, 1989).

The simultaneous occurrence of various halogenated compounds in seawater, such as planar polychlorinated biphenyls, brominated/chlorinated dioxins, dibenzofurans, polychlorodibenzodioxins and polychlorodibenzofurans, may be expected to result in additive

effects, but the problem warrants more exhaustive studies, also assessing the possibility of interactions with other contaminants (Nordisk Expertgrupp, 1988). Strong synthetic chelators such as EDTA and DTPA appear to decrease the toxicity of heavy metals to fish. This effect has been ascribed to the translocation of metals from gills to other parts of the body where they cause less damage, as well to an increased excretion of metals (Landner, 1976). The interaction of oil dispersants with oil may enhance the toxic effect of the oil by releasing its degradation products (Marine Biological Association of the United Kingdom, 1970) which, on the other hand, are more readily diluted in seawater. High doses of NTA can release toxicologically active metal ions from insoluble compounds (e.g., lead chromate), thereby causing a variety of genetic effects, including induction of micronuclei in gill cells of *Mytilus galloprovincialis* (Gola *et al.*, 1986).

In contrast with the experimental studies carried out with individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), for which an enormous literature is available, these compounds always occur as complex mixtures in polluted environments. As many as 500 distinct PAHs have been identified at a single site, together with many other organic and inorganic compounds, in sediments near urban areas (Malins *et al.*, 1984). The carcinogenicity of individual PAHs and of complex mixtures containing PAHs has been evaluated in a series of IARC Monographs (Volumes 32-35, 1983-1985), together with indications on their toxic, mutagenic and teratogenic properties. It is a matter for debate whether combinations of different PAHs may lead to additive, synergistic, or antagonistic effects, depending on a variety of factors, such as amount and chemical features of compounds, and availability of metabolizing enzymes and/or of substrates in the host organism. It is noteworthy that the mutagenicity of benzo(a)pyrene in the *Salmonella* reversion test was not affected by seawater nor by oil dispersants, whereas it was inhibited by adding crude oil and its extracts, irrespective of the presence of oil dispersants (Petrilli *et al.*, 1980). Suppression of benzo(a)pyrene mutagenicity was also observed in the presence of other complex mixtures, such as tar sand fractions (Shahin and Fournier, 1978), shale oil fractions (Pelroy and Petersen, 1979), and mineral oils (Hermann *et al.*, 1980), and ascribed to inhibition of the metabolic activation of this promutagen (Haugen and Peak, 1983). The same mechanism is likely to explain inhibition of benzo(a)pyrene mutagenicity by a metal compound, i.e., the hexavalent chromium salt sodium dichromate (Petrilli and De Flora, 1982).

An issue of particular interest is the possible reaction between nitrite and aminocompounds to form *N*-nitrosoderivatives. Out of more than 300 components of this chemical family tested for carcinogenicity, as many as 90% produced tumours in 40 animal species (Bartsch *et al.*, 1985). Formation of *N*-nitrosocompounds typically occurs in the acidic environment of the stomach, and can be prevented in the presence of ascorbic acid or various other inhibitors (Bartsch *et al.*, 1988). Fish represent one of the most typical sources of nitrosatable precursors, especially due to the presence of significant amounts of dimethylamine and of trimethylamine. The latter compound results from the bacterial metabolization of trimethylamine oxide, an end-product of nitrogen metabolism in fish, after death (Jebsen and Riaz, 1977). The human consumption of fish was shown to produce a significant increase in the urinary excretion of methylamines (Zeisel and DaCosta, 1986), and mixture of nitrite with fish homogenates in simulated acidic environment resulted in the ascorbate-inhibitable formation of mutagenic and carcinogenic derivatives (Marquardt *et al.*, 1977; Weisburger *et al.*, 1980; Stich *et al.*, 1982). It may be argued whether a significant formation of *N*-nitrosocompounds may also occur in seawater and marine organisms, taking into account that both nitrite and secondary amines occur in natural waters in very low concentrations. Formation of dimethylnitrosamines was demonstrated in sewage or lake water simultaneously receiving high concentrations of nitrite and dimethylamine or

trimethylamine (Ayanaba and Alexander, 1974). Moreover, it was shown that the *in vivo* exposure of *Salmo gairdneri* to lake water enriched with sublethal amounts of sodium nitrite resulted in the formation of mutagenic and DNA-damaging derivatives in fish muscle (De Flora and Arillo, 1983). Whether these findings may also apply and bear relevance to the marine environment under realistic conditions remains to be established.

3.2.4 Light-mediated transformations

The UV component of solar irradiation is likely to represent the most widespread mutagen existing in nature. In fact, its impact on human cancer is well established, although rather undefined in some qualitative and quantitative aspects. Due to the low penetration capacity of DNA-damaging wavelengths in an aqueous medium, it is unlikely that sunlight may have important direct consequences on marine biota, although potential effects cannot be ruled out.

A more realistic possibility is that components of sunlight may interact with pollutants spread on the seawater surface or in the upper part of the water column, thereby producing changes in their molecular structure and biological activity (Payne and Phillips, 1985). This may be particularly important in the marine environment, since the surface microlayer, containing lipids, fatty acids and polysaccharide/protein complexes, is particularly rich in pollutants such as metals, PCBs, PAHs and chlorinated hydrocarbons, with concentrations exceeding 10 to 10,000 times those found in subsurface water (Kocan *et al.*, 1987). In some cases, photodegradation of certain compounds may occur, as has been shown, for instance, with polycyclic aromatic hydrocarbons (Fox and Olive, 1979; Valerio and Lazzarotto, 1985; Holloway *et al.*, 1987). Another example is provided by oil dispersants, whose ability to induce a non-reparable DNA damage in *E. coli* was decreased following exposure to sunlight (De Flora *et al.*, 1985), which correlates with the finding that the toxicity of oil dispersants to *Artemia* was reduced in the presence of sunlight (Moraitou-Apostolopoulou and Verriopoulos, 1987).

Even more interesting is the possibility of conversion of inactive molecules into genotoxic derivatives due to photodynamic effects. Far-UV radiation converted dieldrin and p,p'-DDE, but not p,p'-DDT, which are generally classified as non-genotoxic carcinogens, into weak direct-acting mutagens in the *Salmonella* reversion test (De Flora *et al.*, 1989a). This kind of radiation does not normally reach the earth's surface, but is sometimes used in small water-treatment devices. Solar irradiation is capable of activating typical promutagens/procarcinogens into direct-acting derivatives, as has been shown with several polycyclic aromatic hydrocarbons, aromatic amines and aflatoxins (reviewed by De Flora *et al.*, 1989a). Complex mixtures, such as coal- and shale-derived synthetic fuels, were also activated by light (Selby *et al.*, 1987). Photoactivation, which could be mainly ascribed to near-UV wavelengths, did not occur in nitrogen atmosphere, and was magnified in pure oxygen atmosphere. The interaction between radiation and oxygen is known to lead to the formation of singlet oxygen, which may oxidize promutagens to reactive intermediates. Photoactivation of mutagens is related to the length and intensity of sunlight exposure, in that the phenomenon is followed by degradation of direct-acting mutagens after a prolonged exposure to light. Nevertheless, once formed and transferred into the dark, photoactivated mutagens are extremely stable, as shown for instance with 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), whose photoderivative maintained the direct mutagenicity unchanged even after 2 years and 3 months of storage at room temperature (De Flora *et al.*, 1989a).

Photoactivation is related to structural features of irradiated compounds. For instance, the analysis of a series of structurally related aromatic amines, i.e.,

2-aminofluorene, 2-acetylaminofluorene, 4-acetylaminofluorene, 1-aminoanthracene, 2-aminoanthracene, 1-naphtylamine and 2-naphtylamine, showed that activation by sunlight requires the amino group in position 2 of the fluorene molecule. Likewise, the analysis of two pairs of heterocyclic arylamines, i.e., 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-2), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ), and MeIQ, showed that Trp-P-1 and Trp-P-2 are not photoactivated, whereas IQ and MeIQ are extraordinarily sensitive to sunlight (De Flora *et al.*, 1989a). Both in the case of aromatic amines (Strniste *et al.*, 1986) and heterocyclic amines (Hirose *et al.*, 1990), acquisition of direct mutagenicity depends on conversion into the corresponding nitroderivatives.

The phenomenon of photoactivation is likely to have obvious consequences on the environmental spread of mutagens and carcinogens that, at variance with their unirradiated precursors, are expected to have a more direct impact on exposed tissues, without any need for further metabolic activation in the host organism. However, applicability of the reported laboratory findings to field conditions and in particular to the marine environment warrants further studies. It is noteworthy that binding of benzo(a)pyrene to DNA and other macromolecules in the sponge *Tethya lyncurium*, collected from the Northern Adriatic Sea, and from Californian coastal waters in the Pacific Ocean, only occurred in the presence of light (Zahn *et al.*, 1981, 1982 and 1983). Since sponges have no detectable mixed-function oxygenase activity, the hypothesis has been raised that stable benzo(a)pyrene photoderivatives may be transported to bottom layers and react with sponge macromolecules in the dark (Zahn *et al.*, 1982).

3.2.5 Bioaccumulation and biomagnification processes

Trace chemicals, including hazardous substances, can be present in higher aquatic organisms as a result of food chain biomagnification. Methylmercury is the prototype compound for this kind of bioaccumulation process, which is also typical for long-living radionuclides. Specific information on carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances is relatively scanty, and a variety of complex phenomena renders the understanding of the underlying mechanisms rather uncertain. Since migratory fish represent one of the top predators in the aquatic environment, occurrence of bioconcentration processes may contribute to the spread of hazardous substances in marine organisms even at a distance from polluted environments (Kurelec *et al.*, 1989). Concentration of pollutants in marine biota not only depends on the trophic level of the organisms concerned in the food web but also on their longevity, growth rate, and body weight, as well as on features of the pollutants themselves, such as solubility and water/lipid partition coefficients in the host tissues, persistence, metabolic rate, excretion, etc. Moreover, it should be taken into account that for certain pollutants the intake through ingestion is less important than intake from the water passing over the gills. This is the case for petroleum hydrocarbons, for which the direct uptake from seawater or sediments appears to be more important than accumulation through the food chain (Landner, 1976). In contrast, organochlorine pesticides are poorly available from seawater, due to their very low solubility, and are preferably accumulated through the food web (Kerr and Vass, 1973). However, in the light of more recent studies, the situation is unclear even for chlorinated hydrocarbon pollutants (UNEP/FAO/WHO/IAEA, 1990). As an example applying to hazardous metals, arsenic does not appear to be biomagnified in marine foodchains, although it is bioaccumulated by several species. For instance, marine algae contain arsenic at concentrations 2,000 to 5,000 times greater than those in seawater (GESAMP No. 28, 1986).

Another well-known mechanism of bioconcentration of pollutants from seawater is provided by bivalves such as mussels, which can act as non-selective filter feeders

filtering as much as 1.5 litres of seawater per hour, thereby accumulating in significant amounts those microorganisms and noxious substances which are present in trace amounts in the surrounding environment (Mix, 1986). For this reason, as reported in section 4.1.3.4., mussels can be used not only as indicators of chemical, radioactive, or microbiological pollution, but also as targets for seawater genotoxins. Similar considerations may apply to sponges, which are filter feeders living in the benthic regions of the continental shelf, and filter every hour 1 litre water per 10 grams of these biota (Vogel, 1977).

3.3 Sources and Input

Natural processes, general urban sewage, and specific industrial or agricultural effluents can account for seawater pollution by carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances. The relative importance of natural and anthropogenic sources varies depending on the type of pollutant, often with mixed contribution. However, the source of pollution by synthetic organic chemicals is always anthropogenic (Magos, 1989). The annual pollution load of the Mediterranean from land-based sources, either originating in the coastal zone from domestic, industrial, or agricultural sources, or carried by rivers, has been tentatively estimated for a number of pollutants. The estimated parameters included the total discharge volume, organic matter, nutrients (phosphorus and nitrogen), some specific organics (detergents, phenols, mineral oils), some metals (mercury, lead, chromium, zinc), suspended matter, organochlorine pesticides, and radionuclides. It was concluded that 60 to 65% of the total load comes from coastal sources, half of which from industry and about a quarter each from domestic sewage and agriculture (Helmer, 1977; UNEP/ECE/UNIDO/FAO/ UNESCO/WHO/IAEA, 1984). It is evident that, for a variety of reasons, these estimates are uncertain, and may be considered accurate within an error range of about one order of magnitude (Helmer, 1977). It is also evident that it is extremely difficult to quantify the specific input of carcinogenic, mutagenic, and teratogenic substances, also due to the uncertainties in the classification of these hazardous substances and to the lack of systematic surveys.

Atmospheric input of pollutants is an additional source of seawater contamination. According to GESAMP (1980), exchange of matter across the air/sea interface can occur as follows:

(a) Downward transport

Gaseous

- (i) Wet - incorporation in precipitation
- (ii) Dry - direct transfer across air/sea interface

Particulate

- (iii) Rainout
- (iv) Washout

Dry

- (v) Gravitational/Brownian deposition
- (vi) Trapping by whitecap bubbles

(b) Upward transport

Gaseous

- (vii) Molecular evaporation from surface
- (viii) Purging by bubbles

Particulate

- (ix) Bursting bubbles and spray

The following are the major sources of oil pollution in the Mediterranean, according to UNEP/IMO/IOC (1987):

- (1) natural seeps and erosion of sedimentary rocks
- (2) spills and operational (produced water) discharges from offshore petroleum production facilities
- (3) refinery and oil storage wastes
- (4) marine transportation, including:
 - (a) operational discharges from tankers (ballast, slop tanks and tank washing water)
 - (b) terminal and bunkering operations (e.g. spillages, pipeline or storage tank ruptures)
 - (c) dry-docking
 - (d) bilges and fuel oil from ships (machine space bilges, fuel oil sludges, oily ballast from fuel tanks)
 - (e) accidental spills from tankers and other ships
- (5) pleasure watercraft
- (6) ocean dumping
- (7) precipitation from the atmosphere
- (8) municipal waste waters
- (9) industrial waters (non-refinery)
- (10) urban runoff
- (11) river-borne pollution.

It has been estimated that the total input of petroleum hydrocarbons in the Mediterranean is 635,000 tonnes/year. More than half of such input (330,000 tonnes) is

accounted for by spilled oil from tankers, ballasting and loading operations, bilge and tank wastings. Run-off from municipal and industrial discharges are responsible for 160,000 and 110,000 tonnes, respectively, whereas a less important yet appreciable contribution (35,000 tonnes) is ascribed to atmospheric deposition (UNEP/IOC, 1988).

Halogenated hydrocarbons can contaminate the marine environment through agricultural run-off, rivers and discharge of industrial and municipal wastes. According to the conclusions of project Med X of MED POL-PHASE I, the total load of organochlorine pesticides carried into the 10 regional Mediterranean sea areas by surface run-off, either directly or through rivers, was 90 tonnes/year (range 50-200) (UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1984). In addition, organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls can occur in seawater due to atmospheric deposition. Air/sea exchanges, according to the aforementioned mechanisms, can be responsible for seawater contamination by halogenated hydrocarbons even at a distance from pollution sources (UNEP/FAO/WHO/IAEA, 1990).

Metals can be released into the marine environment from both natural and anthropogenic sources. For instance, cadmium, like other trace metals, reaches seawater through rivers and surface runoff, as a consequence of geologic weathering and erosion of the earth's crust. Deep sea volcanic activity and the atmosphere can also contribute to its natural spread. The main anthropogenic sources are metallurgical industries, ore mines, and sewage sludges, but domestic and mixed sewage in which cadmium occurs in high proportions relative to other trace metals, gives a contribution as well. The range of cadmium concentration in the sewage of some Mediterranean towns was 0.1-24 $\mu\text{g R}^{-1}$ (UNEP/FAO/WHO, 1989). Arsenic is released into the environment as a component of pesticides, as the result of smelting or roasting sulphide minerals, combustion of fossil fuels, leaching of exposed wastes from mining activity, and accelerated erosion of land. River drainage of areas with substantial arseniferous ore deposits are significant sources of arsenic (GESAMP 28, 1986). Although the presence of arsenic in the marine environment can also result from volcanoes, burning of vegetation and continental weathering, its release from anthropogenic sources seems to exceed those from natural processes (MacKenzie *et al.*, 1979).

3.4 Recorded Levels in the Mediterranean

The WHO/UNEP/FAO Consultation meeting on carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Mediterranean (Athens, 23-25 June 1988) identified a number of substances having relative importance as carcinogenic marine pollutants (see Table 1).

For some of these substances (eg. PCDDs and PCDFs) there is no or little information concerning their levels in the Mediterranean environment while in the case of some others, like Cd, information has been collected on their levels for over 20 years. The consultation meeting mentioned above recommended the initiation of a pilot monitoring study for arsenic, beryllium, PAHs, PCB congeners and other organohalogenes, PCDDs, PCDFs and aromatic amines. The monitoring survey which was undertaken during 1989 and 1990 in the northern Mediterranean Coast of Spain, the Ligurian sea, the Ebro delta and the eastern Adriatic coast included analysis of arsenic in biota and sediments, organohalogenes in biota as well as PAHs in mussels and sediments. The results of the survey can be found in Tables 2-7.

Table 1

Selected substances/groups of substances of relative importance
as carcinogenic marine pollutants

AGENT	COMMENTS ON ANALYSIS	SOURCE	MONITORING
1. As III + As V	Tot. As. speciation	Pesticides Chemical wastes	Sediments Benthic biota
2. Cd + compounds 3. Cr (VI) compounds 4. Ni + compounds			NO NO NO
5. Be + compounds	Literature search	Incineration	Sediments, biota
6. Pb + compounds (inorganic)			NO
7. PAHs	4-7 ring fraction compounds	Used oils, coal tars, street runoff	sediments, benthic biota
8. Low mol. hal. HCs	**	Solvents	?
9. PCBs 10. PBBs 11. PCCs 12. Mirex 13. DDT 14. HCB 15. HCH	Individual congeners * * Toxaphene * * Incl. isomers and derivatives * All isomers * All isomers *	Industrial and urban effluents Agriculture	Biota " " " " " "
16. PCDDs + PCDFs	Individual congeners	Incineration	Biota
17. Chlorophenols 18. Benzene 19. 1,4 Dioxane 20. Amitrole	**		? NO NO NO
21. Aromatic amines		Dyestuffs	Sediments
22. NTA ***		Households	Seawater

- * Can be determined by a single analytical procedure (group analysis)
- ** Broad-spectrum analysis to define individual compounds
- *** Not included in IARC list, but identified as non-carcinogenic mutagen
- ? Undecided

Table 2

Concentrations of total Arsenic in mussels, fish and sediments from selected Mediterranean areas, 1989-1990
 Results (ranges and means) are expressed in $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight (Stegnar, 1991)

	EBRO DELTA	LIGURIAN SEA			ADRIATIC SEA		
		West	Central	East	North	Central	South
<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)	
Sediments, 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)
Sediments, 80 μm	24.4-30.5 (27.9)					20.3-44.2 (30.37)	

Table 3

Levels of chlorinated hydrocarbons in fish and mussels from three areas in the Ligurian Sea, 1989. Data expressed as ng g⁻¹ dry weight

M = May, N = November, nd = below detectable limits

(Kanitz *et al.*, 1990)

		<i>Mullus barbatus</i>			<i>Xiphias gladius</i>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		
		East	Central	West	West	East	Central	West
Toxaphene	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	1,273.15	2,519.03	-	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	2,915.61	-	1,060.52	677.06	399.18
Total PCB	M	398.18	1,403.89	848.77	1,603.55	562.89	430.44	255.94
	N	273.29	1,991.37	5,434.64	-	1,145.70	747.55	452.99
Alpha-HCH	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
Beta-HCH	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
Gamma-HCH	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
Delta-HCH	M	0.49	0.22	nd	0.13	0.77	nd	nd
	N	nd	nd	nd	-	0.23	nd	nd
Total HCH	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
Total DDT	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

Table 4

Concentrations of PAHs (ng g⁻¹) in mussels collected along the Ligurian coast between 1989 and 1991. (Piccardo and 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 and 6 sampled twice
Site 13 - "control" site

An = Anthracene
 Py = Pyrene
 Flu = Fluoranthene
 BaA = Benzo(a)anthracene
 BbF = Benzo(b)fluoranthene
 BaP = Benzo(a)pyrene
 BkF = Benzo(k)fluoranthene
 BP-DBA = Benzo(g,h,i)fluoranthene, Dibenzo(a,h)anthracene

Table 5

Distribution of individual PCB congeners in biota (ng g⁻¹, dry wt.)
from 3 Mediterranean areas, 1989-1990
(Albaiges and Bayona, 1991)

IUPAC No.	COASTAL BARCELONA						EBRO DELTA						LIGURIAN SEA					
	<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>			<i>Mytilus sp.</i>		<i>Ardea sp. eggs</i>			<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>			
	Max	Min	Ave*	Max	Min	Ave*	Max	Min	Max	Min	Ave*	West	Central	East	West	Central	East	
28+31	3.5	0.0	3.0	8.7	0.1	3.0	1.6	0.6	120	0.4	80.7	n.d.	n.d.	0.6	n.d.	n.d.	n.d.	
52	3.0	8	4.4	17.	0.2	6.1	0.8	n.d.	41.	0.3	18.7	n.d.	2.9	9.0	5.7	13.5	n.d.	
44	4.5	0.0	-	3			1.6	n.d.	5	n.d.	-	-	-	1.3	5.7	1.8	1.4	
101	11.	4	8.5	n.q.	0.5	13.1	1.4	0.3	21.	n.d.	-	n.d.	5.3	4.9	0.6	8.2	4.1	
118	5	n.d.	8.6	37.	2.3	22.7	n.d.		3	n.d.	-	n.d.	4.7	n.d.	1.6	17.5	n.d.	
153	4.5	0.4	9.1	6	1.7	35.4	8.7	4.5	46	7.1	8.5	n.d.	21.6	10.	7.4	17.3	33.8	
138+163	16.	0.9	14.7	60.	5.0	56.8	6.7	2.2	174	n.d.	-	24	17.8	1	6.5	21.9	n.d.	
187	9	8	7.8	6			7.2	n.d.	11.	n.d.	-	18	7.3	10.	4.9	n.d.	51.8	
128	21.	2.4	3.4	96.			1.1	0.4	1	n.d.	-	10	n.d.	7	1.2	8.2	7.7	
156	7	3.1	-	6		n.d.	n.q.		14.		0.8	n.d.	n.d.	14.	4.2	n.d.		
180	14.	6.1	3.4	145	0.9	2.5	1.2	n.d.	3	n.d.	-	4.8	1.2	7	4.1	6.5	31.5	
170	6	0.7	-	.9		n.q.	n.q.		6.4		2.5	5	0.9	5.5	5	16.8		
	7.3			n.q.					60					0.6				
GPCB _{cong}	n.d.	0.8	62.9	n.q.	11	140	30	8	-	7.8	-	60.1	66	2.3	41	110	147	
GPCB ₁₂₅₄	0.4		201	n.q.		445	74	27	0.3	26		-	171	2.5	83	270	221	
	n.d.			44.					-									
		15		3										33				
	80			n.d.					495					120				
				411					739									

* Mean of three samples

n.d. Not detected

n.q. Not quantified

Table 6

Distribution of organochlorinated pesticides in biota (ng g⁻¹, dry wt.)
from 3 Mediterranean areas, 1989-1990
(Albaiges and Bayona, 1991)

	COASTAL BARCELONA			EBRO DELTA				LIGURIAN SEA					
	<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mytilus sp.</i>		<i>Ardea sp. eggs</i>		<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>		
	Max	Min	Ave*	Max	Min	Max	Min	West	Central	East	West	Central	East
Methoxychlor	63.9	n.d.	-	n.d.		n.d.		8.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dieldrin	n.d.			n.d.		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.	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.	10.	n.d.	n.d.	n.d.
HCB	1.3	0.5	0.8	1.6	0.8	15.1	10.4	n.d.	n.d.	2	0.2	0.4	n.d.
á-HCH	2.9	0.2	1.2	1.0	0.3	11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.9	0.1	n.d.
ã-HCH	2.7	1.6	2.3	1.5	n.d.	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	8.9	14.1	n.d.	n.d.	3.1	n.d.	n.d.
p,p'-DDT	27.1	3.4	11.8	5.4	n.d.	84	n.d.	9.0	n.d.	5.7	1.7	n.d.	12.7
p,p'-DDD	11.5	n.d.	-	12.1	3.2	64	6.1	4.0	5.4	4.1	0.1	n.d.	n.d.
o,p'-DDE	17.1	n.d.	-	3.9	2.5	0.14	n.d.	8.3	n.d.	0.8	n.d.	n.d.	3.9
p,p'-DDE	151	51	96	42	31	152	4.2	20.5	33.9	n.d.	36	34	43

* Mean of three samples

n.d. Not detected

n.q. Not quantified

Table 7

Distribution of PAHs in sediments (ng µg⁻¹, dry wt.) and biota (ng g⁻¹, dry wt.)
from 3 Mediterranean areas, 1989-1990
(Albaiges and Bayona, 1991)

COMPOUND (No.)	COASTAL BARCELONA				EBRO DELTA			LIGURIAN SEA
	Sediments (depth, m)			<i>Mytilus sp.</i>	Sediments (depth, m)		<i>Mytilus sp.</i>	<i>Mytilus sp.</i>
	A	B	C		D	E		
	10	40	43		30	520		
Phenanthrene (1)	30	405	57	15	9.2	16	32	38
Anthracene	10	150	16	n.d.	0.6	1.3	n.d.	14
C ₁ -Phenanthrenes	107	271	71	113	14.1	17.1	195	89
Fluoranthene (2)	97	757	373	19	17.8	30.7	8	322
Pyrene (3)	42	715	314	34	12.6	25.4	7	571
Benz[<i>a</i>]anthracene (4)	68	274	270	7	6.1	15.2	3	372
Chrysene+Triphenylene (5)	45	451	338	54	13.9	36.5	8	448
Benzo[<i>b+j+k</i>]fluoranthenes (6)	98	749	797	31	2.6	69	n.d.	310
Benzo[<i>a</i>]fluoranthene (7)	n.d.	129	58	n.d.	0.5	24	n.d.	51
Benzo[<i>e</i>]pyrene (8)	29	364	369	20	3	30	n.d.	158
Benzo[<i>a</i>]pyrene (9)	33	525	452	6	0.2	15.2	n.d.	18
Perylene (10)	9	166	155	46	40	3	n.q.	n.q.
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene (11)	31	240	361	n.q.	8.7	40	n.q.	n.q.
Benzo[<i>ghi</i>]perylene (12)	82	749	474	n.q.	9.4	28	n.d.	n.q.
GPAHs	681	5945	4105	346	139	351	253	2391
Ph/GC ₁ Ph	0.28	1.49	0.8	0.13	0.66	0.93	0.16	0.42
Fl/Py	2.3	1.06	1.19	0.55	1.41	1.21	1.18	0.56

In addition, several studies, many of which were carried out in the framework of the MED POL programme, generated information on the levels of these substances in the marine environment. Reviews have been published in the MAP Technical Reports Series. UNEP/IOC(1988) (TRS no. 19) deals with petroleum hydrocarbons, UNEP/FAO/WHO/IAEA (1990) (TRS no. 39) with organohalogen compounds, UNEP/FAO/WHO (1989) (TRS no. 34) with cadmium while UNEP (1989) (TRS no. 28) is a report on the state of the Mediterranean marine environment.

Cadmium concentration in open-sea waters usually vary from 4 to 17 ng l⁻¹ but in certain areas it can be exceeded and may reach 150 ng l⁻¹. For sediments the background value is considered to be around 0.15 µg Cd kg⁻¹ DW but in areas receiving industrial and domestic effluents as well as in river estuaries much higher values have been recorded up to 50 µg Cd kg⁻¹ DW.

Concentrations in marine biota have been found to vary broadly depending on the species, its position in the food chain, the tissue analysed and the concentration and chemical species of cadmium in seawater. Table 8 includes average concentrations and standard deviation of cadmium (µg kg⁻¹ FW) in a number of Mediterranean species. The mean concentrations vary from 23-140 µg kg⁻¹. Similar problems of speciation and chemical analysis also occur with other metals which may become harmful under certain conditions, e.g. arsenic and chromium. As reviewed by FAO (1986) and Fowler (1990), concentrations of mercury in Mediterranean open seawater are in the 0.5-3.5 ng l⁻¹ range, with peaks of up to 20 ng l⁻¹ in coastal waters. In coastal sediments, concentrations ranging between 0.06 and 16.9 mg kg⁻¹ dry weight were reported in the Adriatic, the Saronikos Gulf in Greece and the Spanish coast.

Table 8

Average cadmium concentrations and standard deviation (µg kg⁻¹)
in Mediterranean marine organisms (UNEP/FAO, 1986)

SPECIES	NO. OF SAMPLES	MEAN	STANDARD DEVIATION
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	265	120	83
<i>Mytilus edulis</i>	10	85	34
<i>Donax trunculus</i>	16	80	26
<i>Nephrops norvegicus</i>	61	50	39
<i>Parapenaeus longirostris</i>	27	46	55
<i>Engraulis encrasicolus</i>	81	34	25
<i>Merluccius merluccius</i>	27	63	34
<i>Mugil auratus</i>	10	47	85
<i>Mullus barbatus</i>	318	34	28
<i>Mullus surmuletus</i>	218	140	83
<i>Thunnus alalunga</i>	38	23	6.5
<i>Thunnus thynnus</i>	111	38	43

Concentrations of total arsenic in marine Mediterranean fishes normally vary between 8 and 70 µg⁻¹ FW with only a few exceptions eg. 370 µg⁻¹ were recorded for *Sepia officinalis*. The concentrations in mussels collected within the pilot survey ranged from 11.00 to 18.6 µg⁻¹ in the Ebro delta, from 11.2 to 23.2 µg⁻¹ in the Ligurian Sea and from 0.91 to 491. µg⁻¹ in the Adriatic. A considerable variation was also observed in fish. In *Mullus barbatus*,

concentrations ranged from 34.6 to 74.2 $\mu\text{g l}^{-1}$ in the Ligurian Sea and from 21.9 to 160.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ in the Adriatic. Ranges recorded for other species were 7.54 to 61.7 $\mu\text{g l}^{-1}$ (*Merluccius merluccius*), 15.3 to 71.2 $\mu\text{g l}^{-1}$ (*Pagellus erythrinus*), 18.1 to 55.3 $\mu\text{g l}^{-1}$ (*Solea vulgaris*) and 2.04 to 15.2 $\mu\text{g l}^{-1}$ (*Diplodus annularis*), all in the Adriatic. Concentrations recorded in sediments ranged from 14.2 to 30.5 $\mu\text{g l}^{-1}$ in the Ebro delta and from 1.70 to 44.2 $\mu\text{g l}^{-1}$ in the Adriatic. Results are reproduced in Table 2 (Stegnar, 1991).

According to Falconer *et al.* (1983) the concentrations of total arsenic in biota from the North sea varied from <1 to 153 $\mu\text{g g}^{-1}$ but on a dry weight basis. The concentration in the fish, plaice, *Pleuronectes platessa* varied from 4 to 360 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW.

Dissolved chromium levels in various oceanic and sea regions are remarkably similar and are of the order of 150 ng l^{-1} . In the Mediterranean the levels vary between 160-180 ng l^{-1} (Sherrell and Boyle, 1988; Ruiz-Pino *et al.*, 1990). However, deep Pacific waters are highly loaded with Cr and the concentrations are of the order of 300-350 ng l^{-1} . In normally oxygenated waters, its dominant chemical form is Cr(VI) whereas in anoxic basins chromium is found as Cr(III). Chromium concentrations in sediments (60-100 mg kg^{-1} DW) are similar to those in the terrestrial crust, thus reflecting the lithogenic character of chromium. However, in areas polluted by industrial effluents, the concentrations may reach several grams per kg. Cr concentrations in biota vary between 1-3 mg kg^{-1} DW and are generally less than 5 mg kg^{-1} .

The concentration of zinc in seawater varies in the different oceans from 1-10 nM (65-650 ng l^{-1}). In sediments it varies with the type of sediment and the fraction analysed. Voutsinou-Taliadouri and Satsmadjis (1982) recorded 79 mg kg^{-1} in coarse sediment from Pagassitikos Gulf but 240 mg kg^{-1} in the fine fraction. Cosma *et al.* (1982) found the concentrations to vary from 94 to 250 mg kg^{-1} in uncontaminated sediments from the Ligurian sea.

The concentration of nickel in *Mytilus* varies between 1 and 14 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW (Fowler and Oregioni, 1976), while in crustacea and fish is even lower not exceeding 1 μg in most of the cases (Gilmartin and Revelante, 1975; Balkas *et al.*, 1982).

The main route of lead into the oceans is through the atmosphere. The concentration of lead in marine surface waters varies. Laumont *et al.* (1984) reported a concentration of 8 ng l^{-1} for the western Mediterranean and Morley *et al.* (1990) 8-45 ng l^{-1} for the Gulf of Lions. In coastal waters the concentrations are higher and may reach a few $\mu\text{g l}^{-1}$ in contaminated areas. In Thermaikos Gulf, where a tetraethyl lead industry is operating, concentrations of 3.5-21 $\mu\text{g l}^{-1}$ have been reported (Vassilikiotis *et al.*, 1982; Fytianos and Vassilikiotis, 1983).

Donazzolo *et al.* (1984) have reported background values for lead in sediments, derived from core samples, to be 23 $\mu\text{g g}^{-1}$. However, this value can be exceeded by 100 times in polluted areas. Lead concentrations in biota are normally less than 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW. Data collected through the MED POL programme indicated concentration in biota ranging from 0.07 to 1.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW.

No data could be traced for beryllium, except those reported by Tassi Pelati and Albertazzi (1983) for ^7Be in zooplankton from the Northern Adriatic sea (2.8-8.9 pCi g^{-1}).

Organohalogenes, especially PCBs and DDTs, have been determined in the Mediterranean marine environment since the initiation of the MED POL programme. A review of the information collected can be found in UNEP/FAO/WHO (1989). Table 9 summarized the data in marine biota by Mediterranean region.

Table 9

Chlorinated hydrocarbons ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) in Mediterranean marine organisms
(UNEP, 1985)

Region	Chlorinated Hydrocarbon	Species	No. of samples	Mean concentration	Special Deviation	Range	
II	PCB	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	17	307	266	22	- 1200
IV	"	" "	13	95	114	5	- 420
V	"	" "	159	84	221	5	- 2622
VIII	"	" "	12	62	12	40	- 80
II	"	<i>Mullus barbatus</i>	33	813	1496	30	- 8000
IV	"	" "	33	417	770	50	- 3950
V	"	" "	86	234	473	1	- 3117
VIII	"	" "	51	113	204	0	- 1110
IX	"	" "	6	9.3	19	0.4	- 52
X	"	" "	42	69	75	0	- 284
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	30	12.3	12.2	0	- 51
IX	"	" "	3	1.5	-	0	- 2.5
X	"	" "	11	31	57	0	- 157
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	12.3	12.2	0	- 51
V	"	" "	3	1.5	-	0	- 2.5
X	"	" "	11	31	57	0	- 157
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	87	17	60	- 110
V	"	" "	9	101	130	5	- 441
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	28	25	17	8	- 90
II	pp DDT	<i>Mullus barbatus</i>	27	28	35	8	- 170
IV	"	" "	33	23	17	6	- 89
V	"	" "	102	17	26	0.2	- 205
VIII	"	" "	51	23	25	4	- 110
IX	"	" "	17	38	29	0.5	- 92
X	"	" "	44	8	9	0	- 3

Table 9 (Continued)

Chlorinated hydrocarbons ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) in Mediterranean marine organisms
(UNEP, 1985)

Region	Chlorinated Hydrocarbon	Species	No. of samples	Mean concentration	Special Deviation	Range
II	pp DDT	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	113	22	23	3 - 150
IV	"	" "	12	7	5	1.2 - 17
VIII	"	" "	180	15	77	0 - 1014
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	343	362	25 - 1401
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	6	3	4 - 13
V	"	" "	11	9	11	0.5 - 40
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	31	1.7	1.4	0.2 - 5
IX	"	" "	6	1.6	0.7	0.4 - 2.6
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	29	0.9	1.4	0 - 6
II	"	" "	4	4.2	3.5	0.3 - 9
X	"	" "	10	0.1	0.2	0 - 0.8
II	Dieldrin	<i>Mullus barbatus</i>	11	6.2	5.3	0.5 - 19
IV	"	" "	9	6	3.6	0.5 - 12
V	"	" "	67	1.7	4.1	0.1 - 17
X	"	" "	35	0.4	1.1	0 - 35
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	2	3.5	-	1 - 6
IV	"	" "	6	2.8	2.6	0.5 - 6
V	"	" "	145	0.8	4.4	0.1 - 56
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	8	0.4	0.2	0 - 0.7
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.9	0.5	0.5 - 1.8
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	31	0.5	0.6	0 - 2.4
X	"	" "	4	3.1	4.5	0.4 - 10

Table 9 (Continued)

Chlorinated hydrocarbons ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) in Mediterranean marine organisms
(UNEP, 1985)

Region	Chlorinated Hydrocarbon	Species	No. of samples	Mean concentration	Special Deviation	Range		
II	Aldrin	<i>Mullus barbatus</i>	9	0.5	-	0.5	-	0.5
IV	"	" "	9	1.5	1.9	0.5	-	5
V	"	" "	5	0.5	0.4	0	-	1
X	"	" "	44	1.5	4.7	0	-	28
IV	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	6	2	2.1	0.5	-	5
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.6	0.2	0.5	-	1
X	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	5	1.6	2.8	0	-	6.5
IX	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	4	1.4	1	0	-	2.8
X	"	" "	11	0.2	0.6	0	-	2.2
II	Hexachloro-cyclohexane	<i>Mullus barbatus</i>	63	2.65	2.8	0.2	-	12
VIII	"	" "	4	3.9	8	0.8	-	50
IX	"	" "	5		3.9	1	-	11
V	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	43	1.1	1	0	-	5
VIII	"	" "	55	1.9	1.5	0.4	-	5
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	4	1.2	1.7	0	-	4
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	27	0.9	-	0	-	8
IX	"	" "	6	20	-	12	-	34
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	7	0.7	0.3	0.2	-	1.1
II	Lindane	<i>Mullus barbatus</i>	17	19	14	2	-	36
IV	"	" "	9	1.5	1.4	0.5	-	5
V	"	" "	62	0.7	0.9	0	-	3.8

Table 9 (Continued)

Chlorinated hydrocarbons ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) in Mediterranean marine organisms
(UNEP, 1985)

Region	Chlorinated Hydrocarbon	Species	No. of samples	Mean concentration	Special Deviation	Range		
II	Lindane	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7	4.8	6	0.5	-	20
IV	"	" "	6	1.7	0.9	0.5	-	3
V	"	" "	36	0.4	0.4	0	-	2
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	4	19	14	2	2	36
V	"	" "	27	0.2	-	-	-	-
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.5	-	-	-	-
II	pp DDD ¹	<i>Mullus barbatus</i>	12	38	52	0	-	180
V	"	" "	5	28	40	2.2	-	107
VIII	"	" "	78	14	25	0	-	140
IX	"	" "	17	18	14	0	-	44
X	"	" "	44	1.6	3.8	0	-	21
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	108	15	13	5	-	125
V	"	" "	11	49	124	0	-	440
VIII	"	" "	90	7	7	0	-	45
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	107	98	5	-	117
VIII	"	" "	4	323	422	26	-	1052
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	3	7	6	2	-	15
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	10	9	1.2	-	26
IX	"	" "	6	4.2	3.7	0	-	10
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	29	0.8	1.4	0	-	7
IX	"	" "	4	2.2	1.3	0.5	-	4.2
X	"	" "	11	0.4	0.8	0	-	2.7

Table 9 (Continued)

Chlorinated hydrocarbons ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) in Mediterranean marine organisms
(UNEP, 1985)

Region	Chlorinated Hydrocarbon	Species	No. of samples	Mean concentration	Special Deviation	Range		
II	pp DDE ¹	<i>Mullus barbatus</i>	34	29	14	11	-	70
IV	"	" "	33	33	18	7	-	93
V	"	" "	43	8	12	0.1	-	75
VIII	"	" "	88	33	39	1	-	255
IX	"	" "	16	53	42	0.9	-	117
X	"	" "	44	15	12	2	-	67
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	114	13	9	2.2	-	42
IV	"	" "	13	6	4	2	-	17
V	"	" "	145	5	13	0.1	-	110
VIII	"	" "	99	10	12	1	-	75
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	352	415	23	-	1582
VIII	"	" "	4	601	659	161	-	1737
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	11	3	6	-	15
V	"	" "	10	12	12	0.1	-	33
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	36	24	14	-	72
V	"	" "	4	2.5	30	0.1	-	6.2
VIII	"	" "	3	23	3	20	-	26
IX	"	" "	7	22	15	0.3	-	45
X	"	" "	4	3.1	3.5	0.7	-	8
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	28	3.8	1.8	1.1	-	8
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	31	1.6	5	0	-	25
IX	"	" "	4	3.1	1.6	1	-	5.4
X	"	" "	11	1.5	2.6	0	-	9

Analytical problems complicate the comparison of data generated by different laboratories. Moreover, concentrations in seawater of several components of this chemical family are below detection limits or too low for a quantitative determination. PCB concentrations in seawater samples ranged between 0.2 and 38 ng l⁻¹. In the Northern Adriatic coastal waters most samples were below the detection limit for PCB (0.1 ng l⁻¹) and p,p'-DDT (0.05 ng l⁻¹). Lindane levels off-shore in the Eastern basin range from 0.06 to 0.12 ng l⁻¹, with higher concentration in particulate matter than in the dissolved phase (UNEP, 1989, UNEP/FAO/WHO/IAEA, 1990). Although PCBs remain an important class of halogenated pollutants in the Mediterranean, comparable data showed that a decrease of their concentration in seawater has occurred with years, presumably as a consequence of restrictions of industrial discharges in many countries. In the meantime, however, other chlorinated hydrocarbons such as lindane and hexachlorobenzene are acquiring a growing importance in the Mediterranean area (Burns *et al.*, 1985). Concentration of PCBs in open sea sediments in the Mediterranean were in the 0.8-9.0 µg kg⁻¹ range, whereas those in coastal sediments were affected by "hot spots", such as sewage outfalls, accounting for concentrations in the order even of few mg kg⁻¹. Mean concentrations in coastal sediments from the Central Mediterranean were in the 4.5-390 µg kg⁻¹ range for p,p'-DDT and in the 0.1-2.5 µg kg⁻¹ range for hexachlorocyclohexane (HCH). Again, the recorded levels were affected by occurrence of "hot spots" in the analyzed areas (UNEP, 1989; UNEP/FAO/WHO/IAEA, 1990). The same is true for data concerning Mediterranean biota, with PCBs means ranging from 1.5 to 815 µg kg⁻¹, as mainly assessed in the mussel and the red mullet (*Mullus barbatus*). The highest levels of organochlorine pesticides were observed in tuna (*Thunnus thynnus*). The observed ranges were 0.1-343 µg kg⁻¹ for p,p'-DDT, 0.4-325 µg kg⁻¹ for p,p'-DDD, 1.5-600 µg kg⁻¹ for p,p'-DE, 0.4-6.2 µg kg⁻¹ for dieldrin, 0.2-2 µg kg⁻¹ for aldrin, 0.7-20 µg kg⁻¹ for hexachlorocyclohexane, and 0.4-19 µg kg⁻¹ for lindane (UNEP, 1989). High levels of halogenated hydrocarbons were detected in cetaceans in the Mediterranean (UNEP, 1989). Limited data are also available for either herbivorous or fish-eating bird species living in Mediterranean coasts (Llorente *et al.*, 1991).

The concentrations of various halogenated hydrocarbons, i.e., PCBs, PCCs (Toxaphene), Mirex, DDT isomers, hexachlorobenzene (HCB), and hexachloro-cyclohexane (HCH) isomers, were analysed by Kanitz *et al.* (1990) in *Mullus barbatus*, *Xiphias gladius* and *Mytilus galloprovincialis* in various areas of the Ligurian Sea. With the exception of delta-HCH and Mirex, all the pollutants were consistently found in the samples analysed, with remarkable quantitative variations depending on the organisms, the sampling locality and the season. Results are given in Table 3.

Within the framework of the same pilot project, a number of marine organisms, as well as sediments, from the Ebro delta and the coast of Barcelona were analysed for PCBs (individual congeners), organochlorine pesticides, and PAHs. A number of aromatic amines were also identified in sediments. Samples of fish and mussels collected from the Ligurian Sea (*vide* Table 3) were also cross-analysed (Albaigés and Bayona, 1991).

A total of 18 individual PCB congeners were determined (in the framework of the pilot survey) in tissues of *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus*. In general, the latter species exhibited a higher burden than the former, comparing species collected from the same area. The pattern of distribution of PCB congeners on these two species differed from that observed in eggs of the marine bird *Ardea purpurea*. Results are given in Table 5. The total PCB values found in *Mytilus* and *Mullus* species during the present study were lower than those quoted in reports published during the last decade and, assuming the inter-comparability of analytical procedures, this could afford an indication of reductions in the emission of these compounds into the coastal areas in question.

A total of 20 organochlorine pesticides were also systemically determined. Results are given in Table 6. In most cases, a generally cosmopolitan distribution was found, reflecting a widespread scale of pollution, though in the case of some DDT isomers, HCHs and HCB, concentrations were lower than those reported in earlier literature.

An extensive literature is available on the presence of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems, and the number of reported data has also been steadily increasing for the Mediterranean area during the last 10 years, mainly as a result of the activities generated by MED POL projects. In general, dissolved/dispersed petroleum hydrocarbons (DDPH) in off-shore Mediterranean waters have concentrations below $10 \mu\text{g l}^{-1}$, the aliphatic fraction of petrogenic hydrocarbons being more abundant than the aromatic one. DDPH concentrations are much higher, i.e., above $10 \mu\text{g l}^{-1}$ near the shore, particularly near industrialized areas or river mouths (UNEP, 1989). Comparing DDPH data reported for other regions, the distribution of results in Mediterranean regions suggested the presence of two different groups, with concentrations lower and higher than $0.4 \mu\text{g l}^{-1}$, respectively (IOC, 1981). Available data on pelagic tar show that, between 1969 and 1983, mean concentrations in the Mediterranean ranged from 0.5 to 130 mg m^{-2} , the Ionian Sea being the most polluted area. Normal values for off-shore areas appear to be up to 5 mg m^{-2} , while in nearshore waters concentrations are in the 10 - 100 mg m^{-2} range (UNEP/IOC, 1988). The mean amounts of tar on Mediterranean beaches ranged between 0.2 and 4388 g m^{-2} (Golik, 1986). Similar to floating tars, the tar on beaches tended to decrease drastically during the last years, as a consequence of prohibition since 1978 of oily water deballasting and release of oily compounds into the sea (UNEP/IOC, 1988). Too few data are available to obtain a distribution pattern of petroleum hydrocarbons in the Mediterranean sediments. In general, the analytical results so far reported suggest a moderate contamination of sediments, compared with other regions (UNEP/IOC, 1988). Very few studies are available for petroleum hydrocarbons in Mediterranean marine organisms, most of them sampled from the Spanish coast. Mussels contained much higher concentration than fish collected from the same area. The levels found in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Ebro delta were in the order of 100 - $300 \mu\text{g g}^{-1}$ (Risebrough *et al.*, 1983), which are equivalent to those recorded in the most polluted harbours and bays of California analyzed by the same technique.

Concentrations of a number of Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mussels were analysed from 13 sites along the Ligurian coast between 1989 and 1991 (Piccardo and Valerio, 1991). PAHs analysed were Anthracene, Pyrene, Fluoranthene, Benzo(a)anthracene, Benzo(b)fluoranthene and Dibenzo(a,h) anthracene. Concentration of each PAH showed wide variations between the different sites. Results are given in Table 4.

In the case of PAHs, a variety of parent compounds ranging from 3 to 6 aromatic rings and their alkylated derivatives were identified in *Mytilus galloprovincialis* and in sediments. Environmental levels were generally comparable with others previously reported from the Mediterranean region. Results are given in Table 7, where the ratio between parent and monoalkalated phenanthrenes reflects the contribution of pyrolytic versus fossil sources of pollution. The latter were more predominant in samples from areas under river influence. Conversely a significantly high predominance of pyrolytic sources was evident in the rest of the sampling sites.

4. ASSESSMENT OF RISK TO MARINE ORGANISMS

4.1 Effects on Marine Organisms

In evaluating the possible harmful effects of pollutants on marine biota, the route of exposure should be taken into account along with toxicokinetic and metabolic features inherent to the pollutant itself and to the complexity of the host organism machinery. Exposure of fish may occur either by the respiratory route following absorption of waterborne chemicals through the gills or by the digestive route through ingestion of dietary chemicals. Accordingly, the different distribution of pollutants in the water and in the diet is a critical factor affecting toxicokinetics in fish and its susceptibility to harmful substances, which should be kept in mind in the interpretation of both laboratory and field studies. While there are some phylogenetic variations in metabolic pathways, the responses in fish actually mimic those in mammals very closely (Hodson, 1987). For this reason, as it will be discussed in next sections, long-term effects in fish are largely comparable with those occurring in mammals.

4.1.1 Metabolic effects

The earliest warning signal of exposure of marine organisms to potentially harmful pollutants is the induction of those metabolic pathways which are responsible for their biotransformation in host cells. It is well known that most xenobiotics undergo various pharmacokinetic and metabolic processes in the organism, which in principle tend to transform non-polar (lipid-soluble) compounds into more polar (water-soluble) derivatives, thereby favouring their excretion from the organism. However, the same mechanisms often lead to activation of inert precursors (procarcinogens/ promutagens/proteratogens) into intermediate (proximate) and ultimate metabolites, which in virtue of their electrophilicity can bind covalently nucleophilic sites of DNA and other cell macromolecules (e.g., RNA or proteins), thereby forming carcinogen-DNA or carcinogen-protein adducts. The balance between activating and deactivating mechanisms is extremely delicate and is governed by intricate biochemical reactions, often interconnected or in cascade-like sequence, which mainly occur in the endoplasmic reticulum (microsomal fractions), but also in the soluble fraction of the cytoplasm (cytosolic fractions), or in other cell structures, e.g., in mitochondria or in nuclei themselves. Without going into detail, two broad groups of reactions are involved, also in aquatic organisms, i.e., phase I reactions, such as oxidation, reduction, and hydrolysis, leading to creation of new functional groups (Buhler and Williams, 1989), and phase II reactions, involving conjugation of phase I products with endogenous polar or ionic moieties, consisting of large chemical groups or entire compounds, such as sugars or amino acids (Foureman, 1989). A central role in biotransformation is played by mixed-function oxygenases (MFO), having cytochromes P450, a family of iron-containing heme proteins, as the terminal oxidase. The levels of cytochrome P450 and of benzo(a)pyrene hydroxylase activity in liver microsomes of various marine species are reported in Table 10.

Table 10

Hepatic microsomal cytochrome P450 and benzo(a)pyrene (BaP)-hydroxylase activities of marine species. Reproduced from Buhler and Williams (1989).

SPECIES	Cytochrome P-450 (nmol/mg protein)	BaP-hydroxylase	
		(nmol/min/mg protein)	FU ¹ /min/mg protein)
TELEOSTS			
Scup	0.62	0.69	-
	0.61	1.23	-
	0.27	3.0-3.8	3.1
Sheepshead	-	0.28	-
Coho salmon	-	0.13	-
	-	0.12	-
	-	0.027	-
Mullet	0.047	-	2.9
	-	0.053	-
Starry flounder	-	0.040	-
Mangrove snapper	0.025	-	6.3
Pigfish	-	-	5.1
Mummichog	-	-	4.1
Sea bass	-	-	3.6
Winter flounder	0.17	-	2.54
	0.12-0.60	-	0.7-6.4
Sculpin	-	0.90	-
Black drum	0.15	-	0.53
Codfish	-	-	0.51
Southern flounder	0.11	-	0.25
Eel	-	0.21	-
Mackerel	-	-	< 0.07
King of Norway	-	-	0.004
ELASMOBRANCHS			
Nurse shark	0.47	-	1.4
Atlantic stingray	0.50	-	0.77
Large skate	0.29-0.36	-	0.30
Little skate	0.32	-	0.17
Bluntnose ray	0.30	-	0.15
Thorny skate	-	-	0.12
Dogfish shark	0.23-0.29	-	0.07
Southern stingray	0.31	-	ND ^b
CRUSTACEA^c			
Crabs:			
<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

SPECIES	Cytochrome P-450 (nmol/mg protein)	BaP-hydroxylase	
		(nmol/min/mg protein)	FU ^a /min/mg protein)
Crabs: (Continued...) <i>Una minax</i> <i>U. pugilator</i>	0.06-0.14 0.09-0.16	- -	ND-0.001 ND
Lobsters: <i>Homarus americanus</i>	- - -	- - -	0.025-0.065 n.d.-0.02 < 0.01
Spiny Lobster: <i>Panulirus argus</i>	0.91	-	0.03
MOLLUSCA^e			
Barnacle: <i>Balanus eburneus</i>	0.11	0.043	-
Mussel: <i>Mytilus galloprovincialis</i> <i>M. edulis</i>	0.047 0.047 0.134	0.024 0.054 0.019-0.031	- - -
Periwinkle: <i>Littorina littorea</i>	-	0.046	-
Snail: <i>Tegula funebris</i> <i>Thais haemastoma</i>	- -	0.073 0.001-0.013	- -
Softshell clam: <i>Mya arenaria</i>	-	-	ND
European oyster: <i>Ostrea edulis</i>	-	-	ND
OTHER PHYLA			
Starfish:^e <i>Asterias sp.</i>	-	-	0.08
Sea urchin: <i>Strongylocentrotus sp.^e</i> <i>S. purpuratus^f</i>	- -	- -	0.08 0.040
Lugworm:^f <i>Arenicola sp.</i>	-	-	ND

^a Activity expressed in fluorescence units (FU) defined somewhat by different authors; for example, 1 FU is the fluorescent intensity of hydroxylated BaP metabolites at excitation wavelength 400 nm and emission wavelength 525 nm that is equal in fluorescent intensity to a solution of 3 µg of guinine sulfate per millilitre in 0.1 N H₂SO₄.

^b ND, not detected

^c Hepatopancreas

^d Male (M) and female (F)

^e Digestive gland

^f Larvae

Two main features of MFO and of other xenobiotic-metabolizing activities are worthy of attention in marine biota, with reference to the problem of marine pollution. The first one is that the "constitutive" levels of these enzymes vary not only according to the animal species and strain, but also at the individual level (Lech and Vodcnik, 1984). Typical promutagens and procarcinogens, such as aflatoxin B1 (Loveland *et al.*, 1987) and benzo(a)pyrene (Varanasi *et al.*, 1986) are known to be bioactivated by fish liver. In any case, a broad variability of the responsible enzyme activities occurs among different marine vertebrate species (Bend and James, 1979; Funari *et al.*, 1987), also as a function of sex and of the year period (Buhler and Williams, 1989; Lafaurie *et al.*, 1989). Fish is also able to repair DNA damage, as shown for instance by the presence of O⁶-methylguanine DNA methyltransferase at levels comparable to those of rodents (Nakatsuru *et al.*, 1987). This enzyme plays an important role in repairing the lesions produced by alkylating chemicals, such as N-nitroso compounds, which are carcinogenic also in fish (see section 4.1.2).

In general, many invertebrates have a very low inherent capability for xenobiotic transformation (James, 1989). However, the MFO system has been reported in 18 species of marine invertebrates belonging to 4 phyla (Annelida, Arthropoda, Echinodermata and Mollusca). This multi-component system is located in the endoplasmic reticulum of various tissues, such as the stomach, hepatopancreas and green gland of crustaceans, and the intestine of polychaetes (Lee, 1981). Although molluscs, such as mussels, clams, and oysters, can attain very high body burdens of contaminants in polluted environments, the results of metabolic studies have been somewhat conflicting (James, 1989). In some studies typical spectra of cytochromes P450 were detected in digestive gland and gills of bivalve species, such as *Mytilus edulis*, *Macrocallista maculata* and *Arca zebra*, with highest levels of P450 and rate of benzo(a)pyrene metabolism in the digestive gland (Stegeman, 1985). However, cytochrome P450-dependent benzo(a)pyrene hydroxylase activity could not be detected in these marine bivalves, as confirmed in several studies (Britvic and Kurelec, 1986). On the other hand, the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* was found to possess a FAD-containing MFO capable of activating aromatic amines, but not benzo(a)pyrene, as well as detoxifying enzymes, such as UDP-glucuronyl transferase and b-glucuronidase (Kurelec *et al.*, 1986). Some *in vivo* studies have shown that PHA metabolites are poorly excreted by certain marine invertebrates, which could therefore be dietary sources of potentially bioactive metabolites, even in the absence of parent compounds (James, 1989).

The second outstanding feature of carcinogen-metabolizing enzymes is that their activities can be modulated by exogenous factors, including dietary and environmental factors. This phenomenon is well known to occur in mammals and is also well established in marine organisms. In particular, induction by xenobiotics of MFO activities in fish liver, but also in other tissues or marine biota, has been investigated in a large number of laboratory or field studies carried out worldwide, including the Mediterranean area. Typical harmful pollutants, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), polychlorinated biphenyls (PCB), polybrominated biphenyls (PBB), and petroleum hydrocarbons are quite effective in inducing MFO and other enzyme activities. MFO stimulation is generally accompanied by a less pronounced increase in total cytochromes P450. Monitoring of these biochemical parameters has been proposed as a tool for discriminating the quality of the aquatic environment and as an early warning system for assessing the impact of harmful pollutants. Such a "fast" adaptive response can be followed, after a prolonged exposure, by a "slow" adaptive response leading to fish liver hyperplasia (see Payne, 1984, and Payne *et al.*, 1987, for reviews).

Examples of induction of enzyme activities in fish caught from polluted Mediterranean seawaters or river waters include: stimulation of arylhydrocarbon hydroxylase (AHH) activity in

blenny (*Blennius pava*) exposed to an oil spill (Kurelec *et al.*, 1977) or to the effluent of a petroleum industry (Rijavec *et al.*, 1981) in the Adriatic Sea, or in chub (*Leuciscus cephalus*), barbel (*Barbus barbus*), and nase (*Chondrostoma nasus*) living in the polluted river Sava in Yugoslavia (Kezic *et al.*, 1983); enhancement of AHH, glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase, shift on the left of cytochromes P450, and decrease of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase in annular seabream (*Diplodus annularis*) living in a polluted portual environment in the Ligurian Sea (Bagnasco *et al.*, 1991). In the same study, seawater pollution markedly enhanced the metabolic activation by liver preparations of benzo(a)pyrene-trans-7,8-diol and of the arylamine 3-amino-1-methyl-5H-pyrido(4,3) indole (Trp-P-2), and at the same time decreased their ability to detoxify the direct-acting mutagen 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl) aminopropylamino]acridine (ICR 191). A considerable liver hyperplasia was also observed. Of particular interest was the follow-up of benzo(a)pyrene monooxygenase (BPMO) recorded in blenniidae at a hospital site near Rovinj, in the Northern Adriatic, before and after the New Year 1977 oil spill accident (Kurelec *et al.*, 1977). An interlaboratory group, referred to as GICBEM has been created in France and Italy, with the objective of monitoring activities of bioprotection systems of marine organisms representative of coastal ecosystems in the Mediterranean Sea. Preliminary data concerning a MFO activity, the ethoxyresorufin- O-deethylase (EROD), and the detoxifying enzymes epoxide hydrolase and glutathione S-transferase in the red mullet (*Mullus barbatus*) and in Serranidae (*S. scriba* and *S. cabrilla*) caught from the French Mediterranean coastal area and Corsica, appear to indicate a correlation between EROD activity and the supposed levels of local pollution (Lafaurie *et al.*, 1989).

Fish also possess detoxification mechanisms against inorganic pollutants, such as metals. One of these is due to the presence of metallothioneins, i.e., proteins binding certain heavy metals, whose presence in fish liver has been shown to be enhanced as an adaptive response to metal pollution (Roch *et al.*, 1982). Hexavalent chromium is reduced to the non-toxic trivalent form by fish skin and gill mucus, depending on protein-bound sulfhydryl groups (Arillo and Melodia, 1990), and the same process is accomplished in fish liver, as shown both in *Salmo gairdneri* (De Flora *et al.*, 1982) and *Diplodus annularis* (Bagnasco *et al.*, 1991), via both non-enzymatic (e.g., reduced glutathione) and inducible enzyme-catalyzed mechanisms.

In marine invertebrates having low or undetectable enzyme activities, several studies were consistent with a poor inducibility by environmental factors, as assessed in mussels (*Mytilus edulis*), clams (*Mya arenaria*), lobsters (*Homarus americanus*), sea urchins (*Strongylocentrosus droebachiensis*), snails (*Littorina littorea*), sandworms (*Nereis* spp.) and sea stars (*Asterias* spp.) (Payne, 1977; Payne *et al.*, 1983; Moore *et al.*, 1989), as well as in sponges (Zahn *et al.*, 1982). A slight induction was observed in oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to PCBs (Anderson, 1977) and in mussels exposed to PCBs and PBBs (Payne *et al.*, 1983). An elevation of cytochromes P450 was detected in sandworms (*Nereis* spp.), fiddler crabs (*Uca pugilator* and *Uca rapax*) and blue crabs (*Callinectes sapidus*) exposed to oil spills (Lee *et al.*, 1981), and in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) living in hydrocarbon polluted seawater (Gilewicz *et al.*, 1984). Moreover, an enhancement of NADP-neotetrazolium reductase activity occurred in the blood cells of mussels and littorines collected from an oil-polluted area (Moore, 1985), and an enhancement of cytochrome P450 and cytochrome b5 occurred in the digestive gland of mussels exposed to diesel oil (Livingstone, 1985). All the aforementioned studies have monitored biota living outside the Mediterranean area. Recently, Kurelec and Krca (1989) investigated the presence of glucuronides, the major end-products of the metabolism of most carcinogenic chemicals, in natural populations of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from

polluted and unpolluted areas in the Northern Adriatic. However, they concluded that the mutagenicity testing of mussel glucuronides and of the corresponding aglucones does not seem to be useful as a biomonitor of aquatic carcinogens. Therefore, on the whole, in spite of their convenience as test organisms, invertebrates appear to be less sensitive than fish as metabolic indicators of exposure to harmful pollutants. Nevertheless, Rodriguez-Ariza *et al.* (1990) found significantly increased activities of some detoxifying enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione transferase and glutathione peroxidase isozymes, and cytochrome P450) and ancillary enzymes (glutathione reductase and glucose 6-phosphate dehydro-genase) not only in fish (*Mugil* spp.) but also in mollusc species (*Chamaelea gallina*, *Ruditapes decussata*, and *Crassostrea gigas*) living in contaminated areas of Spanish (Andalusian) coastal waters.

The results reviewed indicate that induction of MFO or other xenobiotic-metabolizing enzyme activity is a sensitive index of pollution. These enzyme systems may either act as a protective mechanism or as an activation system for producing carcinogenic intermediate species. In addition, they may affect accumulation and bio-availability in edible marine organisms.

4.1.2 Carcinogenic effects

4.1.2.1 Experimental carcinogenicity studies

Animal carcinogenicity assays, which are usually performed in rodent species, provide an useful tool complementing or supporting the conclusions of epidemiologic studies in humans. Likewise, carcinogenicity assays in fish or other marine organisms may prove useful either as an experimental model predictive of carcinogenicity in humans and/or as a target for assessing the harmful effects of marine pollutants in marine organisms themselves. The factors influencing experimental carcinogenesis in laboratory fish models have been reviewed (Bailey *et al.*, 1989). As already reported in section 2, fish has been also successfully used in anti-carcinogenicity studies, evaluating the cancer-protective properties of certain inhibitors.

Few carcinogenicity studies have been performed in aquatic invertebrates. Three types of neoplasms were induced in freshwater mussels treated with *N*-nitroso compounds (Khudoley and Sirenko, 1978). Suspicious lesions were observed in oysters exposed to both polycyclic aromatic hydrocarbons and diethylnitrosamine (Couch *et al.*, 1979; Winstead and Couch, 1988), and renal neoplasms developed in oysters experimentally exposed to heavily contaminated sediments (Gardner *et al.*, 1988). It is rather intriguing that in one case only (Khudoley and Sirenko, 1978) a blood-cell proliferative disorder was experimentally induced, such a disease being the most common neoplasm found in molluscs under natural conditions (see section 4.1.2.2).

A partial list of chemical compounds or complex mixtures that have been tested in marine or freshwater fish species under laboratory conditions is reported in Table 11 (Couch, 1989). This list also includes several compounds of anthropogenic source polluting seawater, sediments, and biota, which have been classified as potential carcinogens in section 3.1.2. It is evident that the results obtained in fish are similar to those obtained in mammalian species (Couch and Courtney, 1987; Hinton *et al.*, 1988; Prince Masahito *et al.*, 1988), which presumably reflects the analogies between fish and mammals in metabolizing carcinogens (see section 4.1.1).

Table 11

Spectrum of agents and agent types tested in fish carcinogen system.
Reproduced from Couch (1989)

COMPOUNDS	REPRESENTATIVE REFERENCES
Aromatic Amines Acetylaminofluorene (+) ¹	Pliss and Khudoley, 1975; Sato <i>et al.</i> , 1973
Azo Compounds 0-aminoazotoluene (+) 4-dimethylaminoazobenzene (+) Aminotriazole	Halver, 1967; Hatanaka <i>et al.</i> , 1982; Pliss and Khudoley, 1975
Halogenated Organic Compounds² Bis(2-chloroethyl)ether (S) Bromodichloromethane (m) Bromoform (m) Carbon tetrachloride (m,s) (+) Chlorodibromomethane (m) Chloroform (m) Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) (s) (+) Ethylene dichloride (s) Pentachlorophenol (s) Trichloroethylene (s)	Halver, 1967; Hawkins <i>et al.</i> , 1988; Walker <i>et al.</i> , 1985
Mycotoxins Aflatoxin B-1 (+) Aflatoxin G.1 (+) Aflatoxin L/L-1 (+) Aflatoxin M-1 (+) Aflatoxin Q-1 (+) Sterigmatocystin (+) Versicolorin A (+) Ochratoxin 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 & Sugimura, 1976; Sato <i>et al.</i> , 1973; Schoenhard <i>et al.</i> , 1981; Sinnhuber <i>et al.</i> , 1974; Wales and Sinnhuber, 1972; Wolf & Jackson, 1967
N-Nitroso Compound N-nitrosodiethylamine (+) N-nitrosodimethylamine (+) Nitrosomopholine (+) N-Methyl-N-nitrosourea (+) N-Ethyl-N-nitrosourea (-) Dibutyl nitrosamine (-) N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (+)	Aydrin and Bulay, 1983; Couch & 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 and Chasar, 1984; Kyono-Hamaguchi, 1984; Pliss and Khudoley, 1975; Sato <i>et al.</i> , 1973; Schwab <i>et al.</i> , 1978a,b; Schultz and Schultz, 1984; Simon and Lapis, 1984; Stanton, 1965
Plant Derivatives Braken (-) Cyclopropenoid fatty acids (+) Cycad nut meal (+) Cysasin (-) Gossypol (-) Methylmazoxy methanol acetate (+) Pyrrolizidine (<i>Senecio</i>) alkaloids (-)	Aoki and 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

COMPOUNDS	REPRESENTATIVE REFERENCES
<p>Polynuclear Aromatic Hydrocarbons</p> <p>Benzo (a)pyrene (+) 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (+) 3-methylcholanthrene (+)</p>	<p>Ermer, 1970; Hendricks <i>et al.</i>, 1982, 1985; Kimura <i>et al.</i>, 1984; Pliss and Khudoley, 1975; Schultz and Schultz, 1984</p>
<p>Miscellaneous Compounds</p> <p>â-aminoproprinoitrile (-) Benzidine (?) Carbarzone (+) Diethylstilbestrol (+) Nifupirinol (+) Nifurpirinol (+) Tannic acid (+) Thioacetamide (-) Thiourea (+) Trifluralin (-) Urethane (+)</p>	<p>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 and Khudoley, 1975</p>
<p>¹ (+) - neoplasia experimentally induced on one or more fish species (-) - no neoplastic lesions experimentally induced (?) - possible neoplastic, but results equivocal</p> <p>² Agents tested singly (2) or in mixtures (m)</p>	

From a mechanistic point of view, it is of interest to note that studies using hybrids of freshwater fish suggested that a tumour gene, denominated Tu, which is present on distinct sites of specific chromosomes, may work as a suppressor gene in fish somatic cells. The molecular mechanism of carcinogenesis may involve an alteration of regulatory genes, leading to a depression of Tu, which may arise from translocations, deletions, and crossovers in key structural chromosomes and retroviral oncogene-related sequences (Anders *et al.*, 1984).

4.1.2.2 Field studies

Neoplastic diseases have been observed in a wide variety of aquatic animals, including bivalve molluscs, amphibians, bony fish and sharks (Payne and Rahimtula, 1989). The earliest observations were made in 1964 by Dawe *et al.*, who detected hepatic neoplasms in bottom-dwelling species of fish collected from Deep Creek Lake (MD, USA) and suspected an association with chemical pollution. Neoplasia in aquatic organisms has been even proposed as an indicator for carcinogenic hazards to man (Black, 1984). The biology and pathogenic significance of these tumours have recently been comprehensively discussed (GESAMP, 1992).

Among marine invertebrates, oysters, clams, and mussels have been reported to suffer from presumed epizootic neoplastic diseases in a number of studies (reviewed, e.g., by Lauckner, 1983; Sparks, 1985; Couch and Harshbarger, 1985; Mix, 1986; Bolognesi, 1989; Baumann, 1989; Couch, 1989). The reported tumours were of gonadal (ovarian and testicular) origin and, chiefly, of presumed blood cell origin. The latter tumours, which are comparable to leukemia forms in mammals, have variously been called sarcomas, hematopoietic neoplasms, or blood-cell proliferative disorders. A gill carcinoma has been also described in clams. Overall prevalences have ranged from 1 per 5,000 oysters examined to 8-12% of several hundred clams, oysters, or mussels (Couch, 1989). Suggested possible causes included genetic predisposition (Couch and Harshbarger, 1985), C-type retroviruses (Oprandy *et al.*, 1981), and

carcinogenic chemicals (Khudoley and Syrenco, 1978). However, it is noteworthy that neoplasms have been found in bivalve molluscs collected from both contaminated and clean coastal waters (Lauckner, 1983; Couch and Harshbarger, 1985; Mix, 1986). Excepting the observation of blood tumours in European oyster specimens collected from Yugoslav coastal waters (Alderman *et al.*, 1977), all remaining reports refer to areas outside the Mediterranean, such as North Europe (England and Ireland), Japan, Australia, South America (Chile), Canada, and especially USA (Atlantic or Pacific coasts, and Gulf of Mexico) (Bolognesi, 1989; Couch, 1989).

Similarly, studies on the occurrence of neoplastic lesions in populations of marine bony fishes have been all carried out in areas other than the Mediterranean. Table 12 summarizes the findings obtained in North America and Japan (Couch, 1989). Further data are available, e.g., for Australia (Hard *et al.*, 1979), Ireland (Mulcahy, 1976), Sweden (Ljunberg, 1976; Falkmer *et al.*, 1976 and 1977), The Netherlands (Eggens and Vethaak, 1989). The prevalence of tumours in a variety of fish species ranged from 0 to 32% for hepatic tumours, from 0 to 58.6% for epidermal papillomas, from 0.01 to 2.8% for oral papillomas, from 0 to 47.3% for chromatophoromas, from 0.1 to 16% for lymphosarcomas, and from 0 to 11.4% for pseudobranchial tumours. More limited observations were made available in individual studies on epidermal carcinomas (0.03%), fibrosarcomas (0.7%), lipomas and osteomas (0.05%). It is clear that, in analogy to mammals, all these figures are affected by genetically determined interspecies, interstrain, and interindividual variations, as well as by environmental factors.

The tumours observed in fish have been variously ascribed to genetic factors, infective agents (viruses, parasites, or unspecified agents), specific chemical compounds, or pollution in general. Often, no association with suspected etiological agents could be pointed out. The suspected origin varied with the tumour type. Thus, viruses were suspected of being responsible for all lymphosarcomas, which is consistent with the notion that RNA viruses cause lymphomas and sarcomas in mammals. Infective agents were also suspected to play a role in almost half of the studies concerning epidermal papillomas. Liver tumours were conversely ascribed in almost all studies to pollution of seawater and/or sediments. Exposure of the liver to ingested substances has been associated, both in experimental and field studies, with various liver diseases, including hepatic neoplasms, such as hepatocellular carcinoma and cholangiolar carcinoma, and other hepatic lesions, such as cholangiofibrosis (adenofibrosis), spongiosis hepatitis, extreme fatty degeneration, and necrosis (Couch, 1989). The numerous studies carried out over the past 15 years in bottom-dwelling species having restricted territorial habits, such as Pleuronectids (flatfish), caught from the Puget Sound body water, are paradigmatic to this respect. It is demonstrative that none of the more than 300 specimens collected from unpolluted areas had liver tumours, whereas the 1.1-32.3 % of the specimens collected from Puget Sound areas receiving urban and industrial discharges was affected by the disease. A large variety of inorganic and organic chemicals was detected in the sediments of polluted areas, which, especially in the case of aromatic hydrocarbons, correlated with the prevalence of hepatomas. Moreover, the prevalence of hepatomas also correlated with the concentration of PAH metabolites in fish bile (Krahn *et al.*, 1986).

Table 12

Historic and significant occurrences of neoplastic lesions in marine bony fish from North America and the Pacific basin. Reproduced from Couch (1989)

HOST SPECIES	NEOPLASTIC LESIONS	GEOGRAPHICAL LOCATION	SOURCE
<i>Genyonemus lineatus</i> (white croaker)	Oral papillomas, epidermal papillomas, hepatic neoplasms	Southern California	Russel and Kotin, 1957; Young, 1964; Mearns and Sherwood, 1974, 1977; Malins <i>et al.</i> , 1988
<i>Pseudopleuronectes americanus</i> (Dover sole)	Epidermal papillomas	Southern California	Young, 1964; Mearns and Sherwood, 1977
<i>Mugil cephalus</i> (striped mullet)	Fibrosarcoma	Northern Gulf of Mexico	Edwards and Overstreet, 1976
Pleuronectids (flatfish)	Epidermal papillomas; lesions of internal organs, incl. hepatic neoplasms	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
Pleuronectids (flatfish)	Epidermal papillomas	Japan, Hokkaido Island	Oishi <i>et al.</i> , 1976; Stich <i>et al.</i> , 1977a, 1977b
<i>Microgadus tomcod</i> (Atlantic tomcod)	Hepatic neoplasms	Hudson River estuary	Smith <i>et al.</i> , 1979
<i>Microgadus proximus</i> (Pacific tomcod)	Hepatic neoplasms	Puget Sound	Malins <i>et al.</i> , 1980, 1982
<i>Nibea mitsukurii</i> (nibe croaker)	Chromatophoromas	Japan	Kimura <i>et al.</i> , 1984
<i>Leptocottus armatus</i> (Pacific staghorn sculpin)	Hepatic neoplasms	Puget Sound	Malins <i>et al.</i> , 1984
<i>Fundulus grandis</i> (Gulf killifish)	Chromatophoroma	Northern Gulf of Mexico	Couch, 1985
<i>Pseudopleuronectes americanus</i> (winter flounder)	Hepatic neoplasms	Boston Harbour	Murchelano and Wolke, 1985

4.1.3 Mutagenicity and other related effects

A large number of short-term tests, predictive of carcinogenicity and of genetic defects in the progeny, has been developed during the past two decades. These tests, evaluating various types of DNA damage or other end-points (e.g. cell transformation), have proven useful both as screening tools for hazardous substances and as experimental models for understanding their mechanisms. In addition, these and other laboratory methodologies have been exploited to provide biological exposure indices, i.e., for monitoring exposure of humans or other living organisms to genotoxic agents and, in some cases, for assessing mutagenic and carcinogenic hazards. It is likely that they have a similar connotation for marine organisms.

4.1.3.1 Detection of mutagens in seawater, sediments, and marine organisms

Various concentration methods, which have been more often used for freshwater, drinking water, or discharge effluents, have been also occasionally used for concentrating genotoxins from seawater, which thereafter have been assayed for mutagenicity in bacterial test systems. Limited surveys are also available for the Mediterranean. For instance, concentrated hexane extracts of seawater in the North Adriatic, 50m from the Yugoslav coast, induced a weak mutagenic response following metabolic activation with carp liver post-mitochondrial fractions, whereas a sample collected 500 m offshore was negative (Kurelec *et al.*, 1979). A weak direct mutagenicity was observed following concentration of chlorinated seawater collected from a power station at Tel Aviv by means of reverse phase silica C18 resins (Rav-Acha *et al.*, 1989). Estuarine waters and Tyrrhenian seawaters collected in the port of Leghorn and along the Tuscany coast, concentrated by means of Sep-pak C18 cartridges, displayed a direct mutagenic activity (Migliore *et al.*, 1989). Conversely, the blue cotton method (Hayatsu, 1990) was successful in concentrating aromatic amines from experimentally contaminated seawater, but failed to concentrate detectable mutagens both from an unpolluted area in the Ligurian Sea and from a polluted area in the port of Genoa (Bagnasco *et al.*, 1990).

Short-term test systems can be also used in order to detect the mutagenicity of polluted sediments. For instance, sediment extracts from coastal areas off Barcelona exhibited a positive response in the *Salmonella*/microsome test (Grifoll *et al.*, 1988). Extracts of heavily contaminated sediments from Black Rock Harbor (Connecticut, USA) were mutagenic in *S. typhimurium* strains and induced SOS repair in *E. coli* following metabolic activation, and eliminated metabolic cooperation in Chinese hamster V79 cells, which is an indicator of potential tumour-promoting activity (Jackim *et al.*, 1989).

Assessment of mutagenicity in marine organisms provides a reliable index of exposure to mutagenic and potentially carcinogenic substances. Bivalve molluscs seem to represent ideal indicators of in situ exposure, and have been proposed as biomonitors of the concentration of mutagens from polluted seawater, e.g., along Wales coastal waters (Parry *et al.*, 1976), US Atlantic estuarine waters (Sparks *et al.*, 1981), and the Adriatic Sea (Frezza *et al.*, 1982). Ethanol extracts of 3 mollusc species living in Southern Spain (Andalusia) displayed a direct mutagenicity of oxidative type both in his⁻ *S. typhimurium* and in *E. coli* strains tested for the Ara forward mutation assay (Rodriguez-Ariza *et al.*, 1990). Monitoring of the mutagenicity of fish bile, which contains metabolites of pollutants, also correlating with the prevalence of liver tumours (see section 4.1.2.2), has been also proposed for assessing exposure to mutagens undergoing biotransformation in the liver (Van Kreijl *et al.*, 1982).

4.1.3.2 Detection of carcinogen-DNA adducts in marine organisms

As discussed in section 4.1.1, the covalent binding to DNA of an electrophilic chemical species to form addition products (adducts) represents the primary critical event in cancer initiation (Miller, 1978). Therefore, measurement of carcinogen-DNA adducts provides a direct indicator not only of exposure but also of the genetic damage produced by a given carcinogen, which does not have to be indirectly presumed from the local environmental pollution nor inferred from occurrence of tumours. Detection of carcinogen-DNA or carcinogen-protein adducts has opened new perspectives in fields such as molecular epidemiology and molecular dosimetry, reflecting the actual DNA damage irrespective of the interspecies, interstrain, interindividual, or even intraindividual variations of mechanisms (e.g., toxicokinetic, metabolism, DNA repair) involved in the initiation of cancer. In the framework of the large variety of techniques assessing biological exposure indices (De Flora, 1990), several methodologies have been set up in order to detect carcinogen-DNA adducts, and some applications to the study of marine organisms are already available.

The simplest method involves treatment of animals with radioactive carcinogens, whose ability to bind DNA is then determined. Such a technique has been used to detect binding of the major benzo(a)pyrene metabolite, i.e., 7,8-dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo(a)pyrene, to the liver DNA of the benthic fish species *Parophrys vetulus* (English sole) and *Platichthys stellatus* (starry flounder) (Varanasi *et al.*, 1986), as well as binding of aflatoxin B1 to the liver DNA of *Salmo gairdneri* (rainbow trout) and *Oncorhynchus kisutch* (coho salmon), leading to formation of 8,9-dihydro-8- (N7-guanyl)-9-hydroxyaflatoxin B1 and other minor adducts. The higher ability to form specific adducts reflected the more efficient cytochrome P450 metabolism and correlated with the greater susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity (Bailey *et al.*, 1988). Likewise, inhibition by Aroclor 1254 of the formation of the same aflatoxin B1 adducts in rainbow trout correlated with Aroclor anticarcinogenicity (Shelton *et al.*, 1986) (see section. 2). Radiolabelled benzo(a)pyrene was also used in order to investigate DNA binding of its photoderivatives in sponges (Zahn *et al.*, 1981) (see section 3.2.4).

Other more recent methodologies use immunoassays with specific antibodies to DNA adducts, or measure specific fluorescence spectra, e.g., in the case of the benzo(a)pyrene-DNA adduct. The most advanced technique available today is the ³²P postlabeling procedure (Gupta *et al.*, 1982), which has the advantages of being extremely sensitive, detecting 1 adduct per 10⁹-10¹⁰ nucleotides, and of detecting also DNA adducts formed by unknown carcinogens, which in some cases can be later identified by means of analytical procedures. Such a technique has been used to detect nucleotide adducts formed by a variety of bulky hydrophobic aromatic environmental compounds with the liver DNA of *Ictalurus nebulosus* (brown bullheads) sampled from Great Lakes tributaries. This fish is exposed to high levels of sediment bound polycyclic aromatic hydrocarbons, and suffers from an elevated frequency of liver cancer (Dunn *et al.*, 1987). Diagonal radioactive zones and several distinct spots, indicative of exposure to genotoxic compounds, were also detected at autoradiography in liver DNA of English sole sampled from contaminated sites of Puget Sound, WA, and of winter flounder sampled from Boston Harbour, MA. These adducts were absent in the DNA of English sole sampled from a site of very low contamination in sediments (Varanasi *et al.*, 1989). PAH-DNA adducts were also detected in marine mammals, such as belugas (*Delphinapterus leucas*), some of which diagnosed as suffering from bladder cancer and other tumours, in the St Lawrence river and the Canadian arctic (Ray *et al.*, 1991).

The experimental exposure of the mussel *Mytilus galloprovincialis* to 2-aminofluorene resulted in the formation of two adducts in the DNA of the digestive glands, with a frequency of 1 adduct per $1-4 \times 10^9$ nucleotides. In contrast, exposure to benzo(a)pyrene did not produce any adduct or a very weak adduct spot, which reflects the already discussed (section 4.1.1) differential ability of mussel tissues to metabolize these two carcinogens (Kurelec *et al.*, 1988). In the same study, it was noted that, contrary to the lack of adduct spots in brown bullheads raised in clean aquaria (Dunn *et al.*, 1987), samples of DNA from mussel, carp and bream collected from apparently clean waters of the Adriatic Sea had one to several weak adducts (Kurelec *et al.*, 1988). This aspect was further expanded by Kurelec *et al.* (1989), who found 4 to 9 adducts to liver DNA in several freshwater fish species and in *Mugil auratus* caught from two areas of the Northern Adriatic Sea. A dominant feature of the fish DNA adducts was a species specificity. Surprisingly, within each species, the specimens caught from the unpolluted area gave practically identical adduct profiles as those seen in specimens caught from the polluted area (see section 3.1.1). It is noteworthy in this respect that the analyzed fishes had restricted territorial patterns (Kurelec *et al.*, 1989). A further study with *Mytilus galloprovincialis* pointed out the presence of 6 to 10 adducts in the mussel digestive gland DNA, irrespective of pollution. However, pollution-related DNA adducts were found in juvenile mussels collected from an oil refinery site (Kurelec *et al.*, 1990).

It has been suggested that, in addition to analysis of hepatic DNA, the ^{32}P postlabeling technique should allow the detection of DNA adducts in extrahepatic tissues such as blood and gonads, which may be useful in studies of impaired reproductive processes in fish (Varanasi *et al.*, 1989).

4.1.3.3 DNA damage and repair in marine organisms

Various techniques can be used in order to evaluate alterations of DNA molecules produced by the *in vivo* exposure of organisms to genotoxins, and its subsequent repair. An example of this kind of evaluation is provided by studies in the sponge *Tethya lyncurium* collected from Northern Adriatic Sea, experimentally exposed to benzo(a)pyrene in the presence of light (see section 3.2.4 for a thorough discussion on the problem of photoactivation), showing that DNA damage and repair in these organisms seem to differ from that of most eukaryotes (Zahn *et al.*, 1983). In particular, double-stranded (ds) DNA purified from the sponge after treatment with benzo(a)pyrene was comprised between single stranded (ss) fragments. Treatment with nuclease S1, which attacks ss DNA, cut the intact strand opposite to the positions where the other strand had been nicked, and fragments of ds DNA were characterized by means of electronmicroscopy. Under conditions of possible repair, ss breaks completely disappeared from sponge DNA in the course of 3 weeks, during which a substantial DNA synthesis was observed (Zahn *et al.*, 1983).

In a recent study, benzo(a)pyrene was found to cause similar patterns of DNA damage, as evaluated by measuring single strand breaks with the alkaline elution technique, in the haemolymph of the crab *Maja crispata* and in the liver of the fish *Gambusia affinis*. This finding could be variously interpreted, as a function of the interplay between benzo(a)pyrene metabolism (activation/detoxification), interaction of active metabolites with DNA, and efficiency of repair of DNA damage (Bihari *et al.*, 1989).

4.1.3.4 Cytogenetic alterations in marine organisms

Cytogenetic analyses can detect gross genomic alterations, concerning either the number and/or the structure of chromosomes, which can be visualized at the optical

microscope. Since many years these techniques have been used for evaluating exposure to clastogenic agents, both *in vitro* and *in vivo*, under laboratory or field conditions. In spite of some technical difficulties, the assessment of chromosomal aberrations (CA), sister chromatid exchanges (SCE) and micronuclei (MN) has been also applied to marine vertebrates and invertebrates (reviewed by De Flora *et al.*, 1991b). SCE arise as a consequence of a reciprocal exchange of DNA fragments between sister chromatids, which can be detected in cells undergoing two replicative cycles in the presence of bromodeoxyuridine. MN may derive either from DNA fragments resulting from chromosomal damage and/or segregation of genetic material during mitosis.

A number of laboratory studies aimed at developing and validating cytogenetic techniques in aquatic organisms experimentally exposed to known clastogens. Cytogenetic changes in polychaetes (*Neanthes arenaceodentata*) were proposed as a model for marine genetic toxicology (Pesch and Pesch, 1980). Several studies were carried out in bivalve mussels which, as already discussed for other end-points, seem to be ideal bioindicators of exposure due to their ability to concentrate local pollutants. The frequency of MN in the gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* was persistently enhanced following exposure to known clastogens (Gola *et al.*, 1986; Majone *et al.*, 1987, 1990; Migliore *et al.*, 1989; Scarpato *et al.*, 1990). Methodological aspects, such as staining techniques, were also investigated (Majone *et al.*, 1988). SCE frequency was tested in larvae of *Neanthes arenaceodentata* (Pesch and Pesch, 1980), in larvae (Harrison and Jones, 1982; Jones and Harrison, 1987) and gill tissue (Dixon and Clarke, 1982) of *Mytilus edulis*, and in developing eggs (Brunetti *et al.*, 1986) and gill tissue (Brunetti *et al.*, 1989) of *Mytilus galloprovincialis*. Negative results have been also reported. For instance, the organotin antifouling compound bis(tributyltin)oxide failed to induce chromosomal aberrations and SCE in larvae of *Mytilus edulis* (Dixon and Prosser, 1986). Other experimental studies have investigated cytogenetic alterations in various fish tissues. For instance, SCE induction was evaluated in *Umbra limi* (Kligerman, 1979) and in *Notobranchius rachowi* (van der Gaag and van der Kerkhoff, 1985); MN in the erythrocytes of *Heteropneustes fossilis* (Das and Nanda, 1986); CA in various tissues of *Boleophthalmus dussumieri* (Krishnaja and Rege, 1982); CA and SCE in *in vitro* cultured lymphocytes of *Anguilla rostrata* and of *Opsanus tau* (Ellingham *et al.*, 1986), and in the hematopoietic tissue of the latter species, exposed *in vivo* (Maddock *et al.*, 1986), as well as in cultured lymphocytes of *Leptococcus armatus* (Zahour *et al.*, 1984). On the whole, MN seem to be more suitable than SCE as a cytogenetic end-point in the gill tissue, because MN may be observed during interphase, whereas SCE can be only detected during metaphases, which are infrequent in the gill tissue. In fact, only a low fraction of the gill cell population undergoes mitosis, as assessed in both mussels (Dixon and Clarke, 1982; Brunetti *et al.*, 1989) and fish species (Kligerman 1979; Alink *et al.*, 1980; van der Gaag and van der Kerkhoff, 1985). Mussel developing eggs are conversely a quite appropriate target for SCE induction, because they contain a population of actively proliferating cells with frequent mitoses (Brunetti *et al.*, 1986 and 1989). Use of antikinetochore antibody allowed the distinction between micronuclei resulting from acentric fragments or from lagging chromosomes in *Mytilus galloprovincialis* cells (De Flora *et al.*, 1991b).

Cytogenetic techniques have already been applied for monitoring fish or mussel exposure to pollutants under field conditions, or for assessing chromosomal alterations following exposure in the laboratory to polluted water. Induction of CA was observed in fish eggs and larvae collected from polluted areas of the Atlantic US coast (Longwell and Hughes, 1980). Increased SCE frequencies were observed in the worm *N. incisa* sampled from feral populations living on polluted sediments (Jackim *et al.*, 1989). The MN and SCE frequencies were monitored in the gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* collected from coastal waters in Northern Italy, namely the Lagoon of Venice (Northern Adriatic) and the Gulf of La Spezia (Ligurian Sea)

(Brunetti *et al.*, 1988). The frequency of MN and DNA single-strand breaks were significantly enhanced in the gills of *Mytilus galloprovincialis* collected from the Port of Genoa (Ligurian Sea), as compared with a reference area, which correlated with an enhanced concentration of PAH in the same tissue (Bolognesi *et al.*, 1990). Scarpato *et al.* (1990) collected adult mussels from a station in the Gulf of La Spezia, and transferred part of them into the port of Leghorn and the estuary of Fiume Morto (Dead River) in the Tyrrhenian Sea. MN in gill cells of mussel exposed to these polluted waters were significantly enhanced, compared to mussels kept in the original station, since the 2nd week of exposure and persisted for at least 16 additional weeks.

On the whole, cytogenetic analyses of natural fish or mussel populations provide a valuable biomonitoring end-point. However, several factors affect such evaluation, such as age, which often cannot be inferred, size of animals, which is also influenced by nutrients other than pollutants, and selection due to toxic pollutants leading to an apparent decrease of chromosomal damage in the surviving population (Brunetti *et al.*, 1989). Field monitoring may be also affected by the considerable interindividual variability, which has been pointed out, e.g., for SCE frequencies in unexposed larvae of *M. edulis* surveyed over a 2-year period (Jones and Harrison, 1987).

A target organism of special interest is the sea urchin. Cytogenetic alterations, which can be produced by genotoxicants in treated embryos or in embryos following adult or gamete exposure are one of the various sublethal end-points which can be monitored in these cosmopolitan metazoan systems. Mitotic aberrations investigated in the sea urchin include stray chromosomes, attached fragments, bridges, multipolar spindles, and acentric fragments (Pagano *et al.*, 1982a, 1982b, 1986; Hose and Puffer, 1983; Hose *et al.*, 1983; Hose, 1985; Dinnel *et al.*, 1988). Induction of MN has been also reported following exposure of the purple sea urchin to environmental levels of benzo(a)pyrene (Hose *et al.*, 1985).

4.1.4 Teratogenic effects

In its narrow sense, teratogenicity refers to the effects of any xenobiotic chemical or environmental condition on structural or functional development in the embryo/foetus (Lansdown, 1990). Some short-term tests for teratogens have been set up in aquatic organisms. In particular, fish embryos of various species, such as the Japanese medaka, zebra fish, rainbow trout, and fathead minnows, have been used in order to evaluate the effects of chemicals on the development of eggs and embryos (Faustman, 1988; Anderson, 1990). The monitored end-points included lethality, specific malformations (mainly of the skeletal system), growth retardation, delayed hatching, and functional abnormalities, such as impaired swimming activity. A variety of compounds, including metals, pesticides, and complex mixtures, have been tested for developmental toxicity (reviewed by Faustman, 1988).

Among invertebrates, end-points relevant to teratogenesis have been investigated in brine shrimps, such as *Artemia salina* nauplii (Kerster and Schaffer, 1983; Sleet and Brendel, 1985), sea stars (*Asterias rubens*) (den Besten *et al.*, 1989) and especially in the sea urchin. Several species, including those living in the Mediterranean (e.g. *Paracentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Psammechinus microtuberculatus*), can be used for assessing teratogenic effects, in the framework of a large variety of parameters which can be monitored along the multiple life stages of these organisms. In particular, as detailed by Dinnel *et al.* (1988), sublethal exposures to toxicants can result in behavioural changes in sea urchin adults (food chemotaxis, righting response, predator avoidance), growth alterations (respiration, gonad maturation, spine regeneration, abnormal morphology), bioaccumulation (gonad concentrations, cytosolic concentrations, labeled protein incorporation into oocytes), and gamete effects (*in vivo*

exposures during gametogenesis). Various developmental alterations can occur in embryos following exposure of adults, gametes, or embryos themselves, including retardation, abnormal morphology, reduced DNA synthesis and, as already reported in section 4.1.3.4, mitotic aberrations and micronucleus formation. *In vivo* exposure of adults or *in vitro* exposure of gametes can result in harmful effects on gametes, such as effects on development (sperm and/or egg exposure) and on fertilization (sperm motility, sperm morphology, oxygen consumption, chemotaxis, fertilization rate, membrane elevation) (Dinnel *et al.*, 1988).

The sea urchin bioassay was proposed for toxicity studies relevant to marine pollution by Kobayashi (1971) and Hangström and Lönning (1973), and has been later used for testing a number of physical and chemical agents (reviewed by Pagano *et al.*, 1986). One of the techniques suggested for assessing the toxicity of effluents discharged into marine and/or estuarine waters is the sea urchin sperm cell fertilization test (Dinnel *et al.*, 1987), which has been also recommended by the US Environmental Protection Agency in the form of a standardized protocol (Nacci *et al.*, 1987). The sea urchin embryo and sperm bioassay (*Sphaerechinus granularis*) has been applied, within a multidisciplinary toxicological approach, for assessing the effects of sewage pollution in French Mediterranean coastal waters (Bay of Toulon). The results obtained provided evidence that the frequency of larval malformations correlated with the levels of exposure to municipal sewage (Pagano *et al.*, 1989).

4.2 Estimated risks to marine organisms

The substantial achievements made in recent years in the fields of carcinogenesis, mutagenesis, and teratogenesis have resulted in a deeper understanding of the mechanisms involved and in a refinement of the available methodological tools for risk assessment. Nevertheless, several aspects of both conceptual and practical relevance need to be further explored and better elucidated.

From the available evidence, it is apparent that marine biota living in areas contaminated by harmful pollutants, at least those which are recognized to be carcinogenic, mutagenic, and/or teratogenic in the same organisms, are more likely to develop adverse effects. As in humans and other terrestrial species, such a kind of exposure in aquatic organisms does not automatically imply the occurrence of pathological effects. Due to interactions of pollutants with the host defense machinery and to possible simultaneous exposures to protective agents (see section 2), the resulting health consequences to marine organisms should be viewed in terms of an increased risk in exposed, as compared to unexposed, individuals.

However, in the light of our present knowledge, any attempt to estimate and to predict specific risks for marine organisms living in the Mediterranean would be scientifically questionable for a variety of reasons, which have been discussed in previous sections of this document. They can be summarized as follows:

- (a) The uncertainties and incompleteness of the present tentative identification and classification of carcinogens, mutagens, and teratogens in the marine environment as a whole (3.4).
- (b) The lack of a systematic monitoring network of harmful pollutants in Mediterranean waters, sediments, and biota (4.1).

- (c) The changes in biological properties of pollutants resulting from physical factors (3.2.1), microbiological transformations (3.2.2), chemical interactions (3.2.3), and light-mediated transformations (3.2.4).
- (d) The possible impact of pollution at a distance from apparent sources, as a consequence of air/sea exchanges (3.3), and especially of bioaccumulation phenomena and food-chain biomagnification processes in migratory species (3.2.5).
- (e) The considerable limitation of local surveys, and the paucity of scientific data available on adverse health effects in Mediterranean biota (4.1).
- (f) The difficulty of assessing dose-effect relationships, and of extrapolating from high doses (experimental) to low doses normally encountered in the environment. This is a general drawback in toxicological studies and especially in the prediction of long-term effects.
- (g) The marked variations in susceptibility to harmful chemicals, not only among different phyla, species, strains, and individuals, but even within the same individual, depending on the stage of life cycle, to circadian and seasonal cycles, to adaptive responses to pollutants, or to dietary or environmental factors other than pollutants (4.1).
- (h) The still unidentified role of natural components of seawater as a confounding factor in the determination of certain adverse effects (3.1.1). For instance, in some studies, e.g., those concerning carcinogen-DNA adducts in both vertebrates and invertebrates (4.1.3.2) or neoplasms in molluscs (4.1.2.2), no differences were recorded between organisms sampled from apparently clean areas, and those sampled from polluted ones.

5. ASSESSMENT OF RISK TO MAN

5.1 General Considerations

Toxicology is concerned with the recognition of the type of damage that may be produced by a particular chemical (hazard identification) and the likelihood that this damage may result from a particular type of exposure to the chemical (risk assessment).

In man and other mammalian species, environmental chemicals may enter the organism by 3 major routes - ingestion (in water and food), inhalation or percutaneous absorption. On entry, the chemical is quickly distributed throughout the body, is metabolized and then excreted. Most chemicals are rapidly excreted, but some chemicals are disposed of with difficulty and are stored in the body, particularly in bone and body fat. Some storage in internal organs (e.g., liver and kidney) may take place.

Metabolism is an important step in rendering chemicals harmless but, in some instances, an intermediary toxic metabolite may be produced. Some chemicals do not need to be metabolized to exert a toxic effect.

Four major areas of hazard are recognized - systemic toxicity, mutagenicity, carcinogenicity and reproductive toxicity.

Systemic toxicity usually results from the accidental or intentional ingestion of a high dose of a particular chemical. In man such accidents occur from industrial exposure or from accidental contamination of food with large amounts of a toxic substance. Occasionally, large doses of chemicals may be ingested intentionally in an attempt to commit suicide. Episodes of this sort give some idea of the tolerance level in man for a particular substance.

Animal toxicity studies are conducted if human data on the systematic toxicity of a substance are inadequate or not available. There is a range of such studies from acute, single dose ones, such as LD₅₀ to short-term (14-28 days) or longer-term studies lasting 90 days or up to one year. Studies of this sort are usually conducted in rodents but other species, particularly dogs, are used where appropriate.

Systematic toxicity data provide information on what organ or organs are affected by the chemical (target organ) and the smallest dose at which adverse effects are observed. From data of this sort, some indication of safe levels, e.g., ADI or PTWI may be inferred.

Mutagenicity is the ability of a chemical to induce changes in the genome (DNA) which are transmissible to the offspring. This property is assessed from *in vitro* tests on bacteria, fungi, yeasts, etc., and from *in vivo* tests in mice or rats. Test systems for the detection of mutagenicity in man are under development. Experience has shown that most animal and human carcinogenic chemicals are mutagenic in one or more of the tests mentioned. Such mutagenicity and related tests are employed as "short-term" tests to predict carcinogenic activity and other pathologic effects dependent on genomic changes either in somatic or germ cells.

Carcinogenicity is the term usually employed to indicate the property of a chemical to cause cancer in man or animals. Because cancer takes a long time to develop in man, it may not be possible to associate causally the development of a cancer with exposure to a specific chemical in any one individual. To overcome this difficulty, epidemiological studies on groups of people are conducted. These studies can often suggest some association between an increased incidence of a particular type of cancer and exposure to some chemical or a mixture of chemicals.

Conclusive proof of a causal association between cancer and a suspected chemical can very rarely be provided by epidemiological studies, so that additional evidence is sought in the results of carcinogenicity studies in experimental animals, chiefly rats and mice. Animals, like man, are susceptible to cancer production, particularly as they approach old age. They also have been shown to be susceptible to cancer production by those chemicals which are known to be carcinogenic in man. Although interpretation of experimental carcinogenicity studies is often difficult, there is little doubt that useful information on carcinogenicity hazards is provided by investigations of this type. In general terms, the points looked for in carcinogenicity studies are:

1. dose-response relationship;

2. reduction of latency;
3. the biological nature of the tumour, whether benign and malignant, and
4. whether the carcinogen is genotoxic or not in short-term tests.

In carcinogenicity studies it is customary to administer the test chemical at very high doses to animals in order to ensure adequate exposure. By contrast, the concentrations of chemicals found in the environment to which man is exposed are very low. There is some discussion that, even at low levels, carcinogens may present a risk although, admittedly, a small one. This is particularly applicable to the so-called "genotoxic carcinogens" but is less so for the non-genotoxic carcinogens where calculation of a safe dose from a no-effect level is thought to be appropriate (Grasso *et al.*, 1991).

An estimate of the hazard presented by low doses of carcinogens is usually carried out by expert national and international committees on the basis of an acceptable risk usually cited to be one cancer in 10^8 of population. This approach is upheld by WHO (1989). An alternative approach, advocated by some environmental agencies, is to use mathematical formulae to estimate the incidence of tumours at low doses beyond the range of experimental observation from the tumour incidence obtained by the high doses employed in animal studies. Such mathematical estimates are known as "high dose-low dose extrapolation" and have been strongly criticised because they are based on unverifiable assumptions (e.g., "multihit" vs "one hit" hypothesis for cancer production; man is as sensitive as the rat to chemical carcinogens; shape of dose-response curve below the experimentally verifiable dose-levels). Because of these uncertainties, a very large number of mathematical formulae have been proposed. When a number of these formulae were applied to a particular set of data in order to estimate an acceptable dose, the figures obtained varied by several orders of magnitude (Butterworth, 1989). Experiences of this sort have discouraged the universal use of such formulae.

No attempt of mathematical extrapolation has been made in this document and the level of an acceptable dose is based on estimates made by various national and international committees.

Reproductive toxicology involves effects on fertility, foetotoxicity and teratology (foetal malformation). Such tests are usually conducted at high levels to maximise exposure, and a safe exposure level is usually estimated from a no observable effect level (NOEL) in the experimental model.

Because of a lack of information of mutagenic and teratogenic effects in humans attributable to marine sources, the present section deals mainly with carcinogenic effects. Even in this area, information of risk to man is virtually non-existent and recourse to data from other sources had to be made for a tentative risk assessment.

5.2 Evaluation of Priority Pollutants

The following pollutants were accorded priority by the Consultation on carcinogenic and mutagenic marine pollutants in the Mediterranean, held in Athens in June 1989 to finalise arrangements for the pilot monitoring project referred to in previous sections, and to agree on the outline scope and content of the present document:

- Arsenic
- Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)
- Polychlorinated biphenyls (PCBs)
- Polybrominated biphenyls (PBBs)
- Toxaphene
- Mirex
- Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)
- Hexachlorobenzene (HCB)
- Hexachlorocyclohexane (HCH)
- Nitrilotriacetic acid (NTA) and its salts
- Low molecular weight halogenated hydrocarbons
- Polychlorinated dibenzodioxin (PCDD) and polychlorinated Furans

In each case, the assessment of carcinogenicity to man is based on the results of short-term tests, animal carcinogenicity assays and epidemiological studies. Routes of exposure, and exposure levels, other than those directly related to the marine environment are also considered, to provide an indication of (a) the total exposure burden, and (b) the possible contribution to such from marine sources. Limits in the form of acceptable daily intakes recommended by various bodies are given in Table 13. It should be noted that such intakes take into account the sum total of health effects, not carcinogenicity risks alone.

Table 13

Acceptable daily intakes for selected chemicals

CHEMICAL	LIMITS OF TOLERABLE OR ACCEPTABLE ORAL INTAKE	AUTHORITY
Arsenic	0.015 mg/kg bw/week or 0.105 mg/person/week	JECFA 1989
PAHs	10-30 µg/person/day*	WHO 1989
PCBs	0.1-40 µg/person/day	Various countries in WHO 1985
PBB	20 µg/person/day	NTP 1982
Toxaphene	Calculated to be about 100 µg/person/day*	From EPA 1976, 1987
Mirex	Calculated to be about 7 µg/person/day*	From EPA 1976
DDT	0.02 mg/kg bw/day or 1.4 mg/person/day	FAO/WHO 1985
HCB	0.6 µg/kg bw/day or 42 µg/person/day	WHO 1975
HCH	1.8 mg/person/day	EPA 1988
PCDD	No ADI but a figure of 60 µg daily intake considered tolerable by UK Government	HMSO 1989

* Estimated intake - not necessarily regarded as tolerable (see text).

5.2.1 Arsenic

Arsenic is widely distributed in the world's crust mainly as arsenides of copper, nickel and iron. The concentration of Arsenic is particularly low in seawater where arsenate prevails over arsenite, and tends to be metabolised by bacteria and fungi to form methylated derivatives (De Renzi *et al.*, 1989). Despite the low levels of Arsenic compounds found in seawater (0.001-0.008 mg/l) (Penrose *et al.*, 1977) fish, and especially crustacea, contain appreciable amounts of this element in their tissues (0.2-200 mg/kg). In marine organisms, Arsenic is converted to organic forms so that inorganic Arsenic rarely exceeds 1 mg/kg and constitutes only 2-10% of the total Arsenic content in seafood (De Renzi *et al.*, 1989).

Despite its toxicological importance, no *in vitro* mutagenicity results were available to an IARC working group (IARC, 1980). A carefully conducted dominant lethal test in mice was negative (IARC, 1980). However, Arsenic compounds were found to induce an increased lethality in repair-deficient bacteria and chromosomal anomalies in *Drosophila* and in mammalian cells (De Renzi *et al.*, 1989).

According to IARC (1980) carcinogenicity tests in animals given Arsenic by a variety of routes did not reveal an increased incidence of tumours in any organ, but later studies claim that lung cancer in mice and a low incidence of respiratory tract cancers in hamsters had been induced by the intratracheal instillation of Arsenic trioxide (IARC, 1987).

There is both anecdotal and epidemiological evidence that Arsenic is carcinogenic to man, producing tumours of lung, skin and liver (IARC, 1980). Tumours of the lung occur from occupational exposure to Arsenic. According to Blejer and Wagner (1976), the "no effect level for lung tumours might lie in the very low microgramme range (1-40 µg/m³ of respirable Arsenic)".

Epidemiological data collected from Taiwan afford a reliable guideline for assessing risk of cancer production by the oral route. The level of Arsenic found in the drinking water of the population exhibiting a high rate of skin cancer was 0.01 to 1.8 mg/litre (Tseng *et al.*, 1968). The level of Arsenic in control populations with the expected ("background") levels of skin cancer was approximately a tenth of the lowest dose causing skin cancer to man (0.001 to 0.002 mg/litre) (Tseng, 1977).

Liver tumours occurred in some vineyard workers exposed to high doses of pesticides containing Arsenic (IPCS, 1981), and in some patients treated with medicinal preparations containing Arsenic (IARC, 1987).

Both Arsenic (III) and Arsenic (V) are toxic to man. Acute effects include profound gastro-intestinal damage, resulting in severe vomiting and diarrhoea, muscular cramps and cardiac involvement (IPCS, 1981). The fatal dose of Arsenic (III) oxide has been reported to be in the range from 70 to 180 mg (Vallee *et al.*, 1960).

Arsenic is teratogenic in mouse, rat and hamster when given parenterally at high doses (IARC, 1980). It was embryotoxic but not teratogenic when given orally (IARC, 1980).

Two studies conducted by Nordstorm *et al.* (1978, 1979) claimed that there was an increased incidence of abortions and malformations in the offspring by women who either worked in smelters or lived close to a smelter. Emissions from these smelters contained other

metallic components, so that it is impossible to say whether Arsenic played a causative role.

In unpolluted areas, intake by inhalation is $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ or less; near power stations or smelters it is about $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (IPCS, 1981). Aerosols from sea-spray contribute to the intake of Arsenic in areas close to the seashore, but the amount absorbed from these sources is very small (De Renzi *et al.*, 1989).

In the USA, occupational exposure to an upper limit of $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (TWA - 8 hour period) is tolerated for inorganic Arsenic and $0.5 \text{mg}/\text{m}^3$ for organic Arsenic (US, OSHA, 1979).

Levels in drinking water vary; concentrations up to $1.8 \text{mg}/\text{litre}$ have been recorded. Average levels are considerably less than this amount.

The WHO International Standard for inorganic Arsenic in drinking water is $0.05 \text{mg}/\text{litre}$ (WHO, 1971). In the European Community a limit of $0.1 \text{mg}/\text{litre}$ (max) is tolerated in drinking water.

In 1989, JECFA assigned a provisional tolerable weekly intake (PTWI) of $0.015 \text{mg}/\text{kg}$ bw for inorganic Arsenic, at the same time drawing attention to the fact that the safety margin is narrow since this intake is close to the levels which are known to cause skin disorders and cancer in man. JECFA also noted that exposure to inorganic Arsenic levels which do not cause arsenicism do not appear to carry a carcinogenic risk (WHO, 1989). Organic arsenicals do not appear to be a cause for concern (WHO, 1989).

According to GESAMP (1991) the PTWI is not exceeded by the consumption of $150 \text{g}/\text{seafood}/\text{day}/7 \text{days}/\text{week}$ even if the concentration of Arsenic in seafood is as high as $10 \mu\text{g}$ total Arsenic/g. In terms of wet weight, a number of fish samples analysed in the Mediterranean exceed this level. On the other hand, since most of the Arsenic in seafood is in the organic form, the risk to health is not as great as it would have been if the Arsenic were only in inorganic form.

5.2.2 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)

PAHs are mainly formed by the incomplete combustion of organic materials, particularly fossil fuels. A small proportion appear to be formed by naturally decaying vegetation (Grasso, 1984). The carcinogenicity to humans of some PAHs and PAH-containing products is given in Table 14. All carcinogenic PAHs are also mutagenic in a variety of mutagenicity tests (IARC, 1983).

PAHs with four to seven fused rings have been shown to be carcinogenic to experimental animals particularly by skin painting. A few PAHs (3-methylcholanthrene, dimethylbenz(a)anthracene, benzo(a)pyrene and dibenz(ah)anthracene) have produced tumours when given in the diet. These include mammary adenocarcinoma, squamous cell carcinoma of the stomach, spindle cell sarcoma and leukaemia (Lo *et al.*, 1978).

Table 14

Carcinogenicity of Some PAHs and PAH-containing Products

1	2A	2B	3
Coal tar Mineral oils (unrefined)	Benzo(a)pyrene Dibenz(ah)anthracene	Benzofluoranthenes Dibenz(a)peridines Dibenzopyrenes	Anthracene Anthanthrene Benzofluorenes Benzo(e)pyrene Pyrene
<p>Group 1 = carcinogenic in man " 2A = probably carcinogenic in man " 2B = possibly carcinogenic in man " 3 = unclassifiable</p>			

From IARC (1987)

Although products containing PAHs have caused skin tumours in man from direct contact and lung cancer from the inhalation of fumes rich in PAH, there does not appear to be any epidemiological evidence that dietary PAHs make any appreciable contribution to the risk of human cancer (IARC, 1983). Attempts to link the high incidence of stomach cancer in Japan with PAH carcinogens in food are not convincing since other factors such as bracken, a delicacy in Japan, may be equally responsible (Grasso, 1984). Equally unconvincing is the suggestion that the high incidence of stomach cancer in Iceland may be caused by the high intake of smoked fish and meat (Lo *et al.*, 1978) since other areas of the world with a comparable intake of PAHs do not have a high incidence of stomach cancer. In addition, despite the apparently widespread distribution of PAHs in edible vegetables, there is no indication that vegetarians have a higher incidence of stomach cancer than the rest of the population.

The principal route of exposure to PAHs is from inhaling contaminated air either through urban pollution or cigarette smoking. The amounts inhaled vary considerably. Typical exposure levels of BaP (commonly regarded as a marker of total PAH) from urban air may vary from 0.05 µg/m³ to 74 µg/m³ (Hoffman and Wynder, 1976). From cigarette smoke it may vary from 25-252 µg/100 cigarettes in smokers and 10-1010 ng/m³ in cigarette smoke polluted environment (IARC, 1983).

Food and drinking water are next in importance in contributing to human exposure to PAH. The total oral intake of PAH from these sources (based on BaP concentration) is estimated to be 1.6-16 µg/day/person in the USA (IARC, 1983). The contribution of seafood to this figure varies considerably depending on the amount of fish and other marine organisms in the diet and on the concentration of PAHs in their tissues.

In general, fish from unpolluted waters do not contain detectable amounts of PAHs (Lo, 1978) but, in areas polluted with PAH, it has been stated that they may contain 1,000-100,000 times that in fish in clean water (Weldre *et al.*, 1977; IARC, 1983). The situation in the Mediterranean areas covered by the recent pilot monitoring project is shown in Tables 4 and 7.

No ADI has been set for the total intake of PAH, but there are some acceptable levels of PAH in drinking water. The US Environmental Protection Agency has published an acceptable

concentration for BaP in drinking water of 0.028 µg/litre (GESAMP, 1991) while the WHO (1984) guideline for BaP in drinking water is 0.01 µg/litre representing 0.1-0.3% of total PAHs ingested calculated to be 10-30 µg/person/day. In these calculations it is assumed that BaP is a marker for total PAHs. Rugen (1989) has proposed that acceptable concentrations of other PAHs should be based on the BaP concentration with a factor derived from the relative carcinogenic potency of BaP.

According to GESAMP (1991) consumption of 150 g/day of fish or shellfish from unpolluted water and containing about 1 µg/kg PAHs would not appreciably increase the dietary intake of PAH. Consumption of fish (particularly shellfish) from polluted waters would appreciably increase the PAH intake and could present an unacceptable risk. In this context, the sum-total of individual PAHs recorded simultaneously in the same specimens of mussels are well in excess of the above-quoted level in certain areas of the Mediterranean (*vide* Tables 4 and 7).

5.2.3 Polychlorinated Biphenyls (PCBs)

Polychlorinated biphenyls (PCBs) have been widely used in electrical equipment such as capacitors and transformers and, to a lesser extent, in hydraulic and heat exchange appliances. These are usually regarded as enclosed systems and while in service they are unlikely to lead to a significant contamination of the environment. Improper collection, storage, transportation and disposal of PCB-containing wastes may, however, result in an increased environmental contamination (WHO, 1988).

PCBs gave negative results in several *in vitro* mutagenicity tests, but 4-chlorobiphenyl is reported to have induced DNA repair in CHO cells (IARC, 1987). Lymphocytes from a group of 15 workers acutely exposed to PCBs showed no increased incidence of chromosomal aberrations or Sister Chromatid Exchange (SCE) (Elo *et al.*, 1985).

Carcinogenicity studies in animals revealed that mixtures of PCBs containing a significant amount of more highly chlorinated homologues produced a high incidence of hepatocellular carcinomas in rats when given at dietary levels in the range of 100-1,000 mg/kg. Hyperplastic nodules appeared in the liver at 25 mg/kg in rats and mice (NCI, 1978; Norback *et al.*, 1985). In one experiment, Aroclor 1254 produced few liver tumours in rats but increased the incidence of adenocarcinoma of the stomach and of intestinal metaplasia (Ward, 1985).

In man the principal effects of prolonged exposure to PCBs are chloracne, a disfiguring skin disease, neuropathy and liver toxicity. These effects were observed under conditions of occupational exposure to 0.1 mg/m³ - 1.44 mg/m³ for 5-14 months (Meigs *et al.*, 1954) and after the ingestion of rice oil accidentally contaminated with PCBs (total dose 633 mg over a period of a few weeks) and PCDFs (3.4 mg) and PCQ (596 mg) (Habayuchi *et al.*, 1979).

PCBs, like other chlorinated hydrocarbons, are readily stored in fat and are removed very slowly (WHO, 1988).

Several epidemiological studies have been carried out on groups of workers occupationally exposed to PCBs. Although in some studies a higher than expected incidence of various types of cancer was found, no firm conclusions could be drawn because important confounding factors, e.g., exposure to other chemicals, could not be excluded. In one study where exposure was principally or exclusively to PCBs, the result was negative (Brown, 1987;

Shalat *et al.*, 1989; WHO, 1988). Claims that babies born from women exposed occupationally to PCBs had low birth weight or showed behavioural changes were unsubstantiated (Fein *et al.*, 1984).

It would appear that seafood is the principal source of PCBs for whole populations. Intake can be quite variable, depending particularly on the amounts and source of freshwater or marine fish consumed (WHO, 1988; GESAMP 1991). A review of reports of PCBs in seafood (GESAMP, 1991), indicates that the edible parts of vertebrate fish may contain several hundred µg/kg PCBs. Mediterranean data are shown in Tables 3 and 5. In the USA a tolerance level of 5,000 µg/kg PCB was set and later reduced to 2,000 µg/kg (Mearns, 1988). According to Bennett (1983) dietary intake of PCBs has been estimated to range from 5-100 µg/day with a mean intake of 24 µg/day. Acceptable mean daily intakes from food for PCBs are given below (WHO, 1985):

COUNTRY	µg/Day/Person
Netherlands	< 11.6
Germany	< 6.4
United Kingdom	< 40.0
Canada	< 0.1
Japan	< 15.0
U.S.A.	<0.1 - 1.9

Intake of PCBs from air and water is comparatively much smaller than that from food. For example, the PCB content in air varied from < 36 ng/m³ (Holland) to 1 ng/m³ (Norway). Concentrations in drinking water are between 0.1-0.5 ng/litre.

An individual consuming 150 g of fish a day containing 1 µg/g of PCBs (which is higher than concentrations found in Mediterranean seafood) would ingest 150 µg of PCB (or 2 µg/kg bw approximately). This level is several orders of magnitude lower than the levels which produced symptoms in man or adverse effects in experimental animals. To this, one could add that there is no epidemiological evidence of cancer in man produced by PCB exposure, and the liver cancer in animals are likely to have been produced by a non-genotoxic mechanism, thus giving some degree of reassurance that, at this level of intake, adverse effects are unlikely to occur in man.

Nevertheless, levels of about 2 µg/kg bw/day are much higher than acceptable mean levels of daily intake recommended by several countries (see above) so that some degree of caution has to be exercised before accepting levels of intake of this sort.

5.2.4 Polybrominated Biphenyls (PBBs)

PBBs like PCBs are extremely stable compounds and persist for a considerable time in the environment (e.g., soil, water) (Jacobs *et al.*, 1976) and in body fat (Stross *et al.*, 1979),

and are encountered mainly in water and sediments close to the sites where they are manufactured. They are not mutagenic in *in vitro* and *in vivo* tests (IARC, 1986) but hepatocellular carcinomas were reported in mice and rats given 0.1-10 mg/kg bw of hexabromobiphenyl (Fire Master FF1). The increased tumour incidence occurred at the 3.0 and 10 mg/kg bw levels in rats and at the 10 mg/kg bw level in mice (Gupta *et al.*, 1983; NTP, 1983; Kimbrough *et al.*, 1981). A low, non-statistically significant increase in hepatocellular carcinomas was found in the offspring of female Sherman rats treated with 200 mg/kg bw with Fire Master FF1 during pregnancy (Groce and Kimbrough, 1984).

In experimental animals, PBBs produce liver enlargement and are potent inducers of mixed function oxidase activity. They have a low order of acute toxicity ($LD_{50} > 17\text{g/kg bw/rat}$) (IARC, 1986).

High doses of PBB close to those producing maternal toxicity are toxic to the rat foetus and induce foetal malformations. Low doses do not produce effects of this sort (IARC, 1986).

A high prevalence of abnormal liver function tests was found in Michigan farmers exposed accidentally to fairly high levels of PBB. In addition, the levels of T- and B- lymphocytes were lower than expected and higher rates of musculo-skeletal, dermatological and neurological disorders were reported (Anderson *et al.*, 1978a, 1978b). However, no mention of an increase in the incidence of tumours occurred in this group of Michigan farmers or in a small cohort of workers occupationally exposed for several years (IARC, 1986).

In November 1974, the US FDA adopted acceptable upper limits of 0.3 mg/kg in the fat of milk, meat and poultry and 0.05 mg/kg in whole eggs (about 20 µg daily/man assuming a 60 g protein intake) (Di Carlo *et al.*, 1978; NTP, 1982).

It would appear that PBBs are, principally, a hazard close to areas where they are manufactured, used or stored. Like PCBs, they are not mutagenic, and are carcinogenic to experimental animals at high dose levels, hence intakes of the order of 20 µg daily are unlikely to cause adverse effects.

There is relatively little information on concentration of PBBs in seafood. Because of the similarity of toxic effects between PBBs and PCBs, it is desirable to keep levels of daily intake close to the figure regarded as acceptable by the FDA for terrestrial food. In this context, levels recorded in mussels in certain Mediterranean areas were quite low (Albaiges and Bayona, 1991).

5.2.5 Toxaphene

Toxaphene is an insecticide chiefly used in North America against major cotton pests, but also used in other areas. It is present principally in river water receiving effluents from plants where it is manufactured or receiving runoff water from crops sprayed with toxaphene (IARC, 1979b). It is only slowly biodegradable (Nash *et al.*, 1973) and accumulates in body fat. It was found to be mutagenic to *S. typhimurium* without metabolic activation. The dominant lethal test, carried out orally and intra-peritoneally was negative.

Toxaphene is moderately toxic. The LD_{50} is 90 mg/kg bw in rats (Gaines, 1960). It induces various hepatic microsomal enzymes (Kinoshita *et al.*, 1966) and centrilobular

hypertrophy of the liver (Ortega *et al.*, 1957). Toxaphene is not embryotoxic and is teratogenic at dose levels which induce maternal toxicity (IARC, 1979b).

Carcinogenicity of Toxaphene was studied in both rats and mice. In mice, time weighted average doses by the oral route of 99 mg/kg (low dose) and 198 mg/kg (high dose) for approximately 90-91 weeks, resulted in the production of a high incidence of hepatocellular carcinomas in both low and high dose groups. In rats, time weighted average doses by the oral route of 1080 or 1112 mg/kg (female and male respectively) and 540 or 556 mg/kg (female and male respectively) produced a high incidence of tumours of the thyroid in the highest dose groups in both sexes. No hepatic tumours were produced (NCI, 1979).

In man, the acute lethal dose has been estimated to be between 2-7 g/person. No increase in tumour incidence was found in 199 employees who were or had been employed in the manufacture of Toxaphene between 1949 and 1977 for periods ranging from 6 months to 26 years (Ottoboni, 1977).

Tolerance levels of 0.1-7 mg/kg of Toxaphene have been established on fruit and vegetables and of 5 mg/litre in navigable water. Catfish from commercial ponds was found to contain an average concentration of 1.98 mg/kg (Hawthorne *et al.*, 1974).

According to EPA guidelines, maximum limits of 0.005 ppm, 6 ppm and 0.0007 ppm are tolerated in water, crude soya bean oil, raw agricultural products and meat, fish and poultry (EPA, 1976, 1987). Assuming a consumption of 500 g mixed food, then the tolerated intake of Toxaphene is about 100 pg daily.

The liver tumours induced by Toxaphene in the mouse are probably a consequence induced in the activity of mixed function oxidases (Grasso and Hinton, 1991). The thyroid tumours in the rat are probably due to a disturbance of thyroid hormone balance of the type induced by inducers of m.f.o. activity (Grasso and Hinton, 1991). In fact, Toxaphene was given a 2B category (i.e., probably carcinogenic in man) by IARC (1987). Nevertheless, because of the positive mutagenicity test in *S. typhimurium* one cannot exclude entirely some direct effect on the genome.

Taking into account the limited geographical areas in which it is used, and the limited agricultural application, it is unlikely that it will present a hazard to populations in general, but may do so to fishing communities close to areas of its commercial use.

5.2.6 Mirex

Mirex has been used as a pesticide and fire-retardant principally in the U.S.A. (IARC, 1979d), but also in other areas, including the Mediterranean. In areas close to where it has been sprayed, it enters into most items of food and persists for several months.

Tolerances for residues of Mirex in food products in the U.S.A. are as follows: 0.1 mg/kg in the fat of meat and 0.01 mg/kg in or on all agricultural raw material (U.S. EPA, 1976). On a mixed diet, this would be about 7 µg/person/day.

Mutagenicity tests in *Salmonella* were negative. A dominant lethal test was also negative.

Mirex was tested for its carcinogenicity in 2 strains of mice at a single dose level (10 mg rising to 26 mg/kg bw). A much higher incidence of hepatocellular carcinoma was found in treated compared with control mice (Innes *et al.*, 1969). Mirex was also fed to rats at levels of 50 or 100 ppm in the diet for 18 months. A dose related incidence of hepatocellular tumours was observed in the treated groups. No such tumours occurred in controls (Ulland *et al.*, 1977). In a more recent study, Mirex induced a statistically significant increase in tumours of the liver, adrenal medulla and transitional cell epithelium of the kidney (NTP, 1987).

Since Mirex is a powerful inducer of m.f.o. activity, it is likely that the liver tumours in rats and mice were induced by a non-genotoxic mechanism. In fact, IARC (1987) gave it a low category of carcinogenic risk to humans (2B).

Mirex is relatively non-toxic. The LD₅₀ in rats is from 600-700 mg/kg bw. It causes liver enlargement at levels of 1 to 10 mg/kg, increased mixed function oxidase activity and fatty change. At high doses it induced hepatocellular necrosis (Kendall, 1974; Villeneuve *et al.*, 1977). At doses which produce maternal toxicity there was a reduction of foetuses and some foetal abnormalities. Lower doses were without effect (IARC, 1979d).

The highest residue levels recorded in the Mediterranean during the recent pilot monitoring study (*vide* Table 3) were 26.49 µg/kg in fish and 12.04 µg/kg in mussels (both in terms of fresh weight) (Kanitz *et al.*, 1990), which are lower than the amount allowed in the fat of animal meat in the U.S.A. Assuming a daily intake of 150 g of seafood containing 30 µg/kg of Mirex, then the daily intake would be approximately 4.5 µg/person which is lower than the tolerated intake from food, but which does not take other sources into consideration.

5.2.7 Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)

DDT is a broad spectrum insecticide, effective against a variety of insect pests. It is stable under most environmental conditions and is resistant to complete breakdown by the enzymes present in soil microorganisms and higher organisms. Its persistence in the environment is mainly due to the fact that it is soluble in fat and virtually insoluble in water (WHO, 1979).

DDT was not mutagenic in the *S. typhimurium* test or in fungi. It induced chromosomal aberrations but not micronuclei in bone marrow cells and spermatocytes of mice. No such effects were observed in the bone marrow cells or rats. It caused dominant lethal mutations in *Drosophila* but was negative in tests for chromosomal abnormalities, mutations or unscheduled DNA synthesis in human cells *in vitro* (IARC, 1987).

Epidemiological studies by Laws (1973) and WHO (1979) on heavily exposed workers did not reveal any evidence of carcinogenicity in man by DDT. Despite the small number of cases in these studies, the period of observation lasted several years, granting some credibility to the negative findings. 19 epidemiological studies on various population groups exposed to DDT were reviewed by IARC (1987). IARC came to the conclusion that the evidence for the carcinogenicity of DDT in man was inadequate (IARC, 1987).

DDT is a compound of moderately acute toxicity. The oral LD₅₀ in the rat is 500-2,500 mg/kg bw and in the mouse it is 300-1,600 mg/kg bw in aqueous suspension. When dissolved in oil the LD₅₀ is approximately 1/3-1/2 of the LD₅₀ of DDT in aqueous suspension (WHO, 1979).

At dosage levels close to the lethal dose, adverse effects appear in the CNS and in the liver. The CNS effects consist of hyperirritability, tremors and convulsions. The hepatic effects consist of focal hepatocellular necrosis (WHO, 1979). At lower dosage levels, liver enlargement and stimulation of m.f.o. activity occurs in a dose-related fashion (Conney, 1967).

No ill effects in man have been reported from DDT exposure by the inhalation and dermal routes even under conditions of high level exposure such as spraying the interior of houses in anti-malarial campaigns or its liberal application in mass de-lousing of troops and civilians during World War II (WHO, 1979).

The only demonstrable effects of DDT in the general population are storage of the compound and some of its derivatives in the tissues and their excretion in urine and milk (Laug *et al.*, 1951; Denes, 1962). In the more heavily exposed an increased ability to metabolize DDT itself or a test drug (e.g., phenylbutazone) more rapidly than average was also demonstrable (Kolmodin *et al.*, 1969; Poland *et al.*, 1970).

Very high doses of DDT such as may be ingested by accident or with suicidal intent induce CNS changes characterized by incoordination, tremor, anaesthesia and convulsion. The lethal dose in man is not known but it would appear that doses in excess of 300 mg may cause toxic symptoms and loss of life (WHO, 1979).

Food represents the major source of intake of DDT in the general population. At the peak of DDT usage this intake was 0.04 mg/man/day, water contributed 1/1000 of this amount.

DDT exposure from food varies from one country to another. This variation is about three-fold but may be as high as ten-fold. The concentration of unmetabolized DDT in muscle tissue (meat) is, in many parts of the world, below level of detection (Villeneuve, 1987) but in heavily polluted areas may average 50 µg/kg. The concentrations in fish liver and liver oil are generally about 10 times those in muscle -the highest value found is 7000 µg/kg (Magos, 1989). Most concentrations of DDT products in shellfish appear to be below 100 µg/kg Magos (1989). Recent Mediterranean data is shown in Tables 3 and 6.

The allowable daily intake was set at 0.02 mg/kg bw (FAO/WHO, 1984).

DDT induced hepatic tumours in rats and mice at very high levels of administration. The mutagenicity studies were inconsistent suggesting that mutagenicity of DDT is either weak or equivocal. These results, together with the absence of any epidemiological evidence of carcinogenicity in man, would suggest that the carcinogenic hazard to man is very low indeed. Calculations of daily intake provide some further reassurance. Thus assuming a consumption of 150 g/day of fish in a fishing community and an average of 50 µg/kg of DDT in fish (which approxi-mately corresponds with Mediterranean concentrations) the daily intake would be 0.125 µg/kg bw. This would constitute 1/160 of the acceptable daily intake.

5.2.8 Hexachlorobenzene (HCB)

HCB is used principally in the control of fungi which infect the seeds of onions, sorghum and wheat and as a wood preservative. The content of HCB in commercial grades varies from about 12-80% the remainder being impurities (IARC, 1979d).

In mutagenicity studies HCB was negative in the dominant lethal test in mice and *in vitro* tests with *Saccharomyces cerevisiae* and other organisms (Gorski *et al.*, 1985; Guerzoni *et al.*, 1976). HCB was not mutagenic in a recently conducted study in several systems (Siekel *et al.*, 1991). In carcinogenicity studies a statistically significant increase in liver tumours occurred in rats fed 100 or 200 mg HCB/kg body weight. No tumours were observed in rats treated with 50 mg HCB/kg body weight or in controls (Cabral *et al.*, 1979). Hepatic tumours (*hepatomas* and *haemangiosarcomas*) were increased statistically and in a dose-related manner in hamsters treated with 50, 100 or 200 mg HCB/kg body weight (Cabral *et al.*, 1977).

HCB was minimally teratogenic when given at high doses (Khers, 1974; IARC, 1979).

Although there seems to be an association between naturally occurring porphyria and human hepatocellular carcinoma (Kordac, 1972; Axelson, 1986), no excess of liver cancer was observed 25 years after an epidemic of porphyria from accidental consumption of grain heavily contaminated with HCB (Peters, 1982). In this epidemic the estimated daily intake was 50-200 mg/kg HCB over a relatively long period (months) before symptoms appeared. Follow-up studies of 32 of the patients have shown that abnormal porphyrin metabolism and active symptomatology persisted for 20 years after the epidemic (Peters *et al.*, 1978; Peters, 1976) suggesting that the course of HCB-induced porphyria may be different from the naturally occurring disease insofar as its association with liver cancer is concerned.

According to IARC (1987) there are no available reports of a direct association between HCB and human cancer.

The LD₅₀ in rats is between 3,500-10,000 mg/kg bw. Death is due to neurotoxic effects (Booth and McDowell, 1975).

Repeated administration of HCB at fairly high dose levels, (about 500 mg HCB/kg body weight) to rats results in porphyria, immunosuppression, hepatomegaly and induction of m.f.o. activity (den Tonkelaar *et al.*, 1978; Loose *et al.*, 1977; Kimbrough and Linder, 1974; Grant *et al.*, 1974; Stonard, 1975).

Various estimates of dietary intake of HCB from food, in which amounts are generally low, have been made. In the U.S.A. this estimate ranged from 0.4 to 0.08 µg/day/man (U.S. F.D.A.). In Italy, it was 4.11 µg/man/day. In Japan it can be estimated to be 18 µg/kg (Leoni and D'Arca, 1976, from figures provided by Morita *et al.*, 1975).

A dose of 0.6 µg has been established as a conditional acceptable daily intake in man (36 µg for a 60 kg/man) (WHO, 1975). According to EPA guidelines, the intake from water over a long-term period (several months) should not exceed 50-175 µg/litre (U.S. P.H.S. 1990).

Consumption of 150 g of fish containing 3.26 µg/kg (fresh weight) of HCB (the highest amount recorded during the 1989-90 pilot monitoring project) would lead to an intake of just below 0.5 µg which is a fraction of the conditional acceptable daily intake. At these low levels it is unlikely that HCB will present a carcinogenic risk for man. The negative epidemiological data provide a further degree of reassurance.

5.2.9 Hexachlorocyclohexane (HCH)

8 isomers of HCH are recognized. The ones most commonly found in commercial preparations are the *a*-, *g*- and *d*- isomers. The *g*-isomer (lindane) is the most active isomer as an insecticide and most technical preparations of HCH contain a substantial proportion (up to 99.9%) of this isomer. The name lindane is restricted to essentially pure preparations of the *g*-isomer. HCH is only slowly degradable in soil (IARC, 1979c).

Lindane, like other chlorinated hydrocarbon insecticides, is stored in human body fat (Solly and Shanks, 1974).

a- and *b*-HCH and lindane were not mutagenic in bacteria, yeast or *Drosophila*. Lindane induced chromosome aberrations in plant cells and chromatid breaks in human lymphocytes *in vitro* (IARC, 1979c).

The four common isomers, as well as technical grade of HCH, were tested for carcinogenicity in rats and mice. The *a*-isomer induced hepatic tumours in mice and rats, the *b*-isomer, lindane and HCH (technical) in mice only. The tumours induced in the mouse by these isomers developed at doses greater than 100 mg HCB/kg body weight in life-time studies. In the rats, dose levels of *a*-HCH that were effective in producing hepatocellular tumours were of the order of 300 mg HCB/kg body weight or greater (IARC, 1979c). Lymphoreticular neoplasms were also induced in in-bred mice by technical grade HCH (Kashyap *et al.*, 1979).

A questionable increase in thyroid tumours was found in male rats treated with lindane at dose levels of 236 and 472 and in female rats at doses of 135 and 270 mg HCB/kg body weight (IARC, 1979c).

Carcinogenicity studies were also conducted in dogs and hamsters but they were considered to be inadequate for evaluation of human risk (IARC, 1987).

An increased incidence of lung cancer was reported in 285 workers who had applied various pesticides, including HCH, in an agricultural setting. Although the incidence of tumours was greater than that expected from smoking, the presence of other chemicals (including solvents) does not allow the increased incidence of tumours to be attributed to lindane (Barthel, 1981). Later epidemiological studies claimed an association between occupational exposure to HCH and leukaemia, soft-tissue sarcomas and lymphomas. These studies were considered to be inadequate for assessing the carcinogenic risk for man from HCH exposure (IARC, 1987).

The LC₅₀ of *a*-, *b*-, *d*-isomers and of technical HCH is over 500 mg/kg in rats and mice. That of the *g*-isomer is about 86 mg/kg in mice and about 100 mg/kg in rats (WHO, 1969).

Doses of lindane which are acutely toxic in rats induce diarrhoea, convulsions and respiratory failure (Chen and Boyd, 1968). Lower doses induce liver enlargement, induction of m.f.o. activity and fatty change or focal necrosis of the liver (Schulte-Hermann, 1974; Fitzhugh *et al.*, 1950).

Lindane is embryotoxic but not teratogenic (IARC, 1979).

The concentration of lindane or HCH on foodstuffs varied considerably from country to country in the 60s and 70s when it was extensively used as a pesticide, (e.g., average daily intake, U.S. 3 µg/day, Spain 11.52 µg/day, Japan 3.5 µg/day). Restriction of its use has resulted in considerable diminution of residues in food and hence of its daily intake (IARC, 1979c).

A maximum acceptable daily intake of lindane for humans was established at 0-0.01 mg/kg bw/day (WHO, 1976). The current EPA guideline for oral intake is 1.8 mg/day (EPA, 1988).

Assuming a daily intake of 150 g of fish containing 1.20 mg/kg lindane (representing an approximate average of levels recorded in the Mediterranean) the amount ingested would be 180 µg or approximately 3 µg/kg bw in a 60 kg man, which is a third of the maximum acceptable intake in 1976. At this dose level it is unlikely that HCH would present a carcinogenic hazard to man. Further reassurance can be gained from the fact that despite prolonged exposure under occupational conditions there is no evidence for an increase in tumour incidence in the workers exposed. In addition, few tumours have been induced in animals despite the high doses administered.

5.2.10 Nitritotriacetic Acid and its Salts (NTA)

NTA is an aminocarboxylic acid that can sequester metal ions as water-soluble complexes (Anderson *et al.*, 1985).

A large number of mutagenicity and clastogenicity tests have been carried out on NTA and its salts. Some *in vitro* results, primarily in tests for chromosomal anomalies, were positive. One test in *Drosophila* was positive but a second test was negative. Two *in vitro* tests in mice were negative. All the positive results were observed at very high, near lethal, concentrations (IARC, 1990).

In mice, administration of NTA at 7,500 or 15,000 ppm in the diet for 18 months resulted in a statistically significant and dose-related increase of renal adenocarcinoma in males. A very low incidence of the same type of tumour was observed in female mice at the highest dose only. The experiment was terminated at 21 months (NCI, 1977). In rats fed the same dietary concentrations of NTA for 18 months and killed at 24 months there was a dose-related increase in tubular-cell adenomas and adenocarcinomas in males and in transitional and squamous cell carcinomas of the urinary bladder in females. In both sexes, the tumour incidence at the highest dose was statistically significant (NCI, 1977).

The trisodium salt of NTA (monohydrate) was also tested for carcinogenicity in mice at 2,500 and 5,000 ppm for 18 months in the diet. The mice were killed at 21 months. No urinary tract tumours were observed but a few animals in the treated groups developed haematopoietic tumours. The same salt was tested in rats at 0, 200, 2,000 or 20,000 ppm in the drinking water for 104 weeks. Tubular cell adenomas and adenocarcinomas as well as transitional cell tumours were observed in both males and females of the treated groups. The incidence of both the transitional cell tumours and tubular cell tumours was dose-related and statistically significant.

A statistically significant increase in the incidence of tubular tumours was observed when NTA was administered in drinking water to rats at 1,000 ppm in drinking water (Goyer *et al.*, 1981) but the disodium salt administered at 5,000 ppm to mice or rats in conventional life-time studies failed to elicit any tumours (Greenblatt and Lijinski, 1974; Lijinski *et al.*, 1973). There are no epidemiological data on the carcinogenicity of NTA in humans.

NTA and its salts are not metabolized in the mammalian organism and are excreted unchanged in the urine. The renal content of NTA is higher than that in any other tissue. Evidence of renal tubular cell damage and ulceration and hyperplasia in the urinary tract epithelium were observed in short-term studies in rats and mice treated with high levels

(comparable to those that produced tumours in carcinogenicity studies in rodents) of NTA or of its sodium salts (Anderson *et al.*, 1985).

The principal route of human exposure is from drinking water. The US Food and Drug Administration has approved the use of NTA (trisodium salt) as an additive to boiler water used in the preparation of steam that will come into contact with food. It may not exceed 5 mg/litre (ppm) in boiler feedwater and may not be used when steam comes into contact with milk and milk products (IARC, 1990).

Occupational exposure is limited to 1 mg/m³/8 hour TWA or 2 mg/m³ STEL (Monsanto Co, 1985).

Studies on the effects of NTA on reproduction and prenatal toxicity were carried out in mice, rats and rabbits. No teratogenic effects were observed but some bladder defects were found in rat foetuses in one study (IARC, 1990). Furthermore, there is no evidence that NTA or its salts enhance the reproductive toxicity of heavy metals in experimental animals (MacClain and Siekeirka, 1975).

The data suggest that renal cancer in rats and mice was induced by dose levels which were clearly nephrotoxic in short-term tests. This would suggest that the tumours arose as a consequence of cell damage and consequent repair. The questionable mutagenicity studies support the view that the renal tumours were induced by a non-genotoxic mechanism. At the low level present in water it is unlikely to present a carcinogenic hazard for man.

5.2.11 Low Molecular Weight Halogenated Hydrocarbons (Solvents)

A very large number of such compounds are used in industry and many of these find their way in the drinking water and eventually in the sea.

Because of the many compounds involved, it is difficult to make a selection for special discussion and appraisal. An attempt has been made by IARC to identify those which appear to have caused the greatest concern (Table 15). This brief evaluation is based on data derived from IARC (1979a).

The only solvent in this group that has given unequivocally positive results in mutagenicity test is 1,2-dichloroethane. It was positive in more than one test system and the results were clearly linear over a wide range of concentrations in at least one system (*Drosophila*). The other solvents which are listed as positive in the table were tested only in prokaryotes (IARC, 1979a).

The LD₅₀ figures indicate that the compounds reviewed possess a wide range of toxic potential. Carbon tetrachloride would appear to be the most toxic - tetrachloroethylene, the least toxic. Concentrations in drinking water are normally several orders of magnitude below the LD₅₀ and one could, therefore, assume that they present little or no toxic hazard to man. If one assumes that the concentration in seawater will not exceed those in drinking water by a significant amount, then the risk of toxicity from compounds of this sort in seawater is likely to be minimal, if present at all.

Table 15

Toxicological profile of some low molecular weight
halogenated hydrocarbons (Solvents)

(Based on data derived from IARC, 1979a)

	LD ₅₀ mg/kg bw	Liver Necrosis	Mut	Terat	Cancer	Organ
Carbon tetrachloride	2.92-12.1	+ve	-ve	Fetotoxic	+ve	Liver (R and M) ?mammary gland (R)
Chloroform	120-1188	+ve	-ve	"	+ve	Liver (M) Kidney (R)
1,2-Dichloroethane	up to 700	+ve*	+ve	ND	+ve	Lung, haematopoietic tissue (M, R) Forestomach (R) Mammary (R)
Dichloromethane	up to 2000	+ve	+ve	-ve	?+ve	Lung (M)
Hexachloroethane	4.5	+ve	ND	ND	+ve	Liver (M) Kidney (R)
1,1,2,2-Tetrachloroethane	250-820	+ve	+ve	+ve	+ve	Liver (M, R)
Tetrachloroethylene	>5000	+ve	-ve	-ve	+ve	Liver (M, R)
1,1,1-Trichloroethane**	>5000	+ve	+ve	-ve	+ve	Liver (M)
1,1,2-Trichloroethane	up to 835	+ve*	-ve	ND	+ve	Liver (m, R) Adrenals (M)
Trichlorethylene	189-7200	+ve	+ve	-ve	+ve	Liver (M) Lung
CNS depression (**) Stimulates m.f.o. activity (*) Kidney necrosis also ND = No information available M = Mouse R = Rat						

All the solvents listed in the table are carcinogenic. Most of them produce liver cancer in rats or mice or in both species. Since many of the solvents are either non-mutagenic or of doubtful mutagenicity the cancers must have arisen by some non-genotoxic mechanism. This mechanism is the most likely for carbon tetrachloride, chloroform, tetrachloroethylene and 1,1,2-trichloroethane, since these compounds are unequivocally non-mutagenic. This supposition is supported by the fact that liver necrosis was observed in short-term tests at levels close to those used in carcinogenicity studies and it is now generally accepted that repeated episodes of necrosis and regeneration are likely to lead to tumour formation (Grasso *et al.*, 1991).

The same comments can also be applied to dichloroethane, 1,1,1,1-tetrachloroethane, 1,1,1-trichloroethane and trichloroethylene although one cannot entirely dismiss the possibility that a genotoxic mechanism may be partially responsible for the development of these tumours.

1,2-Dichloroethane would appear to be in a different category from the other solvents. It produced tumours in several organs and is unequivocally mutagenic. It is likely that at least some of the tumours (e.g., haemangiosarcomas) may have been produced by a genotoxic mechanism. It is not certain to what extent these carcinogenic and mutagenic results can be attributed to the parent compound or to the impurities that might be present. Nevertheless, commercial preparation of this solvent would appear to present a greater carcinogenic hazard to man than any of the other solvents.

5.2.12 Polychlorinated Dibenzodioxin (PCDD) and Polychlorinated Dibenzofurans (PCDF)

About 75 PCDDs and 135 PCDFs have been identified in the environment but data of sufficiently good quality to assess human risk exist only for 2,3,7,8-tetra CDD (TCDD). For the other congeners and isomers, toxicological data are limited to acute or short-term exposure or to *in vitro* studies. Most of these isomers and congeners have been detected by isomer-specific analyses of diverse environmental samples such as industrial wastes, soil, municipal wastes and human adipose tissue (IPCS, 1989, WHO, 1988a).

In the absence of adequate data to evaluate the hazard from these chemicals, several models have been proposed to relate the toxicity of PCDFs and PCDDs in the environment to that of TCDD. The results of these models are called "TCDD Toxic Equivalent" (TTE).

The TTE values for the various compounds differ from model to model but they are consistently a fraction of the values for TCDD, indicating that the various congeners and isomers studied are less toxic than TCDD.

If each compound were to be considered as toxic as TCDD one would overestimate the toxic hazard from this group of compounds. An overestimate of this sort would mean that any calculation of a tolerated dose for this group of compounds would have a built-in "safety factor".

In this section attention will be principally directed to the mutagenicity and carcinogenicity of TCDD but data from other isomers and congeners will be included as necessary to assist in evaluating the carcinogenic and toxic hazard from this group of compounds.

TCDD was found to be mutagenic in *S. typhimurium* TA 1532 and *E. coli* Sol 4 by one investigator. Negative results were obtained by other investigators using 4 strains of *S. typhimurium* (TA 1532, 1535, 1537 and 1538). A cell transformation test using kidney hamster cells was positive but a dominant lethal test in mice and a cytogenetic study in rat bone marrow were negative (Giri, 1986; WHO, 1988a).

Studies in rats demonstrate that covalent binding to DNA is 4-6 orders of magnitude lower than that of most chemical carcinogens and the binding with DNA is equivalent to one molecule of TCDD per DNA of 35 cells (Poland and Glover, 1975).

Liver, nasal turbinate and hard palate tumours showed a statistically significant increase in both sexes of Sprague-Dawley rats given 0.1 µg/kg bw (top dose). In addition, liver tumours showed a statistically significant increase in females given 0.01 and 0.1 µg/kg bw. Lung tumours were significantly increased at the highest dose in females. No increase in tumours was observed at the lowest dose (0.001) in either sex (Kociba *et al.*, 1978). In subsequent studies, tumours of liver and thyroid were observed at the highest dose level in rats given TCDD in amounts comparable to those of the Kociba experiment (NIH, 1982a). No tumours of lung or hard palate were found in the NIH experiment. In mice, liver and thyroid tumours were observed at doses of 2 µg/kg/week (highest). Lower doses did not increase tumour incidence in any organ (NIH, 1982b; WHO, 1989a).

There is no reliable evidence that TCDD is carcinogenic or teratogenic to man (Fara and del Corno, 1985; WHO, 1989a, IARC, 1987).

TCDD is foetotoxic and teratogenic in mice and rats at dose levels ranging from 0.5 µg/kg to 3 µg/kg. Adverse effects on reproduction (reduced fertility) were observed on diets of 18 mg/kg bw/day. The no effect level in monkeys is about 200 mg/kg bw (WHO, 1989a).

TCDD is extremely toxic to all mammalian species tested. The oral LD₅₀ is in the µg/kg to low mg/kg range. It is 2 µg/kg bw in the guinea pig, one of the most sensitive species to TCDD toxicity. TCDD is a powerful inducer of m.f.o. activity and causes marked liver enlargement (WHO, 1989a).

The principal type of exposure to TCDDs occurs during the manufacture of 2,4,5 trichlorophenols, in which it occurs as an impurity. Less commonly, exposure may also occur from leakage or explosion of reaction vessels. Under these conditions of high level exposure adverse effects occurred in skin (chloracne, hyperkeratosis or hyperpigmentation) and in the liver (mild fibrosis, elevated serum transaminase) and other organs such as CNS (Crow, 1970; Kimbrough, 1974; WHO, 1989a).

Food is the main source of TCDD intake in man. It has been found to occur in a variety of foods from animal or vegetable sources. The data is fragmentary (WHO, 1988a) but it is estimated that a 70 kg/man has an average daily intake of 0.8 pg/kg bw/day of TCDD from animal sources and 0.4 pg/kg bw/day from fish food (assuming a 70 g intake of animal fat and 10 g of fish food), making a total of 1.2 pg/kg bw/day.

Exposure via inhalation is expected to yield an intake of 0.1 pg/kg bw/day. Exposure via drinking water and other non-occupational sources is considered to be negligible (WHO, 1988a).

PCDFs were present in the PCDDs mixtures tested for carcinogenicity in animals. The biochemical changes produced by PCDFs in short-term tests are very similar to those produced by PCDDs consisting of liver enlargement and increased m.f.o. activity.

PCDFs occur as contaminants in the manufacture of chlorinated aromatic compounds and may also be formed as a result of combustion (IPCS, 1989). Their rate of degradation is very slow so that they persist in the environment for some considerable time. They are very sparingly soluble in water but readily soluble in lipids. They tend to concentrate in the food and in the body fat of man and animals (IPCS, 1989). No mutagenic activity was found when TCDF was tested in *S. typhimurium* strains TA98 and TA100 and in *S. cerevisiae* (IPCS, 1989). No data on the carcinogenicity of PCDFs are available on either animals or man.

The oral LD₅₀ of TCDF is about 1 mg/kg in rats and greater than 6 mg/kg in mice. In guinea-pigs the LD₅₀ over 80 days was 1-2 µg. In monkeys the LD₅₀ is between 1000 and 1500 µg/kg (IPCS, 1989; WHO, 1988).

Short-term studies in rats at levels of 1-10 µg PCDFs and in the same concentration as that found in the contaminated rice oil causing "Yusho" produced an elevation of hepatic serum enzymes, hepatomegaly and induction of m.f.o. activity (Oishi, 1977 and Hori *et al.*, 1986). Thymic atrophy was also observed in these animals and was seen in mice fed 100 µg/TCDF/kg diet or higher doses. Other toxic effects in addition to thymic atrophy occurred at higher dose levels. Deaths occurred in guinea-pigs during an 88-day period of feeding TCDFs in diet at 1-2 µg/kg bw (Ioannou *et al.*, 1983).

PCDFs were reported to produce acne in man (Braun, 1955) and Vos and Kolman (1970) expressed the opinion that PCDFs account for the acnegenic properties of some commercial PCB mixtures.

In the absence of any carcinogenicity or epidemiological studies on PCDF, no direct assessment can be made on the carcinogenicity risk for man they represent. However, on the basis of the comments made earlier in this section some idea of the hazard from both PCDFs and PCDDs can be obtained from a consideration of the hazard presented by TCDD.

TCDD was not given an acceptable or tolerated level by WHO. However, the U.K. Government Committee on Toxicity have recommended a guideline of 60 pg per adult (HMSO, 1989). They stress that the guideline incorporates large safety factors and they note that the average dietary intake has been close to or above this guideline for many years without apparent harm. Similar guidelines have been arrived at by other chemicals.

5.3 Conclusions

The compounds considered in Section 5 are acknowledged to occur widely in the environment and have been the cause of much concern with regard to the health hazard they might present.

Arsenic, particularly in its inorganic form, is acknowledged to be a human carcinogen and has caused skin cancer in some communities whose drinking water is derived from geological formations rich in arsenic. Seafood would appear to make a significant contribution to the amount of arsenic in the diet if it forms a major source of protein. Fortunately, most of the arsenic in seafood is in the organic form which is less toxic and carcinogenic than the inorganic form thus providing some reassurance of safety. Nevertheless, every effort should be made to restrict intake to the levels recommended by various authorities.

PAHs containing a number of 4-6 ring compounds are strongly carcinogenic to animals when applied percutaneously and are present in products which are strongly associated with

human skin cancer (e.g., soot, crude mineral oil) and lung cancer (Coke oven fumes). In animals, PAH administered by the oral route are carcinogenic to the fore-stomach, an anatomical region absent in man (Nagayo, 1973) but there is no evidence that food containing PAHs has produced stomach or other cancer in man. Nevertheless, it would be prudent to keep the level of contamination as low as possible in the environment in order to reduce its uptake in the human food-chain.

The other compounds considered in this section fall within the broad category of chlorinated hydrocarbons. They are all hepatocarcinogenic to rats and mice but epidemiological studies conducted on the ones most prevalent in the environment (e.g., DDT, HCB, TCDD) has failed to reveal any suggestion of human cancer even when exposure has been heavy and prolonged.

There is good scientific evidence that, in rodents, cancer of the liver often results from prolonged hepatocellular damage (Grasso and Hinton, 1991). At levels close to the doses employed in carcinogenicity studies some adverse effect ranging from liver enlargement to hepatocellular necrosis were observed suggesting that the liver tumours may have occurred as a consequence of these pathological findings. This view is supported by the fact that mutagenicity tests on these compounds in several systems both *in vitro* and *in vivo* were either negative or equivocal. On this basis the very small amount of the chemical that finds its way in seafood is most unlikely to present a risk of cancer.

There are some exceptions to this general view. Dioxin is extremely toxic to laboratory animals and although little adverse effects were observed in people exposed to fairly large doses through industrial accidents, some caution should be exercised when considering long-term exposure in man since under such conditions of exposure the human reaction may be different from the reaction to a single large exposure.

Dichloromethane is another exception to this rule. It is genotoxic in a number of systems and has produced tumours in more than one organ suggesting that the carcinogenicity of the compound may, to some extent, be due to its genotoxicity.

Despite these reservations, it can be concluded that provided the intake from seafood of the substances considered in this document is within the guidelines set by authoritative bodies and that this intake does not significantly add to the burden from terrestrial food, there is little likelihood of adverse effects such as cancer developing in communities dependent on marine products for their subsistence.

6. CONTROL MEASURES

6.1 Existing National and International Control Measures

The rationale for legislative control of chemical pollution of the environment, including the marine, is based on overall toxicity of the chemical substance or substances in question to man or other living organisms, and carcinogenic, teratogenic and/or mutagenic hazards are taken into account within such an overall toxicological framework.

In the case of organohalogen compounds, a number of which have been considered in the present document, the current legal provisions for control are summarized on the basis of available information in Table 16. The situation regarding other chemicals is less clear although, in many countries, complete or partial coverage is effected by means of blanket legislation and/or administrative provisions referring to water pollution and/or to dangerous

chemicals in general. The Spanish 1985 Law on Waters does not include an explicit provision for coastal waters, but regulates discharges into rivers which could pollute the sea. Regulations enacted in 1986 under this law includes limit values for a large number of substances (including Arsenic and pesticides) in effluents. The Italian 1976 Law on the protection of waters from pollution (which specifically includes marine waters) sets limit values for several substances in effluents, including Arsenic. French legislation also sets limit values on the concentrations of pollutants in effluents, but does not specifically mention the substances considered in this document. All the above-mentioned legislation is complemented in each country by other provisions in compliance with EEC Directives on organohalogen compounds.

A number of Mediterranean countries have recently promulgated legislation on the prevention and control of marine pollution from land-based sources. This legislation is mainly designed to provide for compliance with the provisions of the 1980 Athens Protocol. In the majority of cases, no specific regulations concerning limit values for concentrations in effluents, water or seafood appear to have been issued other than those listed in Table 16. In the case of Mediterranean EEC Member States, national legislation is based on the relevant EEC Directives.

At international level, with respect to organohalogen compounds, EEC Council Directive 76/769/EEC of 27 July 1976 (EEC, 1976a) restricts the use of PCB and PCT to closed-system electrical equipment, hydraulic fluids, condensers, etc. Council Directive 76/403/EEC of 6 April 1976 (EEC, 1976b) regulates the disposal of these substances. The Community has set limits of discharge for certain organohalogen compounds (Table 17) and quality objectives (Table 18) for those countries wishing to apply this option.

From the more general aspect, EEC Council Directive 76/464/EEC of 4 May 1976 (EEC, 1976c) on pollution caused by certain dangerous substances into the aquatic environment of the Community includes "Substances in respect of which it has been proved that they possess carcinogenic properties in or via the aquatic environment". As in the case of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, this provides double coverage for carcinogenic substances falling within chemical groups itemized separately in the same annex, and at the same time caters for other substances with the same properties not already covered. A communication to the Council from the Commission dated 22 June 1982 (EEC, 1982) contains a list of 129 chemical substances, drawn from various groups, which are considered as potential candidates for eventual inclusion in List 1 to the 1976 Directive. Out of 21 substances selected as priority items within this list, Arsenic and its mineral compounds, Benzidine and PAHs (in particular 3,4-Benzopyrene and 3,4-Benzofluoranthene) are placed under the specific heading of carcinogens.

6.2 Action Proposed for the Mediterranean

The present document is concerned solely with the carcinogenic, teratogenic and mutagenic hazards associated with the chemical substances dealt with. The actions proposed are limited to these aspects, and do not in any way preclude any remedial or control action which might be necessary either on overall toxicity and/or hazard grounds or because of any hazard other than carcinogenic, teratogenic or mutagenic presented by the substances in question.

From the point of view of risks to marine organisms, the impossibility of arriving at any reliable estimate of such risks has been explained in detail in Section 4.4. For this reason, the main long-term action which is clearly indicated is the acquisition of more data as specified in

sub-paragraphs (a) to (h) of the above-mentioned section. Apart from data of global as opposed to purely Mediterranean interest, which should be contributed to, but not viewed as a primary aim, specific requirements for the region include field surveys to determine levels and (to the extent possible) effects, supported by relevant research projects geared to ecological conditions specific to the Mediterranean.

In view of the relative sophistication of the work involved, arrangements could be made for some aspects to be tackled as joint interlaboratory projects on a bilateral or multilateral basis.

Table 16

Legal provisions for organohalogens in Mediterranean countries

COUNTRY	PROVISIONS
Algeria	Total ban on PCB, DDT and lindane
Cyprus	Control use of pesticides, ban on use of aldrin/dieldrin, preservative. DDT in fish should not exceed 5 mg kg ⁻¹
Egypt	*
France	EEC directives apply. Control on production. Ban use of drins, DDT, HCH, HCB, toxaphene and DBCP in agriculture
Greece	EEC directives apply
Israel	Industrial effluent standard of 0.02 mg R ⁻¹ for sewage
Italy	EEC directives apply. Indicative figure for PCB in fish of 5 mg kg ⁻¹ . Effluent standard of 0.05 mg R ⁻¹ for organohalogen pesticides
Lebanon	*
Libya	Control on import and manufacture of all organohalogens
Malta	PCBs, PCTs and chlorinated pesticides are not manufactured and their importation and use is prohibited
Monaco	EEC directives apply
Morocco	*
Spain	EEC directives apply
Syria	*
Tunisia	*
Turkey	*
Yugoslavia	Limits for all organohalogens varying from 0.001-0-1 mg R ⁻¹ depending on the category of water. For seafood, PCB 3 mg kg ⁻¹ , DDT 1.0 mg kg ⁻¹ , HCH (alpha, beta, gamma) 0.1 mg kg ⁻¹ , HCH (gamma) 0.5 mg kg ⁻¹ (pesticides on a fat wt basis)

* No information supplied

Table 17

EEC limits set for industrial discharges (mg R⁻¹, monthly averages)

INDUSTRIAL SECTOR	LIMIT	DATE OF APPLICATION	DIRECTIVE
1. Production of HCH	2	01.10.1988	84/491/EEC
2. Extraction of lindane	2	"	"
3. Production of HCH and extraction of lindane	2	"	"
4. Production of CCl ₄	1.5	01.01.1988	86/280/EEC
5. Production of chloromethanes	1.5	01.01.1988	"
6. Production of CFCs	No limit set		"
7. Production of DDT	0.7 0.2	01.01.1988 01.01.1991	" "
8. Production of PCP	1	01.01.1988	"
9. Production of drins	2	01.01.1988	88/347/EEC
10. HCB production and processing	1	01.01.1990	"

Table 18

EEC quality objectives for certain organohalogens

COMPOUND	QUALITY OBJECTIVES
HCH (total)	20 ng R ⁻¹ in territorial waters close to discharge points. 100 ng R ⁻¹ in inland surface waters affected by discharges
CCl ₄	12 µg R ⁻¹ in all types of waters
DDT	10 µg R ⁻¹ for pp DDT and 25 µg R ⁻¹ for total DDT applies from 1.1.88 for all types of waters
PCP	2 µg R ⁻¹ from 1.1.88 for all types of waters
Drins	30 ng R ⁻¹ for all with a maximum of 5 ng for endrin
HCB	0.03 µg R ⁻¹ from 1.1.90 for all waters

Note: The phrase "The concentration of (organohalogen) in sediments and/or mulluscs and/or shellfish and/or fish must not increase significantly with time" accompanies the objectives.

From the viewpoint of risks to human health, the general indication is that the carcinogenic risk as such appears to be low, in relation to overall risks arising from the general properties of the substances in question. One other important factor to consider is that, in practically every case, seafood consumption is not the only source of human intake and, more often than not, does not constitute a major proportion of the overall intake. Any legal or other statutory measure contemplated for seafood would therefore first have to take into account the global dimensions of the problem, if any, the significance of the contribution of marine pollution effects through seafood consumption to the total exposure, on the basis of levels encountered in the various environmental matrices serving as exposure sources, together with food consumption patterns of population groups.

On this basis, and on consideration of the relevant data as presented in the various sections of this document, it does not appear that, for most of the chemical substances reviewed, the imposition of legal or other statutory measures in the form of emission standards for effluent discharge into the marine environment or upper limits for concentrations in seafood on a common regional Mediterranean basis would be justified solely on the basis of carcinogenic risks. It should be stressed that this does not, by any means, preclude that such measures may not eventually be necessary either because of non-carcinogenic or combination effects, or because of circumstances (continuous or sporadic) prevailing in specific localities.

The only major point of concern is the levels of PAHs found in shellfish in certain areas of the Mediterranean, which could present an unacceptable cancer risk, at least to high consumers of seafood, on their own account, let alone in combination with other non-marine sources of intake. This may represent a localized, rather than a general problem. However, immediate action on the part of national and local authorities is required to determine levels of PAHs in seafood, particularly mussels, in areas where there is reason to suspect the presence of high PAH levels. In this context, considering the sources and the routes of transportation to the marine environment of these substances, such an exercise could be relatively complex.

Apart from providing a more accurate picture of the situation to national authorities, and enabling them to take any individual measure dictated by their own circumstances, comprehensive information on PAH levels in seafood throughout the region would determine the need or otherwise of developing common control measures at a later stage, as well as the exact form such measures should take.

6.3 Action Approved by the Contracting Parties to the Barcelona Convention

The contracting Parties, taking into consideration the present state of uncertainty regarding risks to marine organisms and to human health from carcinogenic, teratogenic and mutagenic substances in the Mediterranean Sea as detailed in the relative assessment document, as well as the precautionary principle, agree:

- (a) to promote measures to reduce inputs into the marine environment and to facilitate the progressive elimination by the year 2005 of substances having proven carcinogenic, teratogenic and/or mutagenic properties in or through the marine environment.
Such measures should include, *inter alia*, the acquisition of more data to fill the still unidentified gaps in knowledge regarding both the actual status of specific substances as carcinogens, teratogens or mutagens, and the fate of such substances in the marine environment as detailed in the assessment document;
- (b) considering the complexity of the situation, both in terms of data required and in terms of implementation of measures, to carry out a comprehensive review of the situation regarding implementation of sub-para (a) above by the year 2000 in order to facilitate achievement of the relevant objective;
- (c) to take the following immediate actions:
 - i) monitor the presence of appropriate substances in seawater, sediments and seafood in "hot-spot" areas and, if concentration levels so warrant, take the necessary measures to reduce pollution or to minimize human health hazards arising from consumption of contaminated seafood;

- ii) request the Secretariat to continue reviewing the international situation with regard to new developments in the field of carcinogenic, teratogenic and mutagenic marine pollutants, and to strengthen its liaison with the competent international bodies;
- (d) to report to the Secretariat on all measures taken in accordance with this decision.

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, 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, H.A., R. Lilis, 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.S. (1977). *Benzo(a)pyrene metabolism in the American oyster (Crassostrea virginica)*. US Environmental Protection Agency. EPA-600/378-009, 25 pp.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- Arillo, A. and F. Melodia (1990). Protective effect of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere*, **20**:397-402.

- 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.
- 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 dialkylnitrosamines on the induction of hepatomas in *Brachydanio rerio* fish species. *Doga. Bilim. Dergisi.*, **7**:1-7.
- 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. 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.
- 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.
- Balkas, T.I., S. Tugrul and I. Salihoglu (1982). Trace metal levels in fish and crustacea from northeastern Mediterranean coastal waters. *Mar.Environ.Res.*, **6**:281-289.
- 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., 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.
- 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.
- 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., 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., 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, 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., T. Mollner, F. Raitano and P. Shubik (1979). Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. *Int. J. Cancer*, **23**:47-51.
- Cabral, J.R.P., P. Shubik, T. Mollner and F. Raitano (1977). Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature (Lond.)*, **269**:510-511.
- 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.
- Cosma, B., R. Frache, F. Baffi and A. Dadone (1982). Trace metals in sediments from the Ligurian coast, Italy. *Mar.Pollut.Bull.*, **13**:127-132.
- 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., 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.
- Couch, J.A. (1989). Review of North American and Pacific basin experience and knowledge of carcinogens and marine species (unpublished report).
- 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. 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. 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.
- 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., 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 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. (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. (1990b). Development and application of biomarkers exploitable for human exposure monitoring. *Teratog. Carcinog. Mutag.*, **10**:211-214.
- De Flora, S., A. Camoirano, A. Izzotti, F. D'Agostini and C. Bennicelli (1989a). Photoactivation of mutagens. *Carcinogenesis*, **10**:1089-1097.
- 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. (1990a). Mechanistic approaches to the primary prevention of cancer. **In: Primary Prevention of Cancer**, W.J. Eylebosch and M. Kirsch-Volders, eds., Raven Press, New York, in press.
- 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 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.
- Donazzolo, R., O. Hieke Merlin, L. Menegazzo Vitturi and B. Pavoni (1984). Heavy metal content and lithological properties of recent sediments in the northern Adriatic. *Mar.Pollut.Bull.*, **15**:93-101.
- 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.
- EEC (1976a). Council Directive of 6 April 1976 on the elimination of polychloro-biphenyls and polychloroterphenyls (76/403/EEC). *Official Journal of the European Communities*, **L108**:41-32.
- EEC (1976b). Council Directive of 27 July 1976 on the legislative, regulatory and administrative measures in Member States related to the limitation of marketing and use of certain dangerous substances and preparations. *Official Journal of the European Communities*, **L262**:201-203.
- EEC (1982). Communication from the Commission to the Council on dangerous substances which might be included in List I of Council Directive 76/464/EEC. *Official Journal of the European Communities*, **C176**:3-10.
- EEC (1976c). Council Directive of 4 May 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community (76/464/EEC). *Official Journal of the European Communities*, **L129**:23-29.
- 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.
- Eggen, 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.
- Falconer, C.R., R.J. Shepherd, J.M. Pirie et G. Topping (1983). Arsenic levels in fish and shellfish from the north sea. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, **71**:193-203.
- 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.
- Fowler, S. et B. Oregioni (1976). Trace metals in the mussels from the N.W. Mediterranean. *Mar.Pollut.Bull.*, **7**, NE2, pp.26 - 29.
- 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.
- Fytianos, K. and G.S. Vassilikiotis (1983). Concentration of heavy metals in seawater and sediments from the northern Aegean sea, Greece. *Journ.Etud.Pollut.CIESM*, **6**(1982):151-155.
- 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.

- Gilmartin, M. et N. Revelante (1975). The concentration of mercury, copper, nickel, silver, cadmium and lead in the Northern Adriatic anchovy *Engraulis encrasicolus*, and sardine *Sardina pilchardus*. *Fish.Bull.*, **73**:193.
- 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-naphthoflavone 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. and R.H. Hinton (1990). Evidence for and possible mechanisms of non-genotoxic carcinogenesis in rodent liver. *Mut. Res.*, **248**:271-290.
- 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., 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.
- Grasso, P. (1984). Carcinogens in Food. In: "*Chemical Carcinogens*", 2nd Edition. Ed. C.E. Searle, Ch. 19, Vol.2.

- 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. Lönning (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, 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.
- 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, 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 and W.W. Walker (1988). Carcinogenicity tests with small fish species. *Aquatic Toxicol.*, **11**:113-128.
- 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.
- 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., 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., 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.
- 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., 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., 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., 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., 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., 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., 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.
- 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 to 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. 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. (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., 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 (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 (1972-1990). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*, Volumes 1-49. IARC, Lyon.
- IARC (1979c). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons*, **20**:195-239. 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 (1983). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Compounds, Part I. Volume 32*. 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 (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 (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. Tokuhira, 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). Fate 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). Eicosanoids 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. 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.
- Kimbrough, R.D. (1974). The toxicity of polychlorinated polycyclic compounds and related chemicals. *CRC Critical Rev. Toxicol.*, **2**:445-498.
- 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 aplysinin 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 antiprene 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. 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., 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., 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 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.
- 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., 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.
- 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.
- Laumond, F., G. Copin-Montegut, P. Courau and E. Nicolas (1984). Cadmium, copper and lead in the Western Mediterranean Sea. *Mar.Chem.*, **15**:251-261.
- 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, 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, D.J., J.H. Wales, J.L. Ayres and R.O. Sinnhuber (1968). Synergism between cyclopropenoid fatty acids and chemical carcinogens in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cancer Res.*, **28**:2312-2318.
- 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.
- Lee, R.F. (1981). Mixed function oxygenases (MFO) in marine invertebrates. *Marine Biology Lett.*, **2**:87-105.
- 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/toxication 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., B.B. McCain, D.W. Brown, S.-L. Chan, M.S. Myers, J.T. Landahl, P.G. Prohaska, A.J. Friemond, 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, 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. 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, 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.
- 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.
- 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). *Nitrotriacetic 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., 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.
- 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.
- 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).
- Morley, N.H., J.D. Burton et P.J. Statham (1990). Observations on dissolved trace metals in the Gulf of Lions. Commission des Communautés Européenne. Bruxelles. *Water Pollut. Res.*, Report 20. pp.309-328.
- 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 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).
- National Toxicology Program (1982). *Third Annual Report on carcinogens*. Washington D.C., U.S. Government Printing Office 247-248.
- 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 Cancer Institute (1977). *Bioassays of nitrilotriacetic acid (NTA) and Nitrilotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate Na₃ NTA H₂O* (NCI-CG-Tr-6 μ 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.
- 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. and C.R. Phillips (1985). Photochemistry of petroleum in water. *Environ. Sci. Technol.*, **19**:569.

- 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., 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. (1977). Mixed function oxidases in marine organisms in relation to petroleum hydrocarbon metabolism and detection. *Mar. Pollut. Bull.*, **8**:112-116.
- 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.
- Payne, J.F. (1984). Mixed-function oxygenase in biological monitoring programs: review of potential usage in different phyla of aquatic animals. In: *Ecotoxi-cological 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.
- 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.
- 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-responsible mice. *Mol. Pharmacol.*, **11**:389-398.
- Poland, A., D. Smith, R. Kuntzman, M. Jacobson and A.H. Conney (1970). Effect of intensive occupational exposure to DDT on phenylbutazone and cortisol metabolism in human subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **11**:724-732.
- 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. Britovic, 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 littoral 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.

- Ruiz-Pino, D.P., C. Jeandel, J.P. Bethoux et J.F. Minster (1990). Are the trace metal cycles balanced in the Mediterranean Sea? *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology (Global and Planetary Change Section)*, **82**:369-388.
- 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). Aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the synergistic effects of cyclopropenoid 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., 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.
- 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.
- 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.
- Sherrell, R.M. et E.A. Boyle (1988). Zinc, chromium, vanadium and iron in the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res.*, **35**(8):1319-1334.
- 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 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.
- Tassi Pelati, L. and S. Albertazzi (1983). Fallout radionuclides presence in zooplankton from the North Adriatic sea. *Journ. Etud. Pollut. CIESM.*, **6**(1982):161-164.
- 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.
- U.S. Environmental Protection Agency (1976). *Dodecachlorooctahydro 1,3,4-metheno-2H cyclobuto(ed)pentalone - tolerances for residues*. U.S. Code Fed. Regul., Title 40, Part 180, **251**:343.
- 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 (1985a). *Report of the Fourth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea and its related Protocols, Genoa, 9-13 September 1985*. Document UNEP/IG.56.5, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/FAO/WHO (1989). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by cadmium and cadmium compounds*. MAP Technical Reports Series No. 34, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/IOC (1988). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by petroleum hydrocarbons*. MAP Technical Reports Series No. 19, 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/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/FAO/WHO/IAEA (1990). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organohalogen compounds*. MAP Technical Reports Series No.39, United Nations Environment Programme, Athens.
- 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.
- 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 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.

- 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.
- 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.
- Vassilikiotis, G.S., N.A. Voulouroutis, D.G. Themelis and M.C. Sofroniou (1982). Preliminary study of Thessaloniki Bay for contamination by mercury and lead. *Chemosphere*, **11**:479-496.
- 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.
- Voutsinou-Taliadouri, F. and J. Satsmadjis (1982). Influence of metropolitan waste on the concentration of chlorinated hydrocarbons and metals in striped mullet. *Mar.Pollut.Bull.*, **13**:266-269.
- 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.
- Weldre, J.A., M.A. Rachu, A.P. Ilnitzby, 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/UNEP (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.
- WHO (1969). 1968 Evaluations of some pesticide residues in food. *WHO/Food Add.* **69**, **35**:17-31.
- 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 (1981). Arsenic. *Environmental Health Criteria No.18*. International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva.
- WHO (1979). DDT and its derivations. *Environmental Health Criteria No.9*, WHO, Geneva.
- WHO (1973). Trace elements in human nutrition. Report of a WHO Expert Committee. *WHO Org. Tech. Rep. Ser.*, **532**:49-50.
- 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.
- 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(1971). *International standard for drinking water. 3rd Edition*, WHO, Geneva, P.32.
- 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., 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. Rijavec, 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. Rijavec, R. Batel and N. Bihari (1983). DNA damage by PAH and repair in a marine sponge. *Sci. Tot. Environ.*, **26**:137-156.
- 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.
- 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.

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

TABLE DES MATIÈRES

	<u>Page</u>
1. RAPPEL DES FAITS	111
2. INTRODUCTION	113
3. ÉVALUATION DE LA POLLUTION	115
3.1 Substances cancérigènes, mutagènes et tératogènes pertinentes à la pollution marine	115
3.1.1 Substances d'origine naturelle	115
3.1.2 Substances d'origine anthropique	116
3.2 Effets des facteurs environnementaux sur les processus de transformation et de dégradation	119
3.2.1 Sort des cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans le milieu marin	119
3.2.2 Transformations microbiologiques	119
3.2.3 Interactions chimiques	120
3.2.4 Transformations photomédiées	122
3.2.5 Processus de bioaccumulation et de bioamplification	123
3.3 Sources et apports	124
3.4 Niveaux relevés en Méditerranée	127
4. ÉVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES MARINS	144
4.1 Effets sur les organismes marins	144
4.1.1 Effets métaboliques	144
4.1.2 Effets cancérigènes	147
4.1.2.1 Etudes de cancérogénicité expérimentale	147
4.1.2.2 Etudes sur le terrain	148
4.1.3 Mutagénicité et autres effets connexes	155
4.1.3.1 Détection des mutagènes dans l'eau de mer, les sédiments et les organismes marins	155
4.1.3.2 Détection des adduits de substances cancérigènes sur l'ADN dans les organismes marins	156

	<u>Page</u>	
4.1.3.3	Dommages et réparation de l'ADN dans les organismes marins	157
4.1.3.4	Altérations cytogénétiques dans les organismes marins	158
4.1.4	Effets tératogènes	160
4.2	Estimation des risques pour les organismes marins	161
5.	ÉVALUATION DU RISQUE POUR L'HOMME	162
5.1	Considérations d'ordre général	162
5.2	Evaluation des polluants prioritaires	164
5.2.1	Arsenic	165
5.2.2	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH)	167
5.2.3	Polychlorobiphényles (PCB)	169
5.2.4	Polybromobiphényles (PBB)	171
5.2.5	Toxaphène	172
5.2.6	Mirex	173
5.2.7	Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)	174
5.2.8	Hexachlorobenzène (HCB)	176
5.2.9	Hexachlorocyclohexane (HCH)	177
5.2.10	Acide nitrotriacétique (NTA) et ses sels	178
5.2.11	Hydrocarbures halogénés de faible poids moléculaire (solvants)	180
5.2.12	Polychlorodibenzodioxines (PCDD) et polychlorodibenzofuranes (PCDF)	182
5.3	Conclusions	184
6.	MESURES ANTIPOLLUTION	186
6.1	Mesures antipollution existant aux niveaux national et international	186
6.2	Mesures proposées pour la Méditerranée	187
6.3	Mesures approuvées par les Parties Contractantes à la Convention de Barcelone	190
7.	RÉFÉRENCES	191

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 1994, 20 Etats méditerranéens et l'Union 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 contient, dans le cadre du Protocole pour la Protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, des mesures pour le contrôle de la pollution, par des substances cancérigènes, tératogènes et mutagènes, adoptées par les Parties Contractantes à la Convention de Barcelone et les Protocoles y relatifs, à leur réunion du 12-15 Octobre 1993 à Antalya, Turquie.

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 butylhydroxyanisol 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 mutagénèse et de la cancérogénèse 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 anticancérigènes (De Flora *et al.*, 1991a). Les dérivés de la prénylhydroquinone isolés de l'urocordé marin *Aplidium 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 kuroda*) (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 cancérogènes, 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 anticancérigène 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 cancérigènes, mutagènes et tératogènes dans le milieu marin.

3. EVALUATION DE LA POLLUTION

3.1 Substances Cancérigènes, 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 cancérigènes, 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 cancérigène (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 cancérigène. 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 cancérigène de synthèse typique (Leary *et al.*, 1979). On a estimé que la production globale de iode de méthyle, agent mutagène et cancérigène, 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 ³²P (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'une 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'acquies 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 dans l'environnement (Grasso, 1989). Par exemple, on a évalué que le DDT possède une demi-vie atteignant jusqu'à 15 ans dans le sol (Clement Associates, 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 cancérogènes, 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 chloramines, des bromamines 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 cancérogène (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 diméthylmanine 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). Cela pourrait être particulièrement important dans le milieu marin puisque la microcouche de surface, contenant des lipides, des acides gras et des complexes polysaccharide/protéine, est particulièrement riche en polluants tels que des métaux, des PAH et des hydrocarbures chlorés, avec des concentrations dépassant de 10 à 10.000 fois celles décelées dans les eaux de subsurface (Kocan *et al.*, 1987). 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-acétylamino-fluorène, 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 génotoxines 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 µg R⁻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 réunion consultative OMS/PNUE/FAO sur les polluants marins cancérigènes et mutagènes en Méditerranée (Athènes, 23-25 juin 1988) a recensé un certain nombre de substances revêtant une relative importance comme polluants marins cancérigènes (voir tableau 1).

Pour certaines de ces substances (comme les PCDD et les PCDF), on ne possède pas ou guère de renseignements concernant leurs niveaux dans l'environnement de la Méditerranée, tandis que dans le cas de quelques autres, comme Cd, des données sur leurs niveaux ont été recueillies depuis plus de vingt ans. La réunion consultative sus-mentionnée a recommandé l'amorce d'une étude pilote de surveillance continue pour l'arsenic, le béryllium, les PAH, les congénères de PCB et d'autres composés organohalogénés, les PCDD, PCDF et amines aromatiques. L'étude de surveillance qui a été entreprise en 1989 et 1990 sur la côte nord de la façade méditerranéenne de l'Espagne, la mer Ligurienne, le delta de l'Ebre et la côte est de l'Adriatique comportait l'analyse de l'arsenic dans les biotes et les sédiments, des composés organohalogénés dans les biotes ainsi que des PAH dans les moules et les sédiments. Les résultats de l'étude sont indiqués sur les tableaux 2 à 7.

De plus, plusieurs études, dont bon nombre ont été menées dans le cadre du programme MED POL, ont permis d'obtenir des renseignements sur les niveaux de ces substances dans le milieu marin. Des synthèses en ont été publiées dans la Série des rapports techniques du PAM. Le document PNUE/COI (1988) (SRT no. 19) traite des hydrocarbures de carbone, le document PNUE/FAO/OMS/AIEA (1990) (SRT no. 39) des composés organohalogénés, le document PNUE/FAO/OMS (1989) (SRT no. 34) du cadmium, tandis que le document UNEP (1989) (SRT no. 28) est un rapport sur l'état du milieu marin de la Méditerranée.

Les concentrations de cadmium dans les eaux du large varient habituellement de 4 à 17 ng l⁻¹, mais dans certaines zones elles peuvent dépasser ces valeurs et atteindre 150 ng l⁻¹. Pour les sédiments, on considère que la valeur de fond se situe autour de 0,15 µg Cd kg⁻¹ poids sec, mais dans les zones recevant des effluents industriels et domestiques ainsi que dans les estuaires fluviaux des valeurs beaucoup plus élevées, atteignant jusqu'à 50 µg Cd kg⁻¹ p.s., ont été enregistrées.

On a constaté que les concentrations dans les biotes marins variaient largement selon l'espèce, sa position dans la chaîne alimentaire, le tissu analysé, ainsi que la concentration et la forme chimique du cadmium dans l'eau de mer. Le tableau 8 donne les concentrations moyennes, avec l'écart-type, de cadmium (µg kg⁻¹ poids frais) dans un certain nombre d'espèces méditerranéennes. Les concentrations moyennes varient de 23 à 140 µg kg⁻¹. 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. D'après les synthèses de la FAO (1986) et de Fowler (1990), les concentrations en mercure dans les eaux du large de la Méditerranée se situent dans une fourchette de 0,5-3,5 ng l⁻¹, avec des pics atteignant jusqu'à 20 ng l⁻¹ dans les eaux côtières. Dans les sédiments côtiers, des concentrations variant de 0,06 à 16,9 mg kg⁻¹ poids sec ont été communiquées pour l'Adriatique, le golfe Saronique en Grèce et la côte espagnole.

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

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					
	<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>			<i>Mytilus sp.</i>			<i>Ardea sp. oeufs</i>			<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>		
	Max	Min	Moy*	Max	Min	Moy*	Max	Min	Max	Min	Moy*	Ouest	Centrale	Est	Ouest	Centrale	Est	
28+31	3,5	0,08	3,0	8,7	0,1	3,0	1,6	0,6	120	0,4	80,7	n.d.	n.d.	0,6	n.d.	n.d.	n.d.	
52	3,0	0,04	4,4	17,3	0,2	6,1	0,8	n.d.	41,5	0,3	18,7	n.d.	2,9	9,0	5,7	13,5	n.d.	
44	4,5	n.d.	-	n.q.			1,6	n.d.	21,3	n.d.	-	-	-	1,3	5,7	1,8	1,4	
101	11,5	0,4	8,5	37,6	0,5	13,1	1,4	0,3	46	n.d.	-	n.d.	5,3	4,9	0,6	8,2	4,1	
118	4,5	0,98	8,6	60,6	2,3	22,7	n.d.		174	n.d.	-	n.d.	4,7	n.d.	1,6	17,5	n.d.	
153	16,9	2,4	9,1	96,6	1,7	35,4	8,7	4,5	11,1	7,1	8,5	n.d.	21,6	10,1	7,4	17,3	33,8	
138+163	21,7	3,1	14,7	145,9	5,0	56,8	6,7	2,2	14,3	n.d.	-	24	17,8	10,7	6,5	21,9	n.d.	
187	14,6	6,1	7,8	n.q.			7,2	n.d.	6,4	n.d.	-	18	7,3	14,7	4,9	n.d.	51,8	
128	7,3	0,7	3,4	n.q.			1,1	0,4	60	n.d.	-	10	n.d.	5,5	1,2	8,2	7,7	
156	n.d.		-	n.q.		n.d.	n.q.		-		0,8	n.d.	n.d.	0,6	4,2	n.d.		
180	0,4	0,8	3,4	44,3	0,9	2,5	1,2	n.d.	0,3	n.d.	-	4,8	1,2	2,3	4,1	6,5	31,5	
170	n.d.		-	n.d.		n.q.	n.q.		-		2,5	5	0,9	2,5	5	16,8		
GPCB _{cong}	80	15	62,9	411	11	140	30	8	495	7,8	-	60,1	66	33	41	110	147	
GPCB ₁₂₅₄			201			445	74	27	739	26		-	171	120	83	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					
	<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mytilus sp.</i>		<i>Ardea sp. oeufs</i>		<i>Mytilus sp.</i>			<i>Mullus sp.</i>		
	Max	Min	Moy*	Max	Min	Max	Min	Ouest	Centrale	Est	Ouest	Centrale	Est
Méhoxychlore	63,9	n.d.	-	n.d.		n.d.		8,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dieldrine	n.d.			n.d.		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.	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.	10,2	n.d.	n.d.	n.d.
HCB	1,3	0,5	0,8	1,6	0,8	15,1	10,4	n.d.	n.d.	n.d.	0,2	0,4	n.d.
á-HCH	2,9	0,2	1,2	1,0	0,3	11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,9	0,1	n.d.
ã-HCH	2,7	1,6	2,3	1,5	n.d.	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	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	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	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	n.d.	8,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,9
p,p'-DDE	151	51	96	42	31	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		
	10	40	43		30	520		
Phénanthrène (1)	30	405	57	15	9,2	16	32	38
Anthracène	10	150	16	n.d.	0,6	1,3	n.d.	14
C ₁ -Phénanthrènes	107	271	71	113	14,1	17,1	195	89
Fluoranthène (2)	97	757	373	19	17,8	30,7	8	322
Pyrène (3)	42	715	314	34	12,6	25,4	7	571
Benz[a]anthracène (4)	68	274	270	7	6,1	15,2	3	372
Chrysène+Triphénylène (5)	45	451	338	54	13,9	36,5	8	448
Benzo[b+j+k]fluoranthènes (6)	98	749	797	31	2,6	69	n.d.	310
Benzo[a]fluoranthène (7)	n.d.	129	58	n.d.	0,5	24	n.d.	51
Benzo[e]pyrène (8)	29	364	369	20	3	30	n.d.	158
Benzo[a]pyrène (9)	33	525	452	6	0,2	15,2	n.d.	18
Pérylène (10)	9	166	155	46	40	3	n.q.	n.q.
Indeno[1,2,3-cd]pyrène (11)	31	240	361	n.q.	8,7	40	n.q.	n.q.
Benzo[ghi]perylène (12)	82	749	474	n.q.	9,4	28	n.d.	n.q.
GPAHs	681	5945	4105	346	139	351	253	2391
Ph/GC ₁ Ph	0,28	1,49	0,8	0,13	0,66	0,93	0,16	0,42
Fl/Py	2,3	1,06	1,19	0,55	1,41	1,21	1,18	0,56

Tableau 8

Concentrations moyennes de cadmium, avec l'écart-type ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée (UNEP/FAO, 1986)

ESPECE	NOMBRE D'ECHANTILLONS	MOYENNE	ECART-TYPE
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	265	120	83
<i>Mytilus edulis</i>	10	85	34
<i>Donax trunculus</i>	16	80	26
<i>Nephrops norvegicus</i>	61	50	39
<i>Parapenaeus longirostris</i>	27	46	55
<i>Engraulis encrasicolus</i>	81	34	25
<i>Merluccius merluccius</i>	27	63	34
<i>Mugil auratos</i>	10	47	85
<i>Mullus barbatus</i>	318	34	28
<i>Mullus surmuletus</i>	218	140	83
<i>Thunnus alalunga</i>	38	23	6.5
<i>Thunnus thynnus</i>	111	38	43

Les concentrations d'arsenic total dans des poissons de mer en Méditerranée varient normalement entre 8 et $70 \mu\text{g}^{-1}$ p.f., à quelques rares exceptions près comme une valeur de $370 \mu\text{g}^{-1}$ relevée dans *Sepia officinalis*. Les concentrations dans des moules prélevées dans le cadre de l'étude pilote variaient de 11,0 à $18,6 \mu\text{g}^{-1}$ dans le delta de l'Ebre, de 11,2 à $23,2 \mu\text{g}^{-1}$ dans la mer Ligurienne, et de 0,91 à $491 \mu\text{g}^{-1}$ dans l'Adriatique. On a également relevé des écarts considérables parmi les poissons. Dans *Mullus barbatus*, les concentrations variaient de 34,6 à $74,2 \mu\text{g}^{-1}$ dans la mer Ligurienne, et de 21,9 à $160,0 \mu\text{g}^{-1}$ dans l'Adriatique. Les intervalles de variation signalés pour d'autres espèces étaient les suivants: 7,54 à $61,7 \mu\text{g}^{-1}$ (*Merluccius merluccius*), de 15,3 à $71,2 \mu\text{g}^{-1}$ (*Pagellus erythrinus*), de 18,1 à $55,3 \mu\text{g}^{-1}$ (*Solea vulgaris*) et de 2,04 à 15,2 (*Diplodus annularis*), toutes valeurs concernant l'Adriatique. Les concentrations relevées dans les sédiments variaient de 14,2 à $30,5 \mu\text{g}^{-1}$ dans le delta de l'Ebre, et de 1,70 à $44,2 \mu\text{g}^{-1}$ dans l'Adriatique. Les résultats figurent sur le tableau 2 (Stegnar, 1991).

Selon Falconer *et al.* (1983), les concentrations d'arsenic total dans des biotes prélevés en mer du Nord variaient de < 1 à $153 \mu\text{g g}^{-1}$, mais sur la base du poids sec. Les concentrations dans la plie *Pleuronectes platessa* variaient de 4 à $360 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.

Les niveaux de chrome dissous en diverses régions océaniques et marines sont d'une similitude remarquable et de l'ordre de 150 ng l^{-1} . En Méditerranée, les niveaux varient entre 160 et 180 ng l^{-1} (Sherrell et Boyle, 1988; Ruiz-Pino *et al.*, 1990). Toutefois, les eaux abyssales du Pacifique sont extrêmement chargées en Cr et les concentrations sont de l'ordre de $300-350 \text{ ng l}^{-1}$. Dans des eaux à oxygénation normale, sa forme chimique prévalante est Cr (VI) tandis que dans les bassins anoxiques on trouve le chrome sous sa forme Cr (III). Les concentrations de chrome dans les sédiments ($60-100 \text{ mg kg}^{-1}$ p.s.) sont analogues à celles de l'écorce terrestre, ce qui traduit le caractère lithogène du chrome. Cependant, dans des zones polluées par des effluents industriels, les concentrations peuvent atteindre plusieurs grammes par kilo. Les concentrations de Cr dans les biotes varient entre 1 et 3 mg kg^{-1} p.s. et elles sont généralement inférieures à 5 mg kg^{-1} .

Les concentrations de zinc dans l'eau de mer varient selon les divers océans de 1 à 10 nM (65-650 ng l⁻¹). Dans les sédiments, elles varient en fonction du type de sédiment et de la fraction analysée. Voutsinou-Taliadouri et Satsmadjis (1982) ont enregistré 79 mg kg⁻¹ dans du sédiment à gros grains provenant du golfe Pagassitique mais 240 mg kg⁻¹ dans la fraction fine. Cosma *et al.* (1982) ont constaté que les concentrations variaient de 94 à 250 mg kg⁻¹ dans des sédiments non contaminés de la mer Ligurienne.

La concentration de nickel dans *Mytilus* varie entre 1 et 14 µg g⁻¹ p.s. (Fowler et Oregioni, 1976), tandis que dans les crustacés et le poisson elle est même plus faible, ne dépassant pas 1 µg dans la plupart des cas (Gilmartin et Revelante, 1975; Balkas *et al.* 1982).

L'apport du plomb aux océans s'effectue principalement par la voie atmosphérique. La concentration de plomb dans les eaux de surface marines est variable. Laumont *et al.* (1984) ont fait état d'une valeur de 8 ng l⁻¹ pour la Méditerranée occidentale, et Molley *et al.* (1990) d'un intervalle de 8-45 ng l⁻¹ pour le golfe du Lion. Dans les eaux côtières, les concentrations sont plus élevées et peuvent atteindre quelques µg l⁻¹ dans des zones contaminées. Dans le golfe Thermaïque, où est exploitée une usine de plomb tétraéthyle, des concentrations de 3,5 à 21 µg l⁻¹ ont été signalées (Vassilikiotis *et al.*, 1982; Fytianos et Vassilikiotis, 1983).

Donazzolo *et al.* (1984) ont communiqué une valeur de fond de 23 µg g⁻¹ pour le plomb dans les sédiments, à partir de prélèvements de carotte. Mais cette valeur pourrait être cent fois plus élevée dans des zones polluées. Les concentrations de plomb dans les biotes sont normalement inférieures à 1 µg g⁻¹ p.s. Des données recueillies dans le cadre du programme MED POL ont indiqué des concentrations variant de 0,07 à 1,2 µg g⁻¹ p.f.

Aucune donnée n'a pu être retrouvée pour le béryllium, à l'exception de celles signalées par Tassi Pelati et Albertazzi (1983) pour ⁷Be dans le zooplancton du nord de la mer Adriatique (2,8 - 8,9 pCi g⁻¹).

Les composés organohalogénés, notamment les PCB et les DDT, ont été déterminés dans le milieu marin de la Méditerranée depuis le lancement du programme MED POL. On peut trouver une analyse des données recueillies dans le document PNUE/FAO/OMS (1989). Le tableau 9 récapitule les données concernant les biotes marins par régions de la Méditerranée.

Des problèmes analytiques compliquent la comparaison des données obtenues par différents laboratoires. En outre, les concentrations dans l'eau de mer de plusieurs membres de cette famille chimique se situent en dessous des seuils de détection ou sont trop faibles pour une détermination quantitative. Les concentrations de PCB dans des échantillons d'eau de mer variaient entre 0,2 et 38 ng l⁻¹. Dans les eaux côtières du nord de l'Adriatique, la plupart des échantillons étaient en dessous du seuil de détection pour le PCB (0,1 ng l⁻¹) et le p,p'-DDT (0,05 ng l⁻¹). Les niveaux de lindane au large du bassin oriental s'échelonnent de 0,06 à 0,12 ng l⁻¹, avec une concentration plus forte dans la matière particulaire que dans la phase dissoute (UNEP, 1989; PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1990). Bien que les PCB restent une catégorie importante de polluants halogénés en Méditerranée, des données comparables ont indiqué qu'il s'est produit une diminution de leur concentration dans l'eau de mer avec les années, vraisemblablement par suite des restrictions imposées aux rejets industriels dans de nombreux pays. Cependant, dans l'intervalle, d'autres hydrocarbures chlorés comme le lindane ou l'hexachlorobenzène acquièrent une importance croissante dans la zone de la Méditerranée (Burns *et al.*, 1985). Les concentrations de PCB dans les sédiments du large de la Méditerranée étaient comprises entre 0,8 et 9,0 µg kg⁻¹, tandis que celles des sédiments côtiers étaient influencées par les "sites critiques", comme les émissaires d'eaux usées, représentant même des valeurs de l'ordre de quelques mg kg⁻¹.

Tableau 9

Hydrocarbures chlorés ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée
(PNUE, 1985)

Région	Hydrocarbure chloré	Espèce	Nombre d'échantillons	Concentration moyenne	Ecart-type	Valeurs extrêmes		
II	PCB	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	17	307	266	22	-	1200
IV		" "	13	95	114	5	-	420
V		" "	159	84	221	5	-	2622
VIII		" "	12	62	12	40	-	80
II	"	<i>Mullus barbatus</i>	33	813	1496	30	-	8000
IV		" "	33	417	770	50	-	3950
V		" "	86	234	473	1	-	3117
VIII		" "	51	113	204	0	-	1110
IX		" "	6	9.3	19	0.4	-	52
X		" "	42	69	75	0	-	284
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	30	12.3	12.2	0	-	51
IX		" "	3	1.5	-	0	-	2.5
X		" "	11	31	57	0	-	157
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	12.3	12.2	0	-	51
V		" "	3	1.5	-	0	-	2.5
X		" "	11	31	57	0	-	157
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	87	17	60	-	110
V		" "	9	101	130	5	-	441
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	28	25	17	8	-	90
II	pp DDT	<i>Mullus barbatus</i>	27	28	35	8	-	170
IV		" "	33	23	17	6	-	89
V		" "	102	17	26	0.2	-	205
VIII		" "	51	23	25	4	-	110
IX		" "	17	38	29	0.5	-	92
X		" "	44	8	9	0	-	3

Tableau 9 (suite)

Hydrocarbures chlorés ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée
(PNUE, 1985)

Région	Hydrocarbure chloré	Espèce	Nombre d'échantillons	Concentration moyenne	Ecart-type	Valeurs extrêmes		
II	pp DDT	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	113	22	23	3	-	150
IV	"	" "	12	7	5	1.2	-	17
VIII	"	" "	180	15	77	0	-	1014
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	343	362	25	-	1401
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	6	3	4	-	13
V	"	" "	11	9	11	0.5	-	40
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	31	1.7	1.4	0.2	-	5
IX	"	" "	6	1.6	0.7	0.4	-	2.6
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	29	0.9	1.4	0	-	6
II	"	" "	4	4.2	3.5	0.3	-	9
X	"	" "	10	0.1	0.2	0	-	0.8
II	Dieldrine	<i>Mullus barbatus</i>	11	6.2	5.3	0.5	-	19
IV	"	" "	9	6	3.6	0.5	-	12
V	"	" "	67	1.7	4.1	0.1	-	17
X	"	" "	35	0.4	1.1	0	-	35
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	2	3.5	-	1	-	6
IV	"	" "	6	2.8	2.6	0.5	-	6
V	"	" "	145	0.8	4.4	0.1	-	56
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	8	0.4	0.2	0	-	0.7
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.9	0.5	0.5	-	1.8
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	31	0.5	0.6	0	-	2.4
X	"	" "	4	3.1	4.5	0.4	-	10

Tableau 9 (suite)

Hydrocarbures chlorés ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée
(PNUE, 1985)

Région	Hydrocarbure chloré	Espèce	Nombre d'échantillons	Concentration moyenne	Ecart-type	Valeurs extrêmes		
II	Aldrine	<i>Mullus barbatus</i>	9	0.5	-	0.5	-	0.5
IV	"	" "	9	1.5	1.9	0.5	-	5
V	"	" "	5	0.5	0.4	0	-	1
X	"	" "	44	1.5	4.7	0	-	28
IV	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	6	2	2.1	0.5	-	5
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.6	0.2	0.5	-	1
X	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	5	1.6	2.8	0	-	6.5
IX	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	4	1.4	1	0	-	2.8
X	"	" "	11	0.2	0.6	0	-	2.2
II	Hexachlorocyclohexane	<i>Mullus barbatus</i>	63	2.65	2.8	0.2	-	12
VIII		" "	4	3.9	8	0.8	-	50
IX		" "	5		3.9	1	-	11
V	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	43	1.1	1	0	-	5
VIII	"	" "	55	1.9	1.5	0.4	-	5
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	4	1.2	1.7	0	-	4
V	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	27	0.9	-	0	-	8
IX	"	" "	6	20	-	12	-	34
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	7	0.7	0.3	0.2	-	1.1
II	Lindane	<i>Mullus barbatus</i>	17	19	14	2	-	36
IV	"	" "	9	1.5	1.4	0.5	-	5
V	"	" "	62	0.7	0.9	0	-	3.8

Tableau 9 (suite)

Hydrocarbures chlorés ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée
(PNUE, 1985)

Région	Hydrocarbure chloré	Espèce	Nombre d'échantillons	Concentration moyenne	Ecart-type	Valeurs extrêmes		
II	Lindane	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7	4.8	6	0.5	-	20
IV	"	" "	6	1.7	0.9	0.5	-	3
V	"	" "	36	0.4	0.4	0	-	2
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	4	19	14	2	2	36
V	"	" "	27	0.2	-	-	-	-
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	7	0.5	-	-	-	-
II	pp DDD ⁻¹	<i>Mullus barbatus</i>	12	38	52	0	-	180
V	"	" "	5	28	40	2.2	-	107
VIII	"	" "	78	14	25	0	-	140
IX	"	" "	17	18	14	0	-	44
X	"	" "	44	1.6	3.8	0	-	21
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	108	15	13	5	-	125
V	"	" "	11	49	124	0	-	440
VIII	"	" "	90	7	7	0	-	45
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	107	98	5	-	117
VIII	"	" "	4	323	422	26	-	1052
V	"	<i>Mullus surmuletus</i>	3	7	6	2	-	15
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	10	9	1.2	-	26
IX	"	" "	6	4.2	3.7	0	-	10
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	29	0.8	1.4	0	-	7
IX	"	" "	4	2.2	1.3	0.5	-	4.2
X	"	" "	11	0.4	0.8	0	-	2.7

Tableau 9 (suite)

Hydrocarbures chlorés ($\mu\text{g kg}^{-1}$) dans des organismes marins de la Méditerranée
(PNUE, 1985)

Région	Hydrocarbure chloré	Espèce	Nombre d'échantillons	Concentration moyenne	Ecart-type	Valeurs extrêmes		
II	pp DDE ⁻¹	<i>Mullus barbatus</i>	34	29	14	11	-	70
IV	"	" "	33	33	18	7	-	93
V	"	" "	43	8	12	0.1	-	75
VIII	"	" "	88	33	39	1	-	255
IX	"	" "	16	53	42	0.9	-	117
X	"	" "	44	15	12	2	-	67
II	"	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	114	13	9	2.2	-	42
IV	"	" "	13	6	4	2	-	17
V	"	" "	145	5	13	0.1	-	110
VIII	"	" "	99	10	12	1	-	75
II	"	<i>Thunnus thynnus thynnus</i>	21	352	415	23	-	1582
VIII	"	" "	4	601	659	161	-	1737
IV	"	<i>Mullus surmuletus</i>	6	11	3	6	-	15
V	"	" "	10	12	12	0.1	-	33
II	"	<i>Carcinus mediterraneus</i>	10	36	24	14	-	72
V	"	" "	4	2.5	30	0.1	-	6.2
VIII	"	" "	3	23	3	20	-	26
IX	"	" "	7	22	15	0.3	-	45
X	"	" "	4	3.1	3.5	0.7	-	8
IV	"	<i>Nephrops norvegicus</i>	28	3.8	1.8	1.1	-	8
VIII	"	<i>Parapenaeus longirostris</i>	31	1.6	5	0	-	25
IX	"	" "	4	3.1	1.6	1	-	5.4
X	"	" "	11	1.5	2.6	0	-	9

Dans des sédiments côtiers provenant de la Méditerranée centrale, on a relevé des teneurs moyennes comprises dans une fourchette de 4,5-390 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDT, de 0,1-2,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'hexachlorocyclohexane (HCH). Là encore, les niveaux relevés étaient affectés par la présence de "sites critiques" dans les zones analysées (UNEP, 1989; PNUE/FAO/OMS/IAEA, 1990). La même remarque est valable pour les données concernant les biotes marins, avec des moyennes de PCB s'échelonnant de 1,5 à 815 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ainsi qu'on a pu surtout l'évaluer dans les moules et le rouget barbet (*Mullus barbatus*). Les niveaux les plus élevés de pesticides organochlorés ont été observés dans le thon (*Thunus thynnus*). Les fourchettes relevées étaient de 0,1-343 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDT, de 0,4-325 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DDD, de 1,5-600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le p,p'-DE, de 0,4-6,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour la dieldrine, de 0,02-2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'aldrine, de 0,7-20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour l'hexachlorocyclohexane, et de 0,4-19 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le lindane (UNEP, 1989). Des niveaux élevés d'hydrocarbures halogénés ont été détectés chez des cétacés de Méditerranée (UNEP, 1989). Des données restreintes sont disponibles pour les espèces d'oiseaux herbivores ou piscivores vivant sur les côtes de la Méditerranée (Llorente *et al.*, 1987; Focardi *et al.*, 1988).

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

Dans le cadre du même projet pilote, un certain nombre d'organismes marins, ainsi que de sédiments, provenant du delta de l'Ebre et de la côte de Barcelone, ont été analysés pour y déterminer les PCB (divers congénères), les pesticides organochlorés et les 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 le cadre de l'étude pilote) 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 compare les espèces prélevées 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'intercomparabilité 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.

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 cosmopolite 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 inférieures à celles signalées dans les publications antérieures.

On dispose d'une bibliographie très vaste sur la présence d'hydrocarbures de pétrole dans les écosystèmes marins, et le nombre de 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 de projets MED POL. Dans l'ensemble, les hydrocarbures dissous/dispersés (DDPH) dans les eaux du large en Méditerranée présentent des concentrations inférieures à $10 \mu\text{g l}^{-1}$, 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 $10 \mu\text{g l}^{-1}$, près du rivage et notamment au voisinage des zones industrialisées ou des embouchures des cours d'eau (UNEP, 1989). Si l'on compare avec les données sur les DDPH communiquées pour d'autres régions, la répartition 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 littoral 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 la Méditerranée s'échelonnaient de $0,2$ à 4388 g m^{-2} (Golik, 1986). De même que les goudrons flottants, les goudrons sur les plages ont eu tendance à décroître très fortement au cours des dernières années, suite à l'interdiction, depuis 1978, du déballastage des eaux huileuses et du rejet 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 d'analyse 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 prélevé dans la même zone. Les niveaux relevés dans les 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 identique.

Les concentrations d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH) dans les moules ont été relevées pour 13 sites jalonnant le littoral ligure 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 cas des PAH, toute une série de composés parents possédant de 3 à 6 cycles aromatiques ainsi que leurs dérivés alkylés ont été identifiés dans *Mytilus galloprovincialis* et dans les sédiments. Les teneurs dans l'environnement étaient généralement comparables avec celles précédemment signalées pour la région méditerranéenne. Les résultats sont reproduits sur le tableau 7 où le rapport entre phénanthrènes parents et phénanthrènes monoalkylés reflète la contribution respective des sources pyrolytiques et des sources fossiles de pollution. Ces dernières prédominaient davantage dans les échantillons provenant de zones soumises à l'influence des cours d'eau. Inversement on notait manifestement une prédominance significativement élevée de sources pyrolytiques dans le reste des 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. 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 (Fouerman, 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 10.

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 Vodcnik, 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 arylhydrocarbone-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 blenniés 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. scribea* 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 sulhydyles 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-péroxydase, 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).

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 (Khudoley 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 11 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).

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).

Tableau 10

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
	-	0,28	-
Saumon coho	-	0,13	-
	-	0,12	-
Mulet	-	0,027	-
	0,047	-	2,9
Flet brillant	-	0,053	-
	-	0,040	-
Vivaneau des mangroves	0,025	-	6,3
<i>Orthopristis chrysoptera</i>	-	-	5,1
(Mummichog)	-	-	4,1
Bar commun	-	-	3,6
Limande-plie rouge	0,17	-	2,54
	0,12-0,60	-	0,7-6,4
Chabot	-	0,90	-
Grand tambour	0,15	-	0,53
Morue	-	-	0,51
Flet du sud	0,11	-	0,25
Anguille	-	0,21	-
Maquereau	-	-	< 0,07
Lampris	-	-	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> <i>U. pugilator</i>	0,06-0,14 0,09-0,16	- -	ND-0,001 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> <i>M. edulis</i>	0,047 0,047	0,024 0,054	- -
	0,134	0,019-0,031	-
Bigorneau: <i>Littorina littorea</i>	-	0,046	-
Gastropodes: <i>Tegula funebris</i> <i>Thais haemastoma</i>	- -	0,073 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> <i>S. purpuratus^f</i>	- -	- -	0,08 0,040
Arénicole:^f <i>Arenicola sp.</i>	-	-	ND

^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 guinine par millilitre dans 0,1 N H₂SO₄.

^b ND, non détecté

^c Hépatopancréas

^d Mâle (M) et femelle (F)

^e Glande digestive

^f Larves

Tableau 11

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 O-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 â-aminopropinoitrile (-) 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
<p>¹ (+) - néoplasie induite expérimentalement chez une ou plusieurs espèces de poisson (-) - pas de lésions néoplasiques induites expérimentalement (?) - néoplasie possible, mais résultats douteux</p> <p>² Agents testés isolément (2) ou en mélanges (m)</p>	

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 États-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 12 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.

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).

Tableau 12

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 Hokkaïdo, 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 hommibe)	Chromatophoromes	Japon	Kimura <i>et al.</i> , 1984
<i>Leptocottus armatus</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-plie rouge)	Néoplasmes hépatiques	Port de Boston	Murchelano et Wolke, 1985

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 cancérogènes. 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 cancérogènes. 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 ajouts (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 cancérogénicité 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'anticancérogénicité de l'aroclor (Shelton *et al.*, 1986) (voir section 2). Du benzo(a)pyrène radiomarké 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 ³²P (Gupta *et al.*, 1982) qui offre les avantages d'être extrêmement sensible en décelant 1 adduit par 10⁹-10¹⁰ 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). Des adduits PAH-ADN ont également été décelés chez des mammifères marins tels que les belugas (*Delphinapterus leucas*) pour certains desquels on a diagnostiqué un cancer de la vessie ou d'autres tumeurs, dans le fleuve Saint-Laurent et l'Arctique canadien (Ray *et al.*, 1991).

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 Dommage 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 monocaténares 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 Kerckhoff, 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 Kerckhoff, 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 foetus (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), des étoiles de mer (*Asteria rubens*) (den Besten *et al.*, 1989), 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 considérées 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 fœtotoxicité et la tératologie (malformations fœtales). 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 13. 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).

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).

Tableau 13

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)

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 vinicoles 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 $0,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou moins; près des centrales et des fonderies, il est d'environ $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (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 Etats-Unis, une exposition professionnelle à une limite supérieure de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (moyenne pondérée sur le temps - période de 8 heures) est tolérée pour l'arsenic inorganique, et à une limite supérieure de $0,5 \text{mg}/\text{m}^3$ pour l'arsenic organique (US, OSHA, 1979).

Les niveaux dans l'eau de boisson sont variables; des concentrations atteignant $1,8 \text{mg}/\text{litre}$ 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 $0,05 \text{mg}/\text{litre}$ (WHO, 1971). Dans la Communauté européenne, une limite de $0,1 \text{mg}/\text{litre}$ (maximale) est tolérée dans l'eau de boisson.

En 1989, le JEFCA a fixé un apport quotidien tolérable provisoire de $0,015 \text{mg}/\text{kg pc}$ 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 $150 \text{g}/\text{produits de la mer}/7 \text{ jours}/\text{semaine}$, même si la teneur en arsenic des produits de la mer s'élève jusqu'à $10 \mu\text{g}$ 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 14. 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-méthylcholanthrène, diméthylbenzo(a)anthracène, benz(a)pyrène et dibenz(ah)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 14

Cancérogénicité de quelques PAH et produits renfermant des PAH

1	2A	2B	3
Goudron de houille Huile minérales (non raffinées)	Benzo(a)pyrène Dibenz(ah)anthracène	Benzofluoranthènes Dibenzaieridines 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 µg/m³

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 mutagénicité *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 <math><36 \text{ ng/m}^3</math> (Hollande) à

Un individu consommant 150 g de poisson par jour contenant $1 \text{ } \mu\text{g/g}$ de PCB (soit une concentration supérieure à celles trouvées en Méditerranée) devrait ingérer $150 \text{ } \mu\text{g}$ de PCB (ou $2 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 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 $2 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 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 ($DL_{50} > 17 \text{ g/kg}$ 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 deux 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 DL₅₀ 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 micronucléi 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 tests 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 cancérigène 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 tératogénèse minime quand il était administré à fortes doses (Khera, 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 CL₅₀ 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 étayent 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 15). 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).

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.

Tableau 15

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					

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 cancérogène 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 cancérogène 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 16. 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 16 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 17) 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.

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.

Tableau 16

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 R ⁻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 ⁻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 R ⁻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 17

Limite CEE fixées pour les rejets industriels (mg R¹, 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	"

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 18

Objectifs de qualité CEE pour certains composés organohalogénés

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

6.3 Mesures Approuvées par les Parties Contractantes à la Convention de Barcelone

Les Parties contractantes, prenant en considération l'état d'incertitude actuel concernant les risques encourus par les organismes marins et la santé de l'homme en raison des substances cancérigènes, tératogènes et mutagènes en mer Méditerranée, détaillées dans le document d'évaluation correspondant, ainsi que le principe de précaution, conviennent:

- a) de promouvoir des mesures pour réduire les apports dans le milieu marin et favoriser l'élimination progressive d'ici à l'an 2005 des substances ayant des propriétés cancérigènes, tératogènes et/ou mutagènes avérées dans le milieu marin ou par l'intermédiaire de celui-ci.

Ces mesures devraient comporter notamment l'acquisition de nouvelles données pour combler les lacunes encore mal délimitées dans les connaissances touchant à la fois le statut effectif de substances spécifiques comme agents cancérigènes, tératogènes ou mutagènes, et le devenir de ces substances dans le milieu marin ainsi qu'il est exposé dans le document d'évaluation.

- b) considérant la complexité de la situation, du point de vue tant des données requises que de l'application des mesures, de faire un bilan complet de la situation concernant

la mise en oeuvre des mesures préconisées à l'alinéa (a) ci-dessus avant l'an 2000 pour faciliter la réalisation de l'objectif visé.

- c) de prendre sans délai les mesures ci-après:
 - i) surveiller la présence de substances appropriées dans l'eau de mer, les sédiments et les produits de la mer à des sites critiques et, si les niveaux de concentration le justifient, prendre les mesures nécessaires pour diminuer la pollution ou réduire au minimum les risques entraînés pour la santé humaine par la consommation de produits de la mer contaminés.
 - ii) demander au Secrétariat de poursuivre l'examen de la situation internationale quant aux nouveaux développements dans le domaine des polluants marins cancérigènes, tératogènes et mutagènes, et de renforcer sa liaison avec les organismes internationaux compétents.
- d) faire rapport au Secrétariat sur toutes mesures prises conformément à la présente décision.

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, 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, H.A., R. Lilis, 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.S. (1977). *Benzo(a)pyrene metabolism in the American oyster (Crassostrea virginica)*. US Environmental Protection Agency. EPA-600/378-009, 25 pp.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- Arillo, A. and F. Melodia (1990). Protective effect of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere*, **20**:397-402.
- Axelson, 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.
- 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.
- 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. 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.
- 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.
- Balkas, T.I., S. Tugrul and I. Salihoglu (1982). Trace metal levels in fish and crustacea from northeastern Mediterranean coastal waters. *Mar. Environ. Res.*, **6**:281-289.
- 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., 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.
- 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.
- 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 Wurtt. 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., 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., 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, 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., T. Mollner, F. Raitano and P. Shubik (1979). Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. *Int. J. Cancer*, **23**:47-51.
- Cabral, J.R.P., P. Shubik, T. Mollner and F. Raitano (1977). Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature (Lond.)*, **269**:510-511.
- 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.
- Cosma, B., R. Frache, F. Baffi and A. Dadone (1982). Trace metals in sediments from the Ligurian coast, Italy. *Mar. Pollut. Bull.*, **13**:127-132.
- Costa, R., A. Russo, M. Zordan, A. Pacchierotti, A. Tavella and A.G. Levis (1988). Nitroloacetic 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., 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.
- Couch, J.A. (1989). Review of North American and Pacific basin experience and knowledge of carcinogens and marine species (unpublished report).
- 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. 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. 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.
- 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., 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 Flora, S., P. Znacchi, 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. (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. (1990b). Development and application of biomarkers exploitable for human exposure monitoring. *Teratog. Carcinog. Mutag.*, **10**:211-214.
- De Flora, S., A. Camoirano, A. Izzotti, F. D'Agostini and C. Bennicelli (1989a). Photoactivation of mutagens. *Carcinogenesis*, **10**:1089-1097.
- 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. (1990a). Mechanistic approaches to the primary prevention of cancer. In: *Primary Prevention of Cancer*, W.J. Eylebosch and M. Kirsch-Volders, eds., Raven Press, New York, in press.
- 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. Znacchi, 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. Znacchi 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 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.
- Donazzolo, R., O. Hieke Merlin, L. Menegazzo Vitturi and B. Pavoni (1984). Heavy metal content and lithological properties of recent sediments in the northern Adriatic. *Mar. Pollut. Bull.*, **15**:93-101.
- 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.
- EEC (1976a). Council Directive of 6 April 1976 on the elimination of polychloro-biphenyls and polychloroterphenyls (76/403/EEC). *Official Journal of the European Communities*, **L108**:41-32.
- EEC (1976b). Council Directive of 27 July 1976 on the legislative, regulatory and administrative measures in Member States related to the limitation of marketing and use of certain dangerous substances and preparations. *Official Journal of the European Communities*, **L262**:201-203.

- EEC (1982). Communication from the Commission to the Council on dangerous substances which might be included in List I of Council Directive 76/464/EEC. *Official Journal of the European Communities*, **C176**:3-10.
- EEC (1976c). Council Directive of 4 May 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community (76/464/EEC). *Official Journal of the European Communities*, **L129**:23-29.
- 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.
- Falconer, C.R., R.J. Shepherd, J.M. Pirie et G. Topping (1983). Arsenic levels in fish and shellfish from the north sea. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, **71**:193-203.
- 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.
- Fowler, S. et B. Oregioni (1976). Trace metals in the mussels from the N.W. Mediterranean. *Mar.Pollut.Bull.*, **7**, NE2, pp.26 - 29.
- 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.
- Fytianos, K. and G.S. Vassilikiotis (1983). Concentration of heavy metals in seawater and sediments from the northern Aegean sea, Greece. *Journ.Etud.Pollut.CIESM*, **6**(1982):151-155.
- 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.
- Gilmartin, M. et N. Revelante (1975). The concentration of mercury, copper, nickel, silver, cadmium and lead in the Northern Adriatic anchovy *Engraulis encrasicolus*, and sardine *Sardina pilchardus*. *Fish.Bull.*, **73**:193.
- 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 nitrolotriactic 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. and R.H. Hinton (1990). Evidence for and possible mechanisms of non-genotoxic carcinogenesis in rodent liver. *Mut. Res.*, **248**:271-290.

- 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., 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.
- Grasso, P. (1984). Carcinogens in Food. **In:** "*Chemical Carcinogens*", 2nd Edition. Ed. C.E. Searle, Ch. 19, Vol.2.
- 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. Lönning (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, 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.
- 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, 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 and W.W. Walker (1988). Carcinogenicity tests with small fish species. *Aquatic Toxicol.*, **11**:113-128.
- 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.
- 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., 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., 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.
- 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., 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., 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., 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., 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., 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., 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.
- 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 to 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. 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. (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., 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 (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 (1972-1990). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*, Volumes 1-49. 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 (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 (1983). *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Compounds, Part I. Volume 32.* 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 (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 (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). Eicosanoids 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. 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.
- Kimbrough, R.D. (1974). The toxicity of polychlorinated polycyclic compounds and related chemicals. *CRC Critical Rev. Toxicol.*, **2**:445-498.
- Kimoshita, F.K., J.P. Frawley and P. Du Boisk (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-tetrachlorodibenzo-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. 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., 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., 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 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.
- 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., 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.
- 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. Carriere, 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.
- Laumond, F., G. Copin-Montegut, P. Courau and E. Nicolas (1984). Cadmium, copper and lead in the Western Mediterranean Sea. *Mar.Chem.*, **15**:251-261.
- 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, 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, D.J., J.H. Wales, J.L. Ayres and R.O. Sinnhuber (1968). Synergism between cyclopropenoid fatty acids and chemical carcinogens in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cancer Res.*, **28**:2312-2318.
- 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.
- Lee, R.F. (1981). Mixed function oxygenases (MFO) in marine invertebrates. *Marine Biology Lett.*, **2**:87-105.
- 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 aflatoxinol 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., 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, 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. 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, 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.
- 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.
- 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). *Nitrotriacetic 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., 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.
- 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.
- 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).
- Morley, N.H., J.D. Burton et P.J. Statham (1990). Observations on dissolved trace metals in the Gulf of Lions. Commission des Communautés Européenne. Bruxelles. *Water Pollut. Res.*, Report 20. pp.309-328.
- 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 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).
- National Toxicology Program (1982). *Third Annual Report on carcinogens*. Washington D.C., U.S. Government Printing Office 247-248.
- 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 Cancer Institute (1977). *Bioassays of nitrilotriacetic acid (NTA) and Nitrilotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate Na₃NTA H₂O* (NCI-CG-Tr-6 μ 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.
- 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.
- NordiskExpertgrupp (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 hematopoietic 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. and C.R. Phillips (1985). Photochemistry of petroleum in water. *Environ. Sci. Technol.*, **19**:569.
- 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., 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. (1977). Mixed function oxidases in marine organisms in relation to petroleum hydrocarbon metabolism and detection. *Mar. Pollut. Bull.*, **8**:112-116.
- 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.
- Payne, J.F. (1984). Mixed-function oxygenase in biological monitoring programs: review of potential usage in different phyla of aquatic animals. In: *Ecotoxi-cological 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.
- 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.
- 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.
- Poland, A., D. Smith, R. Kuntzman, M. Jacobson and A.H. Conney (1970). Effect of intensive occupational exposure to DDT on phenylbutazone and cortisol metabolism in human subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **11**:724-732.
- 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.
- Ruiz-Pino, D.P., C. Jeandel, J.P. Bethoux et J.F. Minster (1990). Are the trace metal cycles balanced in the Mediterranean Sea? *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology (Global and Planetary Change Section)*, **82**:369-388.
- 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). Aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the synergistic effects of cyclopropenoid 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., 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.
- 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.
- 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.
- Sherrell, R.M. et E.A. Boyle (1988). Zinc, chromium, vanadium and iron in the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res.*, **35**(8):1319-1334.
- 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 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.
- Tassi Pelati, L. and S. Albertazzi (1983). Fallout radionuclides presence in zooplankton from the North Adriatic sea. *Journ. Etud. Pollut. CIESM.*, **6**(1982):161-164.
- 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.

- U.S. Environmental Protection Agency (1976). *Dodecachlorooctahydro 1,3,4-metheno-2H cyclobuto(ed)pentale*ne - tolerances for residues. U.S. Code Fed. Regul., Title 40, Part 180, **251**:343.
- 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 (1985a). *Report of the Fourth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea and its related Protocols, Genoa, 9-13 September 1985*. Document UNEP/IG.56.5, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/FAO/WHO (1989). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by cadmium and cadmium compounds*. MAP Technical Reports Series No. 34, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/IOC (1988). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by petroleum hydrocarbons*. MAP Technical Reports Series No. 19, 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/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/FAO/WHO/IAEA (1990). *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organohalogen compounds*. MAP Technical Reports Series No.39, United Nations Environment Programme, Athens.
- 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.
- 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 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.
- 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.
- 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.
- Vassilikiotis, G.S., N.A. Voulouroutis, D.G. Themelis and M.C. Sofroniou (1982). Preliminary study of Thessaloniki Bay for contamination by mercury and lead. *Chemosphere*, **11**:479-496.
- 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.
- Voutsinou-Taliadouri, F. and J. Satsmadjjs (1982). Influence of metropolitan waste on the concentration of chlorinated hydrocarbons and metals in striped mullet. *Mar.Pollut.Bull.*, **13**:266-269.
- 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.
- Weldre, 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/UNEP (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.
- WHO (1969). 1968 Evaluations of some pesticide residues in food. *WHO/Food Add.* **69**, **35**:17-31.
- 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 (1981). Arsenic. *Environmental Health Criteria No.18*. International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva.
- WHO (1979). DDT and its derivations. *Environmental Health Criteria No.9*, WHO, Geneva.
- WHO (1973). Trace elements in human nutrition. Report of a WHO Expert Committee. *WHO Org. Tech. Rep. Ser.*, **532**:49-50.
- 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.
- 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(1971). *International standard for drinking water. 3rd Edition*, WHO, Geneva, P.32.

- 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., 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. Rijavec, 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. Rijavec, R. Batel and N. Bihari (1983). DNA damage by PAH and repair in a marine sponge. *Sci. Tot. Environ.*, **26**:137-156.
- 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.
- 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.

PUBLICATIONS OF THE MAP TECHNICAL REPORTS SERIES

1. UNEP/IOC/WMO: Baseline studies and monitoring of oil and petroleum hydrocarbons in marine waters (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parts in English, French or Spanish only).
2. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of metals, particularly mercury and cadmium, in marine organisms (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parts in English, French or Spanish only).
3. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of DDT, PCBs and other chlorinated hydrocarbons in marine organisms (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parts in English, French or Spanish only).
4. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine organisms and their populations (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parts in English, French or Spanish only).
5. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine communities and ecosystems (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parts in English or French only).
6. UNEP/IOC: Problems of coastal transport of pollutants (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (English only).
7. UNEP/WHO: Coastal water quality control (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parts in English or French only).
8. UNEP/IAEA/IOC: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parts in English or French only).
8. UNEP: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean
Add. MED POL VIII). Addendum, Greek Oceanographic Cruise 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (English only).
9. UNEP: Co-ordinated Mediterranean pollution monitoring and research programme (MED POL - PHASE I). Final report, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (English only).
10. UNEP: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G). Final reports on projects dealing with toxicity (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (English only).
11. UNEP: Rehabilitation and reconstruction of Mediterranean historic settlements. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parts in English or French only).
12. UNEP: Water resources development of small Mediterranean islands and isolated coastal areas. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).

13. UNEP: Specific topics related to water resources development of large Mediterranean islands. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).
14. UNEP: Experience of Mediterranean historic towns in the integrated process of rehabilitation of urban and architectural heritage. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parts in English or French only).
15. UNEP: Environmental aspects of aquaculture development in the Mediterranean region. Documents produced in the period 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (English only).
16. UNEP: Promotion of soil protection as an essential component of environmental protection in Mediterranean coastal zones. Selected documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parts in English or French only).
17. UNEP: Seismic risk reduction in the Mediterranean region. Selected studies and documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parts in English or French only).
18. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by mercury and mercury compounds. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (English and French).
19. UNEP/IOC: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by petroleum hydrocarbons. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (English and French).
20. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and health effects (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (English only).
21. UNEP/UNESCO/FAO: Eutrophication in the Mediterranean Sea: Receiving capacity and monitoring of long-term effects. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parts in English or French only).
22. UNEP/FAO: Study of ecosystem modifications in areas influenced by pollutants (Activity I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parts in English or French only).
23. UNEP: National monitoring programme of Yugoslavia, Report for 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (English only).
24. UNEP/FAO: Toxicity, persistence and bioaccumulation of selected substances to marine organisms (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parts in English or French only).
25. UNEP: The Mediterranean Action Plan in a functional perspective: A quest for law and policy. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (English only).

26. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean Region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (English only).
27. UNEP: Implications of expected climate changes in the Mediterranean Region: An overview. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (English only).
28. UNEP: State of the Mediterranean marine environment. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (English only).
29. UNEP: Bibliography on effects of climatic change and related topics. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (English only).
30. UNEP: Meteorological and climatological data from surface and upper measurements for the assessment of atmospheric transport and deposition of pollutants in the Mediterranean Basin: A review. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (English only).
31. UNEP/WMO: Airborne pollution of the Mediterranean Sea. Report and proceedings of a WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parts in English or French only).
32. UNEP/FAO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parts in English or French only).
33. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of organotin compounds as marine pollutants in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (English and French).
34. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by cadmium and cadmium compounds. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (English and French).
35. UNEP: Bibliography on marine pollution by organotin compounds. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (English only).
36. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (French only).
37. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication and plankton blooms (Activity H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parts in English or French only).
38. UNEP: Common measures adopted by the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (English, French, Spanish and Arabic).
39. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organohalogen compounds. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (English and French).
40. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activities H,I and J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (English and French).

41. UNEP: Wastewater reuse for irrigation in the Mediterranean region. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (English and French).
42. UNEP/IUCN: Report on the status of Mediterranean marine turtles. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (English and French).
43. UNEP/IUCN/GIS Posidonia: Red Book "Gérard Vuignier", marine plants, populations and landscapes threatened in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (French only).
44. UNEP: Bibliography on aquatic pollution by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (English only).
45. UNEP/IAEA: Transport of pollutants by sedimentation: Collected papers from the first Mediterranean Workshop (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 December 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (English only).
46. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46, UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (English only).
47. UNEP: Jellyfish blooms in the Mediterranean. Proceedings of the II workshop on jellyfish in the Mediterranean Sea. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parts in English or French only).
48. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parts in English or French only).
49. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants. Survival of pathogens. Final reports on research projects (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parts in English or French only).
50. UNEP: Bibliography on marine litter. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (English only).
51. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with mercury, toxicity and analytical techniques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parts in English or French only).
52. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with bioaccumulation and toxicity of chemical pollutants. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parts in English or French only).
53. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga, Spain (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (English only).
54. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (English only).

55. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K): Final report on project on survival of pathogenic organisms in seawater. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (English only).
56. UNEP/IOC/FAO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by persistent synthetic materials which may float, sink or remain in suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (English and French).
57. UNEP/WHO: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G): Final reports on projects dealing with carcinogenicity and mutagenicity. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (English only).
58. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (English and French).
59. UNEP/FAO/IAEA: Proceedings of the FAO/UNEP/IAEA Consultation Meeting on the Accumulation and Transformation of Chemical contaminants by Biotic and Abiotic Processes in the Marine Environment (La Spezia, Italy, 24-28 September 1990), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (English only).
60. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parts in English or French only).
61. UNEP: Integrated Planning and Management of the Mediterranean Coastal Zones. Documents produced in the first and second stage of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parts in English or French only).
62. UNEP/IAEA: Assessment of the State of Pollution of the Mediterranean Sea by Radioactive Substances. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (English and French).
63. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K) - Survival of Pathogens - Final reports on Research Projects (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (French only).
64. UNEP/WMO: Airborne Pollution of the Mediterranean Sea. Report and Proceedings of the Second WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (English only).
65. UNEP: Directory of Mediterranean Marine Environmental Centres. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (English and French).
66. UNEP/CRU: Regional Changes in Climate in the Mediterranean Basin Due to Global Greenhouse Gas Warming. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (English only).
67. UNEP/IOC: Applicability of Remote Sensing for Survey of Water Quality Parameters in the Mediterranean. Final Report of the Research Project. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (English only).

68. UNEP/FAO/IOC: Evaluation of the Training Workshops on the Statistical Treatment and Interpretation of Marine Community Data. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (English only).
69. UNEP/FAO/IOC: Proceedings of the FAO/UNEP/IOC Workshop on the Biological Effects of Pollutants on Marine Organisms (Malta, 10-14 September 1991), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (English only).
70. UNEP/IAEA/IOC/FAO: Organohalogen Compounds in the Marine Environment: A Review. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (English only).
71. UNEP/FAO/IOC: Selected techniques for monitoring biological effects of pollutants in marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (English only).
72. UNEP: Costs and Benefits of Measures for the Reduction of Degradation of the Environment from Land-based Sources of Pollution in Coastal Areas. A - Case Study of the Bay of Izmir. B - Case Study of the Island of Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (English only).
73. UNEP/FAO: Final Reports on Research Projects Dealing with the Effects of Pollutants on Marine Communities and Organisms. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993 (186 pages) (English and French).
74. UNEP/FIS: Report of the Training Workshop on Aspects of Marine Documentation in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 74. UNEP, Athens, 1993 (38 pages) (English only).
75. UNEP/WHO: Development and Testing of Sampling and Analytical Techniques for Monitoring of Marine Pollutants (Activity A). MAP Technical Reports Series No. 75. UNEP, Athens, 1993 (90 pages) (English only).
76. UNEP/WHO: Biogeochemical Cycles of Specific Pollutants (Activity K): Survival of Pathogens. MAP Technical Reports Series No. 76. UNEP, Athens, 1993 (68 pages) (English and French).
77. UNEP/FAO/IAEA: Designing of monitoring programmes and management of data concerning chemical contaminants in marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 77. UNEP, Athens, 1993 (236 pages) (English only).
78. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication problems. MAP Technical Reports Series No. 78. UNEP, Athens, 1994 (139 pages) (English only).
79. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with toxicity of pollutants on marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 79. UNEP, Athens, 1994 (135 pages) (parts in English or French only).
80. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with the effects of pollutants on marine organisms and communities. MAP Technical Reports Series No. 80. UNEP, Athens, 1994 (123 pages) (English only).
81. UNEP/IAEA: Data quality review for MED POL: Nineteen years of progress. MAP Technical Reports Series No. 81. UNEP, Athens, 1994 (79 pages) (English only).
82. UNEP/IUCN: Technical report on the State of Cetaceans in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 82. UNEP, Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, 1994 (37 pages) (English only).

83. UNEP/IUCN: Specially protected Areas in Mediterranean. Sketch of an Analytical Study of Relevant Legislation. MAP Technical Reports Series No. 83. UNEP, Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, 1994 (55 pages) (French only).
84. UNEP: Integrated Management Study for the Area of Izmir. MAP Technical Reports Series No. 84, UNEP, Regional Activity Centre for Priority Actions Programme, Split, 1994 (130 pages) (English only).
85. UNEP/WMO: Assessment of Airborne Pollution of the Mediterranean Sea by Sulphur and Nitrogen Compounds and Heavy Metals in 1991. MAP Technical Report Series No. 85, Athens, 1994 (304 pages) (English only).
86. UNEP: Monitoring Programme of the Eastern Adriatic Coastal Area - Report for 1983-1991. MAP Technical Report Series No. 86, Athens, 1994 (311 pages) (English only).
87. UNEP/WHO: Identification of microbiological components and measurement development and testing of methodologies of specified contaminants (Area I) - Final reports on selected microbiological projects. MAP Technical Reports Series No. 87, UNEP, Athens, 1994 (136 pages) (English only).
88. UNEP: Proceedings of the Seminar on Mediterranean Prospective. MAP Technical Reports Series No. 88, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (176 pages) (parts in English or French only).
89. UNEP: Iskenderun Bay Project. Volume I. Environmental Management within the Context of Environment-Development. MAP Technical Reports Series No. 89, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (144 pages) (English only).
90. UNEP: Iskenderun Bay Project. Volume II. Systemic and Prospective Analysis. MAP Technical Report Series No. 90, Sophia Antipolis, 1994 (142 pages) (parts in English or French only).
91. UNEP: A Contribution from Ecology to Prospective Studies. Assets and Issues. MAP Technical Reports Series No. 91, Sophia Antipolis, 1994 (162 pages) (French only).

PUBLICATIONS "MAP TECHNICAL REPORTS SERIES"

1. PNUE/COI/OMM: Etudes de base et surveillance continue du pétrole et des hydrocarbures contenus dans les eaux de la mer (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
2. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue des métaux, notamment du mercure et du cadmium, dans les organismes marins (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
3. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue du DDT, des PCB et des autres hydrocarbures chlorés contenus dans les organismes marins (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
4. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les organismes marins et leurs peuplements (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
5. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les communautés et écosystèmes marins (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
6. PNUE/COI: Problèmes du transfert des polluants le long des côtes (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (anglais seulement).
7. PNUE/OMS: Contrôle de la qualité des eaux côtières (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. PNUE/AIEA/COI: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. PNUE: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED POL VIII).
- Add. Addendum, Croisière Océanographique de la Grèce 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (anglais seulement).
9. PNUE: Programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution dans la Méditerranée (MED POL -PHASE I). Rapport final, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (anglais seulement).
10. PNUE: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la toxicité (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (anglais seulement).
11. PNUE: Réhabilitation et reconstruction des établissements historiques méditerranéens. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parties en anglais ou français seulement).
12. PNUE: Développement des ressources en eau des petites îles et des zones côtières isolées méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).

13. PNUE: Thèmes spécifiques concernant le développement des ressources en eau des grandes îles méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).
14. PNUE: L'expérience des villes historiques de la Méditerranée dans le processus intégré de réhabilitation du patrimoine urbain et architectural. Documents établis lors de la seconde phase de l'Action prioritaire (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parties en anglais ou français seulement).
15. PNUE: Aspects environnementaux du développement de l'aquaculture dans la région méditerranéenne. Documents établis pendant la période 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (anglais seulement).
16. PNUE: Promotion de la protection des sols comme élément essentiel de la protection de l'environnement dans les zones côtières méditerranéennes. Documents sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parties en anglais ou français seulement).
17. PNUE: Réduction des risques sismiques dans la région méditerranéenne. Documents et études sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
18. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le mercure et les composés mercuriels. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (anglais et français).
19. PNUE/COI: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les hydrocarbures de pétrole. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (anglais et français).
20. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et les effets sur la santé (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (anglais seulement).
21. PNUE/UNESCO/FAO: Eutrophisation dans la mer Méditerranée: capacité réceptrice et surveillance continue des effets à long terme. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parties en anglais ou français seulement).
22. PNUE/FAO: Etude des modifications de l'écosystème dans les zones soumises à l'influence des polluants (Activité I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
23. PNUE: Programme national de surveillance continue pour la Yougoslavie, Rapport pour 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (anglais seulement).
24. PNUE/FAO: Toxicité, persistance et bioaccumulation de certaines substances vis-à-vis des organismes marins (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parties en anglais ou français seulement).

25. PNUE: Le Plan d'action pour la Méditerranée, perspective fonctionnelle; une recherche juridique et politique. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (anglais seulement).
26. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (anglais seulement).
27. PNUE: Implications des modifications climatiques prévues dans la région méditerranéenne: une vue d'ensemble. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (anglais seulement).
28. PNUE: Etat du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (anglais seulement).
29. PNUE: Bibliographie sur les effets des modifications climatiques et sujets connexes. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (anglais seulement).
30. PNUE: Données météorologiques et climatologiques provenant de mesures effectuées dans l'air en surface et en altitude en vue de l'évaluation du transfert et du dépôt atmosphériques des polluants dans le bassin méditerranéen: un compte rendu. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (anglais seulement).
31. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des Journées d'étude OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
32. PNUE/FAO: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parties en anglais ou français seulement).
33. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation des composés organostanniques en tant que polluants du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (anglais et français).
34. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le cadmium et les composés de cadmium. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (anglais et français).
35. PNUE: Bibliographie sur la pollution marine par les composés organostanniques. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (anglais seulement).
36. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (français seulement).
37. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche consacrés à l'eutrophisation et aux efflorescences de plancton (Activité H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parties en anglais ou français seulement).
38. PNUE: Mesures communes adoptées par les Parties Contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (anglais, français, espagnol et arabe).
39. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution par les composés organohalogénés. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (anglais et français).

40. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activités H, I et J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (anglais et français).
41. PNUE: Réutilisation agricole des eaux usées dans la région méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (anglais et français).
42. PNUE/UICN: Rapport sur le statut des tortues marines de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (anglais et français).
43. PNUE/UICN/GIS Posidonie: Livre rouge "Gérard Vuignier" des végétaux, peuplements et paysages marins menacés de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (français seulement).
44. PNUE: Bibliographie sur la pollution aquatique par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (anglais seulement).
45. PNUE/AIEA: Transfert des polluants par sédimentation: Recueil des communications présentées aux premières journées d'études méditerranéennes (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 décembre 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (anglais seulement).
46. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et la gastroentérite provoquée par le rotavirus entre les baigneurs (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46. UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (anglais seulement).
47. PNUE: Les proliférations de méduses en Méditerranée. Actes des 11èmes journées d'étude sur les méduses en mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parties en anglais ou français seulement).
48. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parties en anglais ou français seulement).
49. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques. Survie des Pathogènes. Rapports finaux sur les projets de recherche (activité K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parties en anglais ou français seulement).
50. PNUE: Bibliographie sur les déchets marins. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (anglais seulement).
51. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant du mercure, de la toxicité et des techniques analytiques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parties en anglais ou français seulement).
52. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant de la bioaccumulation et de la toxicité des polluants chimiques. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parties en anglais ou français seulement).
53. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur l'étude épidémiologique menée parmi les baigneurs de certaines plages à Malaga, Espagne (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (anglais seulement).

54. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (anglais seulement).
55. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Rapport final sur le projet sur la survie des microorganismes pathogènes dans l'eau de mer. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (anglais seulement).
56. PNUE/COI/FAO: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les matières synthétiques persistantes qui peuvent flotter, couler ou rester en suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (anglais et français).
57. PNUE/OMS: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la cancérogénicité et la mutagénicité. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (anglais seulement).
58. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (anglais et français).
59. PNUE/FAO/AIEA: Actes de la réunion consultative FAO/PNUE/AIEA sur l'accumulation et la transformation des contaminants chimiques par les processus biotiques et abiotiques dans le milieu marin (La Spezia, Italie, 24-28 septembre 1990), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (anglais seulement).
60. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parties en anglais ou français seulement).
61. PNUE: Planification intégrée et gestion des zones côtières méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première et de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parties en anglais ou français seulement).
62. PNUE/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances radioactives. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (anglais et français).
63. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K) - Survie des pathogènes - Rapports finaux sur les projets de recherche (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (français seulement).
64. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des deuxième journées d'études OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (anglais seulement).
65. PNUE: Répertoire des centres relatifs au milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (anglais et français).
66. PNUE/CRU: Modifications régionales du climat dans le bassin méditerranéen résultant du réchauffement global dû aux gaz à effet de serre. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (anglais seulement).

67. PNUE/COI: Applicabilité de la télédétection à l'étude des paramètres de la qualité de l'eau en Méditerranée. Rapport final du projet de recherche. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (anglais seulement).
68. PNUE/FAO/COI: Evaluation des ateliers de formation sur le traitement statistique et l'interprétation des données relatives aux communautés marines. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (anglais seulement).
69. PNUE/FAO/COI: Actes de l'Atelier FAO/PNUE/COI sur les effets biologiques des polluants sur les organismes marins (Malte, 10-14 septembre 1991), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (anglais seulement).
70. PNUE/AIEA/COI/FAO: Composés organohalogénés dans le milieu marin: Une synthèse. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (anglais seulement).
71. PNUE/FAO/COI: Techniques sélectionnées de surveillance continue des effets biologiques des polluants sur les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (anglais seulement).
72. PNUE: Coûts et bénéfices des mesures pour la réduction de la dégradation de l'environnement des sources de pollution d'origine tellurique dans les zones côtières. A - Etude de cas de la baie d'Izmir. B - Etude de cas de l'île de Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (anglais seulement).
73. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets de polluants sur les communautés et les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993 (186 pages) (anglais et français).
74. PNUE/FIS: Rapport de l'Atelier de formation sur les aspects de la documentation marine en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 74. UNEP, Athens, 1993 (38 pages) (anglais seulement).
75. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A). MAP Technical Reports Series No. 75. UNEP, Athens, 1993 (90 pages) (anglais seulement).
76. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Survie des pathogènes. MAP Technical Reports Series No. 76. UNEP, Athens, 1993 (68 pages) (anglais et français).
77. PNUE/FAO/AIEA: Conception des programmes de surveillance continue et de gestion des données concernant les contaminants chimiques dans les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 77. UNEP, Athens, 1993 (236 pages) (anglais seulement).
78. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des problèmes de l'eutrophisation. MAP Technical Reports Series No. 78. UNEP, Athens, 1994 (139 pages) (anglais seulement).
79. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant de la toxicité des polluants sur les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 79. UNEP, Athens, 1994 (135 pages) (parties en anglais ou français seulement).
80. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets des polluants sur les organismes et communautés marins. MAP Technical Reports Series No. 80. UNEP, Athens, 1994 (123 pages) (anglais seulement).

81. PNUE/AIEA: Examen de la qualité des données pour le MED POL: Dix-neuf années de progrès. MAP Technical Reports Series No. 81. UNEP, Athens, 1994 (79 pages) (anglais seulement).
82. PNUE/UICN: Rapport technique sur l'état des cétacés en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 82. PNUE, Centre d'activités régionales pour les aires spécialement protégées, Tunis, 1994 (37 pages) (anglais seulement).
83. PNUE/UICN: Les aires protégées en Méditerranée. Essai d'étude analytique de la législation pertinente. MAP Technical Reports Series No. 83. PNUE, Centre d'activités régionales pour les aires spécialement protégées, Tunis, 1994 (55 pages) (français seulement).
84. PNUE: Etude de gestion intégrée pour la zone d'Izmir. MAP Technical Reports Series No. 84, PNUE, Centre d'activités régionales pour le programme d'actions prioritaires, Split, 1994 (130 pages) (anglais seulement).
85. PNUE/OMM: Evaluation de la pollution transférée par voie atmosphérique en mer Méditerranée pour les composés soufrés, azotés et pour les métaux lourds en 1991. MAP Technical Reports Series No. 85, UNEP, Athens, 1994 (304 pages) (anglais seulement).
86. PNUE: Programme de surveillance continue de la zone côtière de l'Adriatique Est - Rapport pour 1983-1991. MAP Technical Reports Series No. 86, UNEP, Athens, 1994 (311 pages) (anglais seulement).
87. PNUE/OMS: Identification de constituants microbiologiques et de dosage (mise au point et essai de méthodes) de contaminants donnés (Domaine de recherche I) - Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique. MAP Technical Reports Series No. 87, UNEP, Athens, 1994 (136 pages) (anglais seulement).
88. PNUE: Actes du Séminaire débat sur la prospective méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 88, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (176 pages) (parties en anglais ou français seulement).
89. PNUE: Projet de la Baie d'Iskenderun. Volume I. Gestion de l'environnement dans le cadre de l'environnement-développement. MAP Technical Reports Series No. 89, PNUE, Centre d'activités régionales pour le Plan Bleu, Sophia Antipolis, 1994 (144 pages) (anglais seulement).
90. PNUE: Projet de la Baie d'Iskenderun. Volume II. Analyse systémique et prospective. MAP Technical Reports Series No. 90, UNEP, Sophia Antipolis, 1994 (142 pages) (parties en anglais ou français seulement).
91. PNUE: Une contribution de l'écologie à la prospective. Problèmes et acquis. MAP Technical Reports Series No. 91, Sophia Antipolis, 1994 (162 pages) (français seulement).



Issued and printed by:

Mediterranean Action Plan
United Nations Environment Programme

Additional copies of this and other publications issued by
the Mediterranean Action Plan of UNEP can be obtained from:

Coordinating Unit for the Mediterranean Action Plan
United Nations Environment Programme
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48
P.O.Box 18019
11610 Athens
GREECE



Publié et imprimé par:

Plan d'action pour la Méditerranée
Programme des Nations Unies pour l'Environnement

Des exemplaires de ce document ainsi que d'autres
publications du Plan d'action pour la Méditerranée
du PNUE peuvent être obtenus de:

Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée
Programme des Nations Unies pour l'Environnement
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48
B.P. 18019
11610 Athènes
GRECE