

RAPPORT D'ÉTUDE
N° - DRC-11-109441-09134B -

29/08/2011

Contribution à l'interprétation des causes de mortalité d'animaux observée en juillet-août 2011 dans l'estuaire du Gouessant, dans la Baie de Morieux.

Contribution à l'interprétation des causes de mortalité d'animaux observée en juillet-août 2011 dans l'estuaire du Gouessant, dans la Baie de Morieux.

Verneuil-En-Halatte, Oise

Client : Ministère de l'Ecologie, du Développement durable, des Transports et du Logement (MEDDTL)

Liste des personnes ayant participé à l'étude : Nicolas PUCHEUX, Adrien TROISE, Sandrine ANDRES, Eric THYBAUD

PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalent qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.





	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	Nicolas PUCHEUX Adrien TROISE	Sandrine ANDRÉS	Eric THYBAUD
Qualité	Ingénieur à l'unité « Evaluation en écotoxicologie » Ingénieur à l'unité « Expertise et évaluations en toxicologie »	Responsable de l'unité « Evaluation en écotoxicologie »	Responsable du pôle « Dangers et impact sur le vivant »
Visa	 		

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION	6
2. MORTALITES DE LA FAUNE LOCALE.....	6
2.1 Mortalités observées	6
2.2 Autopsies réalisées chez les sangliers et les ragondins :.....	9
3. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A LA PRESENCE DE CYANOBACTERIES	9
4. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A L'EMPOISONNEMENT PAR DES SUBSTANCES TOXIQUES.....	12
5. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A LA FORMATION D'HYDROGENE SULFURE (H₂S)	12
5.1 Formation de l'hydrogène sulfuré.....	13
5.2 Toxicité de l'hydrogène sulfuré.....	13
5.2.1 Mode d'action	13
5.2.2 Toxicité	13
5.3 Autopsies réalisées chez les sangliers, les ragondins et le blaireau :	15
5.4 Interprétation des analyses effectuées sur les animaux autopsiés.	16
5.4.1 Méthodes d'analyse :.....	16
5.4.2 Dosages d'hydrogène sulfuré dans le sang et les poumons :.....	16
6. CONCLUSION.....	17
7. LISTE DES ANNEXES	18

1. INTRODUCTION

Entre le début du mois de juillet et la première semaine d'août 2011, une mortalité importante de sangliers a été observée dans l'estuaire et les alentours du Gouessant, cours d'eau des Côtes d'Armor.

La cause infectieuse a été rapidement écartée par l'ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) et trois hypothèses principales se sont dégagées : la contamination par des cyanotoxines, l'empoisonnement par un toxique (ex : pesticide) et l'inhalation d'hydrogène sulfuré (H₂S) issu de la décomposition d'algues vertes dans la vase.

En raison des difficultés à établir les causes exactes de la mort de ces animaux, ainsi que de celle de 3 ragondins et d'un blaireau sur le même site malgré les investigations conduites sous l'autorité du préfet, l'INERIS a été sollicité par le MEDDTL afin de fournir un appui scientifique et technique permettant :

- « d'une part de contribuer au diagnostic de la cause de mortalité des animaux observée, notamment pour l'interprétation des commémoratifs, des autopsies et des résultats d'analyse existants en s'appuyant sur ses connaissances en toxicologie et en chimie. D'éventuelles recherches complémentaires nécessaires à mettre en œuvre [pouvaient] être proposées. Une attention particulière sera portée à la question de l'hydrogène sulfuré. »
- « et d'autre part de procéder à une caractérisation du milieu de la baie de Morieux au regard des émissions d' H₂S et des niveaux de concentration en H₂S dans l'air ambiant à proximité des zones fréquentées par les populations, afin d'apporter des éléments de réponse sur les risques potentiels pour la population. »

Le présent rapport traite du premier point de l'appui scientifique demandé.

La liste des documents reçus au cours de l'étude et sur lesquels l'INERIS a appuyé son expertise est donnée en Annexe 1.

Leur analyse au fil de l'eau a conduit à la rédaction de plusieurs notes et résumés bibliographiques pour le Ministère (MEDDTL) et la Préfecture dont certains sont placés en annexe de ce rapport.

Concernant le second point, l'INERIS a effectué du 04 au 06 août 2011 une caractérisation des émissions en hydrogène sulfuré et autres composés soufrés sur la plage de Morieux et à l'embouchure du Gouessant dont les résultats sont présentés dans un rapport spécifique (DRC-11-123950-09063A).

2. MORTALITES DE LA FAUNE LOCALE

2.1 MORTALITES OBSERVEES

Le 7 juillet 2011, deux marcassins ont été retrouvés morts sur la plage de Saint Maurice à Morieux (22), la présence de vase dans les voies respiratoires

supérieures amène le laboratoire de développement et d'analyse des côtes d'Armor (LDA 22) à conclure sur une mort par étouffement.

Le 24 juillet, huit nouveaux cadavres de sangliers sont signalés sur les berges de la rivière « Le Gouessant ». Sept d'entre eux sont amenés au LDA 22, parmi lesquels six autopsies ont pu être pratiquées.

Le 26 Juillet, dix huit cadavres de sangliers sont découverts sur le même site que précédemment, seize d'entre eux ont été acheminés au LDA 22. Cinq dépouilles de sangliers sont découverts échoués sur le même site le 27 juillet puis deux autres le 28 Juillet, et un dernier le 29 juillet.

Au total, ce sont donc trente six sangliers qui ont été retrouvés morts dans l'estuaire du Gouessant.

Par ailleurs, un blaireau mort y a été découvert le 01 août ainsi que trois ragondins, un le 31 juillet, puis deux autres le 02 août. L'un des deux ragondins retrouvé le 02 août était à l'agonie et a été achevé.

La Figure 1 indique la localisation des lieux où des cadavres de sangliers ont été retrouvés.



Figure 1 : Localisation des lieux où des cadavres de sangliers ont été retrouvés (carte établie à partir de données fournies par l'ONCFS)

Les 36 sangliers morts proviennent tous de la même harde, il ne resterait aujourd'hui de ce groupe qu'une laie et quatre ou cinq marcassins. Le sanglier (*Sus scrofa*) est un animal omnivore très proche du porc, il se nourrit d'une grande variété de végétaux (racines, glands, etc.), et d'animaux morts ou vivants (vers,

mollusques, petits mammifères, oiseaux, etc.). Il affectionne les zones arborées disposant de points d'eau.

Cette harde est présente dans la région depuis deux ans et les animaux auraient été aperçus plusieurs fois cherchant de la nourriture dans la vase.



Le sanglier (*Sus scrofa*).

Trois ragondins et un blaireau ont également été retrouvés morts dans la même région. Les ragondins (*Myocastor coypus*) sont des rongeurs herbivores ayant colonisé de nombreux milieux aquatiques d'eau douce ou saumâtre du territoire français. Ils vivent dans des terriers qu'ils creusent le long des berges et sont inscrits en France sur la liste des animaux susceptibles d'être classés nuisibles.



Le ragondin (*Myocastor coypus*)

Le blaireau (*Meles meles*) est un animal omnivore se nourrissant d'insectes, de rongeurs, de tubercules, de champignons et parfois d'œufs et de jeunes lapins. Cet animal fouisseur vit dans des galeries qu'il creuse préférentiellement au niveau de reliefs (butte, talus) à proximité d'arbres et de buissons à baies.



Le blaireau (*Meles meles*)

2.2 AUTOPSIES REALISEES CHEZ LES SANGLIERS ET LES RAGONDINS :

Plusieurs autopsies ont été réalisées par le laboratoire de développement et d'analyse (LDA22) :

- 7 sujets (3 laies, 4 marcassins (pour 2 marcassins, les autopsies n'ont pas été réalisables)) reçus morts au LDA22 le 24/07/11 et autopsiés le 25/07/11,
- 18 sujets (1 sanglier, 14 marcassins (pour 2 marcassins, les autopsies n'ont pas été réalisables), 3 laies) reçus morts au LDA22 le 26/07/11 et autopsiés le 27/07/11,
- 2 ragondins reçus morts au LDA22 le 31/07/11 et le 01/08/11 respectivement autopsiés le 01/08/11 et le 02/08/11.

Le blaireau n'a pu être autopsié.

Parmi les différents résultats des autopsies, les atteintes pulmonaires sont les plus fréquemment retrouvées. Il s'agit d'œdèmes pulmonaires (18 sujets sur 23), de congestions (16/23), d'emphysèmes (19/23) et d'épanchements séro-sanguinolents (7/23). Ces lésions sont évocatrices d'une hypoxie ayant pour conséquence les congestions notées au niveau du SNC (6/23), du cœur (7/23) et les œdèmes sous-cutané au niveau du tissu conjonctif (11/23).

Des effets oculaires au niveau des conjonctives (10/23) ont également été constatés et sont associés à une irritation oculaire.

Les lésions observées sur le foie, la rate et les reins (lyse, congestion, emphysème) sont difficilement interprétables du fait de l'état de décomposition plus ou moins avancée des animaux autopsiés.

3. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A LA PRESENCE DE CYANOBACTERIES

L'estuaire du Gouessant, qui bénéficie d'une eau tempérée, calme et peu profonde, d'un bon ensoleillement et de suffisamment d'éléments nutritifs, est un milieu propice à la prolifération des cyanobactéries et l'hypothèse d'une intoxication par des cyanotoxines comme cause de la mort a été soulevée.

Suite à la découverte des huit cadavres de sangliers le 24/07/2011, deux prélèvements d'eau ont été effectués dans l'estuaire et en amont au niveau de la retenue d'eau d'Hillion (Pont Rolland). Un taux de **Microcystis** supérieur au seuil d'alerte (20.000 cellules/ml) mais inférieur au seuil de danger (100.000 cellules/ml) a été observé sur le second site seulement, les résultats sur le premier site étant négatifs.

La plupart des microcystis sont capables de libérer des microcystines, toxines mortelles responsables de nombreux cas d'intoxication dans le monde. Une note synthétisant des informations générales sur les Microcystines et *Microcystis sp.* a été rédigée pendant la période d'alerte et est donnée en Annexe 2.

Le taux de microcystine dans la retenue d'eau d'Hillion était de 1,48 µg/l et 1,83 µg/l sur les deux prélèvements d'eau réalisés (seuil d'alerte : 16 µg/l). Les

informations rassemblées montrent que les effets de ces toxines sont essentiellement de type hépatique et interviennent de façon chronique.

Bien que des lésions aient été observées sur le foie de certains des animaux autopsiés, la mort *a priori* rapide des animaux, ainsi que les autres atteintes observées lors des autopsies laissent penser qu'une intoxication par une microcystine est peu probable.

En revanche les symptômes observés seraient plus en adéquation avec les effets d'une autre toxine produite par certaines cyanobactéries, l'**anatoxine** qui est une neurotoxine dont les effets sont fulgurants.

Une note synthétisant des informations générales sur les anatoxines a été rédigée pendant la période d'alerte et est jointe en Annexe 3.

En résumé, les anatoxines sont des cyanotoxines à effet neurotoxique synthétisées par différents genres de cyanobactéries dont *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Cylindrospermum* et *Aphanizomenon*. Les symptômes associés comprennent un comportement hagard, des contractions musculaires involontaires, des convulsions, la paralysie et la mort par suffocation en quelques minutes à quelques heures en fonction de la taille de l'animal. Une cyanose des tissus peut être observée. Selon la littérature, l'anatoxine persiste dans les cyanobactéries et reste fixée dans les cellules vivantes sur les récepteurs nicotiques (anatoxine-a). La molécule est rapidement dégradée dans l'environnement (demi-vie de 5 jours environ). Des informations sur le devenir de l'anatoxine dans le cadavre d'un mammifère, sanglier ou ragondin, sont manquantes.

La production d'anatoxine par *Microcystis sp.* semble possible, bien que les espèces capables de cette synthèse ne peuvent pas encore être précisées. Dans le prélèvement effectué le 24/07/2011 à Pont Rolland, qui montre un taux de 83 900 cellules/ml en microcystis, l'identification des espèces n'a pas été réalisée selon nos informations, ce qui ne permet pas aujourd'hui de conclure sur un lien entre la production de neurotoxine et les symptômes observés sur les sangliers. Le rapport d'analyse ne mentionne par ailleurs qu'un taux de microcystine, les anatoxines n'ont pas été recherchées. Le taux de *Pseudoanabaena* de 4 340 cellules/ml retrouvé dans ce même prélèvement ne permet pas d'établir un lien avec les mortalités observées.

Une seconde série d'analyse a été effectuée sur des prélèvements effectués sur 4 sites le 27 juillet (1- barrage pont Rolland, 2- Après barrage Pont Rolland (pied barrage), 3- Pied de l'usine (côté estuaire), 4- Eau et vase Estuaire, traces de pieds d'animaux) Si les concentrations ont largement augmenté au niveau du barrage (204 000 cyanobactéries en cellules/ml), les concentrations au niveau de l'estuaire où les traces de pieds d'animaux ont été retrouvées sont 100 fois plus faibles (2 040 cyanobactéries en cellules/ml). Les anatoxines n'ont pas été recherchées.

Afin d'explorer plus en avant la piste d'une intoxication liée à une anatoxine, des analyses complémentaires ont été effectuées, notamment une recherche des cyanobactéries du sédiment, susceptibles de produire des anatoxines, dont le mode d'action serait plus conforme aux symptômes observés. A cette fin, des prélèvements ont été effectués sur le site puis sur la vase retrouvée dans la partie

bouche-œsophage de trois des sangliers préalablement autopsiés (sujets n° 5, 6 et 25). Un des ragondins morts est aussi examiné.

La localisation des prélèvements sur site a été déterminée par l'utilisation d'une sonde à phycocyanine fonctionnant sur le principe de la fluorescence spécifique des cyanobactéries. Ainsi, le 29/07/2011, des prélèvements ont eu lieu sur cinq zones en présence du professeur Luc Brient, spécialiste en taxonomie des microalgues à l'université de Rennes :

- Des prélèvements de floccs, en quantités importantes à l'aval du barrage et à l'aval du pont (signal de la sonde : 110).
- Des prélèvements au pied de l'usine électrique légèrement en amont (signal de la sonde : 200).
- Des prélèvements d'herbe et de cailloux au pied de l'usine.
- Des prélèvements dans une trace de pied dans la vase de l'estuaire (signal de la sonde : 76).

Les résultats des analyses, présentés dans le rapport du LDA 22 du 03/08/2011, indiquent la présence de cyanobactéries dans les échantillons prélevés sur site. Les espèces retrouvées sont principalement des oscillatoriales (*Oscillatoria*, *Lyngbia*, *Phormidium*), mais aussi, bien qu'en quantité moindre, des *Microcystis* et des *Synechococcus* (cf. Annexe 3). Certaines espèces des trois premiers genres sont capables de produire des anatoxines.

Les analyses réalisées conjointement de la vase située dans l'œsophage des trois sangliers n'indiquent ni la présence d'*Oscillatoria* ni celle de *Lyngbia* pourtant en grande quantité dans les prélèvements du sédiment.

Enfin, l'examen microscopique du ragondin indique une absence de vase dans son tube digestif ainsi que l'absence d'algues microscopiques (cyanobactéries ou autres) dans le contenu stomacal.

Une recherche d'anatoxine effectuée dans les échantillons prélevés au niveau du barrage de Port Rolland le 29 juillet montre l'absence d'anatoxine A, de saxitoxine et de cylindrospermine.

Les atteintes recensées lors de l'autopsie des animaux sont cohérentes avec une intoxication par des anatoxines. Des espèces susceptibles de produire ces toxines ont été identifiées dans la vase provenant de la zone où les animaux ont été retrouvés morts, mais les mesures ne peuvent être corrélées quantitativement avec les mortalités observées. Les analyses pratiquées dans les animaux eux-mêmes n'ont pas révélé la présence des cyanobactéries suspectées. Ainsi, si l'hypothèse d'une intoxication par des cyanobactéries reste possible, les informations disponibles ne sont pas entièrement probantes.

4. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A L'EMPOISONNEMENT PAR DES SUBSTANCES TOXIQUES

Le Laboratoire de Toxicologie de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon a effectué des recherches des substances chimiques qui auraient pu être ingérées par les sangliers et entraîner leur mort.

Les premières analyses ont porté sur les substances recherchées « en routine » par le laboratoire mais également sur des substances cibles dont le mode d'action aurait pu provoquer les symptômes observés (commémoratifs et tableaux lésionnels) : inhibiteurs des cholinestérases (carbamates et organophosphorés), la chloralose et anticoagulants de type anti-vitamine K (AVK).

Les analyses réalisées sur deux laies ne permettent pas de mettre en évidence dans les bols alimentaires ou dans les foies prélevés, la présence d'anticoagulants, d'insecticides organophosphorés, ou de carbamates.

La présence de chloralose a été relevée dans l'estomac d'un sanglier adulte en des quantités *a priori* insuffisantes pour provoquer sa mort. La chloralose est un composé organochloré toxique et somnifère utilisé autrefois en tant qu'avicide ou de rodenticide sous forme d'appâts de grains de maïs. Interdit de vente libre aujourd'hui, il reste parfois employé illicitement pour le piégeage d'animaux ou la pêche. Si la substance était en quantité insuffisante pour tuer le sanglier adulte, le laboratoire n'exclue pas la possibilité qu'elle ait affaibli l'animal.

La liste des substances recherchées a été ciblée sur les molécules les plus probables compte-tenu des effets observés. Des recherches toxicologiques de substances supplémentaires ont par la suite été demandées au laboratoire de l'école nationale vétérinaire de Lyon dans le foie et le bol alimentaire de six sangliers et d'un ragondin. Les premiers résultats de ces analyses, parvenus le 26 aout, ne permettent pas la mise en évidence du métaldéhyde, de la strychnine, de la crimidine, des pyréthriinoïdes et des organochlorés testés. Des résultats sur l'if, le cyanure, le paraquat, le diquat et le friponil sont attendus pour la fin de la semaine 35.

Les atteintes recensées lors de l'autopsie des animaux sont cohérentes avec une intoxication par certaines familles de pesticides mais les analyses réalisées n'ont pas permis de mettre en évidence d'empoisonnement par ces molécules.

5. HYPOTHESE D'UNE MORTALITE LIEE A LA FORMATION D'HYDROGENE SULFURE (H₂S)

L'hydrogène sulfuré ou H₂S est un gaz incolore, plus lourd que l'air à l'odeur fétide caractéristique (œuf pourri). Passé la concentration de 100 ppm dans l'air cependant, une anesthésie olfactive se produit et le gaz n'est plus détecté par l'homme.

5.1 FORMATION DE L'HYDROGENE SULFURE.

L'hydrogène sulfuré ou H₂S est créé lors de la première étape anaérobie du cycle du soufre.

Dans le contexte de vasières ou d'estuaires, où l'hydrodynamisme est faible, la température de l'eau est chaude et où le milieu est riche en nutriments, la prolifération d'algues vertes peut conduire à la formation de poches de gaz d'H₂S. En effet, l'empilement d'algues vertes pourrissantes crée un milieu pauvre en oxygène et riche en sulfate propice à la multiplication de bactéries sulfato-réductrices qui vont dégrader la biomasse en libérant de l'hydrogène sulfuré. Piégé sous les couches imperméables d'algues en décomposition, le gaz est alors susceptible de s'accumuler jusqu'à former des poches dangereuses voire mortelles étant donné la toxicité de celui-ci.

Il peut alors être libéré lorsqu'une action mécanique vient percer cette poche de gaz. Cela peut être le cas en particulier lorsqu'un organisme fouille la vase à la recherche de nourriture.

Les mesures collectées sur le terrain suggèrent par ailleurs que les dégagements sont liés au cycle des marées (rapport INERIS DRC-11-123950-09063A).

5.2 TOXICITE DE L'HYDROGENE SULFURE.

Les éléments de toxicité de l'hydrogène sulfuré ont été analysés dans les rapports présentés en Annexe 5. Seuls les principaux éléments ont été repris ci-dessous.

5.2.1 MODE D'ACTION

L'hydrogène sulfuré est un inhibiteur de la cytochrome oxydase mitochondriale, il bloque le transport d'électron au niveau de la cellule et de ce fait empêche la respiration tissulaire. Les organes fortement oxygène-dépendant comme le cerveau, les reins ou le cœur sont rapidement en situation d'hypoxie et peuvent être endommagés.

5.2.2 TOXICITE

L'intoxication se fait essentiellement par voie respiratoire. Dans le cadre d'une exposition aiguë, les symptômes sont une irritation locale (yeux, nez, gorge), une augmentation des fréquences respiratoire et cardiaque dans les premières minutes, puis un ralentissement, la perte de connaissance, le coma accompagné d'œdèmes pulmonaires et finalement la mort.

Le document « Seuils de toxicité aiguë, Hydrogène sulfuré, rapport final » réalisé en Janvier 2000 par l'INERIS présente des données aiguës sur rats, souris, lapins, chiens et primates. Ce document est actuellement en cours de mise à jour, mais les nouvelles informations de la littérature ne mettent pas en cause de façon significative les niveaux de toxicité précédents à savoir :

- la CL₅₀ 60 minutes est de l'ordre de 634 – 658 ppm chez la souris.
- la CL₅₀ 10 minutes est de l'ordre de 1127 ppm chez la souris et de 812 ppm chez le rat.

- une exposition de 1 000 ppm pendant 15 à 20 minutes provoque des troubles respiratoires et des apnées chez le chien, tandis qu'au-delà de 2 000 ppm, la mort intervient rapidement après une ou deux inspirations.

L'INERIS a proposé en 2004 les seuils d'effets toxiques pour l'homme présentés ci-dessous et développés en Annexe 4 et 5. Ces seuils sont actuellement en cours de révision.

Concentration (ppm)	Temps (minutes)				
	1	10	20	30	60
Seuils des effets létaux significatifs	1 720	769	605	526	414
Seuils des premiers effets létaux	1 521	688	542	472	372
Seuil des effets irréversibles	320	150	115	100	80
Seuil des effets réversibles	ND	ND	ND	ND	ND

ND : non déterminé

Il n'existe pas de données sur les sangliers, ragondins ou blaireaux, et les données ci-dessus ne sont pas directement extrapolables. Cependant, elles couvrent un ensemble d'espèce de poids et métabolisme variés, qui suggèrent que les doses affectant les sangliers, ragondins ou blaireaux devraient être du même ordre de grandeur.

Les niveaux d'exposition des animaux morts ne sont pas connus. Néanmoins les concentrations mesurées par l'INERIS sur la plage de Morieux (rapport DRC-11-123950-09063A) indiquent un risque potentiel fort pour les animaux (concentration maximale de 3 300 ppm en composés soufrés totaux dont 73 à 98 % d'H₂S par exemple). Les valeurs mesurées dans l'estuaire sont plus faibles, mais un déplacement des individus après intoxication est possible.

Par ailleurs, une étude¹ portant sur l'impact de l'hydrogène sulfuré rejeté par des sites de production de pétrole ou de gaz sur la faune sauvage permet d'envisager le danger lié à une exposition chronique à ce composé. Ainsi des NOAEL² pour différentes espèces ont pu être proposées. Elles dérivent d'une étude sur rats exposés six heures par jour durant dix semaines à du H₂S. Les extrapolations prennent en compte les spécificités allométriques incluant la surface trachéale, et le taux de ventilation de plusieurs espèces locales et/ou migratrices.

¹ U.S. Fish & Wildlife Service (2010) "Hydrogen sulfide monitoring near oil and gas production facilities in southeastern New Mexico and potential effects of hydrogen sulfide to migratory birds and other wildlife." U.S. Department of the Interior, Fish & Wildlife Service, Environmental Contaminants Program. pp. 98.

² NOAEL : No Observed Adverse Effect Level

Espèces		NOAEL estimées (ppm) En période d'activité	NOAEL estimées (ppm) En période de repos
Oiseau	Colibri à gorge noire (0,005 kg)	0,7	8,3
Mammifère	Rat-kangourou d'Ord (0,0834 kg)	ND	1,7
	Coyote (10 kg)	ND	2
	Cerf de Virginie (50 kg)	ND	2,4
Reptile	Lézard des dunes (0,0051 kg)	ND	50,7

ND : non déterminé

Les reptiles semblent pour leur part plus résistants, les auteurs supposent que cela est probablement dû au fait que la fréquence respiratoire de ceux-ci est beaucoup plus lente que celles des oiseaux ou des mammifères.

Les valeurs calculées par les auteurs suggèrent que les espèces sauvages, de mammifères en particulier pourraient être aussi ou plus sensibles que le rat en laboratoire.

Cette étude contient par ailleurs un monitoring des espèces présentes sur des sites exposés à différents niveaux de H₂S. Une corrélation est faite entre la présence atmosphérique de H₂S et la biodiversité (oiseaux, mammifères).

5.3 AUTOPSIES REALISEES CHEZ LES SANGLIERS, LES RAGONDINS ET LE BLAIREAU :

Les lésions observées lors des autopsies concernent essentiellement des manifestations pulmonaires évocatrices d'une hypoxie ayant pour conséquence les congestions notées au niveau du SNC, du cœur et les œdèmes au niveau du tissu conjonctif.

Bien que l'ensemble de ces symptômes ne soit pas spécifique du sulfure d'hydrogène, ils sont compatibles avec une intoxication à l'hydrogène sulfuré.

5.4 INTERPRETATION DES ANALYSES EFFECTUEES SUR LES ANIMAUX AUTOPSIES.

5.4.1 METHODES D'ANALYSE :

Le dosage de l'hydrogène sulfuré dans les échantillons biologiques effectué par le laboratoire ChemTox a été réalisé par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse avec induction par espace de tête (HS-GC-MS). Le sang (1 mL) et le tissu pulmonaire (1 g) ont été introduits dans des flacons en verre de 20 mL de type « espace de tête » puis hermétiquement scellés par un bouchon et un septum. A l'aide d'une seringue, 1 mL d'acide orthophosphorique a ensuite été introduit au travers du septum. L'acide orthophosphorique réagit avec les métabolites sulfurés de l'hydrogène sulfuré tels que les ions sulfures (S^{2-}) et l'ion hydrogénosulfure (HS^-) afin de former de l'hydrogène sulfuré. L'hydrogène sulfuré ainsi formé est ensuite volatilisé par une étape de chauffage à 80°C pendant 5 minutes. L'aliquot de la phase vapeur contenu dans le flacon en verre est ensuite transféré dans l'injecteur du chromatographe et l'acquisition est réalisée en mode « sélection d'ions » sur le spectromètre de masse. L'hydrogène sulfuré est alors détecté sur la base de son temps de rétention et spectre de masse. La quantification est ensuite réalisée après établissement d'une courbe de calibration.

5.4.2 DOSAGES D'HYDROGENE SULFURE DANS LE SANG ET LES POUMONS :

Compte tenu des méthodes d'analyse mises en œuvre, l'hydrogène sulfuré dosé correspond à la somme H_2S et métabolites présents dans le sang et les poumons, c'est-à-dire, essentiellement les ions sulfures (S^{2-}) et l'ion hydrogénosulfure (HS^-).

La présence d'hydrogène sulfuré a été vérifiée dans les poumons de cinq des six sangliers autopsiés et dans le sang de deux sangliers. Des concentrations de 0,14 – 0,36 – 0,93 – 1,47 – 1,72 $mg.kg^{-1}$ ont été mesurées dans les poumons et des concentrations de 0,1 et 0,7 $mg.L^{-1}$ dans le sang. Chez les deux ragondins retrouvés morts, des concentrations de 2,45 et inférieures à 0,1 $mg.kg^{-1}$ d'hydrogène sulfuré ont été retrouvées dans les poumons. Dans le sang, seul un ragondin présentait une concentration inférieure à 0,1 $mg.kg^{-1}$.

D'après les études bibliographiques disponibles dans la littérature, bien que les données correspondent à des expositions chez l'homme et le rat, les concentrations mesurées sont cohérentes avec une intoxication à hydrogène sulfuré (cf. Annexe 5 et 6).

D'autre part, les variations de concentration observées peuvent être dues au délai entre la mort et la découverte des animaux, ainsi qu'à l'animal lui-même s'il a eu le temps de s'éloigner de la source d'exposition (l'hydrogène sulfuré est rapidement métabolisé par l'organisme). Les concentrations de sulfures mesurées dans le sang de deux des animaux sont plus difficiles à exploiter car elles peuvent être liées à la formation post-mortem d' H_2S due à la nécrose des tissus. D'après une étude réalisée chez les rats, la formation post-mortem d'hydrogène sulfuré n'a pas lieu dans les poumons. Une note fournie en annexe de ce document reprend plus en détail l'interprétation des résultats d'analyses effectuées sur les animaux autopsiés (cf. Annexe 6).

6. CONCLUSION

Dans le but d'établir les causes de mortalité de sangliers, ragondins et blaireau dans l'estuaire du Gouessant, trois hypothèses ont été envisagées, exposition à des cyanobactéries, à des substances toxiques ou à de l'H₂S.

Il existe peu d'arguments en faveur de l'empoisonnement par des substances de type pesticide. En effet, si les symptômes observés sont cohérents avec ceux dus à ce type de substances, aucune analyse de toxique ne corrobore cette hypothèse. A noter néanmoins que la liste des substances recherchées, bien que robuste, ne saurait être exhaustive.

L'hypothèse de l'empoisonnement lié à une exposition à des toxines produites par des cyanobactéries ne peut être écartée à ce stade. En effet, des espèces produisant des toxines induisant le même type de symptômes que ceux relevés ont été observées, les toxines en question (anatoxines) n'ayant en revanche pas été retrouvées dans les échantillons analysés.

Enfin, les niveaux de concentration en H₂S dans les différents milieux de la baie, les niveaux de concentration mesurés dans les poumons ou le sang des animaux morts et les symptômes observés concourent à retenir l'hypothèse d'une intoxication par l'H₂S comme hautement probable.

Par ailleurs, la décision de fermer la plage de Morieux n'est pas de nature à réduire le risque pour la faune sauvage.

Il est important de rappeler de plus que l'hydrogène sulfuré atteint l'appareil olfactif des animaux à des concentrations n'entraînant pas la mort des individus. Il faut alors souligner l'importance pour les animaux sauvages du sens de l'odorat pour la recherche de nourriture, la recherche de partenaire sexuel et la détection du danger. Les données de la littérature semblent indiquer par ailleurs que la présence de H₂S dans l'air ambiant s'accompagne d'un appauvrissement de la biodiversité provoqué par le phénomène d'évitement de la faune.

Au vu de ces dernières observations, il semble important d'un point de vue environnemental de ne pas négliger l'aspect chronique des expositions à l'hydrogène sulfuré et maintenir l'effort pour réduire la formation des algues vertes.

7. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Liste des documents consultés dans le cadre de l'analyse des causes de mortalités de mammifères terrestres (sangliers, ragondins et blaireaux) en juillet et août 2011 près de Morieux.	1
Annexe 2	Note d'informations générales sur les Microcystines et <i>Microcystis sp.</i>	3
Annexe 3	Anatoxine, effets, persistance et détection ; Informations sur les cyanobactéries susceptibles d'en produire dans l'estuaire du Gouessant.	6
Annexe 4	Annexe A du document « Sulfure d'hydrogène : fiches INERIS, INRS et ICSC »	17
Annexe 5	Toxicité de l'hydrogène sulfuré.	4
Annexe 6	Éléments d'interprétation des analyses effectuées chez les animaux autopsiés (sur la base des informations reçues au 01/08/2011).	4