

Variations spatiales et temporelles des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques et des abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans le Saint-Laurent de 1998 à 2000

J.Y.Couture¹, M. Levasseur¹, E. Bonneau¹, C. Desjardins², G. Sauvé³, S.S. Bates⁴, C. Léger⁴, R. Gagnon¹ et S. Michaud¹

¹Direction régionale des Sciences
Ministère des Pêches et des Océans
Institut Maurice-Lamontagne
C.P. 1000
Mont-Joli (Québec)
Canada G5H 3Z4

³Agence Canadienne d'Inspection
des Aliments
Gare Maritime Champlain
901 Cap Diamant, Bureau 391
Québec (Québec)
Canada G1K 4K1

²Agence Canadienne d'Inspection
des Aliments
Laboratoire de chimie
789 Rolland Therrien
Longueuil (Québec)
Canada J4H 4A6

⁴Ministère des Pêches et des Océans
Centre des Pêches du Golfe
C.P. 5030
Moncton (Nouveau-Brunswick)
Canada E1C 9B6

2001

Rapport technique canadien des sciences
halieutiques et aquatiques 2375



Pêches
et Océans

Fisheries
and Oceans

Canada

Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques

Les rapports techniques contiennent des renseignements scientifiques et techniques qui constituent une contribution aux connaissances actuelles, mais qui ne sont pas normalement appropriés pour la publication dans un journal scientifique. Les rapports techniques sont destinés essentiellement à un public international et ils sont distribués à cet échelon. Il n'y a aucune restriction quant au sujet; de fait, la série reflète la vaste gamme des intérêts et des politiques du ministère des Pêches et des Océans, c'est-à-dire les sciences halieutiques et aquatiques.

Les rapports techniques peuvent être cités comme des publications intégrales. Le titre exact paraît au-dessus du résumé de chaque rapport. Les rapports techniques sont indexés dans la base de données *Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts*.

Les numéros 1 à 456 de cette série ont été publiés à titre de rapports techniques de l'Office des recherches sur les pêcheries du Canada. Les numéros 457 à 714 sont parus à titre de rapports techniques de la Direction générale de la recherche et du développement, Service des pêches et de la mer, ministère de l'Environnement. Les numéros 715 à 924 ont été publiés à titre de rapports techniques du Service des pêches et de la mer, ministère des Pêches et de l'Environnement. Le nom actuel de la série a été établi lors de la parution du numéro 925.

Les rapports techniques sont produits à l'échelon régional, mais numérotés à l'échelon national. Les demandes de rapports seront satisfaites par l'établissement d'origine dont le nom figure sur la couverture et la page du titre. Les rapports épuisés seront fournis contre rétribution par des agents commerciaux.

Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences

Technical reports contain scientific and technical information that contribute to existing knowledge but that are not normally appropriate for primary literature. Technical reports are directed primarily toward a worldwide audience and have an international distribution. No restriction is placed on subject matter, and the series reflects the broad interests and policies of the Department of Fisheries and Oceans, namely, fisheries and aquatic sciences.

Technical reports may be cited as full publications. The correct citation appears above the abstract of each report. Each report is indexed in the data base *Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts*.

Numbers 1-456 in this series were issued as Technical Reports of the Fisheries Research Board of Canada. Numbers 457-714 were issued as Department of the Environment, Fisheries and Marine Service, Research and Development Directorate Technical Reports. Numbers 715-924 were issued as Department of Fisheries and the Environment, Fisheries and Marine Service Technical Reports. The current series name was changed with report number 925.

Technical reports are produced regionally but are numbered nationally. Requests for individual reports will be filled by the issuing establishment listed on the front cover and title page. Out-of-stock reports will be supplied for a fee by commercial agents.

2001

**Variations spatiales et temporelles des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques
et des abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans le Saint-Laurent de 1998 à 2000**

par

J.Y. Couture¹, M. Levasseur¹, E. Bonneau¹, C. Desjardins², G. Sauvé³,
S.S. Bates⁴, C. Léger⁴, R. Gagnon¹ et S. Michaud¹

¹Direction régionale des Sciences
Ministère des Pêches et des Océans
Institut Maurice-Lamontagne
C.P. 1000
Mont-Joli (Québec)
Canada G5H 3Z4

²Agence Canadienne d'Inspection
des Aliments
Laboratoire de chimie
789 Rolland Therrien
Longueuil (Québec)
Canada J4H 4A6

³Agence Canadienne d'Inspection
des Aliments
Gare Maritime Champlain
901 Cap Diamant, Bureau 391
Québec (Québec)
Canada G1K 4K1

⁴Ministère des Pêches et des Océans
Centre des Pêches du Golfe
C.P. 5030
Moncton (Nouveau-Brunswick)
Canada E1C 9B6

© Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2001
No de cat. Fs 97-6/2375F ISSN 0706-6570

On devra citer la publication comme suit :

Couture, J.Y., M. Levasseur, E. Bonneau, C. Desjardins, G. Sauvé, S.S. Bates, C. Léger, R. Gagnon et S. Michaud. 2001. Variations spatiales et temporelles des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques et des abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans le Saint-Laurent de 1998 à 2000. Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat. 2375 : vii + 25 p.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	iv
RÉSUMÉ/ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUCTION	1
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	2
2.1. ÉCHANTILLONNAGE DES MOLLUSQUES	2
2.2. MESURE DE TOXICITÉ DES MOLLUSQUES	2
2.3. ÉCHANTILLONNAGE DES ALGUES PHYTOPLANCTONIQUES.....	3
2.4. IDENTIFICATION ET DÉNOMBREMENT DES ALGUES PHYTOPLANCTONIQUES.....	3
2.5. CHEVAUCHEMENT ENTRE LES DEUX PROGRAMMES DE MONITORAGE...	3
2.6. CULTURES DE <i>P. SERIATA</i> , MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE ET ANALYSE DE L'ACIDE DOMOÏQUE	4
3. RÉSULTATS	4
3.1. RÉPARTITION SPATIO-TEMPORELLE DE LA CONTAMINATION À L'ACIDE DOMOÏQUE.....	4
3.2. ÉVOLUTION TEMPORELLE DE LA TOXICITÉ ET DES ABONDANCES CELLULAIRES À QUATRE STATIONS CÔTIÈRES.....	5
3.2.1. <i>STATION DE BAIE-COMEAU</i>	5
3.2.2. <i>STATION DE SEPT-ÎLES</i>	5
3.2.3. <i>STATION DE NATASHQUAN</i>	6
3.2.4. <i>STATION DE LA LAGUNE DE HAVRE-AUX-MAISONS (H-A-M)</i>	6
3.3. MICROSCOPIE À BALAYAGE ÉLECTRONIQUE ET PRODUCTION D'ACIDE DOMOÏQUE.....	7
4. DISCUSSION	7
CONCLUSION	10
REMERCIEMENTS	10
RÉFÉRENCES	23

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1.	Recoupement des sites de cueillette des mollusques et des stations de monitoring des algues toxiques selon les régions du Québec	11
Tableau 2.	Données morphométriques pour les espèces de <i>Pseudo-nitzschia</i> isolées de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent. Les valeurs entre parenthèses proviennent de Hasle et Syvertsen (1996)	11
Figure 1.	Représentation stéréochimique des composés : a) acide domoïque, b) kainate et c) glutamate (Tiré de Skov et al. 1999, avec l'autorisation des auteurs)	12
Figure 2.	Position a) des sites de cueillette des mollusques de l'ACIA pour l'acide domoïque (seulement les sites échantillonnés sur une base régulière entre 1998 et 2000 sont représentés) et b) des stations de monitoring des algues toxiques de l'IML	13
Figure 3.	Évolution de la contamination par l'acide domoïque aux sites de cueillette des mollusques de l'ACIA au cours des années a) 1998, b) 1999 et c) 2000 (la concentration maximale seulement est représentée).....	14
Figure 4.	Évolution temporelle de la contamination par l'acide domoïque dans des glandes digestives de pétoncles géants en provenance du large des Îles-de-la-Madeleine entre juin 1997 et novembre 2000	15
Figure 5.	Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> et c) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia seriata</i> au site de Baie-Comeau entre juin 1997 et novembre 2000	16
Figure 6.	Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> et c) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia seriata</i> au site de Sept-Îles entre juin 1997 et novembre 2000	17
Figure 7.	Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> et c) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia seriata</i> au site de Natashquan entre juin 1997 et novembre 2000	18
Figure 8.	Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des glandes digestives de pétoncles géants, b) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> et c) de l'abondance de <i>Pseudo-nitzschia seriata</i> au site de la lagune de Havre-aux-Maisons aux Îles-de-la-Madeleine entre juin 1997 et novembre 2000	19

- Figure 9. a) Patron d'élimination de l'acide domoïque dans des glandes digestives de pétoncles géants de la lagune de Havre-aux-Maisons aux Îles-de-la-Madeleine durant l'été 2000 (la courbe indique la relation entre les concentrations en acide domoïque et le temps) et b) évolution temporelle du taux d'élimination de l'acide domoïque dans les glandes digestives des pétoncles géants à partir des données présentées en a 20
- Figure 10. Micrographies électroniques à balayage des espèces de *Pseudo-nitzschia* isolées de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent : a, b) souche de *P. delicatissima* provenant de la station de Mont-Joli (IML); c, d) souche de *P. seriata* provenant de la station de Havre-aux-Maisons; e, f) souche de *P. seriata* provenant de la station de l'IML..... 21
- Figure 11. Chromatographie liquide à haute performance d'une culture de *Pseudo-nitzschia seriata* isolée de la station de Mont-Joli (IML). Le pic FMOC-DHKA désigne le standard interne. Le pic FMOC-OH résulte d'une interaction entre l'excès de réactif FMOC avec l'eau, et peut être de hauteur variable pour chaque échantillon. a) échantillon avant enrichissement avec le standard d'acide domoïque et b) échantillon après addition de 19 ng AD mL⁻¹, résultant en une augmentation de la hauteur du pic de l'acide domoïque au même temps de rétention. En médaillon : détails du chromatogramme montrant le temps de rétention identique du pic original et du pic de l'échantillon enrichi en acide domoïque..... 22

RÉSUMÉ

Couture J.Y., M. Levasseur, E. Bonneau, C. Desjardins, G. Sauvé, S.S. Bates, C. Léger, R. Gagnon et S. Michaud. 2001. Variations spatiales et temporelles des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques et des abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans le Saint-Laurent de 1998 à 2000. Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat. 2375 : vii + 25 p.

La présence dans les mollusques de l'acide domoïque (toxine responsable de l'intoxication amnésique par les mollusques—IAM) est suivie dans l'estuaire et le nord du golfe du Saint-Laurent depuis 1997 par l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA). Les résultats indiquent une évolution spatiale et temporelle de la contamination par l'acide domoïque au cours des années 1998 à 2000. Des traces de cette toxine ont d'abord été détectées dans des gonades de pétoncles géants pêchés au large des Îles-de-la-Madeleine à l'été 1998. En 1999, les concentrations d'acide domoïque dans les glandes digestives de pétoncles géants du même secteur atteignaient $585 \mu\text{g g}^{-1}$, bien que les muscles adducteurs n'étaient pas contaminés. Pendant la même période, des teneurs de près de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ de glande digestive étaient mesurées dans des pétoncles géants récoltés dans la lagune de Havre-aux-Maisons, alors que des concentrations traces étaient mesurées pour la première fois dans des myes communes récoltées sur la Basse Côte-Nord. En 2000, les glandes digestives des pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine demeuraient intoxiquées et des traces d'acide domoïque étaient mesurées dans des myes communes, moules bleues et couteaux de mer tout le long de la Côte-Nord du Saint-Laurent, de Tadoussac à Havre-Saint-Pierre. Conjointement aux données de l'inspection, le programme de monitoring des algues nuisibles de l'Institut Maurice-Lamontagne (Pêches et Océans Canada) a révélé la présence de deux espèces de diatomées potentiellement productrices d'acide domoïque dans le Saint-Laurent : *Pseudo-nitzschia seriata* et *Pseudo-nitzschia delicatissima*. L'examen des données a mis en évidence une coïncidence entre l'apparition de l'acide domoïque dans certains mollusques des Îles-de-la-Madeleine et de la Côte-Nord et la présence de *P. seriata* alors que des floraisons massives de *P. delicatissima* (en l'absence de *P. seriata*) n'occasionnent pas de toxicité. Les analyses en laboratoire réalisées sur une souche de *P. seriata* isolée de l'estuaire du Saint-Laurent lors d'un épisode de toxicité ont montré sa capacité à produire de l'acide domoïque alors que toutes les tentatives faites en ce sens avec *P. delicatissima* isolé d'autres régions de l'est du Canada se sont avérées négatives jusqu'à maintenant. Ces résultats récents indiquent que les floraisons de *P. seriata* dans le Saint-Laurent et les intoxications des mollusques par l'acide domoïque qui en résultent représentent un risque potentiel qui devra être considéré dans l'avenir.

ABSTRACT

Couture J.Y., M. Levasseur, E. Bonneau, C. Desjardins, G. Sauvé, S.S. Bates, C. Léger, R. Gagnon et S. Michaud. 2001. Variations spatiales et temporelles des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques et des abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans le Saint-Laurent de 1998 à 2000. Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat. 2375 : vii + 25 p.

The presence of domoic acid (the toxin responsible for Amnesic Shellfish Poisoning—ASP) in shellfish has been monitored in the estuary and the northern Gulf of St. Lawrence since 1997 by the Canadian Food Inspection Agency (CFIA). The results indicate a spatial and temporal evolution of domoic acid contamination between 1998 and 2000. Trace amounts of this toxin

were first detected in the gonads of sea scallops from fishing areas offshore of the Îles-de-la-Madeleine in the summer of 1998. In 1999, the concentration of domoic acid in the digestive glands of sea scallops from the same area reached $585 \mu\text{g g}^{-1}$, whereas the adductor muscles were not contaminated. At the same time, concentrations of domoic acid close to $25 \mu\text{g g}^{-1}$ digestive gland were measured in sea scallops from the Havre-aux-Maisons lagoon while trace amounts were measured for the first time in soft-shell clams collected on the Lower North Shore of the Gulf of St. Lawrence. In 2000, the digestive glands of sea scallops from the Îles-de-la-Madeleine remained toxic and trace amounts of domoic acid were measured in shellfish all along the North Shore, from Tadoussac to Havre-Saint-Pierre. In addition to the CFIA data, the Harmful Algae Monitoring Program of the Maurice Lamontagne Institute (Fisheries and Oceans Canada) revealed the presence of two potentially domoic-acid-producing diatoms in the St. Lawrence: *Pseudo-nitzschia seriata* and *Pseudo-nitzschia delicatissima*. Analysis of data showed a link between domoic acid in some shellfish from the Îles-de-la-Madeleine and North Shore and the presence of *Pseudo-nitzschia seriata*. Dense blooms of *P. delicatissima* (with no *P. seriata*) did not cause toxicity. Laboratory analyses performed on a *P. seriata* strain isolated from the St. Lawrence estuary during a toxic event showed the ability of *P. seriata* to produce domoic acid whereas all attempts made with *P. delicatissima* from other regions of eastern Canada have so far been negative. These new results show that *P. seriata* blooms in the St. Lawrence and the resulting shellfish toxicity due to domoic acid represent a potential risk that needs to be considered in the future.

1. INTRODUCTION

Historiquement, l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent sont reconnus comme des régions significativement affectées par la toxine paralysante dû aux floraisons récurrentes du dinoflagellé *Alexandrium tamarense* (Prakash et al. 1973; Blasco et al. 1998). En août 1998, une première détection d'acide domoïque était signalée dans deux échantillons de gonades de pétoncles géants provenant des Îles-de-la-Madeleine. Lors des deux années subséquentes, plusieurs autres cas de détection d'acide domoïque avaient lieu principalement sur la rive nord de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent ainsi qu'aux Îles-de-la-Madeleine, modifiant ainsi le schéma habituel de toxicité des mollusques du Québec maritime.

L'acide domoïque (Figure 1a) est un acide aminé naturel, hydrosoluble et thermostable (Wright et al. 1989) produit par certaines algues rouges (Takemoto et Daigo 1958; Impellizzeri et al. 1975) ainsi que par certaines espèces d'algues unicellulaires de la classe des diatomées et du genre *Pseudo-nitzschia* (Buck et al. 1992; Bates et al. 1998). Cette phycotoxine a un effet similaire à l'acide aminé neurotoxique kainate (Figure 1b), les deux agissant comme compétiteurs du glutamate (Figure 1c), un neurotransmetteur du système nerveux central. Son mode d'action consiste en l'activation des récepteurs kainate de l'hippocampe, exerçant ainsi une action neuro-excitatrice pouvant conduire à des lésions cérébrales et même à la mort à forte dose (Debonnel et al. 1989; Quilliam et Wright 1989). L'intoxication humaine survient lors de la consommation de mollusques, eux-mêmes contaminés par l'ingestion de diatomées toxiques susceptibles de faire partie de leur régime alimentaire. Les victimes développent, dans les premières 24 heures, des symptômes gastro-intestinaux tels que nausées, vomissements, anorexie, diarrhée, crampes abdominales et saignements gastriques. Dans les cas plus sévères, des troubles neurologiques tels que confusion, perte de mémoire, désorientation et coma peuvent survenir d'où l'acronyme IAM pour « Intoxication Amnestique par les Mollusques » qui désigne ce type d'intoxication¹ (Perl et al. 1990; Todd 1993).

Le premier et le plus dramatique cas d'IAM s'est produit au Canada à l'automne 1987 alors que 107 personnes avaient été intoxiquées suite à la consommation de moules bleues de culture en provenance de Cardigan Bay, Île-du-Prince-Édouard (Bates et al. 1989). La diatomée *Nitzschia pungens* f. *multiseries*² était l'espèce responsable de l'intoxication (Bates et al. 1989). Aucun autre cas n'a été répertorié depuis au Canada. Toutefois, neuf autres espèces de *Pseudo-nitzschia* à travers le monde ont été reconnues comme productrices d'acide domoïque (Bates 2000), incluant: *P. pseudodelicatissima* (Martin et al. 1990) et *P. seriata* (Lundholm et al. 1994). Au Québec, les programmes actuels de monitoring des mollusques et des algues toxiques permettent de surveiller l'apparition des toxines et des algues présentes dans l'estuaire et une partie du golfe du Saint-Laurent. Dans ces régions, deux espèces de diatomées du genre *Pseudo-nitzschia* sont présentes et susceptibles de causer l'IAM: *P. delicatissima* et *P. seriata*. Toutefois, aucune d'entre elles n'avait pu être associée à la présence d'acide domoïque jusqu'à maintenant. Le but de cette étude était d'une part de constater l'étendue et l'évolution de la contamination³ par l'acide domoïque dans les mollusques du Québec et d'autre part d'établir une relation entre les abondances de

¹ L'acronyme anglais qui désigne ce type d'intoxication est ASP pour « Amnesic Shellfish Poisoning ».

² Cette espèce a été renommée *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle 1995). Cette espèce ainsi que l'espèce *P. pungens* n'ont jamais été observées aux onze stations de surveillance des algues toxiques de l'IML.

³ Le terme « contamination » signifie dans le rapport le fait d'obtenir des valeurs supérieures au seuil de détection de la méthode utilisée pour le dosage de l'acide domoïque dans les mollusques.

P. delicatissima et de *P. seriata* dans l'eau de mer et la toxicité des mollusques recueillis à des sites d'échantillonnage communs aux deux programmes de surveillance.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. ÉCHANTILLONNAGE DES MOLLUSQUES

Depuis 1984, l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA) a la responsabilité du programme de contrôle des phycotoxines marines dans les mollusques récoltés à des fins commerciales ou récréatives. La surveillance relative à l'acide domoïque a débuté de façon sporadique en 1997 et est devenue régulière en 1998. Le réseau des sites de cueillette retenus à cette fin couvre tout le Québec maritime. Sur la rive nord du fleuve Saint-Laurent, il s'étend de Tadoussac jusqu'à Natashquan sur la Basse Côte-Nord. Sur la rive sud, les sites s'étendent de Cacouna à Miguasha en faisant le tour de la péninsule gaspésienne. Plusieurs sites situés aux Îles-de-la-Madeleine font également partie de ce réseau qui compte près de soixante-quinze sites en tout dont une cinquantaine ont été retenus dans cette étude en raison de leur échantillonnage régulier entre 1998 et 2000 (Figure 2a). L'échantillonnage est habituellement hebdomadaire d'avril à novembre mais peut varier en fonction de l'accessibilité des sites et des ressources disponibles. En plus des inspecteurs mandatés par l'ACIA, la cueillette des mollusques fait appel à différents intervenants dont ceux de l'industrie de la pêche et de la mariculture. La mye commune (*Mya arenaria*), le couteau de mer (*Ensis directus*), les pétoncles géants (*Placopecten magellanicus* ou *Chlamys islandica*), la moule bleue (*Mytilus edulis*) et le buccin (*Buccinum undatum*) qu'ils soient sauvages ou de culture représentent les différentes espèces analysées. Pour chaque espèce, un minimum de 10 à 12 organismes sont prélevés afin d'obtenir les 150 g de tissu nécessaire aux analyses toxicologiques. Après la cueillette, les échantillons sont réfrigérés et expédiés dans des conditions permettant de les conserver vivants jusqu'à leur arrivée au laboratoire.

2.2. MESURE DE TOXICITÉ DES MOLLUSQUES

La méthode utilisée par l'ACIA pour le dosage de l'acide domoïque (AD) est une adaptation de la méthode décrite par Gilgan et al. (1990). Elle s'applique aux mollusques, crustacés ou poissons qu'ils soient vivants, transformés ou congelés. La méthode débute par une extraction au méthanol sur un homogénat de tissu à analyser. Cinq grammes d'homogénat sont dilués avec 5 mL d'eau purifiée. À ce mélange sont ajoutés 10 mL de méthanol et le tout est centrifugé. Une aliquote du surnageant est filtrée, diluée et analysée par chromatographie liquide haute performance à phase inversée avec détection UV. La concentration en toxine est déterminée à l'aide de standards certifiés provenant du Conseil national de recherche du Canada situé à Halifax (Nouvelle-Écosse). Le seuil de détection de cette méthode au moment des analyses était de $0.02 \mu\text{g AD g}^{-1}$ de tissu. Au Canada, la norme a été fixée à $20 \mu\text{g AD g}^{-1}$ de tissu (Gilgan et al. 1990). Par conséquent, lorsque la toxicité d'un mollusque est égale ou supérieure à $20 \mu\text{g AD g}^{-1}$ de tissu, le secteur coquillier est immédiatement fermé à la cueillette. Pour la réouverture du secteur, il est nécessaire d'obtenir trois résultats consécutifs inférieurs à la norme et décroissants sur une période de 15 jours après l'obtention du premier résultat inférieur à $20 \mu\text{g AD g}^{-1}$ de tissu. Le choix de l'espèce témoin est déterminé par l'ACIA en fonction de la situation.

2.3. ÉCHANTILLONNAGE DES ALGUES PHYTOPLANCTONIQUES

La Direction des Sciences Océaniques de l'Institut Maurice-Lamontagne (IML) a la responsabilité du programme de monitoring des algues toxiques pour le Québec depuis 1989. Le réseau d'échantillonnage mis en place est constitué de onze stations littorales qui couvrent l'ensemble du Québec maritime (Figure 2b). À chacune des stations, des échantillons de phytoplancton sont prélevés hebdomadairement, et ce, de la mi-mai à la fin octobre, par des contractants, des collaborateurs ou par des employés de l'IML. L'échantillonnage consiste en deux prélèvements distincts. Le premier est un échantillon d'eau de mer récolté en surface à l'aide d'un seau. L'eau est ensuite filtrée sur un maillage de 250 µm et un volume de 500 mL est préservé avec l'ajout de Lugol acide de concentration finale 1% (v/v). Le second prélèvement est effectué à l'aide d'un filet conique d'une longueur de 2 mètres installé sur un anneau métallique de 0.5 m de diamètre. Le filet fait de Nytex® (Tetko Inc. Briarcliff Manor, NY, USA) 20 µm et muni d'un godet capteur est remonté du fond vers la surface de manière à échantillonner toute la colonne d'eau. Un sous-échantillon de 20 mL est conservé par l'ajout de 1% (v/v) de Lugol acide pour l'obtention d'une représentativité phytoplanctonique de toute la colonne d'eau. Dans les deux cas le Lugol acide agit comme agent de conservation des cellules phytoplanctoniques.

2.4. IDENTIFICATION ET DÉNOMBREMENT DES ALGUES PHYTOPLANCTONIQUES

L'identification et le dénombrement des algues phytoplanctoniques s'effectue à partir du prélèvement de 500 mL d'eau de surface. Les échantillons de phytoplancton sont analysés selon la méthode Uthermöl (1931), au moyen d'un microscope optique inversé. Un sous-échantillon de 100 mL d'eau de mer traitée au Lugol acide est sédimenté pendant 48 heures directement dans des chambres de comptage de 5 mL. L'identification et le dénombrement des cellules s'effectue sur la moitié de la surface de la chambre en alternant les transects. Selon cette méthode, une cellule dénombrée par 2.5 cm² correspond à 20 cellules L⁻¹ (seuil de détection).

2.5. CHEVAUCHEMENT ENTRE LES DEUX PROGRAMMES DE MONITORAGE

Chaque programme de surveillance est réalisé de façon indépendante à des stations distinctes. Cependant, certaines stations sont considérées communes aux deux programmes en raison de leur proximité. C'est notamment le cas pour Tadoussac, Baie-Comeau, Sept-Îles, Natashquan, Penouille, Gascons, Carleton et la lagune de Havre-aux-Maisons (H-A-M) aux Îles-de-la-Madeleine (Tableau 1.; Figure 2a, 2b). Ce chevauchement de sites d'échantillonnage permet de relier les informations provenant de chacun des programmes. C'est ainsi que les données recueillies durant les années 1997 à 2000 ont été mises en parallèle à l'aide de tracés de l'évolution temporelle des concentrations d'acide domoïque dans les mollusques et les abondances de *Pseudo-nitzschia* spp. dans l'eau de mer. Toutefois, seules les stations d'échantillonnage de Baie-Comeau, Sept-Îles, Natashquan et de la lagune de H-A-M ont présenté des coïncidences intéressantes entre les valeurs de toxicité et les abondances de cellules mesurées. Ce sont les résultats obtenus à ces quatre stations qui seront discutés plus en détails dans la seconde partie de la section résultats. Dans le cas des autres stations, l'absence de toxicité ou l'obtention de valeurs de toxicité se situant en dehors de la plage d'échantillonnage des algues toxiques ne permettait pas d'établir de liens entre la toxicité et l'abondance des cellules.

2.6. CULTURES DE *P. SERIATA*, MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE ET ANALYSE DE L'ACIDE DOMOÏQUE

Une souche de *Pseudo-nitzschia seriata* a été isolée d'un échantillon récolté le 9 août 2000 à la station de monitoring de Mont-Joli (IML) et mise en culture à cet endroit dans un milieu f/2 (Guillard et Ryther 1992) à une température de 6°C et sous un éclairage constant de 50-75 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ produit par des ampoules fluorescentes «Cool-white». En février 2001, la culture de *P. seriata* a été expédiée au Centre des Pêches du Golfe situé à Moncton au Nouveau-Brunswick pour confirmer son identification en microscopie électronique à balayage et vérifier la capacité de cette souche à produire de l'acide domoïque.

En prévision de leur observation en microscopie électronique à balayage, les échantillons de *P. seriata* ont été préparés selon la méthode d'oxydation au permanganate de Hasle et Fryxell (1970). Les cellules nettoyées étaient montées sur des porte-échantillons d'aluminium, vaporisées avec 20 nm de poussière d'or et observées à l'aide d'un microscope à balayage JEOL JSM-5600 (courtoisie du Digital Microscopy Facility, Mount Allison University, Sackville, N-B).

La culture de *P. seriata* était âgée de 10 jours au moment de la réception, le 5 février 2001. Les cellules se trouvaient au début de la phase stationnaire de croissance et en piètre condition physiologique. Néanmoins, les analyses toxicologiques ont eu lieu le 8 février. Les cellules de la culture ont d'abord été lysées par sonification et par la suite filtrées à l'aide d'un filtre-seringue de porosité 0.20 μm (Advantec MFS Inc.) pour l'élimination des débris cellulaires. La concentration en acide domoïque a par la suite été déterminée dans le filtrat selon une méthode de dérivatisation précolonne avec du 9-fluorenylmethylchloroformate pour l'obtention de dérivés fluorenylméthoxycarbonyl (FMOC) suivi par une chromatographie liquide haute performance à phase inversée avec détection de fluorescence (Pocklington et al. 1990). Cette méthode d'analyse hautement sensible (limite de détection de 0.5 ng mL^{-1}) est différente de celle décrite dans la section 2.2. et permet des analyses toxicologiques à partir des cellules de *Pseudo-nitzschia* en culture ou dans l'eau de mer (Wright et Quilliam 1995).

3. RÉSULTATS

3.1. RÉPARTITION SPATIO-TEMPORELLE DE LA CONTAMINATION À L'ACIDE DOMOÏQUE

L'ensemble des résultats relatifs aux teneurs d'acide domoïque mesurées dans les mollusques du Québec au cours des années 1998 à 2000 indique une évolution dans l'étendue de la contamination. Afin de simplifier la présentation des données, les résultats relatifs à une année ont été présentés sur une même carte et seulement la concentration maximale détectée à un site de cueillette apparaît sur la carte (Figure 3a-c). En 1998, deux faibles concentrations d'acide domoïque étaient mesurées dans des gonades de pétoncles géants provenant du large des Îles-de-la-Madeleine (Figure 3a). En 1999, des concentrations élevées d'acide domoïque étaient mesurées dans les glandes digestives de pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine, jusqu'à

24.6 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans la lagune de H-A-M et jusqu'à 585 $\mu\text{g g}^{-1}$ au large (Levasseur *et al.* 2001)⁴. Des concentrations plus faibles, n'excédant pas les 6.0 $\mu\text{g g}^{-1}$, étaient enregistrées principalement dans des myes communes ainsi que dans un échantillon de moules bleues de la Basse Côte-Nord (Figure 3b). En 2000, des concentrations élevées d'acide domoïque étaient encore observées dans les glandes digestives de pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine, jusqu'à 4.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans la lagune de H-A-M et jusqu'à 265 $\mu\text{g g}^{-1}$ au large. Sur la Côte-Nord, la contamination s'est étendue à l'estuaire maritime résultant en multiples détections, pour la plupart de quantités traces (< 1.0 $\mu\text{g g}^{-1}$) d'acide domoïque (Figure 3c). Encore une fois les mesures ont été principalement réalisées dans des myes communes mais aussi dans quelques échantillons de moules bleues ou de couteaux de mer. En 2000, la Gaspésie enregistrait pour la première fois des traces d'acide domoïque dans les moules bleues de culture à Maria près de Carleton (Figure 3c). Concernant l'ensemble des résultats, la contamination des pétoncles géants du large des Îles-de-la-Madeleine retient l'attention en raison, d'une part, des teneurs élevées d'acide domoïque mesurées mais aussi en raison de la persistance de la toxicité pendant plusieurs mois (Figure 4). L'absence d'échantillonnage d'algues phytoplanctoniques dans les zones de pêche du large des Îles-de-la-Madeleine empêche cependant l'établissement d'un parallèle entre la présence d'algues toxiques et la toxicité mesurée comme c'est le cas pour les stations présentées dans la section 3.2.

3.2. ÉVOLUTION TEMPORELLE DE LA TOXICITÉ ET DES ABONDANCES CELLULAIRES À QUATRE STATIONS CÔTIÈRES

Sur les figures 5 à 8 présentées dans cette section, les points noirs situés sur l'axe des x signifient qu'une analyse a été effectuée mais que la valeur de toxicité ou d'abondance de cellules était en dessous du seuil de détection de la méthode d'analyse utilisée. Les segments sans points représentent des périodes sans échantillonnage.

3.2.1. STATION DE BAIE-COMEAU

Au site de Baie-Comeau, des concentrations d'acide domoïque ont été détectées à deux reprises dans des myes communes en août 2000 (Figure 5). Les deux concentrations mesurées, bien que faibles avec moins de 1.0 $\mu\text{g g}^{-1}$, étaient étroitement associées avec des abondances élevées de *P. delicatissima* (1 191 400 cellules L^{-1}) et de *P. seriata* (70 080 cellules L^{-1}). Toutefois, en août 1998, l'abondance de *P. delicatissima* avait atteint près de 700 000 cellules L^{-1} sans causer de toxicité dans les mollusques. Cette observation suggère que *P. delicatissima* ne serait pas toxique et que, par conséquent *P. seriata* serait à l'origine de la toxicité mesurée en août 2000. Toutefois, des abondances plus faibles de *P. seriata* (entre 1 000 et 5 000 cellules L^{-1}) enregistrées en 1998 et 1999 n'ont pas occasionné de toxicité dans les mollusques (Figure 5).

3.2.2. STATION DE SEPT-ÎLES

Au site de Sept-Îles, l'échantillonnage des mollusques était irrégulier sur l'ensemble des quatre années. L'acide domoïque a toutefois été détecté dans des myes communes en octobre 2000

⁴ Ce rapport présente des résultats de concentrations d'acide domoïque retrouvées dans des glandes digestives de pétoncles géants aux Îles-de-la-Madeleine pour l'année 1999. Toutefois, des données non-disponibles au moment de la préparation de ce rapport, font maintenant ressortir des concentrations maximales d'acide domoïque légèrement plus élevées dans les glandes digestives des pétoncles géants du large et de la lagune de H-A-M.

(Figure 6). Les faibles concentrations d'acide domoïque mesurées ont été précédées par des abondances relativement faibles de *P. delicatissima* (103 353 cellules L⁻¹) et de *P. seriata* (2 240 cellules L⁻¹). Il semble très peu probable que *P. delicatissima* soit en cause puisque lors de son importante floraison de près de 1 800 000 cellules L⁻¹ en août 1998 aucune détection d'acide domoïque n'avait eu lieu dans les semaines subséquentes. Selon les observations faites à Baie-Comeau, l'abondance de *P. seriata* à Sept-Îles ne semblait pas suffisante pour provoquer la toxicité mesurée. Il est possible que l'échantillonnage hebdomadaire n'ait pas permis d'enregistrer le maximum réel de *P. seriata* qui pourrait expliquer le signal de toxicité. En juillet et août 1997, des abondances de plus de 40 000 cellules L⁻¹ de *P. seriata* avaient été dénombrées mais malheureusement, dans ce cas comme dans celui de juillet 1999, aucune analyse de mollusques n'avait été effectuée simultanément à ces floraisons (Figure 6).

3.2.3. STATION DE NATASHQUAN

Au site de Natashquan, l'échantillonnage plutôt sporadique des mollusques a toutefois permis quelques observations intéressantes. La valeur de 0.89 µg AD g⁻¹ mesurée dans des myes communes le 10 juillet 1999 est bien synchronisée avec le maximum d'abondance de *P. seriata* de 14 000 cellules L⁻¹ survenue le 4 juillet (Figure 7). Les résultats montrent à nouveau que d'importantes abondances de *P. delicatissima* n'induisent pas de toxicité dans les myes communes les jours suivant les floraisons. C'est notamment le cas en juillet 1999 et en octobre 2000 où des concentrations respectives de 135 000 et de 212 000 cellules L⁻¹ ne se sont pas traduites par un signal de toxicité dans les myes analysées (Figure 7).

3.2.4. STATION DE LA LAGUNE DE HAVRE-AUX-MAISONS (H-A-M)

Au site de H-A-M, l'acide domoïque a été mesuré principalement dans les glandes digestives des pétoncles géants et en plus forte concentration par rapport aux trois sites précédents (Figure 8). À ce site, les résultats montrent deux séries temporelles de toxicité, en 1999 et 2000. La première série qui débute le 10 juillet 1999 est précédée par une abondance maximum de 11 500 cellules L⁻¹ de *P. seriata* un mois auparavant, soit le 8 juin. Au même moment, l'abondance de *P. delicatissima* était inférieure à 1 500 cellules L⁻¹. La seconde série qui débute le 1^{er} juillet 2000 est précédée par une abondance de *P. seriata* à 1 500 cellules L⁻¹ deux semaines auparavant alors que *P. delicatissima* n'apparaît dans l'eau qu'après la détection de l'acide domoïque. En 1999, il semble que l'écart entre l'augmentation de *P. seriata* dans l'eau et la première mesure de toxicité soit trop important pour les relier alors qu'en 2000, l'abondance de *P. seriata* semble trop faible pour expliquer la toxicité. Toutefois, une étude comparative entre la moule bleue (*Mytilus edulis*) et le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) réalisée en laboratoire par Wohlgeschaffen et al. (1992) a montré que l'efficacité⁵ d'accumulation de l'acide domoïque est plus élevée chez le pétoncle géant (5-100 %) que chez la moule bleue (1-5 %) signifiant qu'une plus grande fraction de l'acide domoïque ingéré est retenue dans les pétoncles comparativement aux moules. De plus, l'acide domoïque persiste davantage dans les glandes digestives de cet organisme rendant la détoxification des pétoncles géants plus lente (Wohlgeschaffen et al. 1992; Douglas et al. 1997). Ainsi, il est probable que pour une abondance similaire de cellules toxiques, le signal de toxicité soit plus important chez le pétoncle géant que chez la moule bleue ou la mye commune par exemple. Pour ces raisons il est concevable que la mesure de toxicité enregistrée le 10 juillet 1999

⁵ Efficacité = Accumulation observée en µg / Accumulation estimée en µg x 100

dans les pétoncles géants soit reliée à l'augmentation de l'abondance de *P. seriata* un mois auparavant (Figure 8). En 2000, l'échantillonnage plus régulier des pétoncles géants a procuré un patron de toxicité qui semble rendre compte d'une lente détoxification survenant après une réponse de toxicité consécutive à l'augmentation de *P. seriata* dans l'eau de mer (Figure 9). Le taux de détoxification varie en fonction du temps, de $0.166 \mu\text{g g}^{-1}\text{d}^{-1}$ ($\sim 0.007 \mu\text{g g}^{-1}\text{h}^{-1}$) au jour 1 à $0.016 \mu\text{g g}^{-1}\text{d}^{-1}$ ($\sim 0.0007 \mu\text{g g}^{-1}\text{h}^{-1}$) au 60^e jour. Pour une concentration initiale en acide domoïque similaire à notre cas, Whyte et al. (1995) avaient mesuré en laboratoire chez des moules (*Mytilus californianus*) des taux d'environ $0.41 \mu\text{g g}^{-1}\text{h}^{-1}$ au début de la détoxification et de $0.01 \mu\text{g g}^{-1}\text{h}^{-1}$ après 14 jours. Nos résultats, bien qu'obtenus en milieu naturel où l'apport d'acide domoïque n'est pas contrôlé, supportent l'idée que la détoxification des pétoncles géants est beaucoup plus lente que chez la moule bleue. Il semble que les résultats de contamination obtenus au site de H-A-M soient un reflet de moindre intensité de la situation qui prévaut au large des Îles-de-la-Madeleine.

3.3 MICROSCOPIE À BALAYAGE ÉLECTRONIQUE ET PRODUCTION D'ACIDE DOMOÏQUE

Les observations en microscopie électronique à balayage ont confirmé la présence de deux espèces de *Pseudo-nitzschia* dans le golfe du Saint-Laurent : *P. delicatissima* (Figure 10a, b) et *P. seriata* (Figure 10c-f). Les identifications sont basées sur les caractéristiques morphométriques des cellules (Tableau 2) en lien avec les données fournies par Hasle et Syvertsen (1996).

Une souche de *P. seriata*, isolée de la station de monitoring de l'IML, a produit un pic à un temps de rétention équivalent à celui de l'acide domoïque (Figure 11a). La concentration d'acide domoïque était de 10.8 ng mL^{-1} . L'abondance des cellules dans l'échantillon de culture étant de $13\,800 \text{ cellules mL}^{-1}$, la concentration cellulaire correspond à $0.8 \text{ pg AD cellule}^{-1}$. Pour confirmer la présence d'acide domoïque dans la culture, un échantillon de celle-ci a été enrichi de 19.0 ng mL^{-1} de standard d'acide domoïque. Il en est résulté une augmentation de la hauteur du pic, au même temps de rétention que celui précédemment obtenu, et la concentration totale était de 25.2 ng mL^{-1} (Figure 11b).

4. DISCUSSION

Les résultats font ressortir deux situations bien distinctes de contamination à l'acide domoïque, soit la contamination des myes communes de la Côte-Nord et celle des pétoncles géants aux Îles-de-la-Madeleine. Dans le cas des myes communes de la Côte-Nord, les valeurs de toxicité demeurent faibles et bien en-deça de la limite permise de $20 \mu\text{g AD g}^{-1}$. Il s'agit la plupart du temps de quantités traces. Dans le cas des pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine la situation est plus préoccupante en raison des fortes concentrations d'acide domoïque mesurées dans les glandes digestives. En juillet 1999, une alerte à la population avait été émise par le Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec pour aviser de ne pas consommer les pétoncles géants entiers mais de s'en tenir à la consommation du muscle adducteur qui n'est généralement pas contaminé. L'étude de Douglas et al. (1997) effectuée sur le pétoncle géant *Placopecten magellanicus* a montré que l'acide domoïque se concentre dans les tissus dans l'ordre décroissant suivant : glande digestive >> tissus mous restants >> muscle adducteur. Ainsi, même avec une concentration maximale de $3\,108 \mu\text{g AD g}^{-1}$, soit 150 fois la limite fixée par la réglementation, seules des quantités traces entre 0.7 et $1.5 \mu\text{g AD g}^{-1}$ avaient été observées en

même temps dans le muscle adducteur lors de cette étude. En milieu naturel, les résultats des mesures effectuées sur les pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine sont consistants avec les observations de cette étude. De sorte que même si la limite de 20 µg AD g⁻¹ a souvent été largement dépassée dans les glandes digestives des pétoncles géants en provenance du large, cette limite n'a jamais été atteinte dans les gonades alors que les muscles adducteurs n'étaient pas contaminés par l'acide domoïque. Concernant les pétoncles géants d'élevage de la lagune, la limite permise n'a été dépassée qu'à une seule reprise en 1999 dans les glandes digestives mais la toxine n'a pas été détectée dans les gonades ou les muscles. Ce schéma de toxicité impliquant surtout les myes communes sur la Côte-Nord et les pétoncles géants aux Îles-de-la-Madeleine résulte d'une plus grande emphase dans l'échantillonnage des myes communes par rapport aux autres espèces de mollusques et par une réponse différente du pétoncle géant face à l'acide domoïque, tel qu'expliqué dans la section précédente. Cependant, les détections occasionnelles faites dans les moules bleues ou les couteaux de mer un peu partout sur le territoire maritime dénotent que la contamination par l'acide domoïque n'est pas exclusive aux myes communes de la Côte-Nord ou aux pétoncles géants des Îles-de-la-Madeleine. Dans les lagunes des Îles-de-la-Madeleine, les pétoncles géants présentent des valeurs de toxicité relativement élevées et persistantes comparativement aux moules bleues et aux myes communes qui ne sont qu'occasionnellement contaminées par des quantités traces. Dans ce cas, des facteurs physiologiques encore indéterminés pourraient être à l'origine de cette différence interspécifique observée dans les lagunes. En laboratoire, moins de 10 % de l'acide domoïque ingéré par les moules bleues (*Mytilus edulis*) se retrouve dans les tissus (Wohlgeschaffen et al. 1992) alors qu'il s'agit de 50.9 % pour le pétoncle géant *Placopecten magellanicus* (Douglas et al. 1997). De plus, la rétention de la toxine dans les tissus est beaucoup plus marquée chez le pétoncle géant que chez la moule bleue bien que les raisons de cette différence soient inconnues (Wohlgeschaffen et al. 1992).

Les résultats obtenus à l'aide des tracés de l'évolution temporelle aux stations de Baie-Comeau, Sept-Îles, Natashquan et de Havre-aux-Maisons suggèrent fortement que *Pseudo-nitzschia seriata* serait l'espèce responsable de l'acide domoïque retrouvé dans les mollusques du Saint-Laurent. Comparativement à *P. delicatissima*, *P. seriata* est généralement peu abondant dans les échantillons du monitoring des algues toxiques. Toutefois, un signal de toxicité apparaît dans les mollusques lorsque les abondances de *P. seriata* augmentent substantiellement dans l'eau. D'autre part, à plusieurs occasions des abondances importantes de *P. delicatissima* ne se sont pas traduites par de la toxicité dans les mollusques, suggérant que les souches en présence n'étaient pas toxiques. Afin d'appuyer nos observations, il était nécessaire d'établir la capacité des souches de *P. seriata* et de *P. delicatissima* du Saint-Laurent à produire de l'acide domoïque. Une première tentative réalisée par Bates et al. (1989) sur une souche de *P. seriata* provenant de l'Île-du-Prince-Édouard avait échoué. Subséquemment, toutes les tentatives de mettre en culture des souches de *P. seriata* au Centre des Pêches du Golfe (MPO, Moncton) s'étaient avérées infructueuses. À l'été 2000, suite à la détection d'acide domoïque dans des myes communes à Baie-Comeau, une souche de *P. seriata* a été isolée d'un échantillon récolté à Mont-Joli pendant la même période et mise en culture avec succès. Les analyses en laboratoire, relatées ici, ont par la suite confirmé la capacité de cette souche de *P. seriata* à produire de l'acide domoïque (Figure 11), une première pour une souche isolée du Saint-Laurent, et même au Canada. La capacité de *P. seriata* à produire de l'acide domoïque avait déjà été établie par Lundholm et al. (1994) avec des souches du Danemark. Smith et al. (1990) avaient rapporté qu'une microalgue, nommée *Nitzschia actydropbila* (renommée par la suite *Pseudo-nitzschia delicatissima*), a été associée avec la production d'acide

domoïque. Toutefois, *P. delicatissima* n'a jamais été associé à des événements de toxicité (Skov et al. 1999). À plusieurs reprises des souches du sud de la Nouvelle-Écosse et de la baie de Fundy ont été mises en culture et testées en laboratoire mais aucune ne s'est avérée toxique, renforçant ainsi l'idée de l'innocuité des souches de *P. delicatissima*. La prochaine étape consistera à isoler et mettre en culture des souches de *P. delicatissima* en provenance de l'estuaire ou du golfe du Saint-Laurent afin de confirmer ou d'infirmer le caractère non toxique de cette espèce. Les résultats obtenus sont préliminaires et reposent sur une quantité limitée de données qui ne permettent pas de prédire le seuil critique d'abondance cellulaire de *P. seriata* nécessaire pour générer un signal de toxicité dans les mollusques. Néanmoins, les résultats permettent pour la première fois de mettre en lumière la causalité de *P. seriata* dans l'apparition d'un signal de toxicité à l'acide domoïque dans les mollusques du Saint-Laurent.

CONCLUSIONS

1. Le dosage de l'acide domoïque a révélé que plusieurs espèces de mollusques peuvent être affectées par cette phycotoxine qui se retrouve sur tout le territoire du Québec maritime.
2. Les concentrations mesurées dans les myes communes, les moules bleues et les couteaux de mer demeurent bien inférieures à la limite permise de 20 $\mu\text{g AD g}^{-1}$. Cette limite est largement dépassée dans les glandes digestives des pétoncles géants du large des Îles-de-la-Madeleine sans conséquences toutefois sur le muscle adducteur des pétoncles qui est la partie la plus consommée.
3. Les résultats ont montré une coïncidence entre l'augmentation de l'abondance de la diatomée *Pseudo-nitzschia seriata* dans l'eau de mer et l'apparition d'un signal de toxicité à l'acide domoïque alors que de fortes abondances de *P. delicatissima* n'induisaient pas de toxicité dans les mollusques.
4. Les analyses préliminaires en laboratoire ont confirmé la capacité d'une souche de *Pseudo-nitzschia seriata* du Saint-Laurent à produire de l'acide domoïque alors que cette démonstration n'a pu être faite encore pour les souches de *P. delicatissima*.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier les personnes suivantes qui ont contribué à la réalisation de cette étude :

- Pierre Arpin, Sylvie Beaumont, Richard Maltais et Éric Marceau qui ont préparé et analysé les échantillons de mollusques.
- Lyse Bérard-Therriault et Sylvie Lessard pour leur travail dans l'identification et le dénombrement des algues phytoplanctoniques.
- J. Ehrman (Digital Microscopy Facility, Mount Allison University, Sackville, N-B) pour la réalisation des micrographies électroniques à balayage.
- Suzanne Roy de l'Institut des Sciences de la Mer à Rimouski ainsi que Michel Giguère de l'Institut Maurice-Lamontagne à Mont-Joli pour la révision scientifique de ce rapport.

Tableau 1. Recoupement des sites de cueillette des mollusques et des stations de monitoring des algues toxiques selon les régions du Québec.

Région du Québec	Site de cueillette des mollusques de l'ACIA	Station d'échantillonnage des algues toxiques (IML)
Côte-Nord	Pointe Rouge	Tadoussac
Côte-Nord	Rivière Mistassini	Baie-Comeau
Côte-Nord	Baie des Forges	Sept-Îles
Côte-Nord	Îles Michon	Natashquan
Gaspésie	Estuaire de la rivière St-Jean	Penouille
Gaspésie	Baie de Port-Daniel	Gascons
Îles-de-la-Madeleine	Centre de la lagune de H-A-M	Lagune de H-A-M

Tableau 2. Données morphométriques pour les espèces de *Pseudo-nitzschia* isolées de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent. Les valeurs entre parenthèses proviennent de Hasle et Syvertsen (1996).

Caractéristiques	<i>P. delicatissima</i>	<i>P. seriata</i>
Longueur (μm)	41 - 56	91 - 147
	(40 - 76)	(91 - 160)
Largeur (μm)	1.6 - 2.2	4.1 - 6.6
	(2.0 - 2.0)	(5.5 - 8.0)
Stries /10 μm	38 - 40	15 - 19
	(36 - 40)	(14 - 18)
Fibules /10 μm	22 - 29	15 - 18
	(19 - 25)	(14 - 18)
Rangées d'aréoles	2	3 - 4
	(2)	(3 - 5)
Nodule central	présent	absent
	(présent)	(absent)

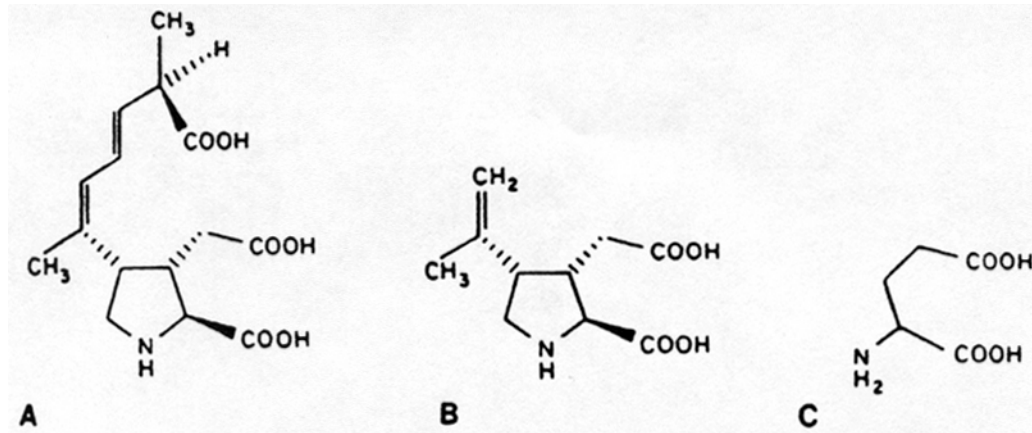


Figure 1. Représentation stéréochimique des composés : a) acide domoïque, b) kainate et c) glutamate (Tiré de Skov et al. 1999, avec l'autorisation des auteurs).

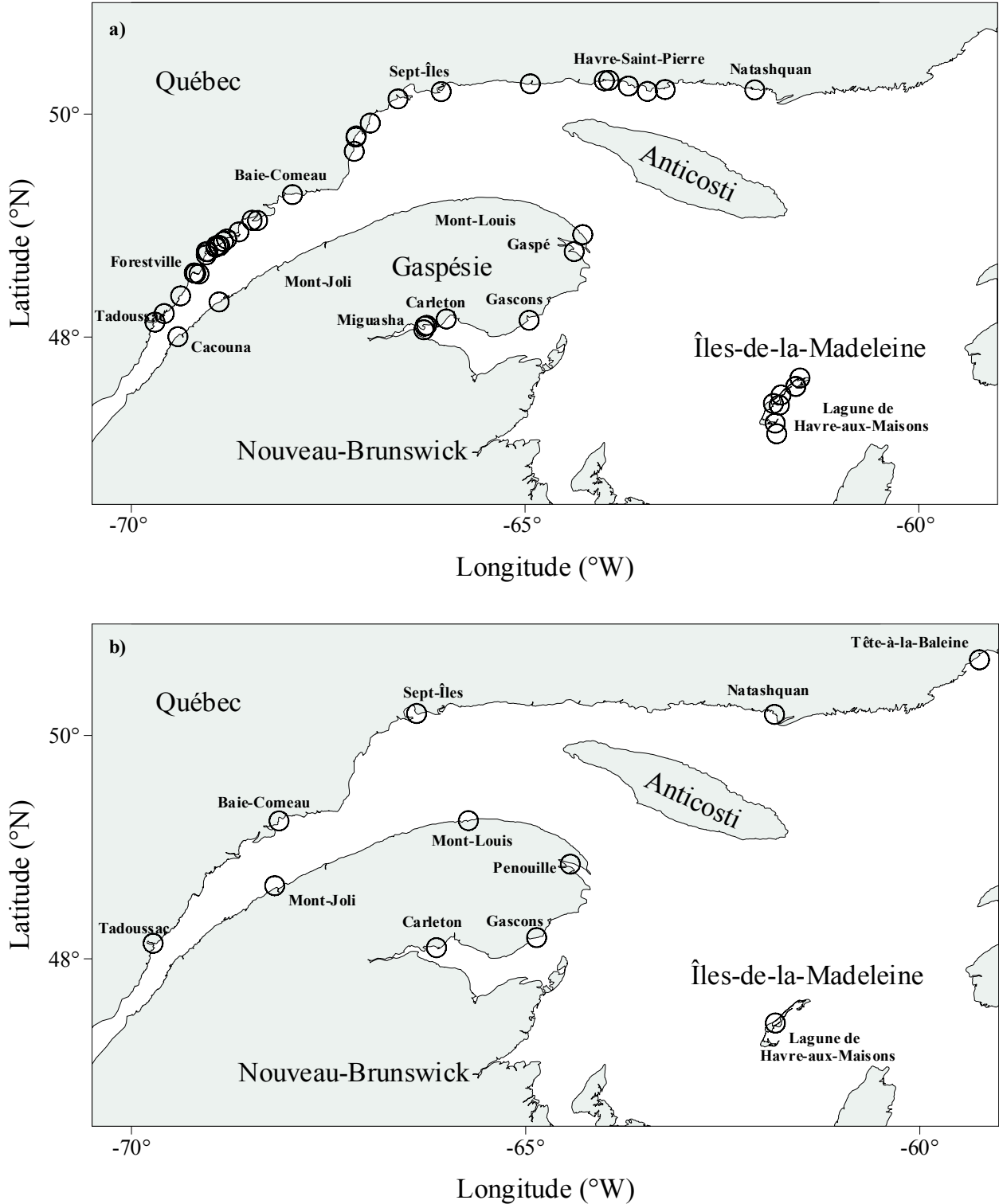


Figure 2. Position a) des sites de cueillette des mollusques de l'ACIA pour l'acide domoïque (seulement les sites échantillonnés sur une base régulière entre 1998 et 2000 sont représentés) et b) des stations de monitoring des algues toxiques de l'IML.

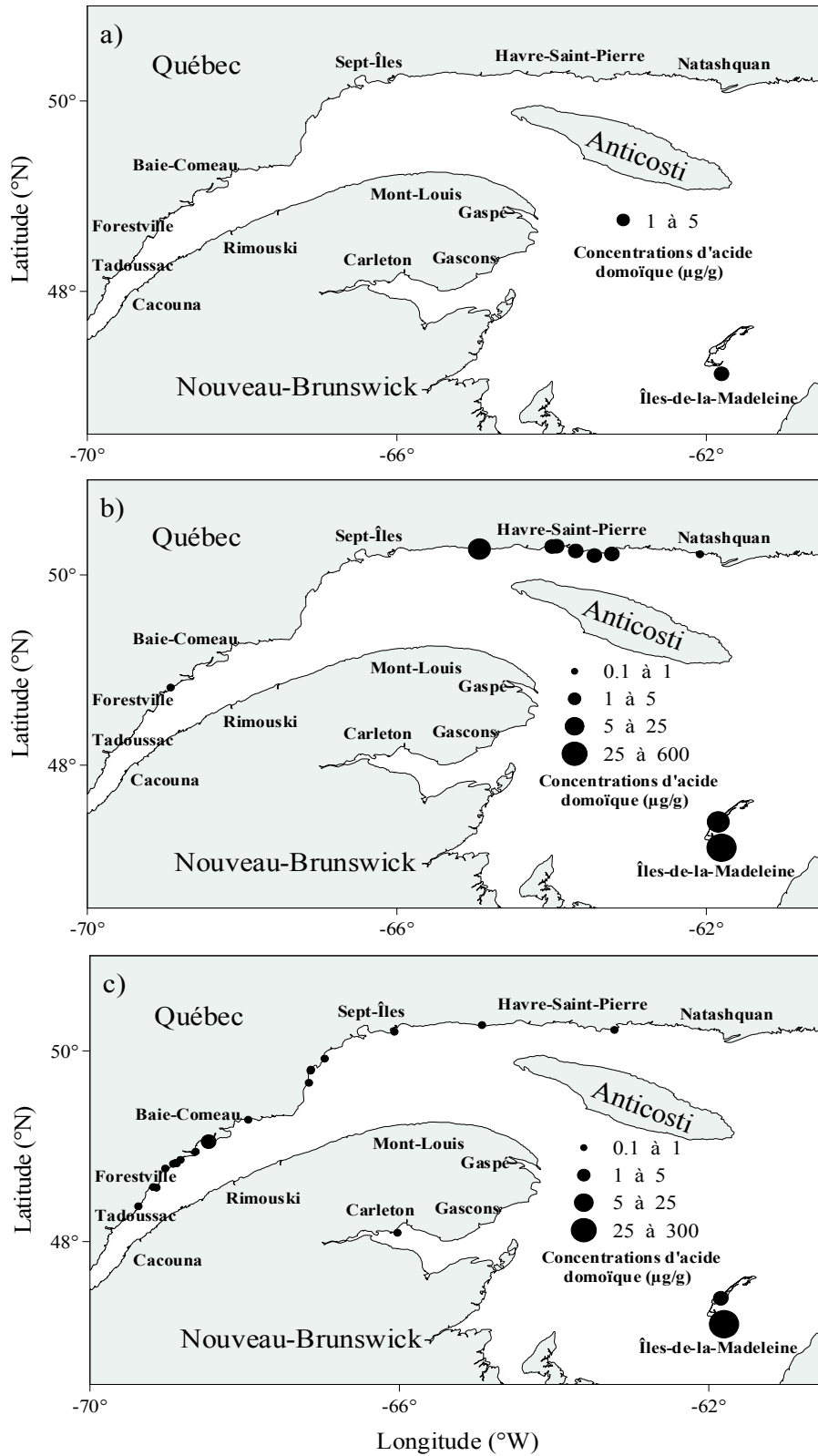


Figure 3. Évolution de la contamination par l'acide domoïque aux sites de cueillette des mollusques de l'ACIA au cours des années a) 1998, b) 1999 et c) 2000 (la concentration maximale seulement est représentée).

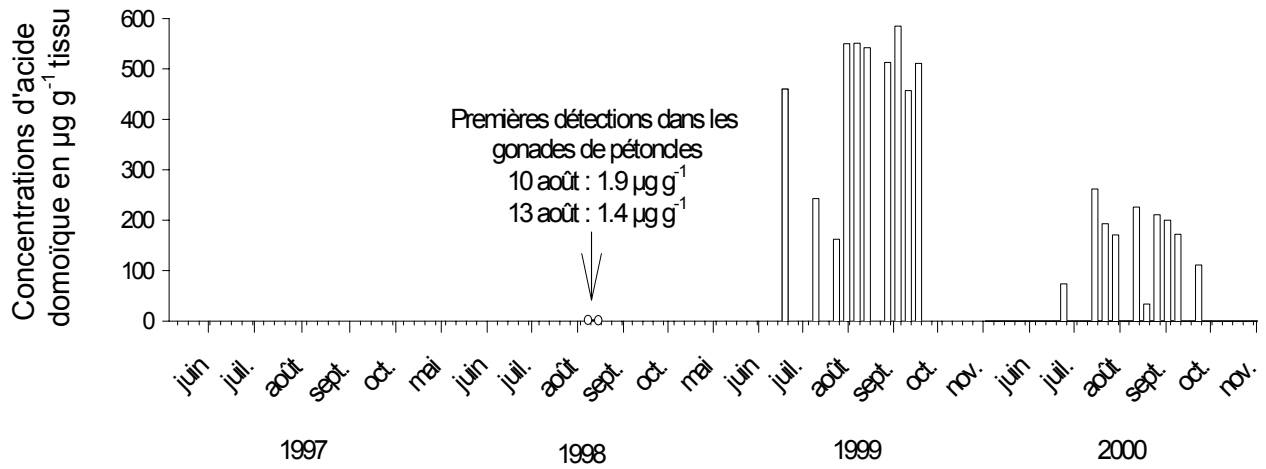


Figure 4. Évolution temporelle de la contamination par l'acide domoïque dans des glandes digestives de pétoncles géants en provenance du large des Îles-de-la-Madeleine entre juin 1997 et novembre 2000.

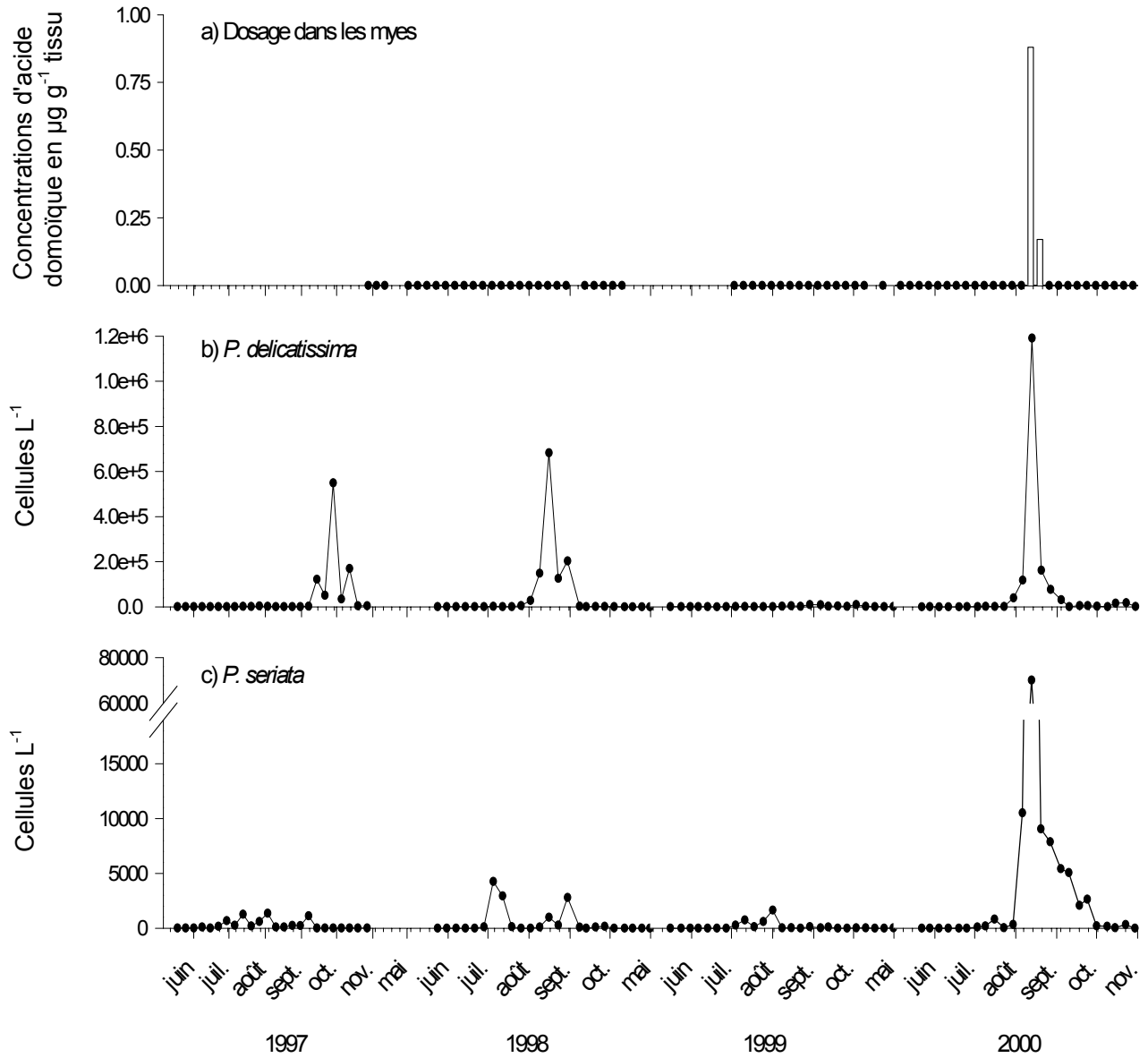


Figure 5. Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia delicatissima* et c) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia seriata* au site de Baie-Comeau entre juin 1997 et novembre 2000.

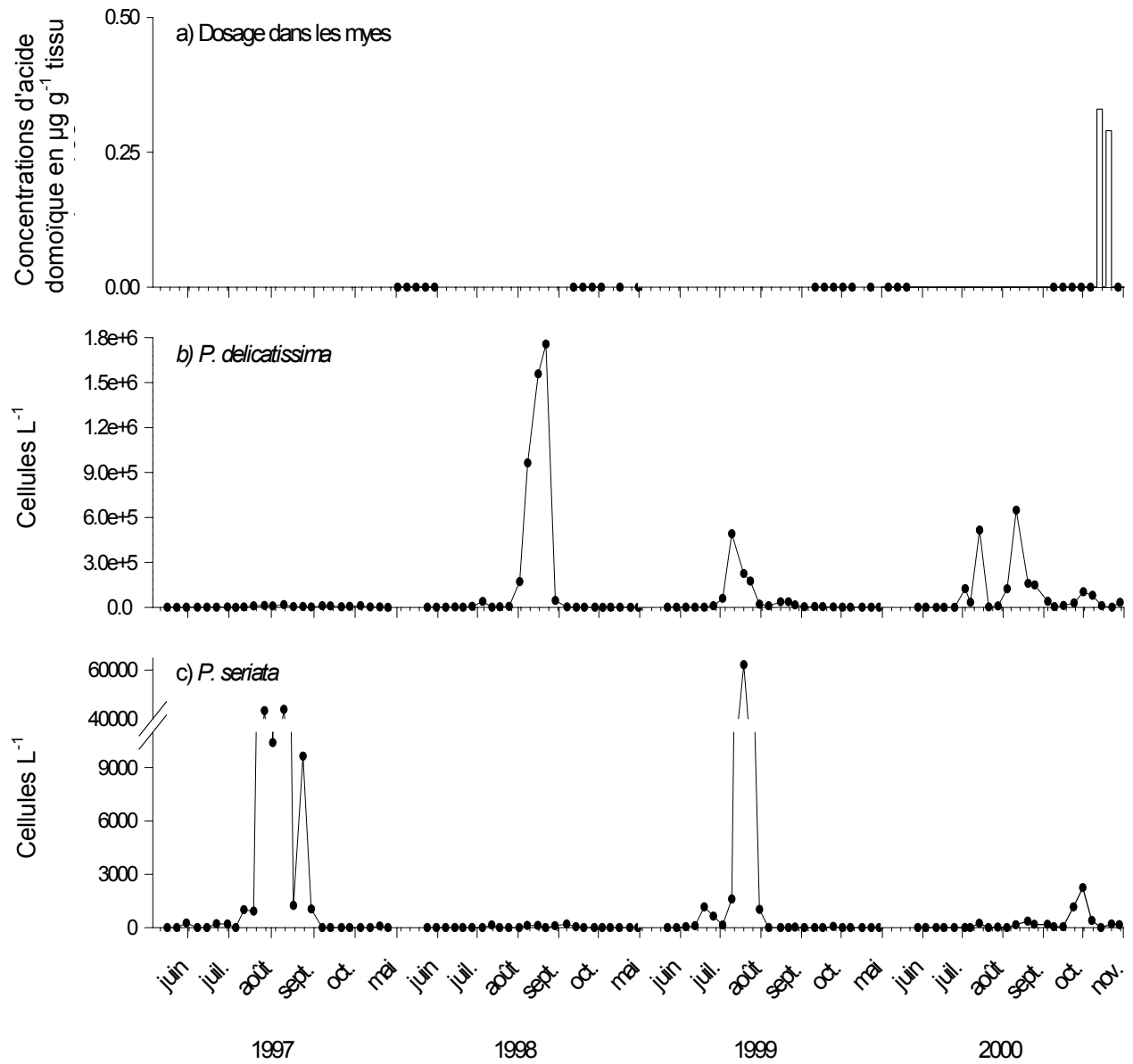


Figure 6. Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia delicatissima* et c) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia seriata* au site de Sept-Îles entre juin 1997 et novembre 2000.

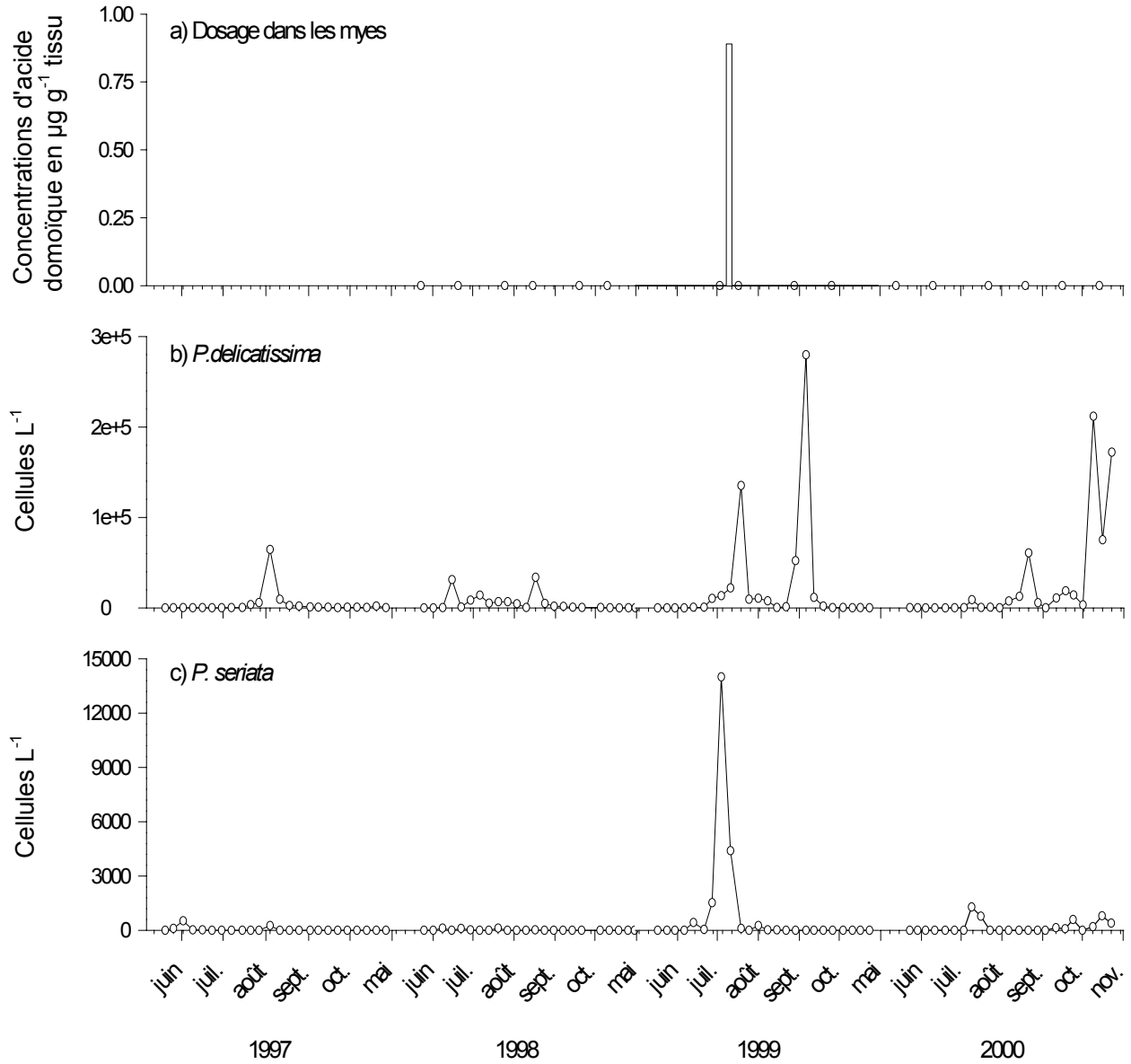


Figure 7. Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des myes communes, b) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia delicatissima* et c) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia seriata* au site de Natashquan entre juin 1997 et novembre 2000.

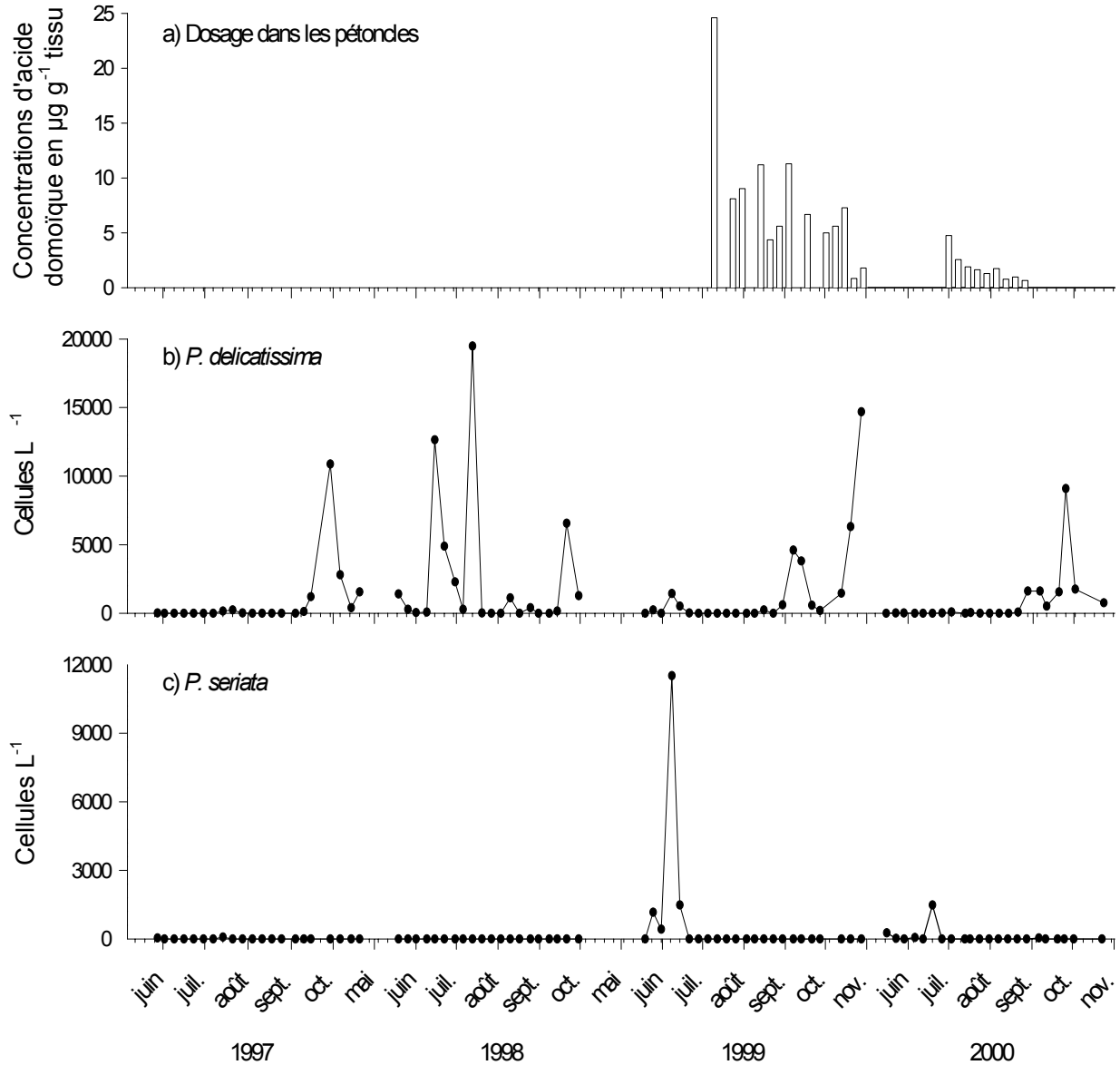


Figure 8. Évolution temporelle : a) des concentrations d'acide domoïque mesurées dans des glandes digestives de pétioncles géants, b) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia delicatissima* et c) de l'abondance de *Pseudo-nitzschia seriata* au site de la lagune de Havre-aux-Maisons aux Îles-de-la-Madeleine entre juin 1997 et novembre 2000.

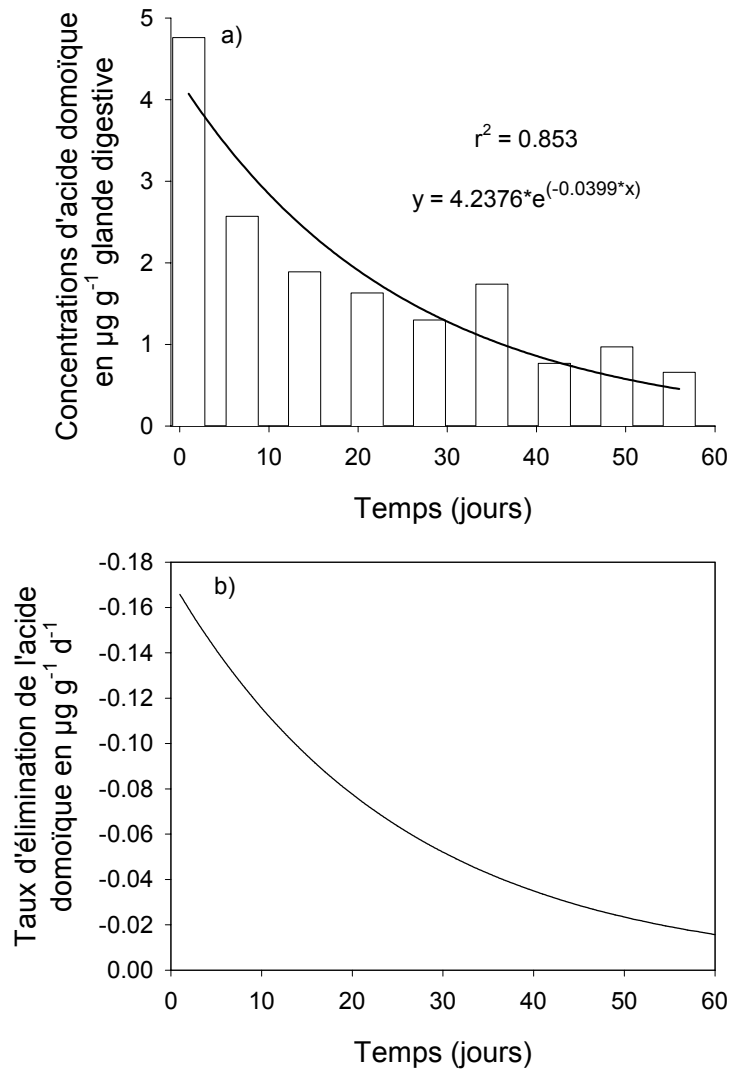


Figure 9. a) Patron d'élimination de l'acide domoïque dans des glandes digestives de pétoncles géants de la lagune de Havre-aux-Maisons aux Îles-de-la-Madeleine durant l'été 2000 (la courbe indique la relation entre les concentrations en acide domoïque et le temps) et b) évolution temporelle du taux d'élimination de l'acide domoïque dans les glandes digestives des pétoncles géants à partir des données présentées en a).

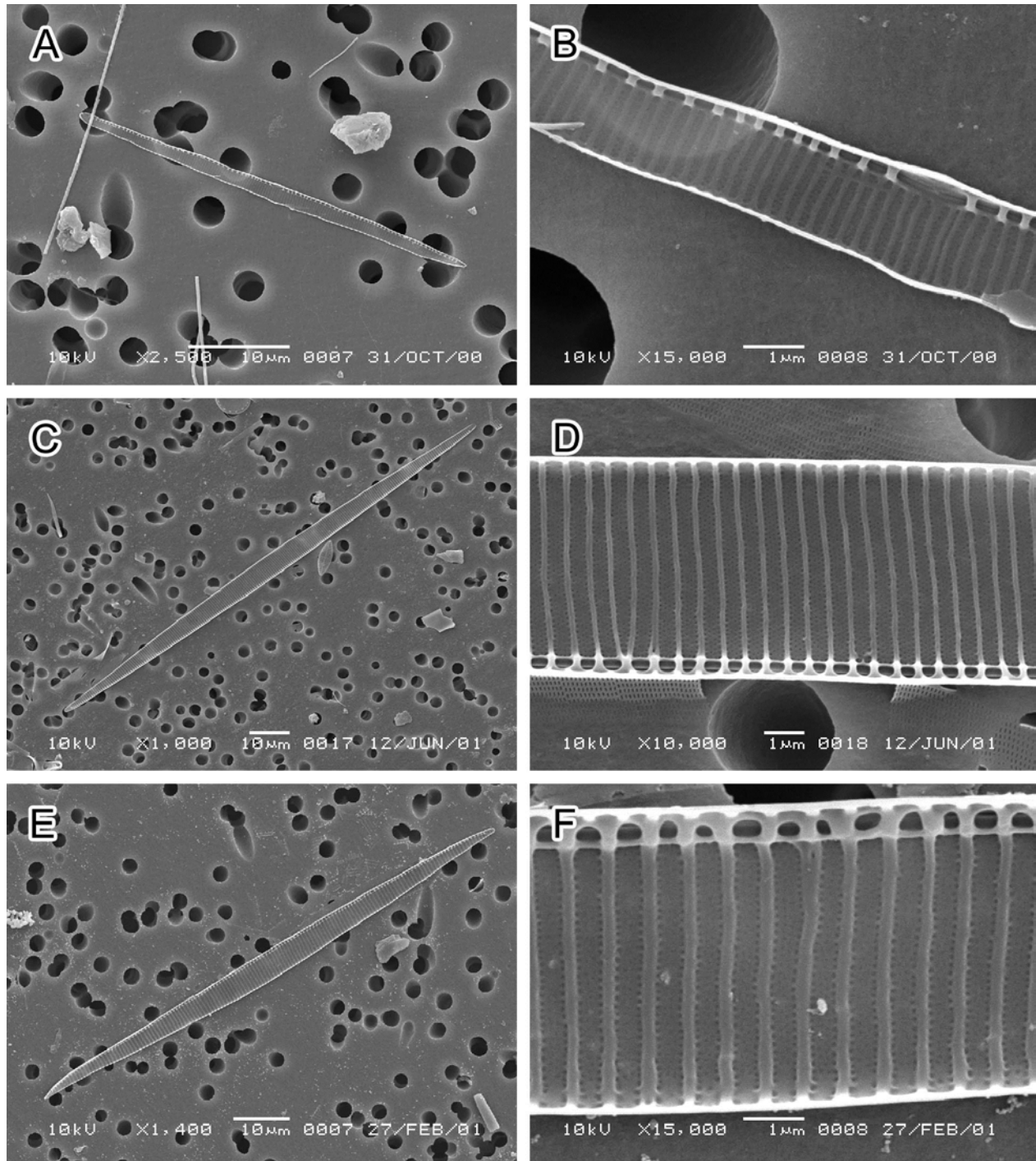


Figure 10. Micrographies électroniques à balayage des espèces de *Pseudo-nitzschia* isolées de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent : a, b) souche de *P. delicatissima* provenant de la station de Mont-Joli (IML); c, d) souche de *P. seriata* provenant de la station de Havre-aux-Maisons; e, f) souche de *P. seriata* provenant de la station de l'IML.

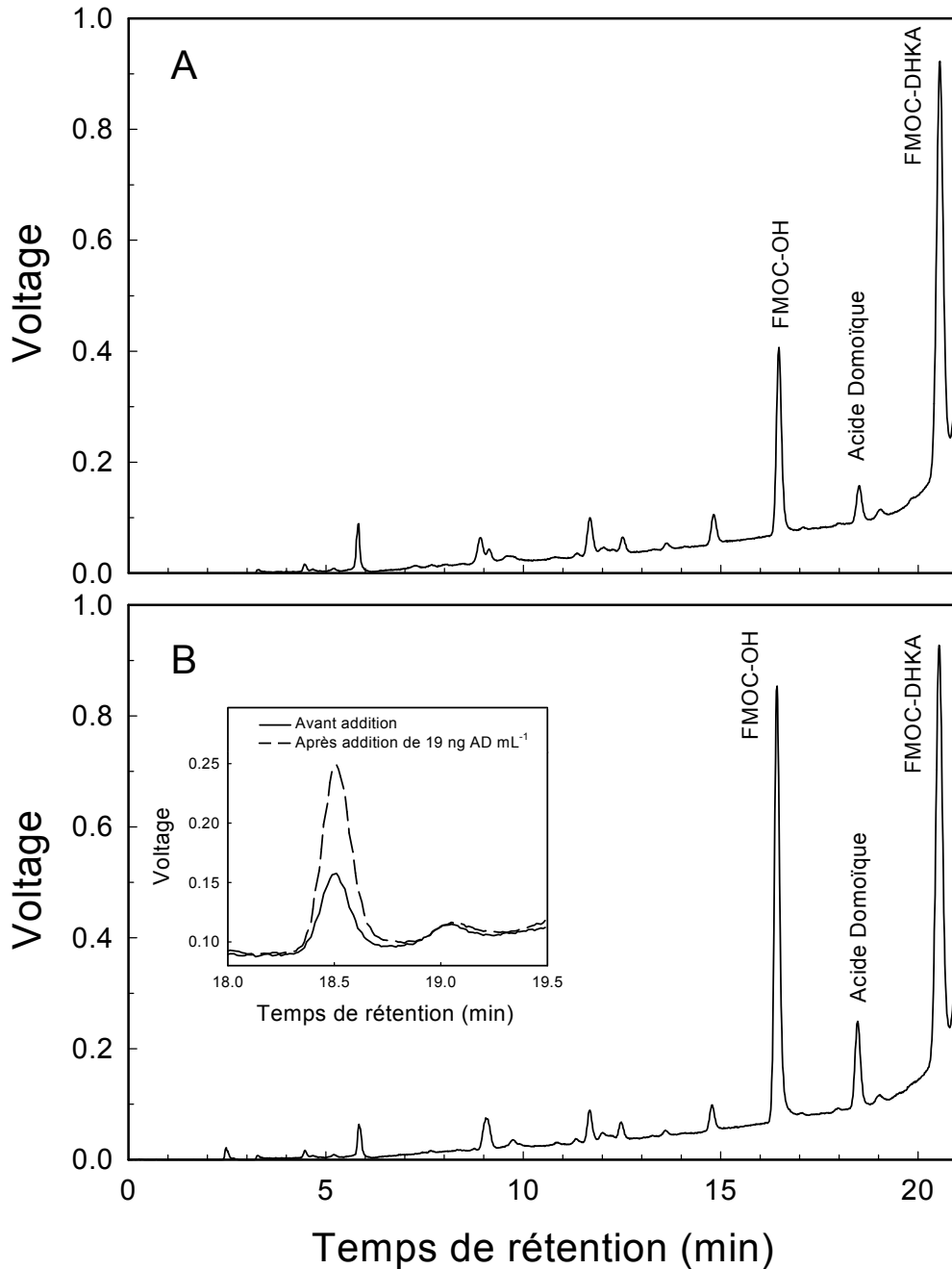



Figure 11. Chromatographie liquide à haute performance d'une culture de *Pseudo-nitzschia seriata* isolée de la station de monitoring de Mont-Joli (IML). Le pic FMOC-DHKA désigne le standard interne. Le pic FMOC-OH résulte d'une interaction entre l'excès de réactif FMOC avec l'eau, et peut être de hauteur variable pour chaque échantillon. a) échantillon avant l'enrichissement avec le standard d'acide domoïque et b) échantillon après addition de 19 ng AD mL⁻¹, résultant en une augmentation de la hauteur du pic de l'acide domoïque au même temps de rétention. En médaillon  détails du chromatogramme montrant le temps de rétention identique du pic original et du pic de l'échantillon enrichi en acide domoïque.

RÉFÉRENCES

- Bates, S.S. 2000. Domoic-acid-producing diatoms: another genus added! *J. Phycol.*, 36 : 978-983.
- Bates, S.S., C.J. Bird, A.S.W. de Freitas, R. Foxall, M.W. Gilgan, L.A. Hanic, G.E. Johnson, A.W. McCulloch, P. Odense, R.G. Pocklington, M.A. Quilliam, P.G. Sim, J.C. Smith, D.V. Subba Rao, E.C.D. Todd, J.A. Walter et J.L.C. Wright. 1989. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46 : 1203-1215.
- Bates, S.S., D.L. Garrison et R.A. Horner. 1998. Bloom dynamics and physiology of domoic-acid-producing *Pseudo-nitzschia* species. *In: Physiological ecology of harmful algal blooms. Éditeurs : D.M. Anderson, A.D. Cembella et G.M. Hallegraeff. Springer-Verlag, Heidelberg. pp. 267-292.*
- Blasco D., M. Levasseur, R. Gélinas, R. Larocque, A.D. Cembella, B. Huppertz et E. Bonneau. 1998. Monitoring of toxic phytoplankton and IPM toxins in mollusks from Saint-Laurent : 1989-1994. *Rapp. stat. can. hydrogr. sci. océan.* 151 : x + 117p.
- Buck, K.R., L. Uttal-Cooke, C.H. Pilskaln, D.L. Roelke, M.C. Villac, G.A. Fryxell, L. Cifuentes et F.P. Chavez. 1992. Autecology of *Pseudonitzschia australis* Frenguelli, a suspected domoic acid producer, from Monterey Bay, California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 84 : 293-302.
- Debonnel, G., L. Beauchesne et C. de Montigny. 1989. Domoic acid, the alleged mussel toxin, might produce its neurotoxic effect through kainate receptor activation: an electrophysiological study in the rat dorsal hippocampus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67 : 29-33.
- Douglas, D.J., E.R. Kenchington, C.J. Bird, R. Pocklington, B. Bradford et W. Silvert. 1997. Accumulation of domoic acid by the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) fed cultured cells of toxic *Pseudo-nitzschia multiseriis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54 : 907-913.
- Gilgan, M.W., B.G. Burns et G.J. Landry. 1990. Distribution and magnitude of domoic acid contamination of shellfish in Atlantic Canada during 1988. *In: Toxic marine phytoplankton. Éditeurs : E. Granéli, B. Sundstrom, L. Edler et D.M. Anderson. Elsevier, New-York. pp. 469-474.*
- Guillard, R.R.L. et J.H. Ryther H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, 8 : 229-239.
- Hasle, G.R. 1995. *Pseudo-nitzschia pungens* and *P. multiseriis* (Bacillariophyceae): nomenclatural history, morphology and distribution. *J. Phycol.*, 31 : 428-435.
- Hasle, G.R. et G.A. Fryxell. 1970. Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 89 : 466-474.

- Hasle, G.R. et E.E. Syvertsen. 1996. Marine diatoms, pp. 5-385. *In*: Identifying marine diatoms and dinoflagellates. Éditeur : C.R. Tomas. Academic Press, San Diego.
- Impellizzeri, G., S. Mangiafico, G. Oriente, M. Piattelli, S. Sciuto, E. Fattorusso, S. Magno, C. Santacroce et D. Sica. 1975. Constituents of red algae. I. Amino acids and low molecular-weight carbohydrates of some marine red algae. *Phytochem.*, 14 : 1549-1557.
- Levasseur, M., J.Y. Couture, G. Sauvé et S. Michaud. 2001. Contamination des mollusques du Québec par les phycotoxines diarrhéiques (DSP) et amnestiques (ASP) et recherche des sources potentielles de phycotoxines DSP. *Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat.* 2350 : x + 41p.
- Lundholm, N., J. Skov, R. Pocklington et O. Moestrup. 1994. Domoic acid, the toxic amino acid responsible for Amnesic Shellfish Poisoning, now in *Pseudonitzschia seriata* (Bacillariophyceae) in Europe. *Phycologia*, 33 : 457-478.
- Martin, J.L., K. Haya, L.E. Burrige et D.J. Wildish. 1990. *Nitzschia pseudodelicatissima* – a source of domoic acid in the Bay of Fundy, eastern Canada. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 67 : 177-182.
- Perl, T.M., L. Bédard, T. Kosatsky, J.C. Hockin, E.C.D. Todd et R.S. Remis. 1990. An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contaminated with domoic acid. *New Engl. J. Med.*, 322 : 1775-1780.
- Pocklington, R., J.E. Milley, S.S. Bates, J.C. Bird, A.S.W. de Freitas et M.A. Quilliam. 1990. Trace determination of domoic acid in seawater and phytoplankton by high-performance liquid chromatography of the fluorenylmethoxycarbonyl (FMOC) derivative. *Internat. J. Environ. Anal. Chem.*, 38 : 351-368.
- Prakash, A., J.C. Medcof et A.D. Tennant. 1973. L'intoxication paralysante par les mollusques dans l'est du Canada. *Bulletin de l'office de recherche sur les Pêcheries du Canada*, 177 : 88 p.
- Quilliam, M.A. et J.L.C. Wright. 1989. The amnesic shellfish poisoning mystery. *Anal. Chem.*, 61 : 1053A-1060A.
- Skov, J., N. Lundholm, O. Moestrup et J. Larsen. 1999. Potentially Toxic Phytoplankton, 4. The diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Diatomophyceae/Bacillariophyceae). ICES Identification Leaflets for Plankton no. 185. Éditeur : J.A. Lindley. Palaegade 2-4, DK-1261 Copenhagen, Denmark. pp. 1-23.
- Smith, J.C., P. Odense, R. Angus, S.S. Bates, C.J. Bird, P. Cormier, A.S.W. de Freitas, C. Léger, D. O'Neil, K. Pauley et J. Worms. 1990. Variation in domoic acid levels in *Nitzschia* species : implications for monitoring programs. *Bull. Aquacult. Assoc. Can.*, 90-4 : 27-31.
- Takemoto, T. et K. Daigo. 1958. Constituents of *Chondria armata*. *Chem. Pharm. Bull.*, 6 : 578-580.

- Todd, E.C.D. 1993. Domoic acid and amnesic shellfish poisoning – a review. *J. Food Protect.*, 56 : 69-83.
- Utermöhl, N. 1931. Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.*, 5 : 567-596.
- Wohlgeschaffen, G.D., K.H. Mann, D.V. Subba Rao et R. Pocklington. 1992. Dynamics of the phycotoxin domoic acid: accumulation and excretion in two commercially important bivalves. *J. Appl. Phycol.*, 4 : 297-310.
- Whyte, J.N.C., N.G. Ginther et L.D. Townsend. 1995. Accumulation and depuration of domoic acid by the mussel, *Mytilus californianus*. *In: Harmful marine algal blooms. Éditeurs : P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien et C. Marcaillou. Lavoisier, Paris. pp. 531-537.*
- Wright, J.L.C. et M.A. Quilliam. 1995. Methods for domoic acid, the amnesic shellfish poisons. *In: Manual on harmful marine microalgae. Éditeurs : G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson et A.D. Cembella. IOC Manuals and Guides no. 33. Unesco. pp. 113-133.*
- Wright, J.L.C., R.K. Boyd, A.S.W. de Freitas, M. Falk, R.A. Foxall, W.D. Jamieson, M.V. Laycock, A.W. McCulloch, A.G. McInnes, P. Odense, V.P. Pathak, M.A. Quilliam, M.A. Ragan, P.G. Sim, P. Thibault, J.A. Walter, M. Gilgan, D.J.A. Richard et D. Dewar. 1989. Identification of domoic acid, a neurotoxic amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Can. J. Chem.*, 67 : 481-490.