

***Les toxines
cyanobactériennes —
Les microcystines
dans
l'eau potable***

Documentation pour consultation publique

Préparé par le Sous-comité fédéral-provincial
sur l'eau potable

La période de réception des commentaires
se termine le 31 octobre 1998



Votre Santé et vous

LES ALGUES BLEUES (CYANOBACTÉRIES) et leurs toxines

Que sont les cyanobactéries?

Cyanobactéries est le nom scientifique que l'on donne aux algues bleues qui flottent à la surface des étangs. Les premières espèces identifiées étaient de couleur bleue, d'où les algues tiennent leur nom. Les espèces identifiées depuis sont de couleurs diverses, allant du vert olive au rouge.

Les cyanobactéries sont formées dans des eaux peu profondes, tièdes et calmes ou immobiles. Elles sont composées de *cellules*, qui peuvent contenir des poisons, les *toxines cyanobactériennes*. Une masse de cyanobactéries dans l'eau est appelée *fleur d'eau* ou parfois *prolifération*. Lorsque cette masse monte à la surface de l'eau, on l'appelle *écume bleue*. L'étendue des proliférations cyanobactériennes au Canada est inconnue, il est cependant établi qu'elles surviennent généralement pendant les mois d'été et sont répandues surtout dans les prairies.

Que sont les toxines cyanobactériennes?

Les *toxines cyanobactériennes* sont les poisons naturels qui sont emmagasinés dans les cellules de certaines espèces de cyanobactéries. Ces toxines peuvent être séparées en différentes catégories : certaines d'entre elles peuvent attaquer le foie (hépatotoxines) ou le système nerveux (neurotoxines) alors que d'autres ne font qu'irriter la peau. Ces toxines sont normalement libérées dans l'eau lors de la rupture ou de la mort des cellules. Très peu de

toxines cyanobactériennes ont été isolées et caractérisées à ce jour. On développe de meilleures méthodes de détection pour nous permettre d'en apprendre plus à leur sujet, notamment afin de déterminer lesquelles causent des problèmes au Canada et les conditions qui encouragent leur production.

Que sont les hépatotoxines?

Les *hépatotoxines* sont les toxines qui s'attaquent au foie. Les scientifiques de Santé Canada sont plus préoccupés par les hépatotoxines que par les neurotoxines, parce que les neurotoxines ne sont pas considérées être aussi répandues que les neurotoxines dans les approvisionnements d'eau.

On appelle la plupart des hépatotoxines produites et libérées par les cyanobactéries *microcystines*, parce que la première hépatotoxine a été isolée d'une cyanobactérie s'appelant *Microcystis aeruginosa*. Les microcystines sont les toxines cyanobactériennes que l'on retrouve le plus fréquemment dans l'eau, et ce sont aussi celles qui sont le plus souvent la cause d'empoisonnement chez les animaux et chez les humains qui entrent en contact avec des fleurs d'eau toxiques. Les microcystines sont extrêmement stables dans l'eau grâce à leur structure chimique qui leur permet de survivre

dans les eaux tièdes et froides et de tolérer des changements importants dans la composition chimique de l'eau, notamment le pH. Jusqu'à présent, les scientifiques ont trouvé environ 50 différentes sortes de microcystines. L'une d'entre elle, la microcystine-LR, semble être la microcystine que l'on retrouve le plus couramment dans les approvisionnements d'eau du monde entier. Pour cette raison, elle fait l'objet de la majorité de la recherche dans ce domaine.

La présence d'une prolifération cyanobactérienne indique-t-elle toujours que l'eau est contaminée?

Non. Les chercheurs sont généralement d'avis que de 30 à 50 p. cent des proliférations cyanobactériennes ne présentent aucun danger parce qu'elles ne renferment que des espèces non-toxiques de cyanobactéries d'eau douce. Les fleurs d'eau qui renferment ne serait-ce qu'une seule espèce de cyanobactérie toxique seront empoisonnées et potentiellement dangereuses. Parce qu'il n'y a pas de méthode évidente de savoir si une telle fleur d'eau est toxique, des échantillons doivent être analysés dans un laboratoire avant qu'une étendue d'eau puisse être déclarée sûre.

Pourquoi les fleurs d'eau apparaissent-elles parfois pendant la nuit?

Une prolifération cyanobactérienne pourrait être présente, même si on ne la voit pas flotter sur la surface de l'eau — elle pourrait être en suspension à différentes profondeurs dans l'eau, à l'abri des regards.

La profondeur à laquelle les fleurs d'eau flottent, et les raisons pour lesquelles elles ne sont pas visibles, dépendent de plusieurs facteurs. Les facteurs les plus importants sont la lumière et la présence de phosphore et d'azote, qui sont nécessaires à la survie de la cyanobactérie.

Puisque la disponibilité de ces éléments varie rapidement selon le moment de la journée et le climat, la plupart des cyanobactéries ont évolué de façon à contrôler leur flottabilité. Cette propriété leur permet de se déplacer vers l'endroit optimal pour les éléments nutritifs et la lumière.

Afin d'activer le mécanisme leur permettant de se déplacer, les cyanobactéries ont besoin de lumière. Les cellules recevant trop peu de lumière augmentent leur niveau de flottaison et remontent vers la surface, alors que les cellules qui reçoivent trop de lumière flottent moins bien et coulent. La nuit, en l'absence de lumière, les cellules ne peuvent pas ajuster leur flottabilité et flottent fréquemment à la surface de l'eau. Ces fleurs d'eau apparaissent donc pendant la nuit, et ne disparaissent que lorsque le vent et les vagues dispersent les cellules dans l'eau.

Ces proliférations cyanobactériennes sont-elles nouvelles?

Non. Le premier rapport fiable d'une prolifération cyanobactérienne date du douzième siècle; les effets nocifs des cyanobactéries sur le bétail sont reconnus depuis plus de cent ans. Puisque la formation de ces proliférations cyanobactériennes semble être liée à des étendues d'eau riche en éléments nutritifs (p.ex.: l'eau qui contient beaucoup de phosphates, provenant de détergents et de fertilisants au phosphate), le problème ne disparaîtra probablement pas dans un proche avenir.

Est-il probable que je consume de l'eau contaminée par des cyanobactéries?

Pas vraiment. Relativement peu d'empoisonnements ont été rapportés chez les humains. Il est plutôt rare que l'on consume de l'eau contaminée par des cyanobactéries à cause de leur aspect et de leur odeur (les

nouvelles fleurs d'eau sentent le gazon fraîchement coupé; les plus vieilles sentent les ordures en décomposition). Il peut toutefois arriver que des personnes consomment, à leur insu, de l'eau contenant des cyanobactéries toxiques libérées de fleurs d'eau qui sont mortes de façon naturelle. Il est également possible d'avaler de l'eau contaminée lors de la baignade.

Que devrais-je faire si j'entre en contact avec des toxines cyanobactériennes?

Si vous avalez de l'eau contaminée, vous pourriez ressentir des maux de tête, de la fièvre, de la diarrhée, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements. Si vous nagez dans de l'eau contaminée vous pourriez avoir les yeux et la peau qui piquent et qui sont irrités, ou d'autres réactions allergiques ressemblant à la fièvre des foins. Si vous soupçonnez avoir été en contact avec des toxines cyanobactériennes et présentez certains de ces symptômes, rincez votre peau et consultez un médecin immédiatement.

Les toxines cyanobactériennes peuvent-elles me tuer?

Même si beaucoup de personnes ont été malades à la suite d'une exposition à des toxines cyanobactériennes d'eau douce, la mort est une conséquence improbable, puisque les ressources hydriques sont généralement gérées efficacement pour contrôler le goût, l'odeur et d'autres problèmes liés aux algues. Il est cependant possible qu'une exposition prolongée à de faibles niveaux d'hépatotoxines cyanobactériennes puissent avoir des effets à long terme ou chroniques.

Devrais-je permettre à mes animaux domestiques ou d'élevage de consommer de l'eau contenant des proliférations cyanobactériennes?

Non. Les animaux pourraient devenir extrêmement malades et même en mourir. Le premier cas rapporté d'empoisonnement d'un animal par des cyanobactéries a eu lieu en Australie en 1878. Depuis ce temps, ce genre

d'empoisonnement est largement répandu, affectant un grand nombre d'espèces animales, tant sauvages que domestiques. Les animaux ne sont pas plus sensibles aux effets des toxines que les humains, ils sont simplement peu préoccupés par la qualité esthétique de l'eau qu'ils boivent.

La mort est généralement causée par des lésions au foie ou au système nerveux, selon l'espèce prédominante de toxine dans l'eau. Les traitements pour neutraliser les effets des toxines cyanobactériennes n'ont pas encore été étudiés à fond chez les animaux.

Que devrais-je faire si je soupçonne que de l'eau a été contaminée par des cyanobactéries toxiques?

Parce que toutes les proliférations cyanobactériennes sont potentiellement toxiques, il vaut mieux ne pas s'approcher de toute eau qui en contient jusqu'à ce que celle-ci ait fait l'objet d'essais et qu'elle soit déclarée sûre. Même après la disparition des fleurs d'eau, il vaut mieux attendre que les autorités responsables de la santé déclare que l'eau est sûre avant de la boire ou d'y nager. Par exemple, les résultats d'une étude dans laquelle une prolifération a été traitée avec un algicide indiquent qu'il a fallu plus de trois semaines pour que les toxines libérées par les cellules mortes des algues disparaissent.

Est-ce que je peut cuisiner avec de l'eau qui contient des algues bleues?

Non! Bouillir l'eau ne permet pas d'en éliminer les toxines.

Puis-je manger du poisson qui vient d'une source contaminée?

Non. Le poisson qui a été pêché dans de l'eau contenant des proliférations

cyanobactériennes ne devrait pas être consommé, parce que les toxines peuvent être concentrées dans la chair du poisson.

Puis-je utiliser l'eau contaminée pour laver?

Si une source d'eau sûre est disponible, il vaut mieux ne pas utiliser d'eau contaminée pour laver les vêtements ou la vaisselle. Si aucune autre source n'est disponible, alors utilisez des gants de caoutchouc pour éviter tout contact direct avec l'eau. Il faut éviter de prendre un bain ou une douche avec de l'eau contaminée, puisque tout contact avec les algues peut entraîner des irritations de la peau.

Comment les usines de traitement éliminent-elles les cyanobactéries?

La plupart des usines de traitement municipales ne cherchent pas à déceler les toxines cyanobactériennes dans les approvisionnements d'eau de façon régulière. Cependant, parce que les cyanobactéries ont des odeurs et des goûts importants, et parce qu'elles peuvent nuire à certains processus du traitement de l'eau, la plupart des municipalités qui ont déjà eu des problèmes de cyanobactéries effectuent une surveillance de leurs approvisionnements d'eau de surface.

Si la présence de cyanobactéries est décelée dans les approvisionnements d'eau, les usines de traitement peuvent les éliminer de plusieurs façons. Les usines de traitement conventionnelles peuvent éliminer les cellules cyanobactériennes par l'ajout de substances chimiques qui collent les cellules ensemble. Lorsque cela arrive, les cellules deviennent plus lourdes et coulent jusqu'au fond du réservoir; il est alors facile de les filtrer.

Cette méthode permet d'éliminer les cellules, mais pas les toxines cyanobactériennes potentiellement toxiques. Celles-ci peuvent être éliminées en utilisant des procédés d'oxydation ou du charbon activé. Il est nécessaire d'effectuer plus de recherche dans ce domaine.

En général, l'utilisation de substances chimiques (comme le sulfate de cuivre) ou toute autre méthode de traitement qui détruit les cellules et libère les toxines devrait être évitée.

La meilleure façon d'éviter les problèmes associés aux proliférations cyanobactériennes est d'éviter leur formation. Pour ce faire, il est possible soit de réduire l'ajout d'éléments nutritifs, comme le phosphate, dans la source d'eau, soit de mélanger l'eau dans le réservoir.

Les cyanobactéries sont-elles problématiques toute l'année?

Non. Il est peu probable que les approvisionnements d'eau canadiens contiennent des cyanobactéries pendant l'hiver; certaines hépatotoxines peuvent toutefois être restées dans l'eau.

Que fait Santé Canada pour assurer la sûreté de notre eau potable?

Santé Canada travaille en collaboration avec les provinces et les territoires afin d'élaborer des recommandations pour la qualité de l'eau potable. Ces recommandations sont fréquemment exprimées sous forme de concentrations maximales acceptables pour les substances que l'on retrouve dans les approvisionnements d'eau potable. La recommandation pour la microcystine-LR, la microcystine que l'on retrouve le plus souvent dans les approvisionnements d'eau potable, n'a pas encore été approuvée. La valeur proposée est de 0,0015 mg/L. Une fois la recommandation approuvée, certaines usines de traitement municipales pourraient devoir effectuer une surveillance des approvisionnements d'eau pour déceler la présence de microcystine-LR, surtout si la

source d'eau a tendance à avoir des fleurs d'eau. Les stratégies de surveillance varient d'une province à l'autre.

Cette recommandation ne vise pas l'eau utilisée à des fins récréatives. Afin d'assurer la sûreté publique, Santé Canada élabore une recommandation distincte pour la microcystine-LR dans l'eau utilisée à des fins récréatives.

Pour obtenir une copie de la recommandation proposée pour la microcystine-LR, ou pour en apprendre plus sur le programme sur la qualité de l'eau potable de Santé Canada, veuillez visiter notre site web, en français à l'adresse http://www.hc-sc.gc.ca/dataehd/Francais/dpc/eau_qualite.htm ou en anglais à l'adresse http://www.hc-sc.gc.ca/dataehd/English/bch/water_quality.htm.

le 24 mars 1998



Votre Santé et vous

anciennement nommé *Actualité*, fait partie d'une série de bulletins d'information produite par la Direction générale de la protection de la santé de Santé Canada à l'intention du grand public, des médias et des groupes qui s'intéressent à la protection de la santé au Canada.

Toute modification est interdite. Peut être reproduit sans autorisation.
Also available in English.

Pour des copies supplémentaires de *Votre santé et vous* communiquez avec :
For additional copies of **It's Your Health** contact:

Santé Canada/Health Canada
Publications
Ottawa (Ontario) K1A 0K9 Fax: (613) 941-5366

Les toxines cyanobactériennes — Les microcystines dans l'eau potable

Document pour consultation publique

Table des matières

Objectif de la consultation	8
Recommandation	9
Identité des toxines cyanobactériennes	9
Présence des cyanobactéries dans l'environnement	10
Facteurs physiques	10
Facteurs chimiques	11
Facteurs biologiques	12
Formation d'écume de surface	12
Production et persistance des toxines	12
Exposition aux microcystines	13
Méthodes d'analyse	14
Sélection	15
Identification	16
Séparation et quantification	16
Techniques de traitement et gestion	16
Prévention de la croissance d'algues	16
Surveillance des cyanobactéries et de leurs toxines	17
Techniques de traitement	18
Effets sur la santé	19
Effets sur les humains	19
Eaux utilisées à des fins récréatives	19
Eau potable	19
Effets sur les animaux	21
Cinétique et métabolisme	21
Toxicité aiguë	22
Toxicité à court terme et à long terme	23
Toxicité sur la reproduction et sur le développement	24
Promotion des tumeurs	25
Génotoxicité	26
Classification et évaluation	26
Justification	27
Références bibliographiques	28

Mai 1997
(révisé en février 1998)

Les toxines cyanobactériennes — Les microcystines

Objectif de la consultation

Les toxines cyanobactériennes sont des toxines produites par les cyanobactéries, ou algues bleues. Elles comprennent des neurotoxines et des hépatotoxines, qui sont produites par les cyanobactéries communément rencontrées dans les approvisionnements d'eau de surface. Toutefois, on estime que les neurotoxines ne sont pas aussi largement répandues que les hépatotoxines dans les approvisionnements d'eau et elles ne semblent pas présenter le même degré de risque de toxicité chronique. La plupart des hépatotoxines sont collectivement appelées microcystines. Les microcystines et autres toxines cyanobactériennes sont formées dans les cellules des cyanobactéries. Une masse de cyanobactéries est appelée fleur d'eau (tiré de l'anglais «bloom») et parfois prolifération.

Au cours des dernières années, le Sous-comité fédéral-provincial sur l'eau potable a procédé à l'évaluation de l'information disponible concernant les toxines cyanobactériennes en vue d'établir une recommandation pour les microcystines dans l'eau potable. L'objectif de cette consultation est de solliciter des commentaires quant à l'approche utilisée pour élaborer la recommandation proposée et aux coûts potentiels qu'engendrerait sa mise en place.

Lors de l'examen de ce document, vous devriez garder à l'esprit la question clé suivante : la recommandation devrait-elle s'appliquer à la microcystine-LR ou aux microcystines totales? Bien que la microcystine-LR soit la seule variante de microcystine pour laquelle il existe suffisamment d'information pour permettre d'établir une recommandation, elle n'est pas la seule microcystine à laquelle les Canadiens et Canadiennes sont exposés. Étant donné que plusieurs variantes de microcystine ont des potentiels toxiques similaires à celles de la microcystine-LR par la voie intrapéritonéale, le calcul d'une recommandation (plus protectrice) pour les microcystines totales peut être justifiable. Une alternative consisterait à établir deux recommandations différentes, à savoir une pour la microcystine-LR et une autre pour les microcystines totales.

D'autres questions importantes à prendre en considération sont les suivantes :

- Les données de surveillance de la qualité de l'eau reflètent-elles avec exactitude la situation actuelle au Canada? Existe-t-il d'autres données sur la qualité de l'eau?
- Existe-t-il d'autres méthodes d'analyse disponibles pour détecter chacune des variantes de microcystine ou les microcystines totales?
- L'information concernant les techniques de traitement disponibles pour éliminer les cyanobactéries et les toxines cyanobactériennes lors du processus de traitement de l'eau potable sont-elles exactes et complètes?
- L'évaluation du risque est-elle fondée? Existe-t-il d'autres études qui devraient être incluses dans le résumé d'évaluation?

- À quelle valeur la recommandation devrait-elle être fixée pour protéger convenablement la santé publique?

Le Sous-comité a demandé que ce document soit mis à la disposition du public et puisse être commenté. Les commentaires seront les bienvenus, accompagnés des justifications pertinentes si nécessaire. **Tous les commentaires doivent nous parvenir avant le 31 octobre 1998.**

Nous tenons à préciser que ce Résumé d'évaluation sur les microcystines dans l'eau potable sera révisé après évaluation des commentaires reçus et qu'une concentration maximale acceptable (CMA) pour la microcystine-LR (et peut-être pour les microcystines totales) dans l'eau potable sera établie. Ce document est une **ébauche**.

Recommandation

La recommandation proposée pour la microcystine-LR dans l'eau potable basée sur des critères de santé est de 0,0015 mg/L (1,5 µg/L).

Identité des toxines cyanobactériennes

Les toxines cyanobactériennes sont des toxines produites par les cyanobactéries, ou algues bleues. Elles comptent des neurotoxines (p.ex.: anatoxines), des hépatotoxines (p.ex.: microcystines), des irritants de la peau et d'autres toxines. Les hépatotoxines et les neurotoxines sont produites par des cyanobactéries communément retrouvées dans les approvisionnements d'eau potable et semblent donc présenter actuellement la plus grande pertinence pour les approvisionnements d'eau (Carmichael, 1992b, 1994; Fawell *et al.*, 1993). Cependant, on estime que les neurotoxines ne sont pas aussi largement répandues que les hépatotoxines dans les approvisionnements d'eau et elles ne semblent pas présenter le même degré de risque de toxicité chronique (Fawell *et al.*, 1993).

La plupart des hépatotoxines sont collectivement appelées microcystines, car la première hépatotoxine a été isolée de *Microcystis aeruginosa*. Environ 50 microcystines différentes ont été isolées et plusieurs d'entre elles peuvent être produites dans une même fleur d'eau. Sur le plan de la structure, les microcystines sont des heptapeptides monocycliques qui contiennent deux acides L-aminés variables et deux nouveaux acides D-aminés. Les microcystines sont nommées en fonction de leurs acides L-aminés variables (p. ex. la microcystine-LR contient de la leucine (L) et de l'arginine (R), tandis que la microcystine-YA contient de la tyrosine (Y) et de l'alanine (A) (Carmichael, 1992a)). Les deux nouveaux acides D-aminés présents dans les microcystines sont la N-méthyl-déhydroanaline (Mdha), qui s'hydrolyse en méthylamine, et un acide aminé unique non lié aux structures polaires qui est l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque, également connu sous le nom d'ADDA (Ressom *et al.*, 1994). L'élément clé de l'activité biologique semble être lié à la chaîne latérale de l'ADDA, car la division de la chaîne latérale de l'ADDA et du peptide cyclique rend les deux éléments non toxiques (Carmichael, 1992a,b; Ressom *et al.*, 1994). Les nodularines, premières hépatotoxines isolées de l'algue bleue *Nodularia*, sont des pentapeptides cycliques (Carmichael, 1994).

La microcystine-LR, produite comme métabolite secondaire par *Microcystis aeruginosa* et par d'autres espèces d'algues bleues, semble être la microcystine la plus

commune (Carmichael, 1992b). À ce jour, la majorité des travaux sur les microcystines ont été réalisés en utilisant cette variante car elle est rencontrée dans la plupart des pays qui ont signalé des épisodes de toxicité (Fawell *et al.*, 1993). La microcystine-LR a un poids moléculaire d'environ 1000 daltons. Sa toxicité ne semble pas être très différente de celle des autres microcystines (Carmichael, 1992a).

Présence des cyanobactéries dans l'environnement

Les cyanobactéries, ou algues bleues, doivent leur nom à la présence de pigments photosynthétiques. Les cyanobactéries d'eau douce sont présentes dans le monde entier. Leur classification et leur identification ont été récemment examinées (Skulberg *et al.*, 1993) et quelque 40 espèces toxigènes ont été identifiées. Les cyanobactéries d'eau douce peuvent s'accumuler dans les approvisionnements d'eau de surface sous forme de fleurs d'eau, parfois appelées « proliférations » et peuvent se concentrer à la surface sous forme d'« écume » bleue.

Les espèces de cyanobactéries rencontrées au Canada et qui sont souvent associées aux intoxications sont *Anabaena Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Oscillatoria* et *Nodularia* (Carmichael, 1992a). Les cultures de *Microcystis* toxiques ont été isolées pour la première fois dans la rivière Rideau à Ottawa dans les années cinquante par P.R. Gorham et ses collaborateurs au Conseil national de recherches. On a signalé un degré élevé de polymorphisme de *Microcystis aeruginosa*, avec une variabilité entre les espèces des hémisphères nord et sud (M. Watanabe, communication personnelle).

On a généralement constaté que 50 à 75 % des isolats de fleurs d'eau sont capables de produire des toxines, plus d'une toxine étant souvent présente. Plus de 70 % des 380 échantillons de biomasse de proliférations prélevées dans 19 lacs en Alberta entre 1990 et 1992 ont présenté des niveaux décelables de toxines (>1 µg de microcystine-LR par gramme de biomasse sèche) (Hrudey *et al.*, 1994). La toxicité globale d'une fleur d'eau peut être incertaine en raison des variations dans la concentration des toxines dans le temps et dans l'espace dans une masse d'eau présentant une fleur d'eau (Hrudey *et al.*, 1994).

Le développement des cyanobactéries et la formation de fleurs d'eau sont influencés par divers facteurs physiques, chimiques et biologiques; ces facteurs ont récemment été examinés par le NRA Toxic Algae Task Group (1990) et par Ransom *et al.* (1994) et ils sont présentés ci-dessous. En raison des effets combinés de ces facteurs, les niveaux de cyanobactéries et de leurs toxines peuvent subir de très grandes fluctuations d'une année à l'autre (Park *et al.*, 1993). Il existe également une variation saisonnière dans l'espèce qui prédomine.

Facteurs physiques

Lorsque la température de l'eau augmente au printemps, une succession naturelle de groupes d'algues allant des diatomées et d'algues vertes aux cyanobactéries survient. Les différentes espèces de cyanobactéries présentent des tolérances aux températures minimales différentes. Par exemple, *Microcystis* est moins tolérante aux températures plus froides que *Oscillatoria*. La durée de lumière du jour nécessaire pour optimiser la croissance dépend des espèces. Par exemple, *Microcystis* est mieux adaptée aux journées courtes qu'*Anabaena*. C'est probablement l'une des raisons pour lesquelles les espèces de *Microcystis* sont les espèces dominantes en

Amérique du Nord à la fin de l'été, lorsque les journées sont plus courtes. Certaines cyanobactéries peuvent tolérer des niveaux faibles de lumière et peuvent donc rivaliser avec les autres algues planctoniques de façon plus efficace pour la lumière disponible, principalement grâce à la présence de pigments photosynthétiques. Ces pigments permettent également la photosynthèse dans les eaux colorées.

En outre, certaines cyanobactéries, telles que *Microcystis aeruginosa*, peuvent optimiser leur position dans la colonne d'eau en fonction de la disponibilité de la lumière en régulant activement leur flottabilité. Cette caractéristique permet également aux cyanobactéries de migrer dans les gradients thermiques et d'utiliser les éléments nutritifs confinés dans la couche d'eau froide profonde. Le contrôle principal s'effectue par photosynthèse (par la production de carbohydrates) et diminue lorsque le niveau de dioxyde de carbone est trop faible. La flottabilité ne peut pas être contrôlée pendant la nuit.

Une turbidité accrue avantage les cyanobactéries par rapport aux autres algues. Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, les cyanobactéries peuvent utiliser un large spectre de lumière pour la photosynthèse et elles sont capables de migrer vers la surface afin de capter le maximum de lumière. Cependant, une très forte turbidité peut réduire la disponibilité du phosphate, ce qui limite leur croissance. D'autre part, les turbulences et les débits d'eau élevés ne favorisent pas la croissance des cyanobactéries, car ils interfèrent avec leur capacité à maintenir une certaine position dans la colonne d'eau.

Les pluies torrentielles peuvent accroître les ruissellements et les niveaux des éléments nutritifs dans l'eau, ce qui favorise la formation de fleurs d'eau.

Facteurs chimiques

Comme c'est le cas pour d'autres organismes photosynthétiques, la disponibilité des macroéléments, c'est-à-dire le phosphore et, dans une moindre mesure, l'azote, contrôle la croissance des cyanobactéries. En général, les cyanobactéries n'ont pas un besoin de phosphore aussi élevé que les autres phytoplanctons, mais elles le stockent de façon efficace. Étant donné que le phosphore adhère facilement aux surfaces réactives (organiques et inorganiques), une grande partie du phosphore dans un cours d'eau sera associé aux sédiments. Des niveaux anormalement élevés de phosphore dans les eaux indiquent des perturbations dans le bassin hydrographique. Les sources importantes de phosphore, ponctuelles et diffuses, comptent les eaux usées brutes et traitées, les détergents et les eaux de ruissellement urbaines et agricoles.

Le fer et le molybdène sont des microéléments particulièrement importants pour les cyanobactéries en raison de leur rôle direct dans la fixation de l'azote et la photosynthèse (fer) ainsi que la fixation de carbone et l'apport d'azote (molybdène).

Les cyanobactéries préfèrent les eaux à pH élevé qui présentent des concentrations élevées de bicarbonate et de carbonate. Ainsi, la consommation de dioxyde de carbone par les algues lors de la photosynthèse fait augmenter le pH et favorise la croissance des cyanobactéries. Le pH détermine également la spéciation chimique des éléments nutritifs et joue par conséquent un rôle important dans la détermination de leur biodisponibilité.

Facteurs biologiques

Le rôle des cyanobactéries dans les réseaux alimentaires aquatiques est très complexe. En général, les phytoplanctons sont consommés par les zooplanctons, qui sont à leur tour consommés par les poissons. Les cyanobactéries ne sont pas facilement digérées par les zooplanctons; leurs populations peuvent donc augmenter par rapport à d'autres algues plus digestes. Les macrophytes entrent en concurrence avec les cyanobactéries et les autres phytoplanctons pour les éléments nutritifs et la lumière et ils peuvent également supprimer les phytoplanctons en libérant des inhibiteurs. D'autres bactéries aquatiques peuvent également être en concurrence avec les cyanobactéries pour les éléments nutritifs et métaboliser leurs toxines.

Formation d'écume de surface

La formation d'écume de surface nécessite un changement soudain des conditions climatiques. Au début, il peut y avoir une forte pression atmosphérique et des vents faibles à modérés, accompagnés d'une circulation constante dans la masse d'eau dans laquelle une population importante de cyanobactéries peut s'être placée de façon optimale dans la colonne d'eau afin de tirer profit de ces conditions. Si le vent cesse et que la circulation s'arrête également, les cyanobactéries peuvent soudain présenter une « surflottabilité ». Si elles ne peuvent pas ajuster leur flottabilité assez rapidement ou si elles ne peuvent pas l'ajuster du tout (si c'est la nuit), elles flotteront alors à la surface et formeront une écume de surface. Les écumes se forment donc souvent au cours de la nuit. L'écume peut être emportée par le vent et se déposer en aval, sur des rivages abrités et des baies calmes, où les cyanobactéries peuvent finir par mourir et libérer leurs toxines.

Production et persistance des toxines

Les facteurs qui entraînent la production de toxines par les cyanobactéries sont mal connus. Les études de laboratoire démontrent que certains des facteurs environnementaux mentionnés ci-dessus, tels que la température, la lumière, les concentrations d'azote, la disponibilité du carbone (sous forme de bicarbonate, de carbonate et de dioxyde de carbone), les concentrations de phosphate et le pH, pourraient être importants. Étant donné que la production de toxines varie fortement entre différentes souches d'une même espèce, les différences d'ordre génétique et les processus métaboliques peuvent également jouer un rôle important dans la production de ces métabolites secondaires. Les études ont montré que la capacité à produire des toxines pouvait varier dans le temps et dans l'espace dans un site donné (Ressom *et al.*, 1994).

Les toxines cyanobactériennes tendent à être associées aux cellules cyanobactériennes et peuvent être liées à la membrane ou être présentes à l'état libre à l'intérieur des cellules. Dans les études de laboratoire, la libération de toxines survient principalement lorsque les cellules vieillissent, meurent et libèrent de façon passive leur contenu; les toxines peuvent parfois être libérées de façon active par de jeunes cellules en cours de croissance (examiné par le NRA Toxic Algae Task Group, 1990; Carmichael, 1992a).

Les microcystines sont relativement persistantes dans le milieu aquatique. Lors d'études réalisées en Australie, on a observé la présence de microcystine-LR pendant une période pouvant atteindre 21 jours après le traitement d'une fleur d'eau de

Microcystis Aeruginosa avec un algicide (Jones et Orr, 1994). Des études réalisées dans des eaux naturelles du Royaume-Uni ont indiqué que cinq jours étaient nécessaires à l'élimination de 50 % des toxines (J.K. Fawell, communication personnelle). La biodégradation et la photolyse sont des processus qui peuvent faire baisser de façon naturelle les concentrations de microcystine-LR libérée (Kenefick *et al.*, 1993; Tsuji *et al.*, 1994).

Les niveaux de microcystine-LR dans des lacs et des étangs artificiels de l'Alberta, mesurés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) munie d'un détecteur ultra-violet (UV) (selon la méthode de Harada *et al.*, 1988, légèrement modifiée par Kenefick *et al.*, 1992), sont allés de 4 à 605 µg/g de poids sec (p.s.) de biomasse (Kotak *et al.*, 1993b) ou ont atteints 1500 µg/g (Hrudey *et al.*, 1994). De même, les niveaux de microcystine-LR dans des fleurs d'eau naturelles de *Microcystis* au Japon entre 1989 et 1991 sont allés de 27 à 622 µg/g p.s. de biomasse (Park *et al.*, 1993). Dans les mêmes fleurs d'eau, les niveaux de microcystine-RR et de microcystine-YR ont respectivement varié entre 11 et 979 et entre 9 et 356 µg/g p.s. de biomasse, avec un niveau maximal total de microcystines de 1732 µg/g p.s. de biomasse (Park *et al.*, 1993).

Exposition aux microcystines

La principale voie d'exposition des humains aux toxines cyanobactériennes est la consommation d'eau potable. L'utilisation des lacs et des rivières à des fins récréatives (voies orale et cutanée) et, pour certaines personnes, la consommation de certains suppléments alimentaires à base d'algues (voie orale) constituent des voies d'exposition moins importantes. L'utilisation des douches constituerait une autre voie d'exposition mineure (inhalation). L'évolution des toxines cyanobactériennes dans la chaîne alimentaire (unionacés et poissons d'eau douce) n'a pas été beaucoup étudiée. La durée d'exposition est généralement plus courte dans les pays tels que le Canada (probablement <3 mois par an) que dans les pays où le climat est plus doux, tels que l'Australie.

L'absorption de la microcystine-LR par contact cutané est peu probable, car cette microcystine ne traverse pas facilement les membranes cellulaires (Eriksson *et al.*, 1990). La microcystine-LR est soluble dans l'eau et non volatile; l'inhalation et l'absorption par les poumons sont donc peu probables, à moins que la microcystine-LR ne soit présente sous forme d'aérosol aqueux dans l'air (Lambert *et al.*, 1994). Il n'est pas reconnu que la microcystine-LR soit présente dans les comprimés d'aliments de santé à base d'algues. La principale source d'exposition à la microcystine-LR est donc la consommation d'eau potable.

Les concentrations de microcystine dans la source d'eau brute de deux approvisionnements d'eau potable en Alberta (collectivités non spécifiées), telles que mesurées par l'essai biologique sensible d'inhibition de la phosphatase, ont varié entre 0,15 et 4,3 µg/L, avec un fort coefficient de variation (59 %) pour les fluctuations horaires sur une période de 11,5 heures; dans l'eau traitée, les concentrations ont varié de 0,09 à 0,64 µg/L, avec un faible coefficient de variation (10 %). Sur des périodes de cinq semaines, des coefficients de variation similaires ont été obtenus dans les deux types d'échantillons (Hrudey *et al.*, 1994).

Au cours de l'été de 1993, la microcystine-LR a été détectée (limite de détection de 0,05 µg/L) dans des échantillons d'eau prélevés dans le lac Shoal, au Manitoba, et dans le réseau de distribution après identification d'une fleur d'eau de *Microcystis aeruginosa* dans le Deacon Reservoir, la principale installation de stockage à Winnipeg de l'eau provenant du lac Shoal (Jones, 1996). En 1995, 160 approvisionnements d'eau de surface, situés principalement au sud-ouest du Manitoba, ont été sélectionnés pour une étude sur les algues. La microcystine-LR a été détectée (limite de détection de 0,1 µg/L) dans 70 % des approvisionnements d'eau brute, dans 93 % des approvisionnements d'eau municipale, dans 57 % des étangs artificiels utilisés à des fins domestiques et pour la consommation d'eau partagée entre les besoins domestiques et les besoins liés à l'élevage des animaux, dans 84 % des étangs artificiels utilisés exclusivement pour les animaux d'élevage et dans 44 % des sites utilisés à des fins récréatives. Les échantillons d'eau traitée ont été analysés uniquement si l'eau brute présentait des niveaux détectables de toxines. La toxine était présente dans 68 % des échantillons d'eau traitée prélevés dans les sites municipaux et dans les sites desservis par des étangs artificiels. Il apparaît donc que les méthodes conventionnelles de traitement de l'eau peuvent n'éliminer les toxines que partiellement. Les concentrations de toxines ont varié entre <0,1 et 1,0 µg/L dans les échantillons d'eau brute et entre <0,1 et 0,6 µg/L dans les échantillons d'eau traitée. Les étangs artificiels largement utilisés pour la consommation des animaux d'élevage ont présenté les niveaux de toxine les plus élevés. Des échantillons multiples prélevés directement dans les fleurs d'eau dans deux sites d'élevage différents ont présenté des concentrations de toxines atteignant 1,5–8,0 µg/L.

Il est manifeste que des concentrations de microcystine-LR supérieures à 0,5 µg/L surviennent de temps en temps dans les provinces où les mesures ont été réalisées. Il est probable que les microcystines soient également présentes dans les approvisionnements d'eau de surface d'autres provinces canadiennes, mais on ne dispose d'aucune donnée de surveillance. Au Canada, d'après les données présentées ci-dessus, la concentration maximale de microcystines totales dans l'eau potable est probablement inférieure à 1 µg/L avec un traitement approprié. Les concentrations moyennes seraient probablement très inférieures à cette valeur.

Méthodes d'analyse

L'analyse des microcystines dans l'eau potable est un domaine de recherche nouveau et il existe peu de méthodes généralement acceptées disponibles (pour un bref compte rendu, voir Ransom *et al.*, 1994). Pour plusieurs méthodes, des essais de collaboration interlaboratoires sont nécessaires.

Lors de la comparaison des diverses méthodes d'analyse utilisées pour la microcystine-LR et pour d'autres microcystines et leurs limites de détection, il peut être utile de distinguer les méthodes *de sélection* (telles que l'essai biologique sur la souris, la technique de titrage avec immuno-adsorbant lié à une enzyme (ÉLISA) et l'essai biologique avec la phosphatase, qui sont effectués avant purification et qui indiquent la présence de toxines dans les échantillons) des méthodes qui sont réalisées pour l'*identification* et la *quantification* des diverses microcystines (Harada, 1994). Souvent, plusieurs toxines peuvent être présentes dans un échantillon. Les utilisateurs des méthodes d'analyse sont d'accord sur le fait qu'une seule méthode ne suffit pas. La

meilleure approche pour la surveillance consiste à utiliser une combinaison de méthodes de *sélection* et de méthodes chimiques spécifiques plus sophistiquées et coûteuses.

Il est important qu'une de ces méthodes détermine les microcystines *totales*, qui comptent les microcystines existant à l'état libre dans l'eau et les microcystines liées aux cellules cyanobactériennes ou se trouvant à l'intérieur de ces cellules et qui comprennent toutes les variantes de microcystine, pas seulement la microcystine-LR. La préparation de l'échantillon peut donc nécessiter une sonification (pour dégrader les cellules) et diverses procédures d'extraction afin d'isoler les différentes (c.-à-d. plus lipophiles ou polaires) microcystines. Jusqu'à présent, les études publiées sur les concentrations de microcystines dans les approvisionnements d'eau n'ont généralement pas indiqué clairement si les microcystines totales ou les microcystines libres avaient été mesurées. Il est également important que des échantillons soient prélevés à un site après traitement.

Les étalons purifiés de microcystines ne sont pas disponibles sur le marché, à l'exception de la microcystine-LR.

Sélection

L'essai biologique sur la souris joue encore un rôle important en tant que méthode de sélection, car il indique le potentiel toxique total de l'échantillon en l'espace de quelques heures et il est possible de distinguer les hépatotoxines des neurotoxines (Carmichael, 1992b).

Pour la sélection, beaucoup de chercheurs scientifiques préfèrent l'essai biologique avec des protéines phosphatases. Cette méthode est sensible aux niveaux de microcystines de moins d'un nanogramme (Holmes, 1991; Boland *et al.*, 1993; Lambert *et al.*, 1994) et peut être utilisée sur des échantillons de 30 µL. Elle permet d'analyser 100 échantillons en un jour (K. Harada, communication personnelle). Cependant, cette méthode n'est pas propre aux microcystines et indiquera la présence d'autres substances inhibitrices des protéines phosphatases. Cela ne constituera toutefois pas un problème lorsqu'on effectue la surveillance d'une zone où les espèces potentiellement présentes et leurs toxines sont connues. Utilisée conjointement avec la CLHP, la méthode est utile pour identifier les fractions toxiques. Une adaptation colorimétrique est également utilisée (An et Carmichael, 1994).

Une méthode ÉLISA publiée, utilisant les anticorps polyclonaux, existe (Chu *et al.*, 1990), sa limite de détection étant de 0,2 ng/mL. Cette méthode n'est pas encore disponible sur le marché. Il est probable que les méthodes qui utilisent les anticorps monoclonaux ou polyclonaux destinées à analyser une seule toxine (p. ex. la microcystine-LR) présentent des problèmes de réactivité croisée avec les autres microcystines. En utilisant la méthode de Chu *et al.* (1990), W.W. Carmichael (communication personnelle) a constaté que la plupart des microcystines réagissaient avec l'anticorps, à l'exception d'environ 10 %. Une méthode utilisant des anticorps polyclonaux est également en cours de développement au Canada (Prairie Biological Research Laboratories, Edmonton) et en attente de validation (K. Thomsen, communication personnelle). Une méthode utilisant les anticorps monoclonaux est en cours de développement au Japon (Y. Ueno, communication personnelle).

Identification

Pour l'identification, K. Harada (communication personnelle) a utilisé une version améliorée de la microchromatographie en phase liquide sur fritte couplée à la spectrométrie de masse (CL/SM) avec ionisation par bombardement d'atomes rapides (FAB) dont la limite de détection est de 1 ng (Kondo *et al.*, 1992). Après isolation et purification par CLHP et par chromatographie sur couche mince, Sivonen (1994) a attribué une structure à de nombreuses microcystines et à leurs variantes par FABSM, par FABSM/SM et par résonance magnétique nucléaire ¹H (RMN).

Séparation et quantification

Il existe plusieurs méthodes de CLHP, beaucoup de celles-ci sont des variantes des méthodes développées par Siegelman *et al.* (1984) et par Harada *et al.* (1988).

Au Royaume-Uni, une méthode officielle de CLHP avec détection UV et une limite de détection de 0,5 µg/L a été développée par le Water Research Centre (WRc) à Medmenham. Cette méthode a été testée pour l'eau potable et pour les eaux de réservoirs, lors d'un essai restreint de collaboration avec cinq laboratoires (Fawell *et al.*, 1993). Elle a été conçue pour analyser uniquement la microcystine-LR libre; elle ne mesure ni la microcystine-LR totale (c.-à-d. libre plus liée aux cellules) ni les microcystines autres que la microcystine-LR. Elle pourrait toutefois être modifiée pour mesurer les microcystines totales.

En ce qui concerne la séparation et la quantification, la CLHP avec détection à fluorescence ou à chimiluminescence (limite de détection de moins d'un nanogramme) et la micro CL/SM avec FAB (détection d'ions uniques) (limite de détection ~ 1 ng) sont les méthodes privilégiées, en partie en raison de leur limite de détection plus basse que celle de la méthode de CLHP du Royaume-Uni (K. Harada, communication personnelle).

Une méthode de CLHP avec détection à réseau de photodiode est utilisée par G. Codd (University of Dundee), mais elle n'a pas été publiée (voir Edwards *et al.*, 1991).

Techniques de traitement et gestion

Des techniques appropriées pour contrôler les cyanobactéries doivent être basées sur une connaissance de leur écologie (voir ci-dessus). Une bonne technique de contrôle doit refléter une gestion convenable du bassin hydrographique et du réservoir afin de prévenir toute croissance d'algues, un programme de surveillance approprié et des techniques de traitement appropriées pour les cyanobactéries et pour leurs toxines.

Prévention de la croissance d'algues

Il est important qu'une stratégie appropriée pour éliminer les populations d'algues bleues soit formulée pour une masse d'eau donnée. À quelques exceptions près, les options de gestion sont semblables aux techniques communément utilisées pour contrôler les populations d'algues dans les réservoirs. La carence d'éléments nutritifs peut être obtenue à l'aide d'une bonne gestion du bassin hydrographique qui limite l'apport d'éléments nutritifs (p. ex. effluents d'eaux usées, eaux de ruissellement provenant des terres cultivées) et de l'ajout de produits chimiques aux sources d'eau afin de réduire la disponibilité des éléments nutritifs (p. ex. sulfate ferrique pour faire

précipiter le phosphore) (NRA Toxic Algae Task Group, 1990). Ces mesures peuvent nécessiter un certain nombre d'années avant d'être efficaces. La croissance d'algues peut également être contrôlée par des moyens physiques, tels que l'exclusion de lumière ou la déstratification artificielle du réservoir (NRA Toxic Algae Task Group, 1990). Une solution potentielle de contrôle à court terme de la prolifération d'algues pour les petites collectivités est l'utilisation d'alun et de gypse comme algistats (New South Wales Blue-Green Algae Task Force, 1992).

L'utilisation d'un algicide, tel que le sulfate de cuivre, constitue une méthode de contrôle inappropriée. L'ajout de sulfate de cuivre (ou de chlore) à des fleurs d'eau matures éliminera les cyanobactéries, mais engendra la libération de toxines dans l'eau. De plus, l'utilisation d'algicides entraînera la mort de toutes les algues, ce qui réduit la concurrence pour les cyanobactéries lors d'une phase de développement ultérieure (NRA Toxic Algae Task Group, 1990).

Surveillance des cyanobactéries et de leurs toxines

Un programme de surveillance approprié est essentiel pour contrôler globalement les cyanobactéries et leurs toxines. La présence de cyanobactéries devrait être régulièrement surveillée dans les approvisionnements d'eau potable dont on soupçonne ou sait qu'ils sont prédisposés aux fleurs d'eau. Les conditions climatiques connues pour être favorables à la formation de fleurs d'eau devraient également faire l'objet d'une surveillance étroite. L'utilisation de la télédétection pour déceler les conditions favorables peut être utile. La surveillance des sites relativement aux cyanobactéries (identification des espèces et numération des cellules) devrait inclure la prise d'eau brute, le réservoir et différentes étapes du processus de traitement de l'eau. Ces sites de surveillance pourraient également servir de points d'échantillonnage des toxines (identification et quantification) durant les proliférations cyanobactériennes. Le moment, la fréquence et la profondeur de l'échantillonnage devraient prendre en compte l'écologie des cyanobactéries. L'échantillonnage et l'analyse des cyanobactéries sont également nécessaires pour déterminer l'efficacité des programmes de gestion des cyanobactéries dans les bassins hydrographiques et dans les réservoirs.

Dans certains pays, un système de détection des niveaux d'alerte, combinant de l'information sur le nombre de cellules, sur l'identification des espèces de cyanobactéries et sur les concentrations de toxines, est utilisé pour aider à déterminer les mesures appropriées (NRA Toxic Algae Task Group, 1990; Burch, 1993). En Australie, un groupe de travail a également recommandé que les fournisseurs d'eau soient alertés lorsque le niveau de cyanobactéries connues pour engendrer des goûts et des odeurs (géosmine ou 2-méthylisobornéol) dépasse 2000 cellules/mL (New South Wales Blue-Green Algae Task Force, 1992). On a déterminé que cette valeur était la valeur de seuil typique pour les plaintes de consommateurs. Toutefois, en ce qui concerne *Microcystis*, l'absence de goût et d'odeur ne devrait pas être assimilée à l'absence de toxines. Des études réalisées par Hruday *et al.* (1993) ont montré que la présence de microcystine-LR n'était pas liée à la présence de géosmine ou de 2-méthylisobornéol.

Lorsque des fleurs d'eau surviennent, les fournisseurs d'eau doivent établir un plan d'action comportant des mesures correctrices appropriées. Les mesures les plus

communes comprennent une ou plusieurs des suivantes : rééchantillonnage ou analyse de la toxicité, recherche d'un autre approvisionnement ou traitement pour éliminer les toxines.

Techniques de traitement

L'étape finale du contrôle des cyanobactéries et de leurs toxines est le processus de traitement de l'eau potable.

Les usines de traitement d'eaux de surface conventionnelles utilisant la coagulation, la clarification et la filtration éliminent efficacement les cellules cyanobactériennes. L'utilisation de produits chimiques ou de conditions pouvant mener à la lyse des cellules cyanobactériennes doit être évitée afin de prévenir la libération de leurs toxines. Pour éliminer les cellules cyanobactériennes lors du traitement, la fréquence de l'élimination des boues et du lavage à contre courant du filtre devra être augmentée. L'évacuation finale des déchets de l'usine de traitement d'eau doit être évaluée de façon à garantir qu'ils ne seront pas recyclés et que les cellules cyanobactériennes ne seront pas réintroduites dans la source d'eau.

Les procédés de traitement d'eaux de surface conventionnels ne sont pas efficaces pour éliminer ou détruire les toxines cyanobactériennes. Cependant, certaines procédures d'oxydation ainsi que le charbon actif se sont révélés efficaces. Les résultats d'expériences de filtration lente sur sable (pendant plusieurs heures) montrent une certaine élimination des toxines cyanobactériennes par biodégradation (Keijola *et al.*, 1988). Des études supplémentaires sur les grands filtres à sable lents et sur les procédés de filtration biologique sont nécessaires.

En ce qui concerne l'oxydation, le niveau résiduel d'oxydant est important. À un pH inférieur à 8, le chlore aqueux (principalement présent sous forme d'acide hypochloreux) à une concentration de 15 mg/L détruira les microcystines; la chloration est efficace à condition qu'une concentration résiduelle de chlore d'au moins 0,5 mg/L soit présente après un temps de contact de 30 minutes. L'élimination est réduite de façon importante à un pH supérieur à 8 puisque la concentration d'acide hypochloreux diminue rapidement avec l'augmentation du pH. Le prétraitement à 1 mg/L d'ozone peut éliminer les microcystines à condition qu'une concentration résiduelle d'ozone de 0,05 à 0,1 mg/L soit maintenue. D'après l'essai biologique sur la souris concernant la toxicité aiguë, il ne se forme pas de nouvelles toxines aiguës pendant 24 heures. Pour ce qui est des autres traitements par oxydation, la chloramine s'est révélée inefficace; le permanganate de potassium à 1 mg/L a été trouvé efficace, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires; le peroxyde d'hydrogène n'a pas été efficace et le rayonnement ultraviolet au point d'utilisation n'a pas été assez puissant (Drikas, 1994). L'efficacité de diverses techniques d'oxydation sur l'eau brute ou clarifiée est également en cours d'étude au Royaume-Uni (Fawell *et al.*, 1993).

La capacité d'adsorption de la microcystine-LR par du charbon actif de différentes sources a été étudiée. Les produits à base de bois se sont révélés les plus efficaces en raison du grand volume des mésopores. On a constaté qu'un traitement avec 25 mg/L de charbon actif en poudre (CAP) à base de bois, avec un temps de contact de 30 minutes, pouvait réduire la concentration de microcystine-LR de 50 à <1 µg/L (Drikas, 1994). La présence dans l'eau d'autres substances (p. ex. composés organiques naturels) pouvant être adsorbées par le CAP doit être prise en compte lors

des études d'efficacité. Même lorsqu'ils étaient déjà saturés par le carbone organique dissous, les filtres à charbon actif en grains (CAG) se sont révélés efficaces pour réduire les concentrations de microcystine-LR de 20 à 1 µg/L (Jones *et al.*, 1993; Drikas, 1994).

En résumé, lorsqu'elle est réalisable, une combinaison de traitement à l'ozone et de CAG, après élimination des cellules d'algues, est le traitement recommandé. Les concentrations spécifiques des divers agents utilisés pendant le traitement dépendent de la qualité physique, chimique et biologique de l'eau à traiter (Drikas, 1994; Sivonen, 1994).

Effets sur la santé

Les algues bleues présentes dans les lacs, les étangs et les étangs artificiels provoquent des intoxications chez les animaux et chez les humains dans diverses parties du monde depuis plus de 100 ans.

Effets sur les humains

Eaux utilisées à des fins récréatives

Un lien a été établi entre l'utilisation à des fins récréatives d'eau contaminée par des proliférations cyanobactériennes comme *Anabaena* et *Microcystis*, et des maladies (mais aucun décès) chez les humains en Amérique du Nord, au Royaume-Uni, aux Pays-Bas et en Australie.

Au Canada, des incidences de maladies ont été signalées en Saskatchewan, présentant des symptômes incluant des crampes abdominales, vomissements, diarrhée, fièvre, céphalées, douleurs musculaires et articulaires et faiblesses (Dillenberg et Dehnel, 1960). Des symptômes similaires ainsi qu'une irritation cutanée, une rougeur oculaire douloureuse, des maux de gorge et des réactions allergiques ont également été signalés ailleurs (Ressom *et al.*, 1994). Les cas rapportés de maladies sont peu nombreux; toutefois, étant donné qu'elles sont difficiles à diagnostiquer, ces maladies peuvent être plus communes qu'il n'apparaît (Carmichael et Falconer, 1993).

L'exposition s'est effectuée principalement par contact cutané et par ingestion par inadvertance d'eau contenant des cyanobactéries dispersées. En dépit de la forte toxicité des toxines cyanobactériennes, on n'a signalé que rarement chez les humains des maladies aiguës graves attribuables à ces toxines. Ceci est probablement dû au fait que les humains ont une aversion pour l'ingestion d'écume d'algues.

Récemment, au Royaume-Uni, dans le cadre d'un exercice militaire dans un réservoir présentant une fleur d'eau de *Microcystis aeruginosa*, 10 recrues sur 18 ont souffert de douleurs abdominales, de nausées, de vomissements, de diarrhée, de maux de gorge, de toux sèche, d'ampoules sur la bouche et de céphalées. Deux ont été hospitalisés et ont développé une pneumonie atypique. Les niveaux d'enzymes sériques indiquant une atteinte hépatique ont été élevés. La microcystine-LR a été identifiée dans la matière de la fleur d'eau (NRA Toxic Algae Task Group, 1990).

Eau potable

Aux États-Unis et en Australie, plusieurs toxines cyanobactériennes différentes ont été impliquées dans des incidences de maladies chez les humains. Ces maladies

survenaient souvent suite au traitement, avec du sulfate de cuivre, des proliférations d'algues dans certains approvisionnements d'eau municipaux (Bourke *et al.*, 1983; Falconer, 1989; Ressom *et al.*, 1994). Bien qu'une relation directe de cause à effet directe n'ait pas été établie pour la plupart des incidences de maladies, il y a eu de fortes preuves indirectes de la présence de proliférations de cyanobactéries dans les zones de prise d'eau ou dans les réservoirs à ciel ouvert. Dans la majorité des cas, les cyanobactéries et parfois les toxines impliquées ont été identifiées, cependant les niveaux de toxines associés à la maladie n'ont été établis dans aucune des incidences. Dans au moins une poussée (Palm Island, en Australie), l'intoxication aiguë au cuivre a été proposée comme autre cause (Prociv, 1987).

Des lésions hépatiques possibles, indiquées par des augmentations significatives de la γ -glutamyl-transférase, ont été observées chez des personnes qui consommaient de l'eau potable provenant d'approvisionnements contenant des fleurs d'eau de *Microcystis* après traitement avec du sulfate de cuivre (Malpas Dam, Armidale, en Australie) par rapport aux personnes qui consommaient de l'eau potable non contaminée (Falconer, 1996).

Zilberg (1966) a postulé que la gastro-entérite aiguë saisonnière de l'enfant qui a été observée en 1960–1965 à Salisbury, en Rhodésie (maintenant connu sous le nom de Harare, au Zimbabwe), pouvait être liée à des proliférations annuelles d'algues dans le lac servant de source d'approvisionnement en eau. Une source d'approvisionnement en eau adjacente n'a pas été atteinte de la même manière et n'a pas été associée à cette maladie.

El Saadi et Cameron (1993) ont signalé 26 cas (âgés de 1 à 64 ans) présentant une variété de symptômes associés à l'exposition, au cours de 1991–1992, à des eaux de rivière ou de pluie (River Murray, en Australie) ayant été stockées dans des bassins ouverts et contenant des fleurs d'eau d'*Anabaena*. Les symptômes qui ont suivi l'ingestion (eau potable) ont compris diarrhée, vomissements, nausées, faiblesse musculaire, maux de gorge, difficultés respiratoires et céphalées. Les plaintes qui ont fait suite à un contact cutané (activités de loisirs) ou à un contact avec la muqueuse buccale ont été liées à une éruption cutanée, à des démangeaisons, à la formation d'ampoules sur la bouche et à une irritation des yeux. Des études cas-témoins supplémentaires sont en cours dans la même région.

On a signalé des proliférations cyanobactériennes dans des eaux de surface utilisées pour la consommation en Chine, où on observe une incidence élevée de cancers primitifs du foie; toutefois, des données manquent manifestement (Ressom *et al.*, 1994). Dans une étude épidémiologique sur le cancer primitif du foie chez les humains dans le comté de Qidong en Chine, l'incidence de cancers du foie a été environ huit fois plus élevée chez les personnes qui consommaient de l'eau d'étang ou de fossé que chez les personnes qui consommaient de l'eau de puits (les niveaux de toxines d'algues n'ont pas été déterminés) (Yu, 1989). Des études épidémiologiques analytiques supplémentaires sont nécessaires pour élucider le rôle possible (additionnel) des microcystines dans cette maladie à étiologie multifactorielle. L'infection par le virus de l'hépatite B et l'exposition par les aliments à l'aflatoxine B₁ sont deux facteurs de risque connus pour le cancer du foie et présents dans la même région de Chine.

Junshi (1990) n'a pas observé de relation similaire lors d'une étude épidémiologique plus importante sur le cancer primitif du foie réalisée dans 65 comtés de Chine. Dans cette étude, l'utilisation d'eau de puits profonds a été directement associée au cancer du foie, ce qui va à l'encontre des résultats de Yu (1989).

Au cours d'une étude épidémiologique plus récente menée dans la ville de Haimen (province de Jian-Su) et dans le comté de Fusui (province de Guangxi) en Chine, Ueno *et al.* (1996) ont constaté une étroite relation entre l'incidence de cancers primitifs du foie et l'utilisation d'eau potable provenant d'étangs et de fossés. Une combinaison d'ÉLISA et de chromatographie d'affinité sur colonne a été utilisée pour détecter (limite de détection de 0,05 µg/L) de très faibles niveaux de microcystines dans des échantillons d'eau sans passer par les procédures de purification et de concentration (pour la méthode, voir Nagata *et al.*, 1995). En septembre 1993, trois échantillons d'eau de fossé sur quatorze contenaient des microcystines, à des concentrations allant de 0,09 à 0,46 µg/L. Des échantillons ont alors été prélevés sur une base mensuelle pendant l'année 1994 dans cinq étangs/fossés, deux rivières, deux puits peu profonds et deux puits profonds. Les résultats ont montré que les concentrations de microcystines les plus élevées apparaissaient de juin à septembre, avec une gamme allant de 0,058 à 0,296 µg/L. Un troisième essai réalisé sur les 989 échantillons d'eau prélevés dans les différentes sources d'eau en juillet 1994 a révélé que 17 % des eaux d'étang/de fossé, 32 % des eaux de rivière et 4 % des eaux de puits peu profonds contenaient des microcystines, à des concentrations moyennes respectives de 0,1, 0,16 et 0,068 µg/L. On n'a pas décelé de microcystines dans l'eau de puits profonds. Une étude similaire réalisée sur 26 échantillons d'eau potable dans la province de Guangxi a montré une fréquence élevée de microcystines dans l'eau d'étang/de fossé et de rivière, mais aucune microcystine n'a été détectée dans les eaux de puits profonds et peu profonds. D'après Ueno *et al.* (1996), l'effet combiné de l'apport de microcystines par l'eau de consommation provenant d'étangs/de fossés et/ou de rivières et de l'apport d'autres cancérigènes tels que l'aflatoxine B₁ présente dans les aliments peut être la cause de l'incidence élevée de cancers primitifs du foie dans la ville de Haimen et dans d'autres régions de Chine.

Les fleurs d'eau cyanobactériennes ont tendance à survenir de façon répétée dans le même approvisionnement d'eau; certaines populations humaines sont donc exposées à l'ingestion répétée de toxines cyanobactériennes.

Effets sur les animaux

Cinétique et métabolisme

Bien que la voie d'exposition aux toxines cyanobactériennes la plus probable soit l'ingestion, on n'a réalisé aucune étude pharmacocinétique avec administration de microcystines par voie orale. Après injection intraveineuse ou intrapéritonéale à des souris et des rats de doses sublétales de microcystines radiomarquées de façons différentes, environ 70 % des toxines se sont rapidement localisées dans le foie (Falconer *et al.*, 1986; Brooks et Codd, 1987; Robinson *et al.*, 1989, 1991a; Meriluoto *et al.*, 1990). Bien que la microcystine-LR ne traverse pas facilement les membranes cellulaires et ne pénètre pas dans la plupart des tissus, les microcystines semblent être transportées dans les hépatocytes et dans les cellules des parois intestinales par le

système de transport des acides biliaires (Runnegar *et al.*, 1991; Falconer *et al.*, 1992); on a également constaté que la microcystine-LR traversait l'iléon par l'intermédiaire du système de transport multispécifique des ions organiques (Beasley *et al.*, 1989). Dans les hépatocytes, la microcystine-LR forme une liaison covalente avec une protéine de 40 000 daltons (la protéine phosphatase 2A et peut-être la protéine phosphatase 1) dans le cytosol (Robinson *et al.*, 1991b; pour un compte rendu, voir Fujiki et Suganuma, 1993).

Les demi-vies de la microcystine-LR dans le plasma après administration par voie intraveineuse, ont été de 0,8 et 6,9 minutes pour les phases d'élimination alpha et bêta, mais la concentration du marqueur radioactif (^3H -microcystine-LR) dans le foie n'a pas changé au cours de la période d'étude de six jours; environ 9 % de la dose a été rapidement excrétée par voie urinaire et le reste a été excrété lentement (~1 % par jour) par voie fécale (Robinson *et al.*, 1991a). D'après l'effet de protection des inducteurs de l'activité enzymatique microsomale, il est manifeste que le foie joue un rôle important dans la détoxification des microcystines (Brooks et Codd, 1987). L'apparition et la disparition en fonction du temps de pics supplémentaires, dont on estime qu'ils correspondaient aux produits de détoxification, ont été observées dans l'urine, dans les fèces et dans les fractions de cytosol du foie (Robinson *et al.*, 1991a), mais la structure de ces produits n'a pas été déterminée.

Toxicité aiguë

La microcystine-LR est extrêmement toxique après exposition aiguë. On a observé la mort d'animaux ayant consommé de l'eau contenant des grands nombres ($>10^6/\text{mL}$) de cellules cyanobactériennes (Carmichael, 1992b).

La DL_{50} par voie intrapéritonéale est d'environ 25–150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. chez les souris; la DL_{50} par voie orale (gavage) est de 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. chez les souris et elle est plus élevée chez les rats (Fawell *et al.*, 1994). Ceci indique que, même par voie orale, la microcystine-LR est extrêmement toxique pour les souris après exposition aiguë. Ainsi, une quantité importante de microcystine-LR échappe aux effets des peptidases dans l'estomac et est absorbée. La DL_{50} par voie orale d'un extrait toxique d'*Anabaena* chez les souris a été signalée comme étant au moins 170 fois plus élevée que la DL_{50} par voie intrapéritonéale du même extrait (Falconer, 1991).

La DL_{50} par voie intrapéritonéale de plusieurs des microcystines les plus rencontrées (microcystines-LA, -YR et -YM) est similaire à celle de la microcystine-LR, mais la DL_{50} par voie intrapéritonéale de la microcystine-RR est environ 10 fois plus élevée (Kotak *et al.*, 1993a; Rinehart *et al.*, 1994). Toutefois, en raison des différences dans la lipophilie et dans la polarité des différentes microcystines, on ne peut pas présumer que la DL_{50} par voie intrapéritonéale prédira la toxicité après administration par voie orale.

Les microcystines sont principalement des hépatotoxines. Après exposition aiguë par injection intraveineuse ou intrapéritonéale de microcystine, on a observé une atteinte hépatique grave caractérisée par une perturbation de la structure cellulaire du foie (attribuable aux dommages causés au cytosquelette), une perte de la structure sinusoïdale, une augmentation du poids du foie due à une hémorragie intrahépatique, un choc hémodynamique, une insuffisance cardiaque et la mort. Les reins et les poumons sont également atteints (Hooser *et al.*, 1990). Des dommages à l'intestin

résultent du transport des microcystines à travers les cellules des parois, qui sont endommagées de la même manière que les hépatocytes (Falconer *et al.*, 1992).

Toxicité à court terme et à long terme

Lors d'une étude réalisée par le WRc au Royaume-Uni, la microcystine-LR a été administrée par voie orale par gavage, à des groupes de 15 souris mâles et de 15 souris femelles, à 0, 40, 200 ou 1000 µg/kg p.c. par jour pendant 13 semaines. Le niveau sans effet pour la toxicité hépatique a été de 40 µg/kg p.c. par jour. À la dose plus élevée suivante, on a observé une pathologie hépatique légère chez une souris mâle et chez deux souris femelles. À la dose la plus élevée, toutes les souris ont présenté des modifications hépatiques, incluant une inflammation chronique, une dégénérescence des hépatocytes et des dépôts d'hémosidérine. Chez les souris mâles, aux deux niveaux les plus élevés, l'alanine et l'aspartate aminotransférase ont été notablement élevées, la γ -glutamyl-transférase sérique a légèrement baissé et on a observé une réduction faible mais significative des niveaux totaux de protéines et d'albumines sériques; la phosphatase alcaline a également augmenté de façon significative à la dose la plus élevée. Chez les souris femelles ayant reçu la dose la plus élevée, on n'a observé qu'une augmentation des niveaux de phosphatase alcaline et d'alanine aminotransférase. Les souris mâles ont présenté une réduction de la prise de poids corporel dans tous les groupes traités, mais on n'a pas constaté de relation dose-réponse et le poids corporel final a diminué de 7 % seulement (Fawell *et al.*, 1994).

Une autre étude utilisant des doses répétées par voie orale a été réalisée avec des extraits de *Microcystis aeruginosa* administrés à des souris (410 au total) à six concentrations (témoin, dilutions à un seizième, à un huitième, à un quart, à la moitié et extrait toxique non dilué; l'extrait non dilué présentait une concentration de toxine de 56,6 µg/mL, estimée à l'aide de la valeur de la DL₅₀, qui est approximativement égale à une dose de 11 300 µg/kg p.c. par jour) dans l'eau potable pendant une année. Le taux de mortalité a augmenté avec la dose aux deux niveaux de dose les plus élevés. À la dose la plus élevée, le poids corporel a baissé chez les deux sexes après neuf semaines et le poids du foie a augmenté chez les femelles après cinq semaines; les mâles ont présenté une augmentation significative du poids du foie par rapport au poids corporel à la dose précédant la dose la plus élevée mais pas à la dose la plus élevée, en raison des fortes mortalité et perte de poids corporel. Aux deux doses les plus élevées, les niveaux d'alanine aminotransférase ont été élevés après cinq et neuf semaines et une lésion hépatique chronique active a été manifeste après une exposition atteignant 13 semaines; après des périodes d'exposition plus longues aux doses moins élevées, aucun changement pathologique dans le foie qui serait directement lié à l'effet de la toxine sur les hépatocytes n'a été observé et on n'a pas constaté de néoplasmes hépatiques. On a également observé certains signes d'une augmentation des bronchopneumonies avec l'augmentation des concentrations de l'extrait (Falconer *et al.*, 1988).

Lors d'une étude subchronique plus récente, des extraits de *Microcystis aeruginosa* ont été administrés à des groupes de cinq porcs dans l'eau potable pendant 44 jours à des niveaux de dose de microcystine équivalents à 0, 280, 800 et 1310 µg/kg p.c. par jour (la concentration de l'extrait utilisé a été basée sur sa DL₅₀ par

voie intrapéritonéale chez les souris). L'extrait contenait au moins sept variantes de microcystines, la microcystine-YR étant provisoirement identifiée comme le pic principal. La fonction hépatique (telle que manifestée par les modifications dans la γ -glutamyl-transpeptidase, la phosphatase alcaline, la bilirubine totale et l'albumine plasmatique) a été altérée aux deux doses les plus élevées, alors que des lésions hépatiques visibles ont été observées aux trois doses; seul un porc a été atteint à la dose la plus faible. Il peut être approprié d'estimer que le niveau de dose de 280 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour est la plus faible dose avec effet nocif observé (LOAEL). La teneur en toxine de l'écume sèche de cyanobactéries utilisée dans cette étude a également été déterminée par d'autres laboratoires; en utilisant ces valeurs, on peut calculer un LOAEL de 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour (DL_{50} chez les souris), de 180 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour (CLHP) et de 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour (essai d'inhibition de la phosphatase) (Falconer *et al.*, 1994).

Lors d'une étude de toxicité chronique, on a administré par voie intragastrique de la microcystine-LA pendant 46 semaines (trois fois par semaine) à trois singes vervet; les niveaux de dose ont été progressivement augmentés de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. à 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. pendant la durée de l'expérience. On n'a observé aucune altération statistiquement significative des paramètres cliniques ou hématologiques ou des taux sériques des enzymes chez les animaux traités par rapport aux témoins et aucun changement histopathologique dans le foie ou dans d'autres organes des animaux traités (Thiel, 1994). Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, semblent indiquer que la dose sans effet nocif observé (NOAEL) de la microcystine-LA chez les singes vervet est similaire à la NOAEL de la microcystine-LR observée chez les souris (Fawell *et al.*, 1994).

Toxicité sur la reproduction et sur le développement

Afin d'étudier les effets de la microcystine-LR sur le développement embryonnaire et foetal de la souris, on a administré à quatre groupes de 26 souris femelles de souche Cr1:CD-1(ICR)BR une fois par jour par voie orale (gavage) une solution aqueuse de microcystine-LR du 6^e au 15^e jour (inclusivement) de gestation. Les niveaux de dose ont été de 0, 200, 600 et 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour. Au 18^e jour de gestation, les femelles ont été sacrifiées et une nécropsie a été réalisée. On a pesé les foetus, on a déterminé leur sexe et on les a minutieusement examinés afin de détecter toute anomalie externe, viscérale et squelettique. Seul le traitement à 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour a été associé à une toxicité et à une mortalité maternelles; sept des 26 femelles sont mortes et deux ont été sacrifiées de façon prématurée parce qu'elles présentaient des signes de souffrance. On n'a constaté d'effet manifeste du traitement sur la taille des portées, sur le taux de résorption ou sur la distribution du sexe des foetus vivants à aucun niveau de dose. Le poids moyen des foetus a été sensiblement inférieur chez le groupe ayant reçu la dose élevée et on a observé une augmentation du taux de foetus présentant un retard d'ossification squelettique; il s'agit de résultats communément associés à la toxicité maternelle. D'autre part, on n'a observé d'augmentation du taux d'anomalies foetales à aucune dose. La dose sans effet pour tout aspect de la toxicité sur le développement a été de 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. par jour (Fawell *et al.*, 1994).

Afin d'examiner l'effet d'un extrait toxique de *Microcystis aeruginosa* sur la reproduction chez les souris, Falconer *et al.* (1988) ont exposé des parents mâles et femelles à une solution diluée à un quart de l'extrait (environ 2800 µg/kg p.c. par jour) administrée dans l'eau de consommation durant les 17 semaines qui ont précédé l'accouplement et tout au long de la gestation ainsi qu'au début de la lactation. Aucun effet sur la fertilité, sur la mortalité embryonnaire ou sur la tératogénicité n'a été observé, excepté une réduction de la taille du cerveau d'environ 10 % chez les nouveau-nés par rapport aux témoins.

Promotion des tumeurs

On a observé des signes de promotion de tumeurs lors d'études expérimentales sur les animaux. Lors d'un essai biologique de cancérogenèse en deux étapes modifié sur la peau de souris du diméthylbenzanthracène (DMBA) (500 µg) dans de l'acétone a été appliqué sur la peau de quatre des six groupes de 20 souris Swiss femelles âgées de trois mois. Après une semaine, les souris traitées au DMBA ont reçu 1) de l'eau potable, 2) un extrait de *Microcystis* dans l'eau potable (dose exacte de microcystine-YM non précisée), 3) de l'huile de croton (groupe témoin positif) appliquée sur la peau (0,5 % dans 0,1 mL d'acétone deux fois par semaine) ainsi que de l'eau potable ou 4) de l'huile de croton ainsi qu'un extrait de *Microcystis*; les souris témoins ont reçu de l'eau potable ou un extrait de *Microcystis* dans l'eau potable. Cinquante-deux jours après l'initiation, des tumeurs et des ulcères cutanés importants ont été visibles chez les souris traitées au DMBA ayant reçu un extrait de *Microcystis*; le poids moyen des tumeurs cutanées par souris était plus élevé (différence significative) chez les souris traitées au DMBA ayant reçu l'extrait de *Microcystis* que chez les souris traitées au DMBA ayant reçu de l'eau. Le nombre exact de tumeurs par souris et le poids des tumeurs par rapport au poids des animaux n'ont pas été spécifiés. Les auteurs ont conclu que l'extrait de *Microcystis* reçu dans l'eau potable pouvait agir comme agent promoteur (Falconer, 1991). Toutefois, le mécanisme d'action n'est pas clair, car les microcystines pénètrent difficilement dans les cellules de l'épiderme (Matsushima *et al.*, 1990). Le poids des tumeurs par souris chez les souris traitées au DMBA et ayant reçu de l'huile de croton et l'extrait d'algues a été légèrement inférieur à celui des souris ayant reçu de l'huile de croton et de l'eau potable. L'auteur n'est pas parvenu à expliquer ces derniers résultats (Falconer, 1991).

Lors d'un essai biologique en deux étapes sur la cancérogenèse, des groupes de 9–15 rats Fischer 344 mâles âgés de sept semaines ont été initiés par injection intrapéritonéale avec de la diéthylnitrosamine (DEN) (200 mg/kg p.c.), suivie d'une hépatectomie partielle à la fin de la troisième semaine. La promotion des tumeurs a été évaluée par injection intrapéritonéale de microcystine-LR à 1 ou 10 µg/kg p.c. deux fois par semaine à partir de la troisième semaine de l'expérience. Une promotion des tumeurs, telle qu'indiquée par une augmentation des foyers hépatiques positifs de glutathion-S-transférase de forme placentaire (GST-P), a été observée après huit semaines chez les animaux ayant reçu de la microcystine-LR à 10 µg/kg p.c. (Nishiwaki-Matsushima *et al.*, 1992). La microcystine-LR n'a eu aucun effet lorsqu'elle était administrée à des rats non initiés; de même, le traitement avec 1 µg/kg p.c. n'a pas montré d'augmentation significative des foyers. Afin de confirmer l'activité de promotion des tumeurs de la microcystine-LR, les mêmes auteurs ont administré de la

microcystine-LR à des niveaux de dose de 10 µg/kg p.c. avant de procéder à une hépatectomie partielle et à des niveaux de dose de 10, 25 ou 50 µg/kg p.c. deux fois par semaine après hépatectomie partielle à des groupes de 14–19 rats mâles. Ils ont constaté que l'augmentation des foyers positifs GST-P après injections intrapéritonéales répétées de microcystine-LR était liée à la dose. D'après les auteurs, les résultats semblent indiquer que la microcystine est le plus fort agent promoteur de la tumeur du foie observé à ce jour. Bien que l'étude ait impliqué des doses intrapéritonéales, les auteurs ont laissé entendre que la promotion de tumeurs par la microcystine était également possible chez les humains.

On a constaté que la microcystine-LR était un inhibiteur puissant des protéines eucaryotes sérine/thréonine phosphatases 1 et 2A *in vitro* (Honkanen *et al.*, 1990; MacKintosh *et al.*, 1990) et *in vivo* (Runnegar *et al.*, 1993); cet effet a constitué la base de l'un des essais biologiques réalisés pour en détecter la présence. On estime que ces substances sont des agents promoteurs de type 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). Pour l'agent promoteur TPA, le mécanisme d'action est attribué à son activation de la protéine kinase C. D'autres substances qui agissent de façon similaire aux microcystines sont l'acide okadaïque, la nodularine, la tautomycine et la calyculine A (pour un compte rendu, voir Fujiki et Suganuma, 1993). Les protéines phosphatases jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie dans les cellules. Elles ralentissent la division cellulaire en neutralisant les effets des diverses kinases par déphosphorylation des protéines. L'inhibition de la protéine phosphatase entraîne un déplacement de l'équilibre vers une phosphorylation plus élevée des protéines cibles. Il s'agit d'une modification post-traduction importante. Elle peut entraîner un signal excessif et conduire à une prolifération des cellules, à une transformation cellulaire et à la promotion de tumeurs. Dans les cellules hépatiques, les composants du cytosquelette (filaments moyens suivis de microfilaments) sont atteints, ce qui peut entraîner une diminution du contact avec les autres cellules (Hooser *et al.*, 1990, 1991). L'inhibition de la protéine phosphatase 2A par la microcystine-LR peut être inversée de façon efficace en présence d'anticorps polyclonaux contre la microcystine-LR (Lin et Chu, 1994). Les implications d'une exposition chronique à de faibles niveaux de microcystines ne sont pas connues.

Génotoxicité

Aucune réponse mutagène n'a été observée pour les toxines purifiées dérivées de *Microcystis* lors du test d'Ames sur *Salmonella* (souches TA98, TA100 et TA102) avec ou sans activation S9. Le test de sporulation multi-gènes sur *Bacillus subtilis* (souches 168 et hcr-9) s'est également avéré négatif concernant la mutagénicité (Repavich *et al.*, 1990). En revanche, les résultats d'une étude lors de laquelle des toxines purifiées ont été testées sur des lymphocytes humains a laissé entendre que les toxines pouvaient être clastogènes, tel qu'indiqué par une augmentation des ruptures chromosomiques en fonction de la dose (Repavich *et al.*, 1990).

Classification et évaluation

Il est difficile d'évaluer le risque pour la santé humaine des microcystines dans l'eau potable. La plupart des données pertinentes proviennent soit de cas rapportés de problèmes de santé chez des humains ayant consommé de l'eau potable provenant

d'une source contenant des cyanobactéries, soit d'études limitées chez les animaux de laboratoire. On a observé des signes d'atteinte hépatique chez des personnes qui consommaient une eau contaminée par des cyanobactéries toxiques et des signes de promotion de tumeurs par *Microcystis* ou par les microcystines chez les animaux. Pour les microcystines, on pense que le mécanisme sous-jacent est l'inhibition de la protéine phosphatase. Si l'on prend en considération les informations sur la génotoxicité, la microcystine-LR pourrait être cancérigène pour les humains et pour cette raison, elle a été placée dans le groupe IIIB (données inadéquates chez les humains, preuves limitées chez les animaux de laboratoire). Il est donc jugé approprié d'utiliser le LOAEL ou le NOAEL de l'étude chronique ou subchronique la plus pertinente, divisée par les facteurs d'incertitude appropriés, pour déterminer un apport quotidien tolérable (AQT) pour la microcystine-LR, la seule microcystine pour laquelle on dispose d'information suffisante pour établir une valeur de recommandation.

Pour la microcystine, l'AQT est calculé comme suit :

$$\text{AQT} = \frac{40 \text{ } \mu\text{g/kg p.c. par jour}}{1000} = 0,04 \text{ } \mu\text{g/kg p.c. par jour}$$

où :

- 40 $\mu\text{g/kg p.c. par jour}$ est le NOAEL pour les changements hépatiques qui est tiré de l'étude de 13 semaines sur des souris réalisée par le Wrc au Royaume-Uni (Fawell *et al.*, 1994)
- 1000 est le facteur d'incertitude (facteur de 10 pour les variations intraspécifiques, facteur de 10 pour les variations interspécifiques et facteur de 10 pour l'étude d'une durée inférieure à la durée de vie).

Un facteur d'incertitude supplémentaire pour les signes limités de cancérigénicité chez les animaux n'a pas été jugé nécessaire.

Justification

La concentration maximale acceptable (CMA) proposée pour la microcystine-LR totale (c.-à-d. libre et liée aux cellules) dans l'eau potable est calculée à partir de l'AQT comme suit :

$$\text{CMA} = \frac{0,04 \text{ } \mu\text{g/kg p.c. par jour} \times 70 \text{ kg p.c.} \times 0,80}{1,5 \text{ L/jour}} \approx 1,5 \text{ } \mu\text{g/L}$$

où :

- 0,04 $\mu\text{g/kg p.c. par jour}$ est l'AQT, tel que calculé ci-dessus
- 70 kg p.c. est le poids corporel moyen d'un adulte
- 0,80 est la proportion de l'apport total attribuée à l'ingestion d'eau potable
- 1,5 L/jour est la consommation quotidienne moyenne d'eau potable d'un adulte.

La CMA de 1,5 $\mu\text{g/L}$ proposée pour la microcystine-LR totale (libre et liée aux cellules) est une valeur conservatrice, calculée pour une consommation quotidienne sur toute l'année, alors qu'on prévoit que la durée de l'exposition à la microcystine-LR

au Canada sera généralement inférieure à trois mois par an. Cependant, étant donné qu'il est probable que d'autres microcystines soient présentes et non détectées, cette valeur est jugée appropriée.

Références bibliographiques

- An, J.S. et Carmichael, W.W. (1994). Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon*, 32(12): 1495–1507.
- Beasley, V.R., Cook, W.O., Dahlem, A.M., Hooser, S.B., Lovell, R.A. et Valentine, W.M. (1989). Algae intoxication in livestock and waterfowl. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 5(2): 345–361.
- Boland, M.P., Smillie, M.A., Chen, D.Z.X. et Holmes, C.F.B. (1993). A unified bioscreen for the detection of diarrhetic shellfish toxins and microcystins in marine and freshwater environments. *Toxicon*, 31(11): 1393–1405.
- Bourke, A.T.C., Hawes, R.B., Neilson, A. et Stallman, N.D. (1983). An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicon*, Suppl. 3: 45–48.
- Brooks, W.P. et Codd, G.A. (1987). Distribution of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin and interactions with hepatic microsomes in mice. *Pharmacol. Toxicol.*, 60: 187–191.
- Burch, M.D. (1993). The development of an alert levels and response framework for the management of blue-green algal blooms. Dans : *Blue green algal blooms — new developments in research and management*. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia.
- Carmichael, W.W. (1992a). A status report on planktonic cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. EPA/600/R-92-079, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH. 141 pp.
- Carmichael, W.W. (1992b). Cyanobacteria secondary metabolites — the cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.*, 72: 445–459.
- Carmichael, W.W. (1994). An overview of toxic cyanobacteria research in the United States. Dans : *Toxic cyanobacteria: current status of research and management*. Proceedings of an international workshop, Adelaide, Australia, March 22–26, 1994. D.A. Steffensen et B.C. Nicholson (eds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 39–44.
- Carmichael, W.W. et Falconer, I.R. (1993). Diseases related to freshwater blue-green algal toxins, and control measures. Dans : *Algal toxins in seafood and drinking water*. I.R. Falconer (ed.). Academic Press, San Diego, CA. pp. 187–209.
- Chu, F.S., Huang, X. et Wei, R.D. (1990). Enzyme-linked immunosorbent assay for microcystins in blue-green algal blooms. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(3): 451–456.
- Dillenberg, H.O. et Dehnel, M.K. (1960). Toxic water bloom in Saskatchewan, 1959. *Can. Med. Assoc. J.*, 83: 1151–1154.
- Drikas, M. (1994). Removal of cyanobacterial toxins by water treatment processes. Dans : *Toxic cyanobacteria — a global perspective*. March 28, 1994, Adelaide, South Australia. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 30–44.

- Edwards, C., Lawton, L.A., Beattie, K.A., Fawell, J.K. et Codd, G.A. (1991) Separation and characterization of cyanobacterial peptide toxins by photodiode array high-performance liquid chromatography. *Br. Phycol. J.* (Winter meeting of the Br. Phycol. Soc.), 26: 84–85.
- El Saadi, O. et Cameron, A.S. (1993). Illness associated with blue-green algae. *Med. J. Aust.*, 158: 792–793.
- Eriksson, J.E., Grönberg, L., Nygård, S., Slotte, J.P. et Meriluoto, J.A.O. (1990). Hepatocellular uptake of ³H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1025: 60–66.
- Falconer, I.R. (1989). Effects on human health of some toxic cyanobacteria (blue-green algae) in reservoirs, lakes, and rivers. *Tox. Assess.: Int. J.*, 4: 175–184.
- Falconer, I.R. (1991). Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 6: 177–184.
- Falconer, I.R. (1996). Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, 335 (6 Suppl.): 6–11.
- Falconer, I.R., Buckley, T. et Runnegar, M.T.C. (1986). Biological half-life, organ distribution and excretion of ¹²⁵I-labelled toxic peptide from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Aust. J. Biol. Sci.*, 39: 17–21.
- Falconer, I.R., Smith, J.V., Jackson, A.R., Jones, A. et Runnegar, M.T. (1988). Oral toxicity of a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* administered to mice over periods up to 1 year. *J. Toxicol. Environ. Health*, 24: 291–305.
- Falconer, I.R., Dornbusch, M., Moran, G. et Yeung, S.K. (1992). Effect of the cyanobacterial (blue-green algal) toxins from *Microcystis aeruginosa* on isolated enterocytes from the chicken small intestine. *Toxicon*, 30(7): 790–793.
- Falconer, I.R., Burch, M.D., Steffensen, D.A., Choice, M. et Coverdale, O.R. (1994). Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environ. Toxicol. Water Qual.: Int. J.*, 9: 131–139.
- Fawell, J.K., Hart, J., James, H.A. et Parr, W. (1993). Blue-green algae and their toxins — analysis, toxicity, treatment and environmental control. *Water Supply*, 11(3/4): 109–121.
- Fawell, J.K., James, C.P. et James, H.A. (1994). Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water. Rapport No. FR 0359/2/DoE 3358/2, Water Research Centre, Medmenham, UK. 46 pp.
- Fujiki, H. et Suganuma, M. (1993). Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds. *Adv. Cancer Res.*, 61: 143–194.
- Harada, K. (1994). Strategy for trace analysis of microcystins in complicated matrix. Dans : Toxic cyanobacteria — a global perspective. 28 mars 1994, Adelaide, South Australia. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 49–51.
- Harada, K.-I., Suzuki, M., Dahlem, A.M., Beasley, V.R., Carmichael, W.W. et Rinehart, K.L., Jr. (1988). Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria. *Toxicon*, 26(5): 433–439.
- Holmes, C.F.B. (1991). Liquid chromatography-linked protein phosphatase bioassay; a highly sensitive marine bioscreen for okadaic acid and related diarrhetic shellfish toxins. *Toxicon*, 29(4/5): 469–477.

- Honkanen, R.E., Zwiller, J., Moore, R.E., Daily, S.L., Khatra, B.S., Dukelow, M. et Boynton, A.L. (1990). Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and type 2a protein phosphatases. *J. Biol. Chem.*, 265(32): 19401–19404.
- Hooser, S.B., Beasley, V.R., Basgall, E.J., Carmichael, W.W. et Haschek, W.M. (1990). Microcystin-LR-induced ultrastructural changes in rats. *Vet. Pathol.*, 27: 9–15.
- Hooser, S.B., Beasley, V.R., Waite, L.L., Kuhlenschmidt, M.S., Carmichael, W.W. et Haschek, W.M. (1991). Actin filament alterations in rat hepatocytes induced *in vivo* and *in vitro* by microcystin-LR, a hepatotoxin from the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Vet. Pathol.*, 28: 259–266.
- Hrudey, S.E., Kenefick, S.L., Best, N., Gillespie, T., Kotak, B.G., Prepas, E.E. et Peterson, H.G. (1993). Liver toxins and odour agents in cyanobacterial blooms in Alberta surface water supplies. Dans : Proceedings of the 5th National Conference on Drinking Water, September 13–15, 1992, Winnipeg. W. Robertson, R. Tobin et K. Kjartanson (eds.). American Water Works Association, Denver, CO. pp. 383–390.
- Hrudey, S.E., Lambert, T.W. et Kenefick, S.L. (1994). Health risk assessment of microcystins in drinking water supplies. Dans : Toxic cyanobacteria — a global perspective. 28 mars 1994, Adelaide, South Australia. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 7–12.
- Jones, G. (1996). Toxic algae study summary. Manitoba Department of Environment, février.
- Jones, G.J. et Orr, P.T. (1994). Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Water Res.*, 28(4): 871–876.
- Jones, G., Minatol, W., Craig, K. et Naylor, R. (1993). Removal of low level cyanobacterial peptide toxins from drinking water using powdered and granular activated carbon and chlorination — Results of laboratory and pilot plant studies. Proceedings of the 15th Federal Convention of the Australian Water and Wastewater Association, April 18–23, 1993, Gold Coast, Queensland, Australia. Vol. 2. Australian Water and Wastewater Association. pp. 339–346.
- Junshi, C. (1990). Diet, life-style and mortality in China. A study of the characteristics of 65 Chinese counties. T.C. Campbell, L. Junyao and R. Peto (eds.). Oxford University Press, Cornell University Press, Peoples Medical Publishing House (cité dans Ressom *et al.*, 1994).
- Keijola, A.M., Himberg, K., Esala, A.L., Sivonen, K. et Hiisvirta, L. (1988). Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot-scale experiments. *Tox. Assess.: Int. J.*, 3: 643–656.
- Kenefick, S.L., Hrudey, S.E., Prepas, E.E., Motkosky, N. et Peterson, H.G. (1992). Odorous substances and cyanobacterial toxins in prairie drinking water sources. *Water Sci. Technol.*, 25(2): 147–154.
- Kenefick, S.L., Hrudey, S.E., Peterson, H.G. et Prepas, E.E. (1993). Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment. *Water Sci. Technol.*, 27: 433–440.
- Kondo, F., Ikai, Y., Oka, H., Ishikawa, N., Watanabe, M.F., Watanabe, M., Harada, K.-I. et Suzuki, M. (1992). Separation and identification of microcystins in cyanobacteria by frit-fast atom bombardment liquid chromatography/mass spectrometry. *Toxicon*, 30(3): 227–237.
- Kotak, B.G., Hrudey, S.E., Kenefick, S.L. et Prepas, E.E. (1993a). Toxicity of cyanobacterial blooms in Alberta lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci. Tech. Rep.* 1942. pp. 172–179.

- Kotak, B.G., Kenefick, S.L., Fritz, D.L., Rousseaux, C.G., Prepas, E.E. et Hrudey, S.E. (1993b). Occurrence and toxicological evaluation of cyanobacterial toxins in Alberta lakes and farm dugouts. *Water Res.*, 27(3): 495–506.
- Lambert, T.W., Boland, M.P., Holmes, C.F.B. et Hrudey, S.E. (1994). Quantitation of the microcystin hepatotoxins in water at environmentally relevant concentrations with the protein phosphatase bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 753–755.
- Lin, J.-R. et Chu, F.S. (1994). *In vitro* neutralization of the inhibitory effect of microcystin-LR to protein phosphatase 2A by antibody against the toxin. *Toxicon*, 32(5): 605–613.
- MacKintosh, C., Beattie, K.A., Klumpp, S., Cohen, P. et Codd, G.A. (1990). Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Lett.*, 264(2): 187–192.
- Matsushima, R., Yoshizawa, S., Watanabe, M.F., Harada, K.-I., Furusawa, M., Carmichael, W.W. et Fujiki, H. (1990). *In vitro* and *in vivo* effects of protein phosphatase inhibitors, microcystins and nodularin, on mouse skin and fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 171(2): 867–874.
- Meriluoto, J.A.O., Nygård, S.E., Dahlem, A.M. et Eriksson, J.E. (1990). Synthesis, organotropism and hepatocellular uptake of two tritium-labeled epimers of dihydromicrocystin-LR, a cyanobacterial peptide toxin analog. *Toxicon*, 28(12): 1439–1446.
- Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M.F. et Ueno, Y. (1995). Determination of microcystin in environmental water by highly sensitive immunoassay. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 41: 10.
- New South Wales Blue-Green Algae Task Force (1992). Blue-green algae. Final report of the New South Wales Blue-Green Algae Task Force. Department of Water Resources, Parramatta, New South Wales, Australia. 159 pp.
- Nishiwaki-Matsushima, R., Ohta, T., Nishiwaki, S., Suganuma, M., Kohyama, K., Ishikawa, T., Carmichael, W.W. et Fujiki, H. (1992). Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 118: 420–424.
- NRA Toxic Algae Task Group (1990). Toxic blue-green algae. A report by the National Rivers Authority Toxic Algae Task Group. National Rivers Authority Water Quality Series No. 2. 128 pp.
- Park, H.-D., Watanabe, M.F., Harada, K.-I., Nagai, H., Suzuki, M., Watanabe, M. et Hayashi, H. (1993). Hepatotoxin (microcystin) and neurotoxin (anatoxin-a) contained in natural blooms and strains of cyanobacteria from Japanese freshwaters. *Nat. Toxins*, 1: 353–360.
- Prociv, P. (1987). Palm Island reconsidered. Was it copper poisoning? *Aust. N. Z. J. Med.*, 17: 345–349.
- Repavich, W.M., Sonzogni, W.C., Standridge, J.H., Wedepohl, R.E. et Meisner, L.F. (1990). Cyanobacteria (blue-green algae) in Wisconsin waters: acute and chronic toxicity. *Water Res.*, 24(2): 225–231.
- Ressom, R., Soong, F.S., Fitzgerald, J., Turczynowicz, L., El Saadi, O., Roder, D., Maynard, T. et Falconer, I. (1994). Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae). National Health and Medical Research Council of Australia, Commonwealth Department of Human Services and Health. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia. 108 pp.
- Rinehart, K.L., Namikoshi, M. et Choi, B.W. (1994). Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.*, 6: 159–176.

- Robinson, N.A., Miura, G.A., Matson, C.F., Dinterman, R.E. et Pace, J.G. (1989). Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. *Toxicon*, 27(9): 1035–1042.
- Robinson, N.A., Pace, J.G., Matson, C.F., Miura, G.A. et Lawrence, W.B. (1991a). Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 256(1): 176–182.
- Robinson, N.A., Matson, C.F. et Pace, J.G. (1991b). Association of microcystin-LR and its biotransformation product with a hepatic-cytosolic protein. *J. Biochem. Toxicol.*, 6(3): 171–180.
- Runnegar, M.T.C., Gerdes, et and Falconer, I.R. (1991). The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. *Toxicon*, 29(1): 43–51.
- Runnegar, M.T., Kong, S. et Berndt, N. (1993). Protein phosphatase inhibition and *in vivo* hepatotoxicity of microcystins. *Am. J. Physiol.*, 265: G224–G230.
- Siegelman, H.W., Adams, W.H., Stoner, R.D. et Slatkin, D.N. (1984). Toxins of *Microcystis aeruginosa* and their hematological and histopathological effects. Dans : *Seafood toxins*. E.P. Ragelis (ed.). ACS Symposium Series No. 262, American Chemical Society. pp. 407–413.
- Sivonen, K. (1994). Occurrence of toxic cyanobacteria in Finnish fresh waters and the Baltic Sea. In: *Toxic cyanobacteria: current status of research and management*. Proceedings of an international workshop, Adelaide, Australia, March 22–26, 1994. D.A. Steffensen and B.C. Nicholson (eds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 15–18.
- Skulberg, O.M., Carmichael, W.W., Codd, G.A. et Skulberg, R. (1993). Taxonomy of toxic cyanophyceae (cyanobacteria). Dans : *Algal toxins in seafood and drinking water*. I.R. Falconer (ed.). Academic Press, San Diego, CA. pp. 145–164.
- Thiel, P. (1994) The South African contribution to studies on the toxic cyanobacteria and their toxins. Dans : *Toxic cyanobacteria: current status of research and management*. Proceedings of an international workshop, Adelaide, Australia, March 22–26, 1994. D.A. Steffensen and B.C. Nicholson (eds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australia. pp. 23–27.
- Tsuji, K., Naito, S., Kondo, F., Ishikawa, N., Watanabe, M.F., Suzuki, M. et Harada, K.-I. (1994). Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 173–177.
- Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M.F., Park, H.-D., Chen, G.-C., Chen, G. et Yu, S.-Z. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 17(6): 1317–1321.
- Yu, S.-Z. (1989). Drinking water and primary liver cancer. Dans : *Primary liver cancer*. Z.-Y. Tang, M.-C. Wu and S.-S. Xia (eds.). Springer-Verlag, New York, NY. pp. 30–37.
- Zilberg, B. (1966). Gastroenteritis in Salisbury European children — a five-year study. *Cent. Afr. J. Med.*, 12(9): 164–168.