

Les toxines cyanobactériennes — Les microcystines-LR

Recommandation

La concentration maximale acceptable (CMA) de microcystines-LR, toxines cyanobactériennes, dans l'eau potable est de 0,0015 mg/L (1,5 µg/L). On croit que cette recommandation protège la santé humaine contre l'exposition à d'autres microcystines (microcystines totales) qui peuvent aussi être présentes dans l'eau.

Identité des toxines cyanobactériennes

Les toxines cyanobactériennes sont des toxines produites par les cyanobactéries, ou algues bleues. Elles comprennent des neurotoxines (p. ex., anatoxines), des hépatotoxines (p. ex., microcystines), des irritants cutanés et d'autres toxines. Les hépatotoxines et les neurotoxines sont produites par des cyanobactéries présentes couramment dans les approvisionnements d'eau de surface et semblent donc les plus pertinentes pour les approvisionnements d'eau¹⁻³. Les neurotoxines sont toutefois relativement instables et l'on considère donc qu'elles ne sont pas aussi répandues que les hépatotoxines dans les approvisionnements d'eau. Elles ne semblent pas présenter le même degré de risque de toxicité chronique³. Il convient toutefois de signaler qu'à cause des capacités limitées d'analyse, les données quantitatives disponibles sur les concentrations de neurotoxines dans les approvisionnements d'eau sont limitées. On a détecté la présence de toxines cyanobactérienne pendant un relevé effectué au cours de l'été (juillet/août) 2000 dans le lac Onondaga et le lac Oneida, dans le nord de l'État de New York, aux États-Unis⁴. On a détecté la présence de microcystines dans un seul échantillon sur 13 prélevés dans le lac Onondaga, ainsi que de l'anatoxine-a. Sur les 22 échantillons prélevés dans le lac Oneida, 50 % contenaient toutefois des microcystines (>1,0 µg/L dans sept ou huit cas) et deux échantillons contenaient de l'anatoxine-a. L'anatoxine-a était moins répandue que les microcystines, sa concentration s'établissant à ≤0,85 µg/L. Il se peut que les neurotoxines soient plus répandues qu'on le croit actuellement, étant donné plus particulièrement

qu'on a établi un lien entre un grand nombre d'algues neurotoxigènes et la mort à la fois de bétail et d'animaux domestiques.

La plupart des hépatotoxines sont appelées collectivement microcystines, car on a isolé la première hépatotoxine de *Microcystis aeruginosa*. On a isolé une cinquantaine de microcystines différentes et une même fleur d'eau peut en produire plusieurs. Sur le plan de la structure, les microcystines sont des heptapeptides monocycliques qui contiennent deux acides aminés de la série L variables et deux nouveaux acides aminés de la série D. Les microcystines sont nommées en fonction de leurs acides aminés de la série L 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)⁵. Les deux nouveaux acides aminés de la série D présents dans les microcystines sont la N-méthyl-déhydroaniline (Mdha), qui s'hydrolyse en méthylamine, et un acide aminé unique non lié aux structures polaires, l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque, aussi appelé ADDA⁶. L'élément clé de l'activité biologique semble être lié à la chaîne latérale de l'ADDA, car le clivage de la chaîne latérale de l'ADDA et du peptide cyclique rend les deux éléments non toxiques^{1,5,6}. Les nodularines, hépatotoxines isolées la première fois de l'algue bleue *Nodularia*, sont des pentapeptides² cycliques que l'on trouve principalement dans l'eau salée et c'est pourquoi on n'y accorde pas d'importance dans le cas de l'eau potable.

Produite comme métabolite secondaire par *Microcystis aeruginosa* et par d'autres espèces d'algues bleues, la microcystine-LR semble être la microcystine la plus répandue¹. Jusqu'à maintenant, on a réalisé la majorité des travaux effectués sur les microcystines en utilisant cette variante, car elle existe dans la plupart des pays qui ont signalé des épisodes de toxicité³. La microcystine-LR a un poids moléculaire d'environ 1 000 daltons. Sa toxicité ne semble pas très différente de celle

des autres microcystines⁵. On a signalé plus de 65 variantes de microcystines, dont la DL₅₀ varie de 50 à 300 µg/kg p.c. La microcystine-LR est une des plus toxiques, car sa DL₅₀ atteint 50 µg/kg p.c.⁷.

Les coefficients de répartition octanol-eau calculés (qui mesurent la solubilité et l'interaction avec des molécules d'eau) de la majorité des variantes de microcystines indiquent que leur absorption par le charbon activé serait semblable ou supérieure à celle de la microcystine-LR⁷.

Présence des cyanobactéries

Les cyanobactéries, ou algues bleues, doivent leur nom à la présence de pigments photosynthétiques. On trouve des cyanobactéries d'eau douce partout dans le monde entier. On a révisé récemment leur classification et leur identification⁸ et identifié une quarantaine d'espèces toxigènes. Les cyanobactéries d'eau douce peuvent s'accumuler dans les approvisionnements d'eau de surface sous forme de « fleurs d'eau » et peuvent se concentrer à la surface sous forme d'« écume » bleue.

Les genres de cyanobactéries dont la présence est connue au Canada et que l'on associe le plus souvent aux empoisonnements sont *Anabaena Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Oscillatoria* et *Nodularia*⁵. P.R. Gorham et ses collaborateurs au Conseil national de recherches ont isolé des cultures de *Microcystis* toxiques pour la première fois dans la rivière Rideau à Ottawa au cours des années 50. On a signalé un polymorphisme important de *Microcystis aeruginosa* et une variabilité entre les espèces des hémisphères nord et sud⁹.

On a constaté en général que de 50 à 75 % des isolats de fleurs d'eau peuvent produire des toxines et qu'il y en a souvent plus qu'une. Plus de 70 % des 380 échantillons et plus de biomasse de fleur d'eau prélevés 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)¹⁰. La toxicité globale d'une fleur d'eau peut être incertaine en raison des variations de la concentration des toxines dans le temps et dans l'espace dans une masse d'eau où il y a prolifération¹⁰.

Divers facteurs physiques, chimiques et biologiques influent sur le développement des cyanobactéries et la formation de fleurs d'eau. Le NRA Toxic Algae Task Group¹¹ et Resson et al.⁶ ont étudié ces facteurs, décrits ci-dessous, dont l'interaction peut entraîner d'importantes fluctuations annuelles des concentrations de cyanobactéries et de leurs toxines¹². La nature des espèces qui dominent varie aussi selon les saisons. Le calendrier de la saison de prolifération des cyanobactéries et leur durée dépendent des conditions climatiques. Dans des zones tempérées comme le Canada, la présence des cyanobactéries est plus importante à la fin de l'été et au

début de l'automne et peut durer de deux à quatre mois. On a toutefois découvert des proliférations de certaines espèces de cyanobactéries l'hiver, sous la glace, dans des lacs de la Scandinavie et de l'Allemagne⁷, ainsi qu'au début du printemps et au cours de l'été dans le Midwest américain, ce qui peut causer un problème qui dure toute l'année.

Facteurs physiques

Lorsque la température de l'eau monte le printemps, des groupes d'algues variant des diatomées et des algues vertes aux cyanobactéries se succèdent naturellement. Différents genres de cyanobactéries tolèrent des températures minimales différentes. *Microcystis*, par exemple, tolère moins les températures plus froides que *Oscillatoria*. La durée de la lumière du jour nécessaire pour optimiser la croissance dépend des espèces. *Microcystis*, par exemple, est mieux adaptée aux journées courtes qu'*Anabaena*. C'est peut-être 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, comme *Cylindrospermopsis*, peuvent tolérer des niveaux faibles de lumière et peuvent donc rivaliser plus efficacement avec les autres algues planctoniques pour la lumière disponible, principalement grâce à la présence de pigments photosynthétiques. Ces pigments permettent également la photosynthèse dans les eaux colorées.

Certaines cyanobactéries, comme *Microcystis aeruginosa*, peuvent en outre optimiser leur position dans la colonne d'eau en fonction de la lumière disponible en modifiant 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 s'effectue principalement par photosynthèse (par la production de glucides) et se dégrade lorsque la concentration de dioxyde de carbone est trop faible. La flottabilité ne peut être contrôlée pendant la nuit.

Une turbidité accrue avantage les cyanobactéries par rapport à d'autres algues. Comme on l'a signalé ci-dessus, les cyanobactéries peuvent utiliser un large spectre de lumière pour la photosynthèse et peuvent migrer vers la surface afin de capter le maximum de lumière. Une très forte turbidité peut toutefois réduire la disponibilité du phosphate et limiter ainsi leur croissance. D'autre part, les turbulences et les débits d'eau élevés ne favorisent pas la croissance des cyanobactéries, car ils nuisent à leur capacité à maintenir une certaine position dans la colonne d'eau.

Les pluies torrentielles peuvent augmenter les volumes de ruissellement et la concentration des nutriments dans l'eau, ce qui favorise la formation de fleurs d'eau.

Facteurs chimiques

Comme dans le cas d'autres organismes photosynthétiques, la disponibilité de macronutriments, c'est-à-dire le phosphore et, à un degré moindre, l'azote, contrôle la croissance des cyanobactéries. En général, les cyanobactéries n'ont pas besoin d'autant de phosphore que d'autres phytoplanctons, mais elles le stockent de façon efficace. Comme le phosphore adhère facilement aux surfaces réactives (organiques et inorganiques), une grande partie du phosphore contenu dans un cours d'eau sera lié aux sédiments. Des concentrations anormalement élevées de phosphore dans l'eau indiquent des perturbations dans le bassin hydrographique. Les eaux usées non traitées et traitées, les détergents et les eaux de ruissellement urbaines et agricoles sont au nombre des sources importantes de phosphore, ponctuelles et diffuses. On n'associe pas toujours les proliférations massives de cyanobactéries toxiques aux activités humaines polluantes. On a signalé, par exemple, la présence de fleurs d'eau toxiques dans des réservoirs australiens dont les bassins hydrographiques sont vierges ou quasivierges.

Le fer et le molybdène sont des micronutriments particulièrement importants pour les cyanobactéries en raison du rôle direct qu'ils jouent dans la fixation de l'azote et la photosynthèse (fer), ainsi que dans la fixation du carbone et l'apport d'azote (molybdène). Le genre *Microcystis* n'est pas une cyanobactérie qui fixe l'azote.

L'alcalinité et le pH déterminent la spéciation chimique du carbone inorganique en carbonate, bicarbonate et dioxyde de carbone, par exemple. Les faibles concentrations de dioxyde de carbone favorisent la croissance de plusieurs espèces de cyanobactéries. C'est pourquoi les conditions de l'eau comme l'alcalinité faible et la dureté, ainsi que la consommation de dioxyde de carbone pendant la photosynthèse dans les algues et l'élévation du pH, donnent un avantage concurrentiel aux cyanobactéries.

Facteurs biologiques

Le rôle des cyanobactéries dans les réseaux alimentaires aquatiques est très complexe. En général, le phytoplancton est consommé par le zooplancton, qui est à son tour consommé par le poisson. Le zooplancton ne digère pas facilement les cyanobactéries, dont les populations peuvent donc augmenter par rapport à d'autres algues plus faciles à digérer. Les macrophytes font concurrence aux cyanobactéries et à d'autres phytoplanctons pour les nutriments et la lumière et ils peuvent aussi supprimer les phytoplanctons en libérant des inhibiteurs. D'autres bactéries aquatiques peuvent également faire concurrence aux cyanobactéries pour les éléments nutritifs.

Formation d'écume de surface

Pour qu'il y ait formation d'écume de surface, il faut un changement soudain des conditions climatiques. Au début, la pression barométrique peut être élevée et les vents peuvent varier de faibles à modérés, accompagnés d'une circulation constante dans une étendue d'eau où une population importante de cyanobactéries peut s'être placée de façon optimale dans la colonne d'eau pour profiter de ces conditions. Si le vent tombe et si la circulation s'arrête aussi, les cyanobactéries peuvent soudain présenter une « surflottabilité ». Si elles ne peuvent ajuster leur flottabilité assez rapidement ou si elles ne peuvent pas l'ajuster du tout (la nuit), elles montent alors à la surface et y forment de l'écume. Les écumes peuvent donc souvent se former la nuit. L'écume peut être emportée par le vent et se déposer en aval, sur des berges abritées et dans des baies calmes, où les cyanobactéries peuvent finir par mourir et libérer leurs toxines.

Production et persistance des toxines

On connaît mal les facteurs qui entraînent la production de toxines par les cyanobactéries. Les études de laboratoire démontrent que certains des facteurs environnementaux mentionnés ci-dessus comme 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. Vu que la production de toxines varie considérablement entre différentes souches d'une même espèce, les différences d'ordre génétique et les processus métaboliques peuvent aussi jouer un rôle important dans la production de ces métabolites secondaires. Des études ont montré que la capacité à produire des toxines peut varier dans le temps et dans l'espace à un endroit donné⁶.

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. Des études réalisées en laboratoire révèlent que les toxines sont libérées principalement lorsque les cellules vieillissent, meurent et libèrent passivement leur contenu. De jeunes cellules en croissance peuvent parfois libérer activement des toxines^{5,11}.

Les concentrations de toxines ne coïncident pas nécessairement avec le volume maximal de la biomasse d'algues. La concentration de toxines par unité de biomasse cyanobactérienne peut varier considérablement dans le temps, indépendamment des fluctuations de la population d'algues bleues. Kotak *et al.*¹³ ont constaté la présence de concentrations plus élevées de microcystine dans des fleurs d'eau prélevées le jour que dans celles que l'on prélève la nuit, tandis qu'une étude réalisée en Australie n'a révélé aucune différence importante de

concentrations de toxines provenant de cyanobactéries incubées pendant 24 heures à des profondeurs différentes dans un même réservoir¹⁴.

Les microcystines sont relativement persistantes en milieu aquatique. Des études réalisées en Australie ont révélé que la microcystine-LR persistait jusqu'à 21 jours après le traitement à l'algicide d'une fleur d'eau de *Microcystis Aeruginosa*¹⁵. Des études réalisées dans des eaux naturelles du Royaume-Uni ont indiqué qu'il fallait cinq jours pour éliminer 50 % des toxines¹⁶. La biodégradation et la photolyse sont des processus qui peuvent faire baisser naturellement les concentrations de microcystine-LR libérée^{17,18}. Cousins *et al.*¹⁹ ont démontré que la biodégradation primaire de la microcystine-LR dans de l'eau de réservoir a une première demi-vie d'environ quatre jours. On a toutefois signalé qu'il est probable que la demi-vie de cette toxine dans des eaux naturelles variera considérablement en fonction des changements de la température de l'eau et de l'importance de la population microbienne.

Les concentrations de microcystine-LR dans des lacs et des étangs artificiels de l'Alberta, mesurées par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et détection d'ultra-violet (UV) (selon la méthode de Harada *et al.*²⁰, légèrement modifiée par Kenefick *et al.*²¹), ont varié de 4 à 605 µg/g de poids sec (p.s.) de biomasse²² ou ont atteint 1 500 µg/g¹⁰. De même, les concentrations de microcystine-LR dans des fleurs d'eau naturelles de *Microcystis* au Japon entre 1989 et 1991 ont varié de 27 à 622 µg/g p.s. de biomasse¹². Dans les mêmes fleurs d'eau, les concentrations de microcystine-RR et de microcystine-YR ont varié de 11 à 979 et de 9 et 356 µg/g p.s. de biomasse respectivement, et la concentration maximale totale de microcystines a atteint 1 732 µg/g p.s. de biomasse¹².

Exposition aux microcystines

La consommation d'eau potable constitue la principale voie d'exposition des êtres humains aux toxines cyanobactériennes. 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) sont des voies d'exposition moins importantes. On a constaté que des produits contenant des algues bleues d'espèces autres que *Spirulina* prélevées dans des lacs naturels contenaient des toxines de microcystine²³. L'utilisation des douches constituerait une autre voie d'exposition mineure (inhalation). On n'a pas réalisé d'études d'envergure sur la mesure dans laquelle les toxines cyanobactériennes montent dans la chaîne alimentaire (moules et poissons d'eau douce), même si l'on a détecté, au cours d'études récentes, la présence de microcystines fixées par liaison covalente aux tissus de moules

d'eau douce et d'eau salée^{24,25} et dans le foie de saumon²⁶. Des données expérimentales préliminaires indiquent en outre que les toxines, ou leurs produits de transformation, peuvent grimper dans la chaîne alimentaire aquatique. Des poissons qui ont consommé *Daphnia magna* exposée à la microcystine-LR comportant un marqueur radioactif ont accumulé les marqueurs radioactifs dans leur tissu²⁷. L'exposition aux microcystines par ces diverses voies durerait en général moins longtemps dans des pays comme le Canada que dans des pays au climat plus doux comme l'Australie.

L'absorption de la microcystine-LR par contact cutané est peu probable, car elle ne traverse pas facilement les membranes cellulaires²⁸. La microcystine-LR est hydrosoluble et non volatile. L'inhalation et l'absorption par les poumons sont donc peu probables, sauf si la microcystine est présente sous forme d'aérosol aqueux dans l'air²⁹. Même si dans certains cas l'absorption peut se faire par ingestion de produits contenant des algues bleues et, peut-être, de poissons ou de produits de la mer, l'eau potable constitue pour la plupart des gens la principale voie d'exposition à la microcystine-LR.

Les concentrations de microcystine dans la source d'eau non traitée de deux approvisionnements d'eau potable en Alberta (collectivités non précisées), mesurées par bios dosage sensible fondé sur l'inhibition de la phosphatase, ont varié de 0,15 à 4,3 µg/L. Le coefficient de variation (59 %) pour les fluctuations horaires sur une période de 11,5 heures a été élevé. Dans l'eau traitée, les concentrations ont varié de 0,09 à 0,64 µg/L, et le coefficient de variation était faible (10 %). Sur une période de cinq semaines, on a obtenu des coefficients de variation semblables dans les deux types d'échantillons¹⁰.

Au cours de l'été 1993, on a détecté la présence de microcystine-LR (limite de détection de 0,05 µg/L) dans des échantillons d'eau non traitée (maximum de 0,45 µg/L) prélevés dans le lac Shoal, en Ontario, et dans le réseau de distribution d'eau traitée (maximum de 0,55 µg/L) après identification d'une fleur d'eau de *Microcystis aeruginosa* dans le lac Shoal^{30,31}. On n'a pas détecté d'algues toxigènes dans le réservoir Deacon, principale installation de stockage à Winnipeg de l'eau provenant du lac Shoal. En 1995, on a choisi 160 approvisionnements d'eau de surface, situés principalement dans le sud-ouest du Manitoba, pour effectuer une étude sur les algues. On a détecté la présence de microcystine-LR (limite de détection de 0,1 µg/L) dans 70 % des approvisionnements d'eau non traitée, 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. On a analysé les échantillons

d'eau traitée seulement si l'eau non traitée contenait des concentrations 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 semble donc que les méthodes conventionnelles de traitement de l'eau réussissent en partie seulement à éliminer les toxines. Les concentrations de toxines ont varié de <0,1 à 1,0 µg/L dans les échantillons d'eau non traitée et de <0,1 à 0,6 µg/L dans les échantillons d'eau traitée. Les étangs artificiels très utilisés pour la consommation des animaux d'élevage contenaient les plus fortes concentrations de toxine. Deux échantillons prélevés directement d'une fleur d'eau présente dans un étang artificiel servant aux animaux d'élevage contenaient des concentrations de toxines de 1,5 et de 8,0 µg/L. On a aussi signalé une concentration beaucoup plus élevée de microcystine-LR. Le 9 septembre 1996, un échantillon prélevé à la plage Victoria sur le lac Winnipeg (qui sert à des fins domestiques et récréatives) contenait une concentration de microcystine-LR de 300 µg/L, tandis que les concentrations de microcystine-LR étaient tombées à 0,2 µg/L dans un échantillon de suivi prélevé plus tard au cours du mois³². Le vent avait alors concentré une importante masse d'algues à proximité de la rive. Les espèces d'algues dominantes étaient *Aphanizomenon flos-aqua*, *Microcystis flos-aqua* et *Microcystis aeruginosa*.

Au cours d'une étude de suivi, Jones *et al.*³¹ ont analysé la microcystine-LR dans un nombre plus restreint d'approvisionnements d'eau (n = 7) pendant une période plus longue (juin à décembre). Les données ont indiqué que la microcystine-LR était présente pendant toute la période d'échantillonnage et qu'elle pourrait persister longtemps (plus de deux mois) après la chute de la population d'algues. On n'a constaté aucun lien entre les concentrations de microcystine-LR et les densités d'algues bleues ou des variables environnementales comme les caractéristiques physicochimiques ou les charges en nutriments. Les concentrations de microcystine-LR étaient de ≤ 1 µg/L dans tous les échantillons traités.

Au cours de l'été 1997, des prélèvements effectués aux deux semaines dans des étangs artificiels de la région de Peace River, dans le nord de l'Alberta, ont révélé que 11 étangs artificiels sur 12 (tous utilisés à des fins domestiques, habituellement sans traitement) contenaient des concentrations de microcystine-LR de plus de 0,5 µg/L au moins une fois pendant la période d'échantillonnage (du 23 juillet au 20 août) et six présentaient des concentrations de plus de 1,5 µg/L à au moins une occasion³³. Au cours d'une étude de suivi réalisée pendant l'été de 1998, on a prélevé des échantillons aux deux semaines dans 18 étangs artificiels et neuf réservoirs municipaux entre le 7 juillet et le 24 septembre³⁴. L'étude visait à analyser les effets de l'aération des

étangs artificiels et de la charge en nutriments sur les concentrations de toxines. Comparativement à celle de l'année précédente, l'étude a révélé que 97 % des échantillons contenaient des concentrations de microcystine-LR en-dessous de la limite de détection (0,3 µg/L). La concentration maximale signalée était de 0,5 µg/L. Les auteurs n'ont pu évaluer les effets de l'aération ou de la charge en nutriments sur la formation de toxines.

Il est manifeste que les concentrations de microcystine-LR dépassent de temps en temps 0,5 µg/L dans les provinces où l'on a effectué des mesures jusqu'à maintenant. Il y a probablement des microcystines aussi dans les approvisionnements d'eau de surface d'autres provinces canadiennes, mais on ne dispose d'aucune donnée de surveillance. Les données ci-dessus indiquent que la concentration maximale de microcystines totales dans l'eau potable au Canada est probablement de moins de 1 µg/L avec un traitement approprié. Les concentrations moyennes seraient probablement très au-dessous de cette valeur.

L'American Water Works Association Research Foundation (AWWARF) a réalisé, entre 1996 et janvier 1998, une étude de deux ans sur les eaux de 45 services publics aux États-Unis et au Canada³⁵. Sur les 677 échantillons reçus, 80 % contenaient des microcystines (leur présence a été révélée par dosage immunoenzymatique [ELISA]) et dans 4,3 % de ces échantillons, la concentration de microcystines dépassait 1 µg/L. Deux échantillons d'eau traitée seulement contenaient des concentrations de microcystines de >1 µg/L, ce qui indique que dans la plupart des usines de traitement de l'eau visées par l'étude, les méthodes de traitement utilisées à l'époque pour réduire les concentrations de toxines étaient adéquates.

Méthodes d'analyse

L'analyse des microcystines dans l'eau potable est un domaine de recherche nouveau et les « méthodes normalisées » disponibles sont peu nombreuses (pour un bref compte rendu, voir Resson *et al.*⁶). Pour plusieurs méthodes, des essais de collaboration entre laboratoires s'imposent.

Lorsque l'on compare les 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 *détection* – comme le dosage biologique sur la souris, la méthode ÉLISA et le dosage biologique à la phosphatase, qui sont effectués avant purification et qui indiquent la présence de toxines dans les échantillons – des méthodes d'*identification* et de *quantification* des diverses microcystines³⁶. Un échantillon peut souvent contenir plusieurs toxines. Les utilisateurs des méthodes d'analyse reconnaissent qu'une seule méthode ne suffit pas. La

meilleure méthode de surveillance consiste à utiliser une combinaison de méthodes de *détection* et de méthodes chimiques spécifiques plus sophistiquées et coûteuses.

Même si la recommandation est spécifique à la microcystine-LR, il importe de mesurer les microcystines totales, qui comprennent toutes les variantes de microcystines et non seulement la microcystine-LR, présente en liberté dans l'eau et fixée à la surface des cellules cyanobactériennes ou à l'intérieur de celles-ci. Pour préparer l'échantillon, il peut donc être nécessaire d'inclure une sonification (pour dégrader les cellules) et diverses procédures d'extraction afin d'isoler les différentes microcystines (c.-à-d. plus lipophiles ou polaires). Jusqu'à maintenant, les études publiées sur les concentrations de microcystines dans les approvisionnements d'eau n'indiquent généralement pas clairement si l'on a mesuré les microcystines totales ou les microcystines en liberté. Il importe aussi de prélever des échantillons d'un site après traitement.

On trouve dans le commerce des étalons purifiés pour la microcystine-L-R, R-R, Y-R et L-W et les toxines L-F.

Sélection

Le biodosage sur la souris joue encore un rôle important comme méthode de sélection, car il indique le potentiel toxique total de l'échantillon en quelques heures et permet de distinguer les hépatotoxines des neurotoxines¹.

Pour la sélection, beaucoup de scientifiques préfèrent le biodosage aux protéines phosphatases. Cette méthode est sensible aux concentrations de microcystines de moins d'un nanogramme^{29,37,38} et peut être utilisée sur des échantillons de 30 µL. Elle permet d'analyser 100 échantillons par jour³⁹. Elle n'est toutefois pas spécifique aux microcystines et indiquera la présence d'autres substances inhibitrices des protéines phosphatases. Ce qui ne devrait toutefois pas constituer un problème lorsqu'on surveille une région où l'on connaît les espèces qui peuvent être présentes et leurs toxines. Utilisée de concert avec la CLHP, la méthode aide à identifier les fractions toxiques. On utilise aussi une adaptation colorimétrique⁴⁰.

Une méthode ELISA publiée, qui utilise les anticorps polyclonaux, est disponible sur le marché⁴¹. Sa limite de détection est de 0,2 ng/mL. Les méthodes qui utilisent les anticorps monoclonaux ou polyclonaux pour analyser une seule toxine (p. ex., la microcystine-LR) poseront probablement des problèmes de réactivité croisée avec d'autres microcystines. En utilisant la méthode de Chu *et al.*⁴¹, Carmichael⁴² a constaté que la plupart des microcystines, sauf 10 % environ, réagissaient avec l'anticorps. On est en train de mettre au point au Canada (Laboratoires de recherche biologique des Prairies, Edmonton) une méthode utilisant des anticorps

polyclonaux, qui attend d'être validée⁴³. Le Japon est en train de mettre au point une méthode utilisant des anticorps monoclonaux⁴⁴.

Identification

Pour l'identification, Harada³⁹ a utilisé une version améliorée de la microchromatographie en phase liquide sur fritte jumelée à la spectrométrie de masse (CL/SM) avec ionisation par bombardement d'atomes rapides (BAR), dont la limite de détection est de 1 ng⁴⁵. Après isolation et purification par CLHP et par chromatographie sur couche mince (CCM), Sivonen⁴⁶ a attribué une structure à de nombreuses microcystines et à leurs variantes par SMBAR, par SMBAR/SM et par résonance magnétique nucléaire ¹H (RMN).

Séparation et quantification

Il y a plusieurs méthodes de CLHP dont beaucoup sont des variantes des méthodes mises au point par Siegelman *et al.*⁴⁷ et par Harada *et al.*²⁰

Le Water Research Centre (WRc) de Medmenham, au Royaume-Uni, a mis au point une méthode officielle de CLHP avec détection UV dont la limite de détection est de 0,5 µg/L. On a fait l'essai de cette méthode pour l'eau potable et pour les eaux de réservoirs, dans le contexte d'un essai restreint de collaboration avec cinq laboratoires³. Elle doit mesurer uniquement la microcystine-LR en liberté. Elle ne mesure ni la microcystine-LR totale (c.-à-d. en liberté et liée aux cellules) ni les microcystines autres que la microcystine-LR. On pourrait toutefois la modifier pour mesurer les microcystines totales.

En ce qui concerne la séparation et la quantification, la CLHP avec détection à fluorescence ou à chimioluminescence (limite de détection de moins d'un nanogramme) et la micro CL/SM avec BAR (détection d'ions uniques) (limite de détection ~ 1 ng) sont les méthodes privilégiées, en partie parce que leur limite de détection est plus basse que celle de la méthode de CLHP du Royaume-Uni³⁹.

G. Codd (Université de Dundee) utilise une méthode de CLHP avec détection à réseau de photodiodes, mais elle n'a pas été publiée (voir Edwards *et al.*⁴⁸).

Techniques de traitement et gestion

Les techniques appropriées de contrôle des cyanobactéries doivent reposer sur une connaissance de leur écologie (voir ci-dessus). Une bonne technique de contrôle doit refléter une gestion appropriée du bassin hydrographique et du réservoir afin de prévenir la croissance d'algues, un programme de surveillance approprié et de bonnes techniques de traitement pour lutter à la fois contre les cyanobactéries et leurs toxines.

Prévention de la croissance d'algues

Il importe de formuler, dans le cas d'une masse d'eau donnée, une stratégie appropriée pour éliminer les populations d'algues bleues. À quelques exceptions près, les options de gestion sont semblables aux techniques courantes de contrôle des populations d'algues dans les réservoirs. On peut établir une carence de nutriments par une bonne gestion du bassin hydrographique qui limite l'apport de nutriments (p. ex., effluents d'eaux usées, eaux de ruissellement provenant des terres cultivées) et en ajoutant des produits chimiques aux sources d'eau afin de réduire la disponibilité des nutriments (p. ex., sulfate ferrique pour précipiter le phosphore)¹¹. Il peut falloir des années à ces mesures pour devenir efficaces. On peut aussi contrôler la croissance d'algues par des moyens physiques comme l'exclusion de la lumière ou la déstratification artificielle du réservoir¹¹. L'utilisation d'alun et de gypse comme algistats constitue un moyen possible pour les petites collectivités de contrôler à court terme la prolifération d'algues⁴⁹.

L'utilisation d'un algicide comme le sulfate de cuivre n'est pas appropriée comme moyen de contrôle. L'ajout de sulfate de cuivre (ou de chlore) à des fleurs d'eau à maturité éliminera les cyanobactéries, mais provoquera 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 au cours d'une phase de développement ultérieure.¹¹

Surveillance des cyanobactéries et de leurs toxines

Un programme de surveillance approprié est essentiel pour contrôler globalement les cyanobactéries et leurs toxines. Il faut contrôler régulièrement la présence de cyanobactéries dans les approvisionnements d'eau potable que l'on croit ou sait prédisposés aux fleurs d'eau. Il faut aussi suivre de près les conditions météorologiques reconnues comme propices à la formation de fleurs d'eau. L'utilisation de la télédétection pour repérer les conditions favorables peut aider. La surveillance des cyanobactéries (identification des espèces et dénombrement des cellules) devrait porter notamment sur la prise d'eau non traitée, le réservoir et différentes étapes du processus de traitement de l'eau. Ces sites de surveillance pourraient aussi servir de points d'échantillonnage des toxines (identification et quantification) durant les proliférations de cyanobactéries. Le moment, la fréquence et la profondeur de l'échantillonnage devraient tenir compte de l'écologie des cyanobactéries (p. ex., de leur flottabilité dans la colonne d'eau). L'échantillonnage et l'analyse des cyanobactéries s'imposent aussi pour déterminer l'efficacité des programmes de gestion des cyanobactéries dans les bassins hydrographiques et dans les réservoirs.

Pour aider à orienter les mesures à prendre, certains pays utilisent un système de niveaux d'alerte qui

combine de l'information sur le nombre de cellules, sur l'identification des espèces de cyanobactéries et sur les concentrations de toxines^{11,50}. En Australie, un groupe de travail a recommandé aussi que l'on prévienne les distributeurs d'eau lorsque la concentration de cyanobactéries reconnues pour produire des goûts et des odeurs (géosmine ou 2-méthylisobornéol) dépasse 2 000 cellules/mL⁴⁹. On a déterminé que cette valeur était la valeur seuil typique pour les plaintes de consommateurs. En ce qui concerne *Microcystis*, il ne faut toutefois pas associer l'absence de goût et d'odeur à l'absence de toxines. Des études réalisées par Hruday *et al.*⁵¹ ont montré que la présence de microcystine-LR n'était pas liée à la présence de géosmine ou de 2-méthylisobornéol. Dans le contexte d'une étude plus récente sur les eaux des services publics au Canada et aux États-Unis, l'AWWARF a constaté que 82 % des 181 échantillons qui ont donné des résultats positifs pour des problèmes de goût et d'odeur en ont donné aussi pour la présence de microcystines³⁵.

Lorsqu'il y a formation de fleurs d'eau, les distributeurs d'eau doivent établir un plan d'action pour prendre des mesures correctives appropriées. Les mesures les plus courantes comprennent une ou l'ensemble des suivantes : rééchantillonnage ou analyse de la toxicité, recherche d'un autre approvisionnement ou traitement pour éliminer les toxines.

L'annexe A contient un organigramme qui illustre les facteurs dont il faut tenir compte pendant les incidents de prolifération et des recommandations sur les mesures qu'il est possible de prendre pour s'attaquer aux problèmes.

Techniques de traitement

Le processus de traitement de l'eau potable constitue l'étape finale du contrôle des cyanobactéries et de leurs toxines.

Les usines de traitement classique des eaux de surface, qui utilisent la coagulation (sulfate d'aluminium, sulfate ferrique), la clarification et la filtration, éliminent efficacement les cellules cyanobactériennes⁵². Il faut éviter les produits chimiques ou les conditions qui peuvent provoquer la lyse des cellules cyanobactériennes afin de les empêcher de libérer leurs toxines. Pour éliminer les cellules cyanobactériennes du cycle du traitement, il faut accroître la fréquence de l'élimination des boues et du lavage à contre-courant du filtre. Des études récentes ont montré que la libération de toxines par les boues dépend de la durée de conservation des boues dans des bassins de sédimentation. Une étude pilote réalisée par Drikas *et al.*⁵³ a montré que les cellules ne libéraient pas de toxines supplémentaires pendant le traitement, qui n'élimine toutefois pas les toxines extracellulaires déjà présentes dans l'eau. Au cours de l'étude, le nombre total de cellules contenues dans la

boue a diminué de 50 % après deux jours, mais la libération de toxines a commencé immédiatement pour atteindre 100 % après les deux jours en question. Les concentrations de toxines avaient diminué d'environ 80 % après huit jours et les toxines avaient entièrement disparu après 13 jours. Il faut en général évaluer l'évacuation finale des déchets de l'usine de traitement d'eau pour garantir qu'ils ne sont pas recyclés et que les cellules cyanobactériennes ne seront pas réintroduites dans la source d'eau.

Les procédés classiques de traitement des eaux de surface ne réussissent à éliminer ou à détruire qu'une partie seulement des toxines cyanobactériennes⁵⁴. Certains procédés d'oxydation, ainsi que le charbon actif, se sont toutefois révélés efficaces. Lambert *et al.*⁵⁵ ont étudié l'élimination des microcystines de l'eau potable à deux usines de traitement grandeur nature en Alberta qui combinaient la coagulation et la sédimentation, la filtration sur milieu jumelé et l'ajout de chlore à la filtration par charbon activé granulaire (CAG) ou charbon actif en poudre (CAP). Les deux procédés ont réussi en général à éliminer plus de 80 % des microcystines de l'eau non traitée, surtout lorsqu'elle en contenait des concentrations élevées. On a toutefois observé aux deux établissements de traitement une concentration résiduelle de 0,05-0,2 µg équivalents de microcystines-LR/L. Des études plus récentes réalisées par Chow *et al.*⁵⁶ au sujet des effets des produits chimiques de traitement, de l'agitation mécanique et de la floculation sur des cellules de *Microcystis aeruginosa* menées par essais de floculation et dans une usine pilote grandeur nature (coagulation/floculation-sédimentation-filtration) ont démontré que les cellules ne subissaient aucun dommage ou ne libéraient pas de microcystines supplémentaires dans l'eau traitée. Les résultats d'expériences de filtration lente sur sable (pendant plusieurs heures) montrent qu'il y a élimination d'une partie des toxines cyanobactériennes par biodégradation⁵⁷. Comme les toxines ne sont pas volatiles, ni l'aération ni le stripage à l'air ne réussiraient à éliminer les toxines solubles⁷. Des études plus poussées sur les grands filtres à sable lents et sur les procédés de filtration biologique s'imposent.

En ce qui concerne l'oxydation, la concentration résiduelle d'oxydant est importante. À un pH de moins de 8, le chlore aqueux (présent principalement sous forme d'acide hypochloreux) à une concentration de 15 mg/L détruira les microcystines. Lorsque le pH est neutre, la chloration est efficace à condition qu'il reste une concentration résiduelle de chlore d'au moins 0,5 mg/L après un contact de 30 minutes. L'élimination diminue aussi considérablement lorsque le pH dépasse 8 parce que 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 que l'on maintienne une

concentration d'ozone résiduel de 0,05 à 0,1 mg/L. La concentration d'ozone résiduel est importante parce que la concentration totale de carbone organique a un effet sur l'efficacité de l'ozone. Le biodosage sur la souris pour la toxicité aiguë indique qu'il ne se forme pas de nouvelles toxines aiguës pendant 24 heures. Pour ce qui est des autres traitements par oxydation, le permanganate de potassium à 1 mg/L s'est révélé efficace, mais des recherches plus poussées s'imposent. Le peroxyde d'hydrogène, la chloramine et le dioxyde de chlore n'ont pas été efficaces et les rayons ultraviolets au point d'utilisation n'étaient pas assez puissants^{52,58}. On a étudié récemment au Royaume-Uni l'efficacité de diverses techniques d'oxydation sur l'eau non traitée ou clarifiée⁵². Cette étude a démontré que certains procédés d'oxydation étaient plus efficaces lorsqu'on ajoutait l'oxydant à l'eau traitée, probablement parce que l'eau non traitée contenait des concentrations plus élevées de matières organiques/inorganiques qui réagissent avec l'oxydant et réduisent la dose disponible pour l'élimination efficace des toxines. Le permanganate de potassium et l'ozone à des doses de 2 mg/L se sont montrés très efficaces pour éliminer la microcystine-LR de l'eau traitée. Dans des conditions semblables à celles qui régissent la désinfection de l'eau potable, l'étude a révélé que la chloration était efficace à un pH de moins de 7. Lorsque le pH est plus élevé, il fallait toutefois prolonger le temps de contact, ce qui peut être pertinent dans les réseaux de distribution à longue distance qui gardent des résidus de chlore. Des données ont montré aussi que les oxydants provoquaient la lyse des cellules et, par conséquent, la libération de toxines. Les auteurs ont toutefois conclu que sauf dans le cas de la chloramine, il est possible d'éliminer les toxines intracellulaires et extracellulaires en utilisant suffisamment d'oxydant.

On a étudié la capacité d'adsorption de la microcystine-LR de diverses sources de charbon activé. Les produits à base de bois se sont révélés les plus efficaces en raison du volume important des mésopores. On a constaté qu'un traitement avec 25 mg/L de CAP à base de bois et un temps de contact de 30 minutes pouvaient réduire la concentration de microcystine-LR de 50 à <1 µg/L⁵⁸. Les études d'efficacité doivent tenir compte de la présence dans l'eau d'autres substances (p. ex., composés organiques naturels) que le CAP peut absorber. Des études réalisées par Jones *et al.*⁵⁴ ont révélé que la coagulation par l'alun conjugué au CAP avait un effet défavorable sur l'élimination des toxines. Le CAP peut éliminer les toxines avec beaucoup d'efficacité, mais il faut toutefois des doses très fortes de CAP et la durée du contact est très importante. Divers filtres CAG semblent aussi éliminer efficacement la microcystine-LR. Certaines études ont montré que le CAG a une durée limitée⁷, mais d'autres ont révélé que même lorsqu'ils sont déjà épuisés par l'élimination du carbone organique dissous,

les filtres CAG réussissent à réduire efficacement les concentrations de microcystines-LR pour les faire tomber de 20 à 1 µg/L^{54,58}. Des études menées en laboratoire ont indiqué qu'un CAG actif sur le plan biologique pourrait éliminer complètement les toxines par adsorption et biodégradation à condition que le contact dure assez longtemps pour que l'activité biologique ait lieu⁵².

Des procédés de filtration sur membrane comme la microfiltration et la nanofiltration peuvent aussi éliminer efficacement à la fois les cellules de cyanobactéries et les toxines intracellulaires⁷. Des études réalisées par Hart et Stott⁵⁹ et par Muntisov et Trimboli⁶⁰, qui portaient sur de l'eau naturelle dans laquelle on avait injecté des microcystines à des concentrations variant de 5 à 30 µg/L, ont révélé que la nanofiltration ramenait les concentrations de toxines à moins de 1 µg/L. L'essai de membranes d'osmose inverse (2 500–3 500 kPa) pour l'élimination de microcystine-LR et de microcystine-RR de l'eau du robinet a produit des taux de rétention moyens de 96,7 à 99,6 %. Les concentrations initiales dans le résidu variaient de 70 à 130 µg/L⁶¹.

Les traitements qui visent à éliminer les toxines pour les réseaux domestiques et communautaires d'envergure restreinte constituent une question d'intérêt dans les régions rurales frappées par la prolifération répétée de ces microorganismes. Lawton *et al.*⁶² ont fait l'essai de trois systèmes différents de filtration par cartouche pour l'élimination des toxines et des cellules d'algues. Dans tous les systèmes, le traitement reposait sur le charbon activé et la résine échangeuse d'ions. On a constaté que l'élimination des cellules dépendait de leurs caractéristiques morphologiques et qu'environ 60 % des cellules filamenteuses étaient éliminées contre 10 % seulement des cellules uniques de microcystines. L'élimination des toxines (des tests ont porté sur les variantes LR, LY, LW et LF) a varié de 32 à 57 % lorsqu'on a utilisé des cartouches neuves, pour grimper à 88 % après trois passages répétés de la même eau dans le même filtre. Il peut aussi y avoir lyse des cellules qui restent sur les filtres. L'analyse de filtres qui avaient atteint la moitié de la durée utile indiquée par le fabricant a indiqué une réduction de 15 % de l'élimination d'une toxine (LR) dans le cas d'une des marques testées. Des travaux plus poussés de recherche et de mise au point s'imposent si l'on veut que ces filtres conviennent pour l'élimination de la microcystine des eaux utilisées à des fins domestiques.

En résumé, le traitement privilégié lorsque c'est possible consiste à utiliser un oxydant comme l'ozone, le permanganate de potassium ou le chlore, et le CAG activé biologiquement après l'élimination des cellules d'algues. Les concentrations spécifiques des divers agents utilisés pendant le traitement dépendent de la qualité physique, chimique et biologique de l'eau à

traiter^{46,52,58}. Des recherches plus poussées sur les méthodes de traitement domestique s'imposent.

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 êtres humains dans diverses régions du monde depuis plus de 100 ans.

Effets sur les êtres humains

Eaux utilisées à des fins récréatives

On a établi un lien entre l'utilisation à des fins récréatives d'eaux contaminées par des proliférations cyanobactériennes comme *Anabaena* et *Microcystis* et des maladies (mais aucun décès) chez les êtres humains en Amérique du Nord, au Royaume-Uni, aux Pays-Bas et en Australie. Au Canada, on a signalé en Saskatchewan des cas de maladie, dont les symptômes comprenaient des crampes abdominales, des vomissements, la diarrhée, la fièvre, des céphalées, des douleurs musculaires et articulaires et la faiblesse⁶³. On a signalé aussi ailleurs des symptômes semblables, ainsi qu'une irritation cutanée, une rougeur oculaire douloureuse, des maux de gorge et des réactions allergiques⁶. Les cas déclarés de maladie sont peu nombreux, mais comme elles sont difficiles à diagnostiquer, ces maladies peuvent être plus courantes que cela ne semble être le cas⁶⁴.

L'exposition s'est faite principalement par contact cutané et par ingestion par inadvertance d'eau contenant des cyanobactéries dispersées. Même si les toxines cyanobactériennes sont très toxiques pour les animaux, il est rare que l'on signale chez les êtres humains des maladies aiguës graves attribuables à ces toxines. C'est probablement parce que l'ingestion d'écume d'algues rebute aux êtres humains.

Au cours d'un incident survenu récemment au Royaume-Uni dans le cadre d'un exercice militaire mené 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 à la bouche et de céphalées. Deux d'entre elles ont été hospitalisées et ont été victimes d'une pneumonie atypique, même s'il se peut que la pneumonie ait été causée par l'inspiration de matière d'algue qui a pu contenir aussi des lipopolysaccharides. Les concentrations d'enzymes sériques indiquant une atteinte hépatique étaient élevées. On a identifié la microcystine-LR dans la matière de la fleur d'eau⁶⁵.

Eau potable

Aux États-Unis et en Australie, on a incriminé plusieurs toxines cyanobactériennes différentes dans des

incidences de maladies chez les êtres humains, survenues souvent après le traitement au sulfate de cuivre de proliférations d'algues dans certains approvisionnements d'eau municipaux^{6,66,67}. Même si l'on n'a pas établi de lien direct de cause à effet dans la plupart des éclosions de maladies, les preuves indirectes de la présence de proliférations de cyanobactéries dans les zones de prise d'eau ou dans les réservoirs à ciel ouvert étaient nombreuses. Même si, dans la plupart des cas, on a identifié les cyanobactéries et parfois les toxines incriminées, on n'a établi dans aucun des cas les concentrations de toxines associées à la maladie. Dans le cas d'au moins une éclosion survenue en 1979⁶⁸ à Palm Island, en Australie, on a suggéré comme autre cause possible une intoxication aiguë au cuivre⁶⁹, même si une étude plus poussée a révélé qu'une toxine produite par une espèce d'algues bleues (*Cylindrospermopsis raciborskii*) a pu être l'agent pathogène⁷. Dans le cas en question, des plaintes portant sur le mauvais goût et la mauvaise odeur d'un approvisionnement d'eau, que l'on a attribués à une prolifération de cyanobactéries, a incité les autorités à traiter le réservoir au sulfate de cuivre. En moins d'une semaine, de nombreux enfants étaient aux prises avec une hépatointérite sérieuse et il a fallu hospitaliser 140 enfants et 10 adultes. On n'a signalé aucun décès.

Des lésions hépatiques possibles, indiquées par des élévations importantes 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 au sulfate de cuivre (Malpas Dam, Armidale, en Australie) par rapport aux personnes qui consommaient de l'eau potable non contaminée⁷⁰.

Jusqu'à maintenant, l'éclosion la plus mortelle attribuée à l'exposition des toxines cyanobactériennes présentes dans l'eau potable est survenue au Brésil en 1988⁷¹. Une immense fleur d'eau cyanobactérienne a fait son apparition dans un réservoir que l'on venait d'inonder derrière un barrage et a causé plus de 2 000 cas de gastroentérite. On a signalé 88 décès (surtout des enfants) en 42 jours. Il semble que la prolifération de cyanobactéries provenait de biomasse en décomposition et d'autres conditions qui prévalaient dans la région du réservoir nouvellement inondé.

On a signalé plus récemment, soit en février 1996, des cas d'insuffisance hépatique et de décès chez des patients qui ont subi une hématolyse à une clinique brésilienne de dialyse où l'on a constaté que le dialyseur était contaminé par des fragments de cellules d'algues microscopiques et de cyanobactéries, et probablement par la microcystine-LR, une toxine^{72,73}. On a signalé qu'environ 50 % des patients dialysés exposés au dialysat contaminé étaient morts. Il n'y avait toutefois pas de renseignements disponibles sur le type, l'abondance et la toxicité des cyanobactéries présentes dans le réservoir

d'où provenait l'eau en cause pendant la période en question. Une histologie du foie a confirmé la présence d'une hépatite toxique aiguë semblable à celle qu'on a observée chez des animaux exposés aux microcystines. L'analyse de tissus hépatiques et d'échantillons de sérum de patients, ainsi que du filtre au charbon de l'appareil de dialyse, ont confirmé la présence de trois dérivés des microcystines (YR, LR et AR). On a conclu qu'un traitement supplémentaire inadéquat de l'eau utilisée dans la dialyse à la clinique était la cause la plus probable de la présence des toxines dans le dialysat et que l'exposition à ces microcystines par voie intraveineuse a beaucoup contribué au décès des patients en cause⁷⁴. En se fondant sur une analyse plus poussée du phytoplancton provenant du centre de dialyse, ainsi que d'échantillons de tissus et de sérums provenant des 76 victimes et d'autres patients touchés, on a estimé que l'eau utilisée dans le traitement par dialyse contenait 19,5 μg de microcystine/L⁷⁴. Comme les patients en dialyse sont vulnérables aux dialysats contaminés, il faut informer les centres de dialyse si l'eau de leur usine de traitement locale est vulnérable aux proliférations d'algues bleues afin qu'ils puissent prévoir un traitement supplémentaire de l'eau au besoin. Il faut aussi contrôler continuellement le rendement de l'usine de traitement et de l'équipement pour assurer que l'approvisionnement d'eau est adéquat.

Zilberg⁷⁵ a posé comme hypothèse que la gastroentérite aiguë saisonnière infantile que l'on a observée au cours de la période de 1960 à 1965 à Salisbury, en Rhodésie (maintenant Harare, au Zimbabwe), pourrait être reliée à des proliférations annuelles d'algues dans le lac qui sert 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 Cameron⁷⁶ ont signalé 26 cas (âgés de 1 à 64 ans) présentant tout un éventail de symptômes associés à l'exposition, en 1991-1992, à des eaux de rivière ou de pluie (River Murray, en Australie) stockées dans des bassins ouverts et contenant des fleurs d'eau d'*Anabaena*. Diarrhée, vomissements, nausées, faiblesse musculaire, maux de gorge, difficultés respiratoires et céphalées étaient au nombre des symptômes qui ont suivi l'ingestion (eau potable). Après un contact cutané (activités récréatives) ou un contact avec la muqueuse buccale, on s'est plaint notamment d'éruptions cutanées, de démangeaisons, de l'apparition d'ampoules à la bouche et d'une irritation des yeux. Des études cas-témoins supplémentaires se poursuivent dans la même région.

On a signalé des proliférations de cyanobactéries dans des eaux de surface utilisées pour la consommation en Chine, où l'incidence des cancers primitifs du foie est élevée. On manque toutefois de données⁶. Au cours

d'une étude épidémiologique sur le cancer primitif du foie chez les êtres humains réalisée par Yu⁷⁷ dans le comté de Qidong, en Chine, on a constaté que l'incidence de cancers du foie était environ huit fois plus élevée chez les personnes qui consommaient de l'eau d'étang ou de fossé que chez celles qui consommaient de l'eau de puits (on n'a pas établi les concentrations de toxines d'algues). Des analyses épidémiologiques plus poussées s'imposent pour clarifier le rôle possible (supplémentaire) des microcystines dans cette maladie à étiologie multifactorielle. L'infection par le virus de l'hépatite B et l'exposition alimentaire à l'aflatoxine B₁ sont deux facteurs de risque connus pour le cancer du foie et présents dans la même région de la Chine.

Junshi⁷⁸ n'a pas observé de lien semblable au cours d'une étude épidémiologique plus importante sur le cancer primitif du foie réalisée dans 65 comtés de la Chine. Au cours de cette étude, on a établi un lien direct entre l'utilisation d'eau de puits profonds et le cancer du foie, ce qui va à l'encontre des résultats de Yu⁷⁷.

Au cours d'une étude épidémiologique plus récente menée dans la ville de Haimen (province du Jian-Su) et dans le comté de Fusui (province du Guangxi) en Chine, Ueno *et al.*⁷⁹ ont constaté qu'il y avait un lien étroit entre l'incidence de cancers primitifs du foie et l'utilisation d'eau potable provenant d'étangs et de fossés. On a combiné la méthode ELISA et la chromatographie d'affinité sur colonne pour détecter (limite de détection de 0,05 µg/L) de très faibles concentrations de microcystines dans les échantillons d'eau non purifiés ni concentrés (pour la méthode, voir Nagata *et al.*⁸⁰). En septembre 1993, trois échantillons d'eau de fossé sur quatorze contenaient des microcystines en concentrations variant de 0,09 à 0,46 µg/L. On a ensuite prélevé des échantillons mensuels dans cinq étangs/fossés, deux rivières, deux puits peu profonds et deux puits profonds pendant toute l'année 1994. Les données ont montré que les concentrations de microcystines les plus élevées apparaissaient de juin à septembre, et que leur plage s'étendait 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 de 0,1, 0,16 et 0,068 µg/L respectivement. On n'a pas détecté de microcystines dans l'eau de puits profonds. Une étude semblable réalisée sur 26 échantillons d'eau potable dans la province du Guangxi a montré qu'il y avait souvent des microcystines dans l'eau d'étang/de fossé et de rivière, mais on n'en a pas détecté dans les eaux de puits profonds ou peu profonds.

Pilotto *et al.*⁸¹ ont étudié le lien entre l'exposition possible à des toxines cyanobactériennes présentes dans l'eau potable au cours de la grossesse et des

résultats à la naissance. Les chercheurs ont analysé plus de 32 000 naissances vivantes simples entre 1992 et 1994 dans 156 collectivités australiennes. Même s'ils ont observé des différences importantes entre l'exposition aux cyanobactéries (estimation fondée sur la présence de cyanobactéries et la densité des cellules dans l'eau potable) au cours du premier trimestre et les incidences de faible et de très faible poids à la naissance, les résultats n'indiquent pas l'existence d'un lien de cause à effet avec les cyanobactéries. On n'a observé aucune relation de dose à réponse. Les auteurs ont conclu que l'étude ne démontrait pas clairement l'existence d'un lien entre la contamination de réserves d'eau potable par des cyanobactéries et des issues indésirables de la grossesse.

Comme les fleurs d'eau cyanobactériennes ont tendance à réapparaître régulièrement dans le même approvisionnement d'eau, certaines populations humaines sont exposées à l'ingestion répétée de toxines cyanobactériennes.

Effets sur les animaux

Cinétique et métabolisme

Quoique si l'ingestion constitue la voie la plus probable d'exposition aux toxines cyanobactériennes, les études pharmacocinétiques au cours desquelles on a administré des microcystines par voie orale sont peu nombreuses. Après avoir injecté à des souris et à des rats, par voie intraveineuse ou intrapéritonéale, des doses sublétales de microcystines radiomarquées de façons différentes, environ 70 % des toxines se sont retrouvées rapidement dans le foie^{82,87}, tandis que l'administration par voie orale a entraîné une absorption de moins de 1 % dans le foie de souris⁸⁷. Même si 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 de la muqueuse intestinale par le système de transport des acides biliaires^{88,89}. On a constaté aussi que la microcystine-LR traversait l'iléon par l'intermédiaire du système de transport multispécifique des ions organiques⁹⁰. Dans les hépatocytes, la microcystine-LR forme une liaison covalente avec une protéine de 40 000 daltons (la phosphatase protéique 2A et peut-être la phosphatase protéique 1) dans le cytosol⁹¹ (pour un résumé, voir Fujiki et Suganuma⁹²). Des congénères de la microcystine plus hydrophobes que la microcystine-LR peuvent traverser des membranes cellulaires par d'autres mécanismes comme la diffusion^{7,13}.

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. L'organisme a excrété rapidement environ 9 % de la dose par voie urinaire et le reste a été excrété lentement (~1 % par jour) par voie fécale⁸⁵. Si l'on se fonde sur 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 microcystines⁸³. On a observé l'apparition et la disparition en fonction du temps de pics supplémentaires qui correspondaient, croit-on, aux produits de détoxification, dans l'urine, dans les fèces et dans les fractions de cytosol du foie⁸⁵. On n'a toutefois pas déterminé la structure de ces produits. À la suite d'une injection intrapéritonéale de microcystine-LR, on a identifié trois produits métaboliques chez les rats et les souris, dont des conjugués de glutathione et de cystéine et un conjugué avec l'ADDA diène oxydé⁹³.

Toxicité aiguë

La microcystine-LR est extrêmement toxique après une exposition aiguë. Des animaux qui avaient consommé de l'eau contenant beaucoup (>10⁶/mL) de cellules cyanobactériennes¹ sont morts.

La DL₅₀ par voie intrapéritonéale est d'environ 25 à 150 µg/kg p.c. chez la souris. La DL₅₀ par voie orale (gavage) est de 5 000 µg/kg p.c. chez la souris, mais elle est plus élevée chez le rat^{94,95}. Ce qui indique que, même par voie orale, la microcystine-LR est extrêmement toxique pour les souris après une exposition aiguë. L'injection intrapéritonéale est de 30 à 100 fois plus toxique. Ainsi, une quantité importante de microcystine-LR échappe aux effets des peptidases dans l'estomac et est absorbée. On a aussi signalé que la DL₅₀ par voie orale d'un extrait toxique d'*Anabaena* chez les souris était d'au moins 170 fois plus élevée que la DL₅₀ par voie intrapéritonéale du même extrait⁹⁶. Yoshida *et al.*⁹⁷ ont signalé que la DL₅₀ de la microcystine-LR administrée par voie orale (gavage) (10,0 mg/kg p.c.) chez les souris âgées de six semaines était 167 fois plus élevée que la valeur intrapéritonéale (65,4 µg/kg p.c.). Sur le plan histologique, les deux voies d'administration ont produit des types semblables de lésion aux hépatocytes, y compris l'hémorragie et la nécrose.

La DL₅₀ par voie intrapéritonéale de plusieurs des microcystines les plus courantes (microcystines-LA, -YR et -YM) est semblable à celle de la microcystine-LR, mais la DL₅₀ par voie intrapéritonéale de la microcystine-RR est environ 10 fois plus élevée^{98,99}. Comme la lipophilie et la polarité des différentes microcystines présentent toutefois des différences, on ne peut pas présumer que la DL₅₀ par voie intrapéritonéale permet de prédire la toxicité après administration par voie orale.

Les microcystines sont principalement des hépatotoxines. Après une exposition aiguë par injection intraveineuse ou intrapéritonéale de microcystines, 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 sinusoidale, une augmentation du poids du foie causée par une hémorragie intrahépatique, un choc hémodynamique, une insuffisance cardiaque et la mort. Les reins et les poumons sont aussi atteints¹⁰⁰. Les dommages à l'intestin sont attribuables au transport des microcystines à travers les cellules de la muqueuse intestinale, qui sont endommagées de la même façon que les hépatocytes⁸⁹.

Toxicité subchronique et chronique

Au cours d'une étude réalisée à Quintiles par le WRC au Royaume-Uni, on a administré de la microcystine-LR par voie orale, soit par gavage, à des groupes de 15 souris mâles et de 15 souris femelles, à raison de 0, 40, 200 ou 1 000 µg/kg p.c. par jour pendant 13 semaines. Le niveau sans effet nocif observé (NOAEL) pour la toxicité hépatique s'est établi à 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 changements hépatiques, y compris une inflammation chronique, une dégénérescence des hépatocytes et des dépôts d'hémossidérine. Chez les souris mâles, aux deux doses les plus élevées, l'alanine et l'aspartate aminotransférase ont augmenté considérablement, la γ -glutamyl-transférase sérique a baissé légèrement et l'on a observé une réduction faible mais significative des concentrations totales de protéines et d'albumines sériques. La phosphatase alcaline a aussi augmenté de façon significative à la dose la plus élevée. Chez les souris femelles qui ont reçu la dose la plus élevée, on a observé une augmentation des concentrations de phosphatase alcaline et d'alanine aminotransférase seulement. La prise de poids corporel a diminué chez les souris mâles de tous les groupes traités, mais on n'a pas constaté de relation dose-réponse et le poids corporel final a diminué de 7 % seulement⁹⁴.

On a réalisé une autre étude en administrant à des souris (410 au total) par voie orale des doses répétées d'extraits de *Microcystis aeruginosa* 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 au moyen de la valeur de la DL₅₀, qui équivaut approximativement 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 doses les plus élevées. 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. Chez les mâles, le poids du foie a augmenté considérablement par rapport au poids

corporel à la dose précédant la dose la plus élevée, mais pas à la dose la plus élevée, en raison de la mortalité élevée et de la perte de poids corporel. Aux deux doses les plus élevées, les concentrations d'alanine aminotransférase étaient élevées après cinq et neuf semaines et une lésion hépatique chronique active était évidente après une exposition maximale de 13 semaines. Après des périodes d'exposition plus longues aux doses moins élevées, on n'a observé aucun changement pathologique dans le foie qui serait directement lié à l'effet de la toxine sur les hépatocytes et l'on n'a constaté la présence d'aucun néoplasme hépatique. On a aussi observé certains signes d'augmentation du nombre des bronchopneumonies avec l'augmentation des concentrations de l'extrait¹⁰¹.

Ito *et al.*¹⁰² ont étudié les effets de l'âge sur le foie de souris jeunes et de souris âgées auxquelles on a administré de la microcystine-LR par voie orale. Vingt-neuf souris ICR mâles de 32 semaines (âgées) et 12 de cinq semaines (jeunes) ont reçu 500 µg/kg p.c. par intubation gastrique. Chaque groupe comportait trois témoins non exposés (âgés et jeunes). On a sacrifié des animaux de chaque groupe après deux, cinq et 19 heures et l'on en a examiné le foie et l'intestin grêle. On a constaté, chez 62 % des souris âgées, la présence d'une lésion hépatique que l'on ne pouvait distinguer, sur le plan pathologique, des lésions hépatiques causées par l'administration intrapéritonéale, ce qui indique que le foie a incorporé la microcystine-LR après l'administration par voie orale. Le dommage le plus sérieux causé à l'intestin grêle des souris âgées a été observé dans le duodénum. On n'a par ailleurs observé aucun effet, ni dans le foie, ni dans l'intestin, chez les souris jeunes (cinq semaines). On n'a observé aucune différence importante dans les résultats de tests biochimiques (glutamate-oxaloacétate transaminase et glutamate-pyruvate transaminase) ou à l'examen morphologique du foie des souris âgées et des souris jeunes non traitées, ce qui indique que le foie des souris âgées était sain. D'autres tests pratiqués chez les souris âgées et les souris jeunes indiquent que l'absorption de la toxine par la voie orale est reliée à l'état des cellules épithéliales de surface et à l'imperméabilité des capillaires des villosités de l'intestin grêle et qu'il y a un lien solide avec l'âge.

Heinze¹⁰³ a étudié la toxicité de la toxine de microcystine-LR pure dans l'eau potable de rats (10 animaux par groupe) exposés à quelque 50 ou 150 µg/kg p.c. par jour pendant 28 jours. On a observé des augmentations liées à la dose du poids relatif du foie et des taux d'enzymes sériques (lactate déshydrogénase et alcaline phosphatase). L'examen histologique des tissus a révélé clairement des dommages au foie, qu'on a définis comme « hépatose toxique ». Les dommages étaient plus graves à la dose plus élevée.

Dans une étude mal décrite, Fitzgeorge *et al.*¹⁰⁴ ont signalé que l'instillation intranasale de microcystine-LR chez les souris a provoqué une nécrose étendue de l'épithélium de la muqueuse nasale dans les zones olfactive et respiratoire. La nécrose a évolué jusqu'à la destruction d'importantes superficies de muqueuse, pour atteindre le niveau des vaisseaux sanguins profonds. La DL₅₀ signalée pour cette voie d'absorption était la même que la DL₅₀ de l'administration par voie intrapéritonéale (250 µg/kg p.c.) et on a observé des lésions au foie liées à la dose. Les auteurs ont aussi signalé des dommages hépatiques cumulatifs à la suite de l'administration répétée de doses par voie intranasale. Même si l'on n'a observé aucune augmentation du poids du foie à la suite de l'administration d'une seule dose de 31,3 µg/kg p.c., l'administration quotidienne répétée de la même dose pendant sept jours a provoqué une augmentation de 75 % du poids du foie, effet qui ressemble de très près à celui qu'on a observé à la suite de l'administration d'une seule dose intranasale de 500 µg/kg p.c. (augmentation de 87 % du poids du foie).

Au cours d'une étude subchronique, on a administré des extraits de *Microcystis aeruginosa* dans l'eau potable de groupes de cinq porcs pendant 44 jours, à des niveaux de dose de microcystine équivalant à 0, 280, 800 et 1 310 µg/kg p.c. par jour (la concentration de l'extrait utilisé était fondée sur sa DL₅₀ par voie intrapéritonéale chez les souris). L'extrait contenait au moins sept variantes de microcystines, la microcystine-YR produisant provisoirement le pic principal. La fonction hépatique (démontrée par les modifications de la γ -glutamyl-transpeptidase, de la phosphatase alcaline, de la bilirubine totale et de l'albumine plasmatique) a changé aux deux doses les plus élevées, tandis que l'on a observé des lésions hépatiques visibles aux trois doses. Un seul porc a été atteint à la dose la plus faible. Il peut donc être approprié de considérer que le niveau de dose de 280 µg/kg p.c. par jour constitue le niveau le plus faible avec effet nocif observé (LOAEL). Il est possible de calculer des LOAEL d'un ordre de grandeur semblable (variant de 90 à 270 µg/kg p.c. par jour) en se fondant sur la teneur en toxines de l'écume cyanobactérienne déshydratée calculée par d'autres laboratoires¹⁰⁵.

Au cours 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. On a augmenté progressivement les niveaux de dose pour les porter de 20 µg/kg p.c. à 80 µg/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, ni aucun changement histopathologique dans le foie ou dans d'autres organes des animaux traités¹⁰⁶. Même s'ils sont préliminaires, ces résultats, semblent

indiquer que la NOAEL de la microcystine-LA chez les singes vervet n'est pas inférieure et pourrait même être supérieure à la NOAEL de la microcystine-LR observée chez les souris⁹⁴.

Ueno *et al.*¹⁰⁷ ont exposé des souris femelles BALB-c à 20 µg de microcystine-LR/L dans l'eau potable pendant sept jours par semaine, *ad libitum* pendant 18 mois (567 jours). Les souris témoins ont reçu de l'eau seulement. On a sacrifié des animaux à trois, six, 12 et 18 mois. On a calculé à 35,5 µg par souris l'apport cumulatif moyen de microcystine-LR après 18 mois d'exposition. On n'a observé aucune toxicité chronique ou accumulation de toxine dans le foie, ni aucune absorption au niveau des intestins au cours de l'étude. Le traitement n'a eu aucun effet sur la consommation d'eau ou d'aliments et l'on n'a constaté aucun changement relié au traitement dans un vaste éventail de paramètres d'essai.

Toxicité pour la reproduction et le développement

Afin d'étudier les effets de la microcystine-LR sur le développement embryonnaire et fœtal de la souris, on a administré à quatre groupes de 26 souris femelles de souche Cr1:CD-1(ICR)BR, une fois par jour et par voie orale (gavage), une solution aqueuse de microcystine-LR du 6^e au 15^e jour (inclusivement) de gestation. Les niveaux de dose étaient de 0, 200, 600 et 2 000 µg/kg p.c. par jour. Au 18^e jour de gestation, on a sacrifié les femelles et procédé à une nécropsie. On a pesé les fœtus, déterminé leur sexe et les a examinés minutieusement afin de détecter toute anomalie externe, viscérale et squelettique. On a établi un lien entre le traitement à 2 000 µg/kg p.c. par jour seulement et une toxicité et une mortalité maternelles; sept des 26 femelles sont mortes et l'on en a sacrifié deux prématurément parce qu'elles présentaient des signes de souffrance. On n'a constaté aucun effet manifeste du traitement sur la taille des portées, sur le taux de résorption ou sur la distribution du sexe des fœtus vivants à aucun niveau de dose. Le poids moyen des fœtus a été sensiblement moins élevé chez les sujets qui ont reçu la dose élevée et le taux de fœtus présentant un retard d'ossification squelettique a augmenté. Dans les deux cas, ces résultats sont associés couramment à une toxicité maternelle. D'autre part, on n'a pas observé d'augmentation du taux d'anomalies fœtales à aucune dose. La dose sans effet pour tout aspect de la toxicité sur le développement a été de 600 µg/kg p.c. par jour^{94,95}.

Afin d'examiner l'effet d'un extrait toxique de *Microcystis aeruginosa* sur la reproduction chez les souris, Falconer *et al.*¹⁰¹ ont exposé des parents mâles et femelles à une solution diluée à un quart de l'extrait (environ 2 800 µg/kg p.c. par jour) administrée dans l'eau de consommation durant les 17 semaines qui ont précédé l'accouplement, durant toute la gestation, ainsi qu'au

début de la lactation. Les chercheurs n'ont observé aucun effet sur la fertilité, sur la mortalité embryonnaire ou sur la tératogénicité, sauf une réduction d'environ 10 % de la taille du cerveau chez les nouveau-nés par rapport aux témoins.

Promotion des tumeurs

On a observé des signes de promotion des tumeurs au cours d'études sur des animaux. Au cours d'un biodosage de cancérogenèse en deux étapes modifié effectué sur la peau de souris, on a appliqué du diméthylbenzanthracène (DMBA) (500 µg) dans de l'acétone sur la peau de quatre groupes sur six 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), et de l'eau potable ou 4) de l'huile de croton et 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 le début, des tumeurs et des ulcères cutanés importants étaient visibles chez les souris traitées au DMBA qui ont reçu un extrait de *Microcystis*. La formation de tumeurs a été moins importante chez les trois autres groupes de souris traitées au DMBA. Le poids moyen des tumeurs cutanées par souris était beaucoup plus élevé chez les souris traitées au DMBA qui ont reçu l'extrait de *Microcystis* que chez les souris traitées au DMBA qui ont reçu de l'eau. On n'a pas indiqué le nombre réel de tumeurs par souris et le poids des tumeurs par rapport au poids des animaux. Les auteurs ont conclu que l'extrait de *Microcystis* reçu dans l'eau potable pouvait agir comme agent promoteur⁹⁶. Le mécanisme d'action n'est toutefois pas clair, car les microcystines ont de la difficulté à pénétrer dans les cellules de l'épiderme¹⁰⁸. Le poids des tumeurs par souris chez les souris traitées au DMBA et qui ont reçu à la fois l'huile de croton et l'extrait d'algues était légèrement inférieur à celui des souris qui ont reçu de l'huile de croton et de l'eau potable. L'auteur n'a pu expliquer ces derniers résultats⁹⁶.

Au cours d'un biodosage en deux étapes portant sur la cancérogénicité, on a initié des groupes de 9 à 15 rats Fischer 344 mâles âgés de sept semaines en leur injectant par voie intrapéritonéale de la diéthylnitrosamine (200 mg/kg p.c.), et en procédant ensuite à une hépatectomie partielle à la fin de la troisième semaine. On a évalué la promotion des tumeurs en injectant par voie intrapéritonéale de la microcystine-LR à raison de 1 ou 10 µg/kg p.c., deux fois par semaine à compter de la troisième semaine de l'expérience. Les chercheurs ont observé une promotion des tumeurs, indiquée par une augmentation des foyers hépatiques positifs de

glutathion-S-transférase de forme placentaire (GST-P) après huit semaines chez les animaux qui ont reçu de la microcystine-LR à raison de 10 µg/kg p.c.¹⁰⁹. La microcystine-LR n'a eu aucun effet lorsqu'on l'a administrée à des rats non initiés. De même, le traitement avec 1 µg/kg p.c. n'a pas produit 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 doses de 10 µg/kg p.c. avant de procéder à une hépatectomie partielle et à des doses de 10, 25 ou 50 µg/kg p.c. deux fois par semaine après hépatectomie partielle à des groupes de 14 à 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 que l'on ait trouvé jusqu'à maintenant. Même si l'étude a porté sur des doses intrapéritonéales, les auteurs ont laissé entendre qu'il faut considérer que la promotion des tumeurs par la microcystine est possible chez les êtres humains aussi.

Ito *et al.*¹¹⁰ ont comparé l'apparition de nodules néoplastiques hépatiques chez les souris exposées à la microcystine-LR par voie intrapéritonéale et orale sans traitement préalable par des initiateurs. Ils ont observé l'apparition de multiples nodules néoplastiques (jusqu'à 5 mm de diamètre) dans toutes les souris (13/13) qui ont reçu des injections intrapéritonéales de 20 µg de microcystine-LR/kg (cinq fois par semaine), ce qui représente un total de 100 injections en 28 semaines. On a sacrifié cinq souris immédiatement après la dernière injection et laissé les huit autres se rétablir pendant deux mois avant de les sacrifier. Le poids du foie chez les sujets de ces deux groupes s'établissait à 9,0 % et 6,8 % du poids corporel total, comparativement à 4,7 % chez les témoins. Les mêmes chercheurs ont exposé 22 souris à l'administration répétée par intubation intragastrique de 80 µg de microcystine-LR/kg pendant 80 ou 100 traitements sur une période de 28 semaines. On a accordé à sept souris une période de sevrage de deux mois avant de les sacrifier. Même si les hépatocytes de certains des animaux présentaient des lésions, on n'a constaté aucune lésion chronique caractéristique du foie, comme la fibrose et l'apparition de nodules, comme on en a observé au cours de l'étude sur l'administration intrapéritonéale. Le poids moyen du foie des sujets ne présentait pas de différences significatives par rapport à celui des témoins.

Au cours d'une autre étude d'initiation et de promotion de tumeurs visant à évaluer les effets promoteurs de tumeur possible dans la partie supérieure de l'intestin grêle, Falconer et Humpage¹¹¹ ont administré par voie orale deux doses (40 µg/kg p.c. dans chaque cas) de l'initiateur N-méthyl-N-nitrosourée à des souris noires C57, à une semaine d'intervalle, et ensuite de l'eau

potable contenant diverses concentrations d'extraits de *Microcystis* (0, 10 ou 40 mg de toxines de *Microcystis* par litre) que l'on a jugées équivalentes à 0, 1,2 ou 4,2 mg de microcystine/kg p.c. par jour, pendant une période maximale de 154 jours. On n'a constaté aucune tumeur primitive du foie chez les sujets d'aucun groupe ni aucun signe de promotion, provoqué par la microcystine, de tumeurs lymphoïdes ou duodénales.

On a constaté que la microcystine-LR était un inhibiteur puissant des protéines eucaryotes sérine/thréonine phosphatases 1 et 2A *in vitro*^{112,113} et *in vivo*¹¹⁴. Cet effet a constitué la base d'un des biodosages réalisés pour en détecter la présence. On considère que ces substances sont des agents promoteurs de tumeur de type 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). Dans le cas de l'agent promoteur de tumeur TPA, on attribue le mécanisme d'action au fait qu'il active la protéine kinase C. L'acide okadaïque, la nodularine, la tautomycine et la calyculine A sont d'autres substances qui agissent comme les microcystines (pour un compte rendu, voir Fujiki et Suganuma⁹²). Les protéines phosphatases jouent un rôle important de régulateur en maintenant l'homéostasie dans la cellule. Elles ralentissent la division cellulaire en contrant les effets de 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 importante modification post-traduction. Elle peut entraîner un signal excessif et une prolifération des cellules, une transformation cellulaire et 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^{100,115}. 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-LR¹¹⁶. On ne connaît pas les répercussions d'une exposition chronique à de faibles concentrations de microcystines chez les êtres humains.

Génotoxicité

On n'a observé aucune réponse mutagène dans le cas des toxines purifiées dérivées de *Microcystis* au cours du test d'Ames sur *Salmonella* avec ou sans activation S9. Le test de sporulation multigènes sur *Bacillus subtilis* s'est également avéré négatif en ce qui concerne la mutagénicité pour les souches 168 et hcr-9¹¹⁷. En revanche, les résultats d'une étude au cours de laquelle on a testé des toxines purifiées sur des lymphocytes humains indiquent que les toxines peuvent être clastogènes, comme l'indique une augmentation des ruptures chromosomiques en fonction de la dose¹¹⁷. Ding *et al.*¹¹⁸ ont signalé récemment qu'un extrait de cyanobactérie microcystique (tiré de >90 % de *Microcystis aeruginosa*)

a produit une forte réaction mutagène au cours du test d'Ames (souches TA97 TA98, TA100 et TA102, avec ou sans activation S9), a causé d'importants dommages à l'ADN d'hépatocytes de rats soumis à une culture primitive (test des comètes) et produit des érythrocytes polychromatiques micronuclés dans la moelle osseuse de souris.

Classification et évaluation

Il est difficile d'évaluer le risque pour la santé humaine que représente la présence des microcystines dans l'eau potable. La plupart des données pertinentes proviennent soit de cas signalés de problèmes de santé chez des êtres humains qui ont consommé de l'eau potable provenant d'une source contenant des cyanobactéries, soit d'études limitées réalisées sur des 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. Dans le cas des microcystines, on pense que l'inhibition de la protéine phosphatase est le mécanisme sous-jacent. Compte tenu de l'information sur la génotoxicité, la microcystine-LR pourrait être cancérigène pour les êtres humains et c'est pourquoi on l'a ajoutée au groupe IIIB (données inadéquates chez les êtres humains, preuves limitées chez les animaux de laboratoire). Il est donc approprié d'utiliser la LOAEL ou la 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 sur laquelle on dispose de suffisamment de renseignements pour recommander une valeur.

Dans le cas de la microcystine-LR, on calcule l'AQT ainsi :

$$\text{AQT} = \frac{40 \mu\text{g/kg p.c. par jour}}{1\ 000} = 0,04 \mu\text{g/kg p.c. par jour}$$

où :

- 40 µg/kg p.c. par jour est la NOAEL pour les changements hépatiques qui est tiré de l'étude de 13 semaines sur des souris réalisée par le WRC au Royaume-Uni⁹⁴;
- 1 000 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).

On n'a pas jugé nécessaire d'ajouter un facteur d'incertitude supplémentaire pour les signes limités de cancérigénicité chez les animaux.

Justification

On calcule la concentration maximale acceptable (CMA) de microcystine-LR à partir de l'AQT, de la façon suivante :

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

où :

- 0,04 µg/kg p.c. par jour représente l'AQT calculé ci-dessus;
- 70 kg p.c. représente le poids corporel moyen d'un adulte;
- 0,80 représente la proportion de l'apport total attribuée à l'ingestion d'eau potable;
- 1,5 L/jour représente la consommation quotidienne moyenne d'eau potable d'un adulte.

On croit que la CMA de 1,5 µg/L dans le cas de la microcystine-LR protège contre l'exposition à d'autres microcystines (microcystines totales, c.-à-d. microcystine en liberté et celles qui sont fixées aux cellules) qui peuvent aussi être présentes. Il s'agit d'une valeur conservatrice, car elle est dérivée de la consommation moyenne de microcystine-LR pendant une année complète. Comme les concentrations de microcystines présentes dans les approvisionnements varient dans l'espace et le temps et comme il est aussi probable que d'autres microcystines présentes pourraient ne pas être détectées, on considère toutefois que cette valeur est appropriée.

Une mise en garde s'impose aussi : les centres de dialyse devraient être informés si la source d'eau de leur usine de traitement locale est vulnérable aux proliférations d'algues bleues, ce qui pourrait les inciter à soumettre l'eau à un traitement supplémentaire au besoin. Ce traitement peut varier d'une filtration CAG suivie d'une osmose inverse jusqu'à des systèmes beaucoup plus complexes de filtration sur membrane (p. ex., ultrafiltration). L'importance du traitement supplémentaire dépendra entièrement de la qualité de l'approvisionnement d'eau municipal. Il faudra suivre constamment le rendement et l'équipement pour assurer que la qualité de l'eau demeure adéquate. Il importe en outre d'évaluer les caractéristiques techniques des fabricants en fonction des conditions locales.

Références bibliographiques

1. Carmichael, W.W. Cyanobacteria secondary metabolites — the cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.*, 72: 445–459 (1992).
2. Carmichael, W.W. An overview of toxic cyanobacteria research in the United States. Dans : *Toxic cyanobacteria: current status of research and management*. Actes d'un atelier international, Adelaide, Australie, 22 au 26 mars 1994. D.A. Steffensen et B.C. Nicholson (éds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 39-44 (1994).

3. Fawell, J.K., Hart, J., James, H.A. et Parr, W. Blue-green algae and their toxins — analysis, toxicity, treatment and environmental control. *Water Supply*, 11(3/4): 109–121 (1993).
4. Boyer, G.L., Yang, X., Patchett, E.A., Gao, H. et Satchwell, M.F. Cyanobacteria toxins in upstate New York waters: a comparison on Onondaga Lake and Oneida Lake. Sommaire d'une communication affichée à la 2^e Conférence annuelle du lac Onondaga, 20 novembre 2000, Syracuse, New York (2001).
5. Carmichael, W.W. 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, Ohio. 141 pp. (1992).
6. Resson, R., Soong, F.S., Fitzgerald, J., Turczynowicz, L., El Saadi, O., Roder, D., Maynard, T. et Falconer, I. 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, Australie. 108 pp. (1994).
7. Organisation mondiale de la santé. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. I. Chorus et J. Bartram (éds.). E & FN Spon, Londres, RU (1999).
8. Skulberg, O.M., Carmichael, W.W., Codd, G.A. et Skulberg, R. Taxonomy of toxic cyanophyceae (cyanobacteria). Dans : *Algal toxins in seafood and drinking water*. I.R. Falconer (éd.). Academic Press, San Diego, Californie. pp. 145-164029 (1993).
9. Watanabe, M. Communication personnelle. Service d'hygiène du milieu, Institut métropolitain de santé publique de Tokyo, Tokyo, Japon (1996).
10. Hrudey, S.E., Lambert, T.W. et Kenefick, S.L. Health risk assessment of microcystins in drinking water supplies. Dans : *Toxic cyanobacteria — a global perspective*. 28 mars 1994, Adelaide, Australie du Sud. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 7-12 (1994).
11. NRA Toxic Algae Task Group. Toxic blue-green algae. A report by the National Rivers Authority Toxic Algae Task Group. National Rivers Authority Water Quality Series No. 2. The Environment Agency of England and Wales. 128 pp. (1990).
12. Park, H.-D., Watanabe, M.F., Harada, K.-I., Nagai, H., Suzuki, M., Watanabe, M. et Hayashi, H. Hepatotoxin (microcystin) and neurotoxin (anatoxin-a) contained in natural blooms and strains of cyanobacteria from Japanese freshwaters. *Nat. Toxins*, 1: 353–360 (1993).
13. Kotak, B.G., Lam, A.K.-Y., Prepas, E.E., Kenefick, S.L. et Hrudey, S.E. Variability of the hepatotoxin microcystin-LR in hypertrophic drinking water lakes. *J. Phycol.*, 31: 248–263 (1995).
14. Jones, G.J. et Falconer, I.R. Factors affecting the production of toxins by cyanobacteria. Final grant report to the Land and Water Resources Research and Development Corporation, Canberra, Australie (1994), cité au renvoi 7.
15. Jones, G.J. et Orr, P.T. 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 (1994).
16. Fawell, J.K. Communication personnelle. Water Research Centre, Medmenham, RU (1998).
17. Kenefick, S.L., Hrudey, S.E., Peterson, H.G. et Prepas, E.E. Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment. *Water Sci. Technol.*, 27: 433–440 (1993).
18. Tsuji, K., Naito, S., Kondo, F., Ishikawa, N., Watanabe, M.F., Suzuki, M. et Harada, K.-I. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 173-177 (1994).
19. Cousins, I.T., Bealing, D.J., James, H.A. et Sutton, A. Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations. *Water Res.*, 30(2): 481-485 (1996).
20. Harada, K.-I., Suzuki, M., Dahlem, A.M., Beasley, V.R., Carmichael, W.W. et Rinehart, K.L., Jr. Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria. *Toxicon*, 26(5): 433–439 (1988).
21. Kenefick, S.L., Hrudey, S.E., Prepas, E.E., Motkosky, N. et Peterson, H.G. Odorous substances and cyanobacterial toxins in prairie drinking water sources. *Water Sci. Technol.*, 25(2): 147–154 (1992).
22. Kotak, B.G., Kenefick, S.L., Fritz, D.L., Rousseaux, C.G., Prepas, E.E. et Hrudey, S.E. Occurrence and toxicological evaluation of cyanobacterial toxins in Alberta lakes and farm dugouts. *Water Res.*, 27(3): 495–506 (1993).
23. Santé Canada. Mise en garde : Des toxines pourraient être présentes dans des produits contenant des algues bleu-vert. http://www.hc-sc.gc.ca/francais/protection/mises_garde/1999/99_69f.htm (1999).
24. Watanabe, M.F., Park, H.-D., Kondo, F., Harada, K.-I., Hayashi, H. et Okino, T. Identification and estimation of microcystins in freshwater mussels. *Nat. Toxins*, 5: 31–35 (1997).
25. Williams, D.E., Dawe, S.C., Kent, M.L., Andersen, R.J., Craig, M. et Holmes, C.F.B. Bioaccumulation and clearance of microcystins from salt water mussels, *Mytilus edulis*, and *in vivo* evidence for covalently bound microcystins in mussel tissues. *Toxicon*, 35(11): 1671-1625 (1997).
26. Williams, D.E., Craig, M., Dawe, S.C., Kent, M.L., Holmes, C.F.B. et Andersen, R.J. Evidence for a covalently bound form of microcystin-LR in salmon liver and dungeness crab larvae. *Chem. Res. Toxicol.*, 10: 463–469 (1997).
27. Codd, G.A., Ward, C.J. et Bell, S.G. Cyanobacterial toxins: occurrence, modes of action, health effects and exposure routes. *Arch. Toxicol., Suppl.* 19: 399–410 (1997).
28. Eriksson, J.E., Grönberg, L., Nygård, S., Slotte, J.P. et Meriluoto, J.A.O. Hepatocellular uptake of ³H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1025: 60–66 (1990).
29. Lambert, T.W., Boland, M.P., Holmes, C.F.B. et Hrudey, S.E. Quantitation of the microcystin hepatotoxins in water at environmentally relevant concentrations with the protein phosphatase bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 753-755 (1994).
30. Jones, G. Toxic algae study summary. Ministère de l'Environnement du Manitoba, février 1996.
31. Jones, G., Gurney, S. et Rocan, D. Blue-green algae and microcystin-LR in surface water supplies of southwestern Manitoba. Environnement Manitoba, Rapport No. 98-06, Environnement Manitoba. 82 pp. (1998).
32. Gurney, S. et Jones, G. Toxic algae occurrence and distribution in Manitoba surface waters. Dans : *Proceedings of the Canadian Rural Water Quality Symposium*, Winnipeg, 25 et 26 mars (1997).
33. Mackay, W.C. A preliminary study of microcystin-LR in dugouts which supply water for domestic use in Northern Alberta — 1997. Rapport final produit pour l'Administration du rétablissement agricole des Prairies, juin (1998).

34. Mackay, W.C. Microcystin-LR levels in water supplies in the Peace River region, Alberta during 1998. Rapport final produit pour l'Administration du rétablissement agricole des Prairies, novembre (1998).
35. American Water Works Association Research Foundation. Assessment of blue-green algal toxins in raw and finished drinking water. American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado (2001).
36. Harada, K. Strategy for trace analysis of microcystins in complicated matrix. Dans : Toxic cyanobacteria — a global perspective. 28 mars 1994, Adelaide, Australie du Sud. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 49-51 (1994).
37. Holmes, C.F.B. 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 (1991).
38. Boland, M.P., Smillie, M.A., Chen, D.Z.X. et Holmes, C.F.B. A unified bioscreen for the detection of diarrhetic shellfish toxins and microcystins in marine and freshwater environments. *Toxicon*, 31(11): 1393-1405 (1993).
39. Harada, K. Communication personnelle. Faculté de pharmacie, Université Meijo, Tempaku, Nagoya, Japon (1996).
40. An, J.S. et Carmichael, W.W. 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 (1994).
41. Chu, F.S., Huang, X. et Wei, R.D. Enzyme-linked immunosorbent assay for microcystins in blue-green algal blooms. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(3): 451-456 (1990).
42. Carmichael, W.W. Communication personnelle. Département des sciences biologiques, Université Wright State, Dayton, Ohio (1996).
43. Thomsen, K. Communication personnelle.
44. Ueno, Y. Communication personnelle. Faculté des sciences pharmaceutiques, Université scientifique de Tokyo, Tokyo, Japon (1993).
45. Kondo, F., Ikai, Y., Oka, H., Ishikawa, N., Watanabe, M.F., Watanabe, M., Harada, K.-I. et Suzuki, M. Separation and identification of microcystins in cyanobacteria by frit-fast atom bombardment liquid chromatography/mass spectrometry. *Toxicon*, 30(3): 227-237 (1992).
46. Sivonen, K. Occurrence of toxic cyanobacteria in Finnish fresh waters and the Baltic Sea. Dans : Toxic cyanobacteria: current status of research and management. Actes d'un atelier international, Adelaide, Australie, 22 au 26 mars 1994. D.A. Steffensen et B.C. Nicholson (éds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 15-18 (1994).
47. Siegelman, H.W., Adams, W.H., Stoner, R.D. et Slatkin, D.N. Toxins of *Microcystis aeruginosa* and their hematological and histopathological effects. Dans : Seafood toxins. E.P. Ragelis (éd.). ACS Symposium Series No. 262, American Chemical Society. pp. 407-413 (1984).
48. Edwards, C., Lawton, L.A., Beattie, K.A., Fawell, J.K. et Codd, G.A. Separation and characterization of cyanobacterial peptide toxins by photodiode array high-performance liquid chromatography. *Br. Phycol. J.*, 26: 84-85 (1991).
49. New South Wales Blue-Green Algae Task Force. Blue-green algae. Final report of the New South Wales Blue-Green Algae Task Force. Department of Water Resources, Parramatta, Nouvelles-Galles du Sud, Australie. 159 pp. (1992).
50. Burch, M.D. 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, Australie (1993).
51. Hrudey, S.E., Kenefick, S.L., Best, N., Gillespie, T., Kotak, B.G., Prepas, E.E. et Peterson, H.G. 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 (éds.). American Water Works Association, Denver, Colorado. pp. 383-390 (1993).
52. Hart, J., Fawell, J.K. et Croll, B. The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. Dans : Algal toxins in surface waters: origins and removal during drinking water treatment processes. Congrès mondial de l'Association internationale des distributions d'eau, 1997. Blackwell Science Ltd., Madrid, Espagne (1997).
53. Drikas, M., Chow, C.W.K., House, J. et Burch, M.D. A pilot study of the removal of intact cyanobacterial cells. *Soumis au J. Am. Water Works Assoc.* (1997), cité au renvoi 7.
54. Jones, G., Minatol, W., Craig, K. et Naylor, R. 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, Australie. Vol. 2. Australian Water and Wastewater Association. pp. 339-346 (1993), cité au renvoi 7.
55. Lambert, T.W., Holmes, C.F.B. et Hrudey, S.E. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. *Water Res.*, 30(6) 1411-1422 (1996).
56. Chow, C.W.K., Drikas, M., House, J., Burch, M.D. et Velzeboer, R.M.A. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Water Res.*, 33(15): 3253-3262 (1999).
57. Keijola, A.M., Himberg, K., Esala, A.L., Sivonen, K. et Hiisvirta, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot-scale experiments. *Toxic. Assess.: Int. J.*, 3: 643-656 (1988).
58. Drikas, M. Removal of cyanobacterial toxins by water treatment processes. Dans : Toxic cyanobacteria — a global perspective. 28 mars 1994, Adelaide, Australie du Sud. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 30-44 (1994).
59. Hart, J. et Stott, P. Microcystin-LR removal from water. Report FR0367, Foundation for Water Research, Marlow, RU (1993), cité dans le renvoi 7.
60. Muntisov, M. et Trimboli, P. Removal of algal toxins using membrane technology. *Water*, 23(3): 34 (1996).
61. Neumann, U. et Weckesser, J. Elimination of microcystin peptide toxins from water by reverse osmosis. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 13: 143-148 (1998), cité dans le renvoi 7.
62. Lawton, L.A., Cornish, B.J.P.A. et MacDonald, A.W.R. Removal of cyanobacterial toxins (microcystins) and cyanobacterial cells from drinking water using domestic water filters. *Water Res.*, 32(3): 633-638 (1998).

63. Dillenberg, H.O. et Dehnel, M.K. Toxic water bloom in Saskatchewan, 1959. *J. Assoc. méd. can.*, 83: 1151–1154 (1960).
64. Carmichael, W.W. et Falconer, I.R. Diseases related to fresh-water blue-green algal toxins, and control measures. Dans : *Algal toxins in seafood and drinking water*. I.R. Falconer (éd.). Academic Press, San Diego, Californie. pp. 187–209 (1993).
65. Turner, P.C., Gammie, A.J., Hollinrake, K. et Codd, G.A. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *Br. Med. J.*, 300: 1440–1441 (1990).
66. Bourke, A.T.C., Hawes, R.B., Neilson, A. et Stallman, N.D. An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicon, Suppl. 3*: 45–48 (1983).
67. Falconer, I.R. Effects on human health of some toxic cyanobacteria (blue-green algae) in reservoirs, lakes, and rivers. *Toxic. Assess.: Int. J.*, 4: 175–184 (1989).
68. Byth, S. Palm Island mystery disease. *Med. J. Aust.*, 2: 40–42 (1980).
69. Prociw, P. Palm Island reconsidered. Was it copper poisoning? *Aust. N. Z. J. Med.*, 17: 345–349 (1987).
70. Falconer, I.R. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, 35 (Suppl. 6): 6–11 (1996).
71. Teixeira, M.G.L.C., Costa, M.C.N., Carvalho, V.L.P., Pereira, M.S. et Hage, E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bull. Pan Am. Health Org. (PAHO)*, 27(3): 244–253 (1993).
72. Pouria, S., de Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R.L., Barreto, V.T.S., Ward, O.J., Preiser, W., Poon, G.K., Neild, G.H. et Codd, G.A. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, 352: 21–26 (1998).
73. Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, S., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B. de C., de Melo Filho, D.A., Lyra, T.M., Baretto, V.S.T., Azevedo, S.M.F.O. et Jarvis, W.R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med.*, 338(13): 873–888 (1998).
74. Carmichael, W.W., Azevedo, S.M.F.O., An, J.S., Molica, R.J.R., Jochimsen, E.M., Lau, S., Rinehart, K.L., Shaw, G.R. et Eaglesham, G.K. *Environ. Health Perspect.*, 109(7): 663–668 (2001).
75. Zilberg, B. Gastroenteritis in Salisbury European children — a five-year study. *Cent. Afr. J. Med.*, 12(9): 164–168 (1966).
76. El Saadi, O. et Cameron, A.S. Illness associated with blue-green algae. *Med. J. Aust.*, 158: 792–793 (1993).
77. Yu, S.-Z. Drinking water and primary liver cancer. Dans : *Primary liver cancer*. Z.-Y. Tang, M.-C. Wu et S.-S. Xia (éds.). Springer-Verlag, New York, New York. pp. 30–37 (1989).
78. Junshi, C. Diet, life-style and mortality in China. A study of the characteristics of 65 Chinese counties. T.C. Campbell, L. Junyao and R. Peto (éds.). Oxford University Press, Cornell University Press, People's Medical Publishing House (1990), cité au renvoi 6.
79. Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M.F., Park, H.-D., Chen, G.-C., Chen, G. et Yu, S.-Z. 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 (1996).
80. Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M.F. et Ueno, Y. Determination of microcystin in environmental water by highly sensitive immunoassay. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 41: 10 (1995).
81. Pilotto, L.S., Kliever, E.V., Davies, R.D., Burch, M.D. et Attewell, R.G. Cyanobacterial (blue-green algae) contamination in drinking water and perinatal outcomes. *Aust. N. Z. J. Public Health*, 23: 154–158 (1999).
82. Falconer, I.R., Buckley, T. et Runnegar, M.T.C. 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 (1986).
83. Brooks, W.P. et Codd, G.A. Distribution of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin and interactions with hepatic microsomes in mice. *Pharmacol. Toxicol.*, 60: 187–191 (1987).
84. Robinson, N.A., Miura, G.A., Matson, C.F., Dinterman, R.E. et Pace, J.G. Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. *Toxicon*, 27(9): 1035–1042 (1989).
85. Robinson, N.A., Pace, J.G., Matson, C.F., Miura, G.A. et Lawrence, W.B. Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 256(1): 176–182 (1991).
86. Meriluoto, J.A.O., Nygård, S.E., Dahlem, A.M. et Eriksson, J.E. Synthesis, organotropism and hepatocellular uptake of two tritium-labeled epimers of dihydromicrocystin-LR, a cyanobacterial peptide toxin analog. *Toxicon*, 28(12): 1439–1446 (1990).
87. Nishiwaki, R., Ohta, T., Sueoka, E., Suganuma, M., Harada, K.-I., Watanabe, M.F. et Fujiki, H. Two significant aspects of microcystin-LR: specific binding and liver specificity. *Cancer Lett.*, 83: 283–289 (1994).
88. Runnegar, M.T.C., Gerdes, et Falconer, I.R. The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. *Toxicon*, 29(1): 43–51 (1991).
89. Falconer, I.R., Dornbusch, M., Moran, G. et Yeung, S.K. Effect of the cyanobacterial (blue-green algal) toxins from *Microcystis aeruginosa* on isolated enterocytes from the chicken small intestine. *Toxicon*, 30(7): 790–793 (1992).
90. Beasley, V.R., Cook, W.O., Dahlem, A.M., Hooser, S.B., Lovell, R.A. et Valentine, W.M. Algal intoxication in livestock and waterfowl. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 5(2): 345–361 (1989).
91. Robinson, N.A., Matson, C.F. et Pace, J.G. Association of microcystin-LR and its biotransformation product with a hepatic-cytosolic protein. *J. Biochem. Toxicol.*, 6(3): 171–180 (1991).
92. Fujiki, H. et Suganuma, M. Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds. *Adv. Cancer Res.*, 61: 143–194 (1993).
93. Kondo, F., Matsumoto, H., Yamada, S., Ishikawa, N., Ito, E., Nagata, S., Ueno, Y., Suzuki, M. et Harada, K.-I. Detection and identification of metabolites of microcystins formed *in vivo* in mouse and rat livers. *Chem. Res. Toxicol.*, 9: 1355–1359 (1996).
94. Fawell, J.K., James, C.P. et James, H.A. 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. (1994).
95. Fawell, J.K., Mitchell, R.E., Everett, D.J. et Hill, R.E. The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: I microcystin-LR. *Hum. Exp. Toxicol.*, 18(3): 162–167 (1999).

96. Falconer, I.R. Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 6: 177-184 (1991).
97. Yoshida, T., Makita, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Yoshida, F., Sekijima, M., Tamura, S.-I. et Ueno, Y. Acute oral toxicity of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in mice. *Nat. Toxins*, 5: 91-95 (1997).
98. Kotak, B.G., Hrudey, S.E., Kenefick, S.L. et Prepas, E.E. Toxicity of cyanobacterial blooms in Alberta lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci. Tech. Rep.* 1942. pp. 172-179 (1993).
99. Rinehart, K.L., Namikoshi, M. et Choi, B.W. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.*, 6: 159-176 (1994).
100. Hooser, S.B., Beasley, V.R., Basgall, E.J., Carmichael, W.W. et Haschek, W.M. Microcystin-LR-induced ultrastructural changes in rats. *Vet. Pathol.*, 27: 9-15 (1990).
101. Falconer, I.R., Smith, J.V., Jackson, A.R., Jones, A. et Runnegar, M.T. 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 (1988).
102. Ito, E., Kondo, F. et Harada, K.-I. Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin-LR. *Toxicol.*, 35(2): 231-239 (1997).
103. Heinze, R. Toxicity of the cyanobacterial toxin microcystin-LR to rats after 28 days intake with the drinking water. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 57-60 (1999).
104. Fitzgeorge, R.B., Clark, S.A. et Keevil, C.W. Routes of intoxication. Dans: Proceedings of the 1st international symposium on detection methods for cyanobacterial (blue-green algal) toxins. G.A. Codd, T.M. Jeffries, C.W. Keevil et E. Potter (éds.). Royal Society of Chemistry, Cambridge, RU. pp. 69-74 (1994).
105. Falconer, I.R., Burch, M.D., Steffensen, D.A., Choice, M. et Coverdale, O.R. 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 (1994).
106. Thiel, P. The South African contribution to studies on the toxic cyanobacteria and their toxins. Dans : Toxic cyanobacteria: current status of research and management. Actes d'un atelier international, Adelaide, Australie, 22 au 26 mars 1994. D.A. Steffensen et B.C. Nicholson (éds.). Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, Australie. pp. 23-27 (1994).
107. Ueno, Y., Makita, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Yoshida, F., Tamura, S.-L., Sekijima, M., Tashiro, F., Harada, T. et Yoshida, T. No chronic oral toxicity of a low dose of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in female BALB-c mice. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 45-55 (1999).
108. Matsushima, R., Yoshizawa, S., Watanabe, M.F., Harada, K.-I., Furusawa, M., Carmichael, W.W. et Fujiki, H. *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 (1990).
109. Nishiwaki-Matsushima, R., Ohta, T., Nishiwaki, S., Suganuma, M., Kohyama, K., Ishikawa, T., Carmichael, W.W. et Fujiki, H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 118: 420-424 (1992).
110. Ito, E., Kondo, F., Terao, K. et Harada, K.-I. Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicol.*, 35(9): 1453-1457 (1997).
111. Falconer, I.R. et Humpage, A.R. Tumour promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia*, 35 (Suppl. 6): 74-79 (1996).
112. Honkanen, R.E., Zwiller, J., Moore, R.E., Daily, S.L., Khatra, B.S., Dukelow, M. et Boynton, A.L. Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and type 2a protein phosphatases. *J. Biol. Chem.*, 265(32): 19401-19404 (1990).
113. MacKintosh, C., Beattie, K.A., Klumpp, S., Cohen, P. et Codd, G.A. 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 (1990).
114. Runnegar, M.T., Kong, S. et Berndt, N. Protein phosphatase inhibition and *in vivo* hepatotoxicity of microcystins. *Am. J. Physiol.*, 265: G224-G230 (1993).
115. Hooser, S.B., Beasley, V.R., Waite, L.L., Kuhlenschmidt, M.S., Carmichael, W.W. et Haschek, W.M. 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 (1991).
116. Lin, J.-R. et Chu, F.S. *In vitro* neutralization of the inhibitory effect of microcystin-LR to protein phosphatase 2A by antibody against the toxin. *Toxicol.*, 32(5): 605-613 (1994).
117. Repavich, W.M., Sonzogni, W.C., Standridge, J.H., Wedepohl, R.E. et Meisner, L.F. Cyanobacteria (blue-green algae) in Wisconsin waters: acute and chronic toxicity. *Water Res.*, 24(2): 225-231 (1990).
118. Ding, W.X., Shen, H.M., Zhu, H.G., Lee, B.L. et Ong, C.N. Genotoxicity of microcystic cyanobacteria extract of a water source in China. *Mutat. Res.*, 442(2): 69-77 (1999).

Annexe A : Protocole séquentiel de détection de la microcystine-LR dans les approvisionnements d'eau servant à la consommation humaine

Préambule

Les conditions estivales peuvent entraîner la prolifération d'algues bleues dans des étendues d'eau (en général, lacs de faible superficie ou peu profonds, réservoirs, mares vaseuses ou étangs artificiels) partout au Canada. Dans nombre de cas, les fleurs d'eau ont tendance à réapparaître dans les mêmes étendues d'eau année après année. Même si la plupart des espèces d'algues bleues peuvent produire des toxines nerveuses et hépatiques, les proliférations d'algues bleues ne produisent pas toutes des toxines et la quantité de toxines présentes varie de façon spectaculaire à l'intérieur de l'étendue d'eau et dans le temps. Des analyses réalisées au cours des dernières années dans des étangs artificiels et d'autres approvisionnements d'eau au Manitoba, en Saskatchewan et dans la région de Peace River, en Alberta, indiquent que les toxines d'algues bleues sont beaucoup plus répandues dans les approvisionnements d'eau ruraux qu'on le pensait à l'origine. Même si les données quantitatives disponibles sont peu nombreuses, elles indiquent que ces toxines peuvent aussi apparaître dans divers approvisionnements d'eau d'autres provinces (p. ex., Ontario, Colombie-Britannique, Québec et Île-du-Prince-Édouard).

On connaît mal les facteurs qui entraînent la production de toxines par les cyanobactéries. Des études réalisées en laboratoire démontrent que certains facteurs environnementaux, comme 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. Comme la production de toxines varie beaucoup entre différentes souches d'une même espèce, les différences d'ordre génétique et les processus métaboliques peuvent aussi jouer un rôle important dans la production de ces métabolites secondaires. Des études ont montré que la capacité à produire des toxines pouvait varier dans le temps et dans l'espace à un endroit donné.

Les toxines cyanobactériennes ont tendance à être associées aux cellules cyanobactériennes et peuvent être fixées à la membrane ou être présentes à l'état libre à

l'intérieur des cellules. Au cours d'études réalisées en laboratoire, la majeure partie des toxines sont libérées lorsque les cellules vieillissent, meurent et libèrent de façon passive leur contenu. De jeunes cellules en croissance peuvent parfois libérer activement des toxines.

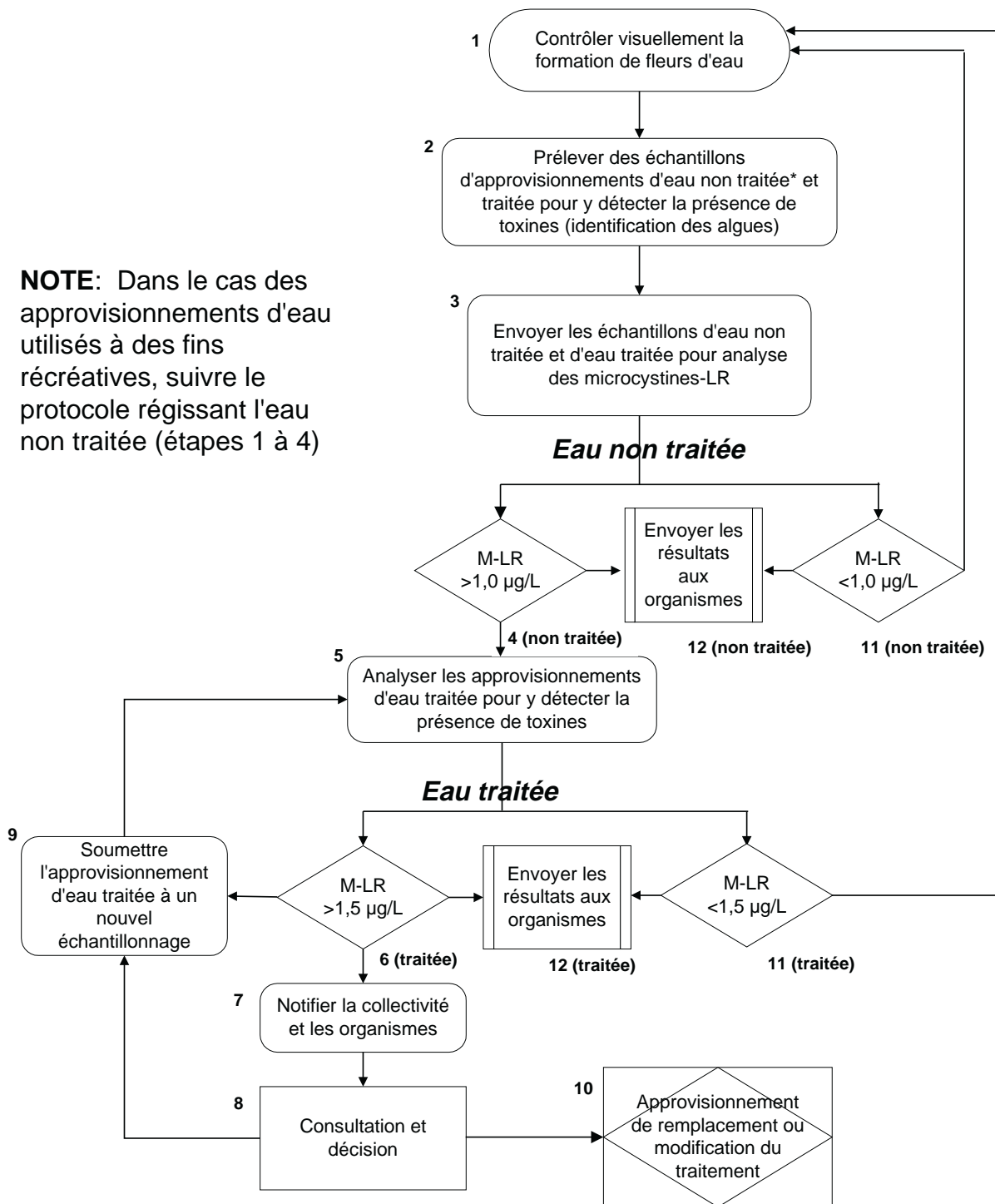
Les concentrations de toxines ne coïncident pas nécessairement avec la biomasse maximale des algues. La quantité de toxines par unité de biomasse de cyanobactéries peut varier considérablement dans le temps, ce qui n'est pas lié aux fluctuations de la population d'algues bleues. Une étude a révélé, par exemple, que les concentrations de microcystines étaient plus élevées dans les fleurs d'eau prélevées le jour que la nuit et au cours d'une autre étude, on n'a pas observé de différences importantes entre les concentrations de toxines provenant de cyanobactéries incubées pendant 24 heures à des profondeurs différentes d'un réservoir. Les microcystines sont relativement persistantes en milieu aquatique. Des études réalisées en Australie ont montré que des microcystines-LR persistaient jusqu'à 21 jours après le traitement à l'algicide d'une fleur d'eau de *Microcystis Aeruginosa*.

Des études récentes ont soulevé, dans des organismes gouvernementaux et dans la population, une préoccupation croissante au sujet de la salubrité des approvisionnements d'eau qui peuvent constituer des sources de ces toxines.

Cette annexe et l'organigramme joint (voir page suivante) visent à présenter aux distributeurs d'eau et aux autorités responsables de la santé et de l'environnement un résumé des facteurs importants dont il faut tenir compte durant des incidents de prolifération, ainsi que des mesures recommandées que l'on peut prendre pour s'attaquer au problème.

ANNEXE A
Toxines cyanobactériennes – Microcystines-LR
Organigramme
Approvisionnement d'eau destinés à la consommation humaine

NOTE: Dans le cas des approvisionnements d'eau utilisés à des fins récréatives, suivre le protocole régissant l'eau non traitée (étapes 1 à 4)



* On peut utiliser une trousse d'essai terrain pour le dépistage. Il faut envoyer un échantillon de validation à un laboratoire pour obtenir confirmation des niveaux réels à la suite d'un essai terrain qui donne un résultat positif.

Avril 2002

Étape 1 : Contrôler visuellement la formation de fleurs d'eau

Comme les fleurs d'eau ont tendance à réapparaître dans les mêmes réserves d'eau, il faut contrôler visuellement les étendues d'eau où il y a déjà eu prolifération d'algues pour y repérer l'apparition de fleurs d'eau et, par conséquent, la production de toxines durant les saisons de pointe (habituellement de la fin mai au début d'octobre). Les autorités devraient contrôler visuellement les approvisionnements pour y déterminer s'il y a prolifération d'algues et procéder à des échantillonnages pendant la formation de la fleur d'eau et après qu'elle s'est enfoncée. Il faudrait aussi envisager de soumettre à un programme de surveillance les étendues d'eau qui, à cause de variables comme la superficie, la profondeur de l'eau et la teneur en nutriments, peuvent être vulnérables à la prolifération d'algues. Des toxines peuvent persister après que les fleurs d'eau se sont enfoncées, particulièrement à la fin de l'été et au début de l'automne, lorsque l'apparition de températures plus froides et la diminution de l'intensité lumineuse réduisent les taux de dégradation des toxines.

On identifie une fleur d'eau visible par l'apparition d'une eau « épaisse et trouble ». Les couleurs peuvent varier du gris ou du beige au bleu-vert ou au bleu vif ou rougeâtre. On peut aussi dire que les fleurs d'eau ressemblent à de fines tontes de gazon ou à de minuscules touffes d'herbe.

Étape 2 : Prélever des approvisionnements d'eau non traitée et d'eau traitée¹ pour y détecter la présence de toxines (identification des algues)

Il faut prélever des échantillons d'approvisionnement d'eau non traitée et d'eau traitée (le cas échéant) en même temps afin de gagner du temps et de réduire les dépenses. Pour une analyse en laboratoire, il faut prélever des échantillons d'eau non traitée avant tout traitement, y compris la filtration. Les échantillons provenant de l'eau du robinet non traitée à l'usine de traitement sont acceptables s'ils n'ont pas subi de traitement préalable. Dans un réservoir, il faut prélever l'échantillon le plus près possible des prises d'eau ou de la rive, ou du point de formation de la fleur d'eau. On suggère toutefois, lorsque c'est possible, de regrouper des échantillons provenant de plusieurs points d'échantillonnage pour déterminer la toxicité, car l'abondance et la biomasse d'espèces ou de cellules de cyanobactéries varient dans l'espace sur une même étendue d'eau (le vent peut, par exemple, transporter des cellules). Il faut prélever des échantillons traités au robinet d'eau traitée de l'usine de traitement ou dans le réseau de distribution.

1. On peut utiliser une trousse d'analyse sur le terrain comme outil de détection pour déterminer la présence ou l'absence de toxines dans un approvisionnement d'eau. Si l'on repère la présence de toxines dans un échantillon au moyen de la trousse d'essai sur le terrain, l'agence chargée de l'échantillonnage devrait présenter un échantillon à un laboratoire reconnu pour qu'il procède à une analyse de confirmation (voir étape 3).

Il faut prélever les échantillons, en quantité suffisante pour l'analyse en laboratoire, dans des contenants en verre, car des études indiquent que le plastique peut adsorber les toxines présentes.

Les organismes voudront peut-être aussi effectuer un échantillonnage pour identifier les algues. L'identification des espèces, et en particulier celles qui proviennent d'endroits positifs pour la toxine, peut fournir des renseignements supplémentaires au sujet de la source, de l'état et du type des autres toxines qui peuvent être présentes.

Étape 3 : Envoyer les échantillons d'eau non traitée et d'eau traitée pour analyse de la microcystine-LR

Il faut envoyer le plus tôt possible (de préférence dans les 24 heures) les échantillons d'eau non traitée et d'eau traitée (dans des glaciers) au laboratoire qui les analysera. Les organismes d'échantillonnage doivent communiquer avec leur service local ou régional de santé ou de l'environnement pour obtenir de l'information sur les laboratoires capables d'effectuer des analyses sur des toxines.

Lorsqu'il reçoit des échantillons d'organismes d'échantillonnage et afin d'éviter des coûts inutiles, le laboratoire doit stocker les échantillons d'eau traitée jusqu'à ce que l'on connaisse les résultats de l'analyse des échantillons d'eau non traitée pour la présence de microcystines-LR. Un résultat de $>1,0 \mu\text{g/L}$ de microcystine-LR dans l'échantillon non traité entraîne la prise d'autres mesures, décrites aux étapes 4 à 10.

Étape 4 : Microcystine-LR $>1,0 \mu\text{g/L}$ (échantillon d'eau non traitée)

Les résultats sont signalés à l'organisme chargé de l'échantillonnage, conformément à l'étape 12 (eau non traitée). Un résultat de $>1,0 \mu\text{g/L}$ doit entraîner la prise d'autres mesures, décrites aux étapes 5 à 10.

Étape 5 : Analyse des échantillons d'eau traitée pour y détecter la présence de toxines

On soumettra les échantillons d'eau traitée à des analyses lorsqu'un échantillon d'eau non traitée du même endroit contient $>1,0 \mu\text{g}$ de microcystine-LR/L.

Étape 6 : Microcystine-LR $>1,5 \mu\text{g/L}$ (eau traitée)

Lorsque l'échantillon d'eau traitée donne un résultat de $>1,5 \mu\text{g}$ de microcystine-LR/L, l'organisme chargé de l'échantillonnage prend les mesures qui s'imposent, décrites aux étapes 7 à 10. Lorsqu'un approvisionnement d'eau traitée contient $>1,5 \mu\text{g/L}$ de microcystine-LR, il faut répéter l'échantillonnage de l'approvisionnement d'eau traitée le plus tôt possible (étape 9) et notifier la collectivité et les organismes compétents (étape 7).

Étape 7 : Notifier la collectivité et les organismes

Lorsqu'il reçoit les résultats, l'organisme chargé de l'échantillonnage suit le protocole normalisé de notification des collectivités et des organismes compétents. On cherchera à déterminer quel organisme devrait jouer le rôle de premier plan à cet égard. L'enquête devrait aussi tenir compte des antécédents de la source ou de l'approvisionnement et du type de traitement réalisé à l'usine. Il faut aussi prévenir les services de dialyse de la collectivité, surtout si c'est la première fois que des fleurs d'eau font leur apparition dans cet approvisionnement. Santé Canada a publié une fiche d'information sur la microcystine-LR (*Votre santé et vous : Les algues bleues (cyanobactéries) et leurs toxines*), qui est disponible pour aider à informer les collectivités.

Étape 8 : Consultation et décision

Dans le cas d'approvisionnements communautaires (municipaux), les discussions visant à évaluer le risque doivent porter sur les mesures supplémentaires à prendre. Les organismes de santé, les conseils municipaux et le principal organisme de réglementation chargé des réseaux municipaux doivent participer à ces discussions. Le processus de discussion sur l'évaluation du risque devrait porter notamment sur des aspects comme les antécédents du site, l'étendue et l'emplacement de la fleur d'eau, la technique de traitement disponible (dans le cas d'un site où l'eau est traitée), les utilisations qui sont faites de l'eau (à des fins récréatives ou domestiques) et la surveillance des conditions environnementales qui peuvent avoir un effet sur la prolifération (p. ex., vent). Il faut dans la mesure du possible éviter de provoquer la lyse de la fleur d'eau en y ajoutant du sulfate de cuivre ou vitriol bleu, ce qui libère sur-le-champ la toxine des cellules dans l'approvisionnement en eau. Si la fleur d'eau est courante, on peut envisager de surveiller les nutriments. Il faut poursuivre la surveillance hebdomadaire.

Dans le cas d'approvisionnements non communautaires (non municipaux), l'organisme chargé de l'échantillonnage consultera les organismes du secteur de la santé et d'autres qui ont de l'expertise du traitement.

Nota : Voir étape 10.

Étape 9 : Soumettre l'approvisionnement d'eau traitée à un nouvel échantillonnage

Après avoir reçu les résultats qui indiquent que l'eau traitée contient $>1,5$ µg de microcystine-LR/L, il faut soumettre l'approvisionnement d'eau traitée à un nouvel échantillonnage le plus rapidement possible ou au moment déterminé par l'organisme chargé de l'échantillonnage.

Étape 10 : Approvisionnement de remplacement ou modification du traitement

Au cours de l'étape 8 du processus décisionnel, il faut revoir les discussions qui portent sur les

modifications du traitement ou des approvisionnements de remplacement (étape 10). L'organisme responsable doit informer le propriétaire de l'approvisionnement de toute option de traitement, comme la filtration supplémentaire au charbon activé granulaire ou l'ozonation. Il convient de signaler que l'ébullition ne réussit pas à réduire ou éliminer efficacement ces toxines, même si certains dispositifs au point d'utilisation peuvent être efficaces.

Nota : Comme la durée des fleurs d'eau peut être brève (varier de quelques jours à quelques semaines), les organismes des milieux de la santé et de l'environnement peuvent recommander, après avoir consulté la collectivité (voir étape 8), que les consommateurs cherchent d'autres approvisionnements d'eau potable jusqu'à ce que la fleur d'eau ne soit plus visible et que la concentration de toxines soit tombée à moins de 1,5 µg/L.

Étape 11 (eau non traitée) : Microcystine-LR $<1,0$ µg/L

Si l'analyse de la microcystine-LR/L dans l'eau non traitée donne un résultat de $<1,0$ µg, l'organisme chargé de l'échantillonnage doit continuer de surveiller visuellement l'eau non traitée pour y repérer la réapparition de fleurs d'eau et procéder à un nouvel échantillonnage au besoin.

Étape 11 (eau traitée) : Microcystine-LR $<1,5$ µg/L

Lorsque l'eau traitée contient $<1,5$ µg de microcystine-LR/L, l'organisme chargé de l'échantillonnage doit continuer de surveiller l'eau non traitée conformément à l'étape 11 (eau non traitée).

Étape 12 (eau non traitée) : Envoyer les résultats aux organismes

Les résultats obtenus des laboratoires (et ceux qu'on obtient au moyen de trousse d'essai sur le terrain, lorsqu'ils sont disponibles) sur les concentrations de microcystine-LR sont signalés à l'organisme chargé de l'échantillonnage le plus rapidement possible après la réception de l'échantillon. Les organismes chargés de l'échantillonnage doivent faire part des résultats aux propriétaires de l'approvisionnement d'eau.

Étape 12 (eau traitée) : Envoyer les résultats aux organismes

Les résultats d'analyses de la teneur en microcystine-LR des eaux traitées sont signalés à l'organisme chargé de l'échantillonnage le plus tôt possible du moment où l'on a obtenu les résultats positifs sur l'eau non traitée provenant du même point d'échantillonnage. Il incombe aux organismes chargés de l'échantillonnage de signaler les résultats aux propriétaires de l'approvisionnement d'eau ou aux organismes compétents.