

ÉCOTOXICOLOGIE DES TOXINES DES CYANOBACTÉRIES

Par

Mélanie Ouellet

Essai présenté au Centre universitaire de formation en environnement en vue de l'obtention
du grade de maître en environnement (M.Env.)

Directeur d'essai

Raymond Van Coillie, Ph.D.

CENTRE UNIVERSITAIRE DE FORMATION EN ENVIRONNEMENT
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, 21 janvier 2012

SOMMAIRE

Mots clés : microcystine, nodularine, cylindrospermopsine, anatoxine, saxitoxine, β -N-méthylamino-L-alanine, lipopolysaccharides, facteurs, toxicocinétique, toxicodynamique.

La qualité des plans d'eau est de plus en plus affectée par diverses activités humaines. Face à cela, il est essentiel de mieux cerner les différents facteurs qui contribuent au déperissement de la qualité de cette ressource existentielle.

C'est dans cette optique que s'inscrit le sujet de cet essai sur l'écotoxicologie des cyanotoxines relâchées par des cyanobactéries. À cette fin, les configurations, les caractéristiques physicochimiques et les valeurs toxiques des toxines des cyanobactéries sont précisées. Ensuite, les facteurs qui influencent la synthèse et la libération des cyanotoxines dans l'environnement sont explicités. Leur toxicocinétique et leur toxicodynamique complètent leur étude toxicologique. Finalement, dans un contexte de prévention, des suggestions et des identifications de lacunes sont ajoutées concernant la problématique.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je tiens à remercier chaleureusement mon directeur d'essai monsieur Raymond Van Coillie et sa charmante épouse Germaine pour le partage de leurs connaissances, leurs conseils, support et générosité sans lesquels cet essai n'aurait vu le jour. Par leur confiance et soutien, ils ont su me guider et me diriger afin de mener à terme ce grand projet. Par la même occasion, je tiens à remercier mes amies et mes proches qui ont su être patients et m'écouter parler de cyanotoxines plus souvent qu'à mon tour et me répéter sans cesse : « let's go t'es capable, on croit en toi » C'est une chance exceptionnelle d'avoir été si bien entourée tout au long de ce défi et de vous avoir dans ma vie.

En dernier lieu, je remercie le CUFÉ pour sa collaboration et plus particulièrement madame Judith Vien.

Cet accomplissement je le dois à vous tous et je vous en remercie grandement, car il me permet d'avancer maintenant dans une nouvelle étape de la vie et vers de nouveaux projets plus enrichissants les uns que les autres. Merci de tout cœur.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
1 PROBLÉMATIQUE.....	3
2 STRUCTURES, CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES ET VALEURS TOXIQUES DES TOXINES DES CYANOBACTÉRIES.....	7
2.1 HÉPATOTOXINES	7
2.1.1 Microcystines	7
2.1.2 Nodularine.....	9
2.1.3 Cylindrospermopsine	10
2.2 NEUROTOXINES.....	11
2.2.1 Anatoxines.....	11
2.2.2 Saxitoxine et dérivés.....	12
2.2.3 β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA)	14
2.3 DERMATOXINES	14
3 FACTEURS QUI INFLUENCENT LA SYNTHÈSE ET LA LIBÉRATION DES CYANOTOXINES DANS L'ENVIRONNEMENT.....	17
3.1 FACTEURS PHYSICOCHIMIQUES	17
3.1.1 Phosphore.....	17
3.1.2 Azote.....	18
3.1.3 Fer.....	19
3.1.4 pH	19
3.1.5 Température	20
3.1.6 Luminosité.....	20
3.2 FACTEURS BIOLOGIQUES.....	21
3.2.1 Phase de croissance cellulaire	21
3.2.2 Présence de compétiteurs et de prédateurs.....	22
3.2.3 Facteurs génétiques.....	23
4 TOXICOCINÉTIQUE.....	24

4.1	ABSORPTION	24
4.2	DISTRIBUTION	27
4.3	BIOTRANSFORMATION	28
4.4	ÉLIMINATION	30
4.5	DEMI-VIES DES CYANOTOXINES	31
5	TOXICODYNAMIQUE	33
5.1	MICROCYSTINES ET NODULARINE	33
5.2	CYLINDROSPERMOPSINE.....	33
5.3	ANATOXINES.....	34
5.4	SAXITOXINE ET DÉRIVÉS.....	37
5.5	B-N-MÉTHYLAMINO-L-ALANINE.....	38
5.6	DERMATOXINES	38
6	PRÉVENTION.....	40
7	SUGGESTIONS.....	44
	CONCLUSION	46
	RÉFÉRENCES	48

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Structure chimique de la microcystine-LR.....	9
Figure 2.2 Structure chimique de la nodularine	10
Figure 2.3 Structure chimique de la cylindrospermopsine.....	11
Figure 2.4 Structure chimique de l'ATX-a, de l'homoATX-a et de l'ATX-a (s)	12
Figure 2.5 Structure chimique de la saxitoxine	13
Figure 2.6 Structure chimique de la β -N-méthylamino-L-alanine	14
Figure 2.7 Structure chimique des lipopolysaccharides	15
Figure 5.1 Mécanisme d'action de l'anatoxine-a.....	35
Figure 5.2 Mécanisme d'action de l'anatoxine-a (s).....	36
Figure 5.3 Mécanisme d'action de la saxitoxine et de la néo-saxitoxine	37

LISTE DES ACRONYMES, DES SYMBOLES ET DES SIGLES

AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Paris
AFSSET	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, Paris
AMPA	Récepteur du glutamate
ATX	Anatoxine
ATX-a	Anatoxine-a
ATX-a (s)	Anatoxine-a (s)
BMAA	β -N-méthylamino-L-alanine
Ca ²⁺	Ion calcium
CEAEQ	Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Sainte-Foy
CUFE	Centre universitaire de formation en environnement, Université de Sherbrooke
CYN	Cylindrospermopsine
CYP450	Cytochrome P-450
Cys	Cystéine
d	Jour (dies en latin)
Da	Dalton, masse moléculaire en atome gramme
DL ₅₀	Dose létale qui tue 50 % des individus exposés pendant une durée précisée
DSP	Directeur de santé publique
GSH	Glutathion
GTX	Gonyautoxine
h	Heure
HomoATX-a	Homoanatoxine-a
HPT	Hépatotoxine
IARC	International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
ip	Intrapéritonéale (injection)
K ⁺	Ion potassium
L	Leucine
LPS	Lipopolysaccharides

MAMROT	Ministère des Affaires municipales, des Régions et de l'Occupation du territoire, Québec
MAPAQ	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Québec
MC	Microcystine
MC-LR	Microcystine dont les acides aminés en position 2 et 4 sont la leucine et l'arginine
MDDEP	Ministère de Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Québec
MDEIE	Ministère du Développement économique, de l'Innovation et de l'Exportation, Québec
min	Minute
MRNF	Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, Québec
MSP	Ministère de la Sécurité publique
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
MTQ	Ministère des Transports du Québec, Québec
N ₂	Azote atmosphérique
Na ⁺	Ion sodium
NéoSTX	Néosaxitoxine
NHMRC	National Health and Medical Research Council, U.S.A.
NOD	Nodularine
NMDA	Récepteur du glutamate
p.c.	Poids corporel de l'animal receveur
pH	Potentiel hydrogène
PP1	Protéine phosphatase 1
PP 2	Protéine phosphatase 2
PSP	Paralytic shellfish poisons
R	Arginine
STX	Saxitoxine
UV	Ultraviolet
WHO	World Health Organization, Geneva

INTRODUCTION

Le signalement des plans d'eau touchés par des efflorescences de cyanobactéries n'a cessé d'augmenter au cours des dernières années au Québec. En 2010, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs (MDDEP) recensait 150 lacs et cours d'eau affectés alors qu'en 2004 il n'en comptait que 34. La population et les animaux se retrouvent donc de plus en plus en contact avec les toxines des cyanobactéries. Il devient alors important de cerner la problématique des cyanotoxines; ceci est l'objectif général du présent essai terminal de maîtrise en environnement.

À cette fin, quatre objectifs spécifiques sont ciblés. En premier lieu, une connaissance des structures, caractéristiques physico-chimiques et des valeurs toxiques des toxines des cyanobactéries est nécessaire. En second lieu, il importe d'identifier les facteurs qui influencent la fabrication et la sécrétion de ces toxines dans l'environnement. En troisième lieu, il faut expliciter la toxicocinétique et la toxicodynamique des cyanotoxines. En dernier lieu, dans un contexte de prévention, des suggestions sur la problématique et des identifications de lacunes sont opportunes concernant la problématique.

Le premier chapitre de cet essai présente la problématique des cyanotoxines et ses conséquences, le rôle écologique des cyanobactéries dans le cycle de l'azote ainsi que les causes écotoxicologiques de la prolifération des cyanobactéries. Le deuxième chapitre expose la structure, les caractéristiques physicochimiques et les valeurs toxiques des toxines des cyanobactéries classées selon leur mode d'action : hépatotoxines, neurotoxines et dermatoxines. Le troisième chapitre développe les facteurs qui influencent la synthèse et la sécrétion des cyanotoxines dans l'environnement. Le chapitre suivant décrit la toxicocinétique de celles-ci. Par la suite, les mécanismes de toxicité des cyanotoxines sont explicités. Enfin, les deux derniers chapitres ciblent les moyens de prévention à adopter contre les toxines des cyanobactéries et présentent des suggestions afin de combler les lacunes aux niveaux des connaissances actuelles sur les toxines produites par les cyanobactéries et leurs suivis.

Dans le but d'avoir des informations fiables, une attention particulière a été portée à la validité des sources à l'aide des recommandations présentées dans le protocole de rédaction du Centre universitaire de formation en environnement (CUFE, 2010). De nombreux articles scientifiques provenant de périodiques avec groupe de réviseurs, des sites internet d'organismes gouvernementaux ainsi que des monographies ont été utilisés. Afin de présenter l'information la plus valide sur le sujet, les sources d'informations les plus récentes sur le sujet ont été privilégiées.

1 PROBLÉMATIQUE

La présence des cyanobactéries et de leurs toxines dans les écosystèmes aquatiques n'est pas une problématique nouvelle. Elle est répandue à travers le monde et est de plus en plus fréquente (Carmichael, 2001). En 2010, le MDDEP a répertorié 150 plans d'eau touchés par des efflorescences de cyanobactéries dans la province de Québec (MDDEP, 2010). L'apparition de ces cyanobactéries dans un plan d'eau a de nombreuses conséquences à différents niveaux, comme explicité ci-après :

qualité organoleptique du système aquatique affectée :

- modifications de l'odeur, de la couleur et de la turbidité du plan d'eau en raison de la présence des cyanobactéries et de leurs toxines ainsi que lors de la phase de décomposition de la prolifération;

impacts sur les organismes du milieu :

- biodiversité de l'écosystème et équilibre des réseaux trophiques modifiés lors de la formation d'une efflorescence de cyanobactéries; la croissance rapide de la fleur d'eau consomme beaucoup d'oxygène et de nutriments du milieu où leur quantité est abaissée pour les autres organismes présents dans le plan d'eau;
- mortalité des poissons par obstruction des branchies par les cyanobactéries, intoxication ou teneur en oxygène dans l'eau trop faible;
- intoxications et mortalités d'animaux s'abreuvant en bordure des plans d'eau où il y a généralement accumulation de toxines dans les écumes;

impacts sur les usages anthropiques de l'eau :

- baignade et autres activités récréatives sur les plans d'eau interdites ou désagréables en présence d'efflorescences;
- abreuvement du bétail dans les plans d'eau non autorisé pendant une période de temps;

- traitement de l'eau potable plus complexe, car la présence des cyanobactéries peut exiger des modifications aux niveaux des réactifs et des méthodes de traitements des eaux et causer le colmatage de certaines infrastructures;
- exposition aux toxines des cyanobactéries pouvant causer un danger pour la santé humaine et animale.

Malgré tous les inconvénients engendrés par la présence d'une prolifération de cyanobactéries, la présence des cyanobactéries dans les plans d'eau est essentielle pour l'équilibre du cycle de l'azote de ceux-ci. En effet, l'azote est souvent un élément limitant dans les plans d'eau et plusieurs espèces de cyanobactéries ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique (N_2). La fixation de N_2 est possible grâce aux cellules différenciées des cyanobactéries, à savoir des hétérocystes qui contiennent l'enzyme nitrogénase. Cette enzyme convertit le N_2 en ammonium NH_4^+ , une forme assimilable de l'azote. Cette particularité des espèces de cyanobactéries fixatrices d'azote leur confère un avantage lorsque l'azote devient limitant dans le milieu. De plus, des symbioses existent entre des plantes aquatiques et des cyanobactéries fixatrices d'azote. La symbiose entre la cyanobactérie *Anabaena* et la plante aquatique *Azolla* est bénéfique pour les deux espèces. La cyanobactérie fournit à la plante de l'azote sous forme d'ammonium et l'hôte lui procure en retour des substrats carbonés issus de la photosynthèse (James, 2000).

La prolifération écotoxicologique des cyanobactéries est influencée par de nombreux facteurs. Certains sont des facteurs environnementaux alors que d'autres sont des caractéristiques des cyanobactéries qui leur confèrent une forte valeur sélective.

Les causes environnementales les plus souvent rapportées comme étant favorables au développement d'efflorescences de cyanobactéries sont des concentrations élevées en nutriments, une grande stabilité de la colonne d'eau ainsi que des conditions météorologiques favorables.

Le phénomène d'eutrophisation, qui est un enrichissement des milieux aquatiques par un apport élevé d'éléments nutritifs, contribue fortement à la prolifération des cyanobactéries.

Les principaux éléments impliqués sont le phosphore et l'azote. Ces nutriments sont généralement limitants en milieu naturel; cependant, en conditions eutrophes, ils sont présents en concentrations élevées et favorisent la croissance du phytoplancton et donc des cyanobactéries.

Une grande stabilité du plan d'eau et la stratigraphie de celui-ci avantagent le développement des cyanobactéries. Au niveau de l'épilimnion, couche supérieure du plan d'eau, la croissance végétale est importante initialement, car les conditions y sont favorables avec une présence de lumière et de nutriments. Par contre, cette croissance importante entraîne une diminution de la quantité de nutriments disponibles au niveau de l'épilimnion. Le phytoplancton dont la densité est plus élevée que l'eau a tendance à descendre dans la colonne d'eau aux niveaux du méta et de l'hypolimnion où les nutriments sont en concentrations plus importantes. La lumière est moins importante au niveau des couches inférieures de la colonne d'eau; cela nuit au développement du phytoplancton. Les cyanobactéries sont favorisées lorsque le plan d'eau est stratifié, car leur faculté à se déplacer dans la colonne d'eau leur permet de profiter des nutriments en profondeur et de la lumière en surface du plan d'eau.

Parmi les conditions météorologiques, la lumière et la température influencent le plus la prolifération des cyanobactéries. La croissance des cyanobactéries et celle de l'ensemble du phytoplancton sont favorables en présence d'une importante luminosité. Par contre, le développement des cyanobactéries est favorisé au détriment des autres espèces du phytoplancton en condition de faible luminosité. Les cyanobactéries possèdent de nombreux pigments accessoires qui leur permettent d'exploiter une gamme plus importante de longueurs d'onde lumineuse. Ces pigments soutiennent une croissance des cyanobactéries lorsque les conditions de luminosité sont très faibles dans le milieu.

Les travaux de Robarts and Zohary (1987) montrent que les effets directs de la température, telle une augmentation de la température de plan d'eau, sont secondaires par rapport aux effets indirects comme la stratification du plan d'eau qui permet une croissance dominante des cyanobactéries.

Les propriétés de certaines espèces de cyanobactéries qui contribuent à leur prolifération sont les suivantes :

- formation de réserve de phosphore (sous forme de polyphosphate) et d'azote (sous forme de cyanophycine et phycocyanine) lorsqu'ils sont présents en quantité importante dans le milieu (Oliver and Ganf, 2000);
- réserve de phosphore et d'azote dont les taux de synthèse sont modifiés en fonction des conditions environnementales;
- présence de pigments accessoires tels la phycocyanine, l'allophycocyanine et la phycoérythrine permettant aux cyanobactéries d'exploiter un plus large spectre de longueurs d'onde lumineuse;
- différenciation de cellules végétatives en hétérocystes capables de fixer l'azote atmosphérique lorsque l'azote sous forme assimilable est pauvre dans le plan d'eau;
- formation d'akinètes, cellules à parois épaisses contenant des réserves, lorsque les conditions environnementales sont défavorables, ce qui permet aux cyanobactéries d'entrer en dormance et leur confère un avantage sélectif sur les autres espèces en ayant une croissance rapide lorsque les conditions du milieu s'améliorent;
- capacité de réguler leur flottaison à l'aide de vésicules gazeuses.

2 STRUCTURES, CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHEMIQUES ET VALEURS TOXIQUES DES TOXINES DES CYANOBACTÉRIES

Les cyanotoxines sont des toxines naturelles qui présentent une grande diversité de structures chimiques et de mécanismes toxiques (Sivonen and Jones, 1999). Ces toxines peuvent être classées en fonction de leur structure chimique : peptides cycliques, alcaloïdes ou lipopolysaccharides (LPS). Le classement des toxines des cyanobactéries peut également se faire selon leur mode d'action : les hépatotoxines (le foie), les neurotoxines (le système nerveux) et les dermatotoxines (la peau).

2.1 Hépatotoxines

Impliquées dans de nombreux cas d'intoxication, ce groupe de toxines est fréquent dans les proliférations de cyanobactéries (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). Les hépatotoxines (HPT) agissent principalement sur le foie, mais d'autres organes peuvent également être atteints tels les intestins et les reins (Sivonen and Jones, 1999).

2.1.1 Microcystines

Les microcystines (MCs) sont des peptides cycliques de sept acides aminés, cinq acides aminés non protéiques et deux acides aminés protéiques. Ces deux derniers, situés aux positions 2 et 4, permettent de différencier les MCs, en utilisant la nomenclature qui désigne chaque acide aminé par une lettre unique (Jaiswal *et al.*, 2008). Par exemple, la MC-LR contient les acides aminés leucine (L) à la position 2 et arginine (R) à la position 4. La formule générale des MCs est un cycle de [D-Ala¹-X²-D-Me-Asp³-Z⁴-Adda⁵-D-Glu⁶-Mdha⁷] où X et Z sont des acides aminés L (figure 2.1). Jusqu'à présent, 75 variantes structurales ont été caractérisées (Svrcek and Smith, 2004). Les principales modifications sont des substitutions de l'acide aminé-L aux positions 2 et/ou 4 et des déméthylations des

acides aminés aux positions 3 et/ou 7 (Sivonen and Jones, 1999). La masse moléculaire des MCs est estimée entre 500 et 4000 daltons (Da). Les MCs les plus fréquentes ont une masse moléculaire qui se situe entre 900 et 1100 Da (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). Les MCs sont des promoteurs de tumeur au niveau du foie en plus d'être de puissants inhibiteurs des protéines phosphatases 1 et 2A (PP1 et PP2) de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine (Sivonen and Jones, 1999). La chaîne Adda est un élément structural important au niveau de l'activité biologique des MCs; elle se fixe aux protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine. Une modification des MCs telle une séparation de la chaîne Adda du peptide cyclique les rend non toxiques (Carmichael, 1992). L'acide D-glutamique a également un rôle au niveau de la toxicité des MCs puisque des modifications de cet acide entraînent une réduction de la toxicité des MCs (Stotts *et al.*, 1993). Toutes les variantes structurales des MCs n'ont pas le même niveau de toxicité; la DL₅₀, 24h intrapéritonéale (ip) chez des souris peut varier de 25 à plus de 1200 µg/kg poids corporel (p.c.) (Hotto *et al.*, 2007). Les MCs sont solubles dans l'eau, le méthanol et l'éthanol et sont insolubles dans l'éther, l'acétone, le chloroforme et le benzène (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). À potentiel hydrogène (pH) neutre, les MCs s'avèrent très stables et résistantes à des conditions d'oxydation ou d'hydrolyse chimique (Sivonen and Jones, 1999). Les MCs restent actives après ébullition. En milieux naturels et à la noirceur, les MCs persistent des mois et même des années. Elles se révèlent stables sous des conditions de lumière naturelle mais se dégradent sous d'intenses rayonnements ultraviolets (UV). L'ozonation et les puissants agents oxydants ont la capacité de dégrader les MCs (*ibid.*).

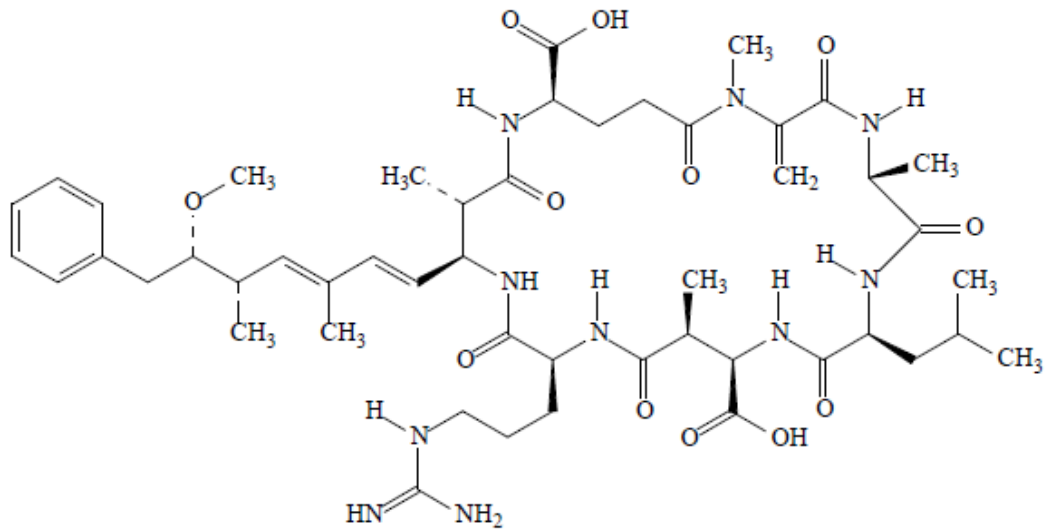


Figure 2.1 Structure chimique de la microcystine-LR

Tirée de International Agency for Research on Cancer (IARC), 2010, p.333

2.1.2 Nodularine

La nodularine (NOD) est un peptide cyclique de cinq acides aminés pesant 824 Da (figure 2.2). Il existe sept variantes structurales à la NOD dont la structure générale est un cycle de [D-MeAsp¹-L-Arg²- Adda³- D-Glu⁴- Mdhb⁵] (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). Comme les MCs, la NOD est un promoteur de tumeur au niveau du foie en plus d'être un puissant inhibiteur des protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine (Sivonen and Jones, 1999). La DL₅₀ ip 24h de la NOD chez des souris est 50 µg/kg p.c. (Chorus *et al.*, 2000). La NOD est une molécule très soluble dans l'eau et n'est pas dénaturée après ébullition. Elle n'est pas volatile (Svrcek and Smith, 2004). La NOD s'avère très stable et résistante à l'hydrolyse chimique ou l'oxydation à pH neutre (Sivonen and Jones, 1999).

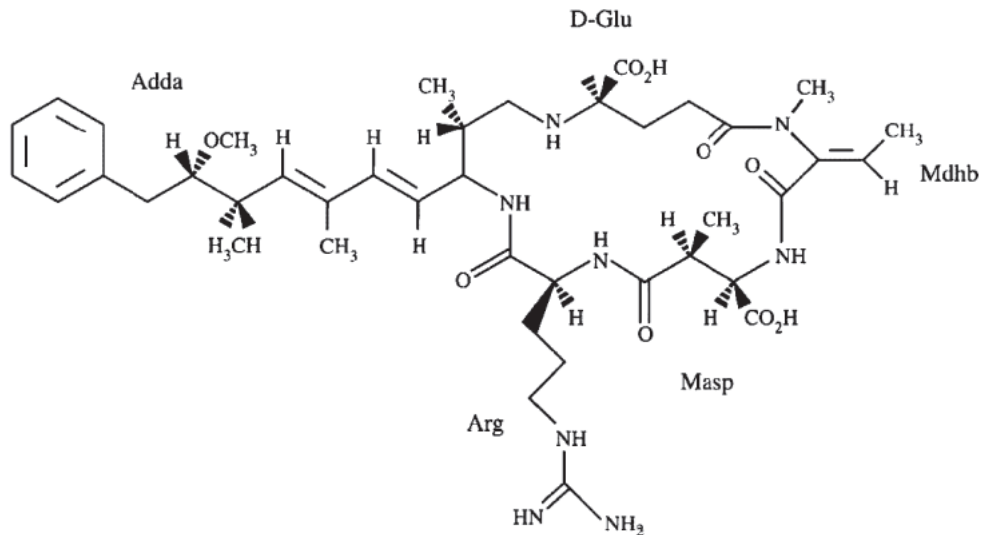


Figure 2.2 Structure chimique de la nodularine

Tirée de Funari and Testai, 2008, p.103

2.1.3 Cylindrospermopsine

La cylindrospermopsine (CYN) est un alcaloïde hépatotoxique de 415 Da; elle est une guanine tricyclique combinée à un uracile hydroxyméthylé (figure 2.3). Sa structure chargée électriquement la rend très polaire et très soluble dans l'eau (Chiswell *et al.*, 1999). La CYN se dégrade rapidement; elle a une demi-vie de 1,5 h lorsqu'elle est extraite et exposée à la lumière du soleil (*ibid.*). Par contre, lorsqu'elle est en solution, la CYN est assez stable tant à la noirceur qu'à différentes intensités de lumière et à divers pH et température (*ibid.*). L'organe cible de la CYN est le foie mais d'autres organes tels les reins, les poumons, le thymus, la rate, les glandes surrénales, l'intestin et le cœur peuvent également être affectés (Hawkins *et al.*, 1985). La toxicité de la CYN exprimée en DL₅₀ ip 24h chez des souris est 2100 µg/kg p.c. et sa DL₅₀, 5 à 6 d est 200 µg/kg p.c. (Ohtani *et al.*, 1992). Deux analogues structuraux de la CYN ont été identifiés, à savoir la désoxycylindrospermopsine (Norris *et al.*, 1999) et la 7-épicylindrospermopsine (Banker *et al.*, 2000).

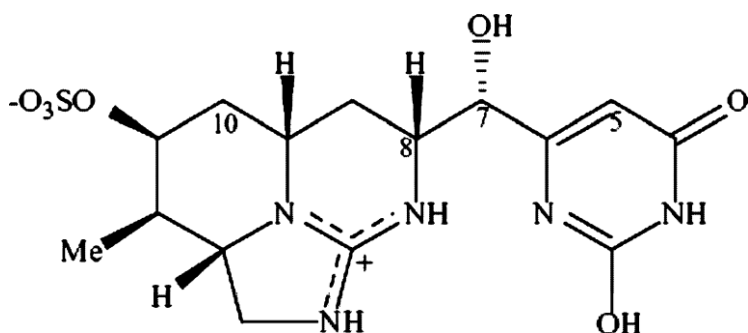


Figure 2.3 Structure chimique de la cylindrospermopsine

Tirée de Funari and Testai, 2008, p.103

2.2 Neurotoxines

Les neurotoxines des cyanobactéries sont classées en trois familles : les anatoxines (ATX), la saxitoxine (STX) et ses dérivés et la β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA). Elles agissent toutes au niveau de la jonction neuro-musculaire mais sont différentes aux niveaux de leur structure, mécanisme d'action et toxicité.

2.2.1 Anatoxines

Toutes les ATX font partie de la famille des alcaloïdes.

L'ATX-a est une amine secondaire bi-cyclique appelée 2-acétyl-9-azabicyclo [4-2-1] non-2-ene et pesant 165 Da (figure 2.4). Cette toxine soluble dans l'eau est un puissant agent de dépolarisation postsynaptique qui agit en mimant l'effet de l'acétylcholine (Sivonen and Jones, 1999). L'ATX-a est relativement stable à la noirceur et se dégrade rapidement à la lumière du soleil lorsqu'elle est seule en solution (Stevens and Krieger, 1991). Sa dégradation est plus rapide en milieu alcalin. La toxicité de l'ATX-a est DL_{50} ip 24h 250 μ g/kg p.c. chez des souris (Devlin *et al.*, 1977).

L'homoATX-a est un homologue de l'ATX-a où un groupement acétyle est substitué par un groupement propionyle (figure 2.4) (Svrcek and Smith, 2004); elle pèse 179 Da. Le

mécanisme d'action de cette molécule est le même que son homologue l'ATX-a. L'homoATX-a est légèrement moins toxique; sa DL_{50} ip 24h chez des souris est 330 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (Namikoshi *et al.*, 2003).

L'ATX-a(s) est un ester phosphate d'une N-hydroxyguanine de 252 Da (figure 2.4). Elle est un inhibiteur irréversible de l'acétylcholinestérase. Le (s) signifie facteur de salivation, car cette toxine engendre une hyper salivation. L'ATX-a (s) s'avère très toxique, soit environ dix fois plus que l'ATX-a; sa DL_{50} ip 24h chez des souris est 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (Carmichael, 2001). Elle est relativement stable en milieu acide ou neutre et devient instable en milieu alcalin ou à des températures élevées ($>40^{\circ}\text{C}$) (*ibid.*).

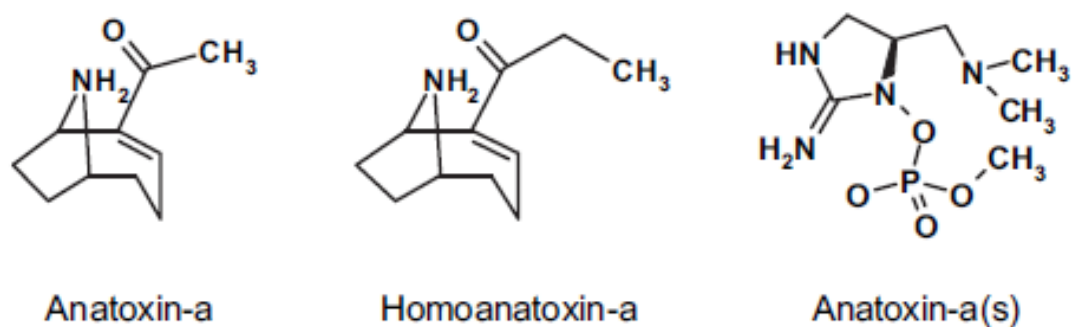


Figure 2.4 Structure chimique de l'ATX-a, de l'homoATX-a et de l'ATX-a (s)

Tirée de Araújo *et al.*, 2010, p.815

2.2.2 Saxitoxine et dérivés

La STX et ses dérivés ne sont pas produits exclusivement par les cyanobactéries. En effet, ce groupe de toxines est également produit par certaines espèces de dinoflagellés marins qui possèdent des « *paralytic shellfish poisons* » (PSP). Elles sont responsables des intoxications paralysantes par les fruits de mer en raison de leur capacité à s'accumuler dans les crustacés et mollusques (Funari and Testai, 2008). Les STXs et leurs dérivés sont des alcaloïdes avec un noyau tétrahydropurique (figure 2.5).

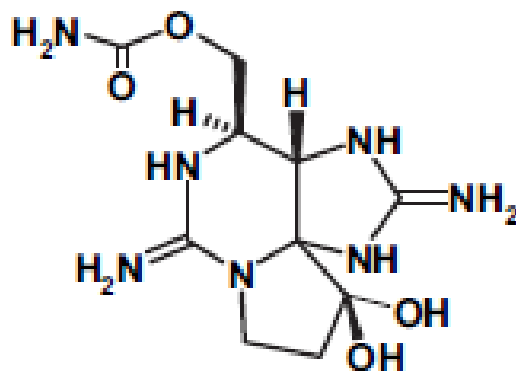


Figure 2.5 Structure chimique de la saxitoxine

Tirée de Aráoz *et al.*, 2010, p.815

Ce groupe comporte 27 variantes moléculaires de 241 à 491 Da; leur niveau de sulfatation varie (Humpage, 2008; Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) et Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET), 2006). Par exemple, on trouve des variantes non sulfatées comme la STX, les gonyautoxines (GTXs) monosulfatées et les C-toxines bisulfatées. Les STXs et leurs dérivés ont le même mécanisme d'action, à savoir bloquer les canaux de sodium des neurones, ce qui empêche la transmission de l'influx nerveux (Kao, 1993). Elles inhibent aussi les canaux de calcium et de potassium des cellules cardiaques, ce qui rend la propagation de leur potentiel d'action impossible (Su *et al.*, 2004). Le niveau de toxicité des dérivés de ce groupe est variable avec une DL_{50} ip 24h chez des souris entre 10 et 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (Chorus *et al.*, 2000; Ransom *et al.*, 1994;). La STX est le membre de ce groupe de toxines qui a la toxicité la plus élevée (Kao, 1993). La STX et ses dérivés ont une stabilité chimique variable et se transforment souvent en sous-produits qui peuvent être plus ou moins toxiques (Sivonen and Jones, 1999). La STX et la néoSTX sont solubles dans l'eau et le méthanol, mais non soluble dans l'acétone, l'éther et le chloroforme. Elles sont stables dans une solution chaude et acide à pH 2-4 mais se dégradent rapidement lorsque le pH augmente (Jackim and Gentile, 1968).

2.2.3 β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA)

La β -N-méthylamino-L-alanine est un acide aminé qui n'est pas inclus dans la synthèse des protéines. Cette petite molécule hydrosoluble a une masse moléculaire de 118,13 Da (figure 2.6). Elle existe sous deux formes différentes; soit libre ou liée à une protéine (Ince and Codd, 2005). La BMAA est un agoniste du glutamate qui se lie aux récepteurs glutamate NMDA et AMPA (Banack *et al.*, 2007) et provoque ainsi l'excitation des neurones. Cette neurotoxine peut causer des dommages aux neurones moteurs à des très faibles concentrations. En effet, à des concentrations aussi faibles que 10-30 μ M/L, la BMAA peut causer la mort sélective des neurones moteurs (Lobner *et al.*, 2007; Rao *et al.*, 2006).

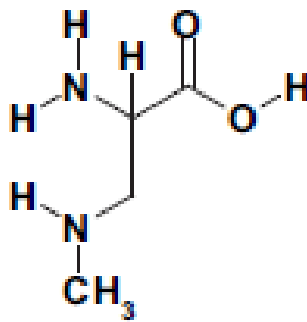


Figure 2.6 Structure chimique de la β -N-méthylamino-L-alanine

Tirée de Aráoz *et al.*, 2010, p.815

2.3 Dermatoxines

Les dermatoxines sont des molécules qui ont des effets irritants. Elles sont des lipopolysaccharides (LPS) et des alcaloïdes dermatoxiques.

Les LPS font partie intégrante de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives et des cyanobactéries. La structure générale des LPS est constituée de quatre régions : une

protéine antigénique de type antigène O (région I), un noyau polysaccharidique (régions II et III) et une partie lipidique A (région IV) (figure 2.7) (Sivonen and Jones, 1999). Il existe plusieurs variantes de LPS. Ceux-ci provoquent des irritations, des réactions allergiques et même des problèmes gastro intestinaux. Ces effets n'ont jamais été reproduits expérimentalement et le mécanisme d'action précis des LPS des cyanobactéries n'est pas connu (Funari and Testai, 2008).

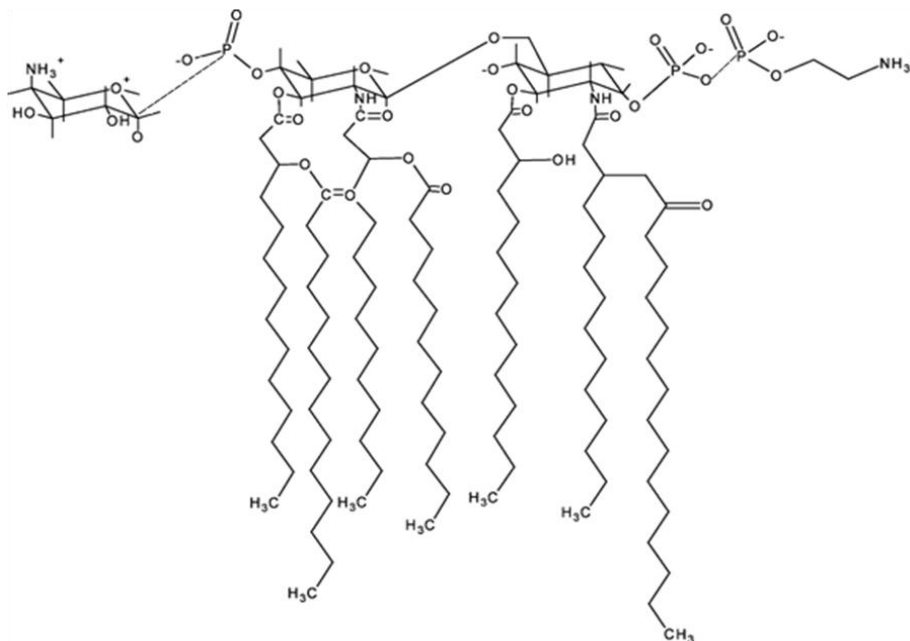


Figure 2.7 Structure chimique des lipopolysaccharides

Tirée de Funari and Testai, 2008, p.107

Les alcaloïdes dermatotoxiques comprennent trois toxines : l'aplysiatoxine, la débromoaplysiatoxine et la lyngbyatoxine. Jusqu'à présent, ce groupe de toxines n'a été détecté que dans des milieux marins.

L'aplysiatoxine et la débromoaplysiatoxine sont des phénols bilactones. Elles sont de puissants agents inflammatoires et s'avèrent des activateurs de la protéine kinase C et des promoteurs de tumeurs (Sivonen and Jones, 1999). L'aplysiatoxine a une DL₅₀ ip 24h de 100-120 µg/kg p.c. chez des souris (Funari and Testai, 2008).

La lyngbyatoxine est un alcaloïde avec indole. Sa structure moléculaire est identique à celle d'un isomère de la téléocidine A présent dans le mycélium de nombreuses souches de *Streptomyces* (Osborne *et al.*, 2001). Elle cause des dermatites et de l'inflammation au niveau de la bouche et du système gastro intestinal (Svrcek and Smith, 2004). Le mécanisme d'action de cette toxine est similaire à celui des autres alcaloïdes dermatotoxiques. Sa DL₅₀ ip 24h est 250 µg/kg p.c. chez des souris (Funari and Testai, 2008).

3 FACTEURS QUI INFLUENCENT LA SYNTHÈSE ET LA LIBÉRATION DES CYANOTOXINES DANS L'ENVIRONNEMENT

La synthèse et la libération des cyanotoxines sont influencées par un ensemble de facteurs. Deux hypothèses sont actuellement émises pour justifier la synthèse et la libération de ces toxines.

«Dans la première, les toxines sont des métabolites secondaires des cyanobactéries, dont la production, régulée au niveau cellulaire, est une réponse au stress. La seconde hypothèse émergente est que les toxines sont des métabolites primaires, dont l'expression est constitutive. Le taux de production des toxines par cellule serait proportionnel au taux de croissance des cyanobactéries.» (ASSAF, 2006, p. 32)

Quelque soit l'hypothèse envisagée, des paramètres environnementaux physicochimiques ou biologiques influencent la synthèse et la libération des cyanotoxines. Les conséquences de cette influence sont variables selon les résultats trouvés dans la littérature sur le sujet.

3.1 Facteurs physicochimiques

Différents facteurs physicochimiques ont des effets sur la synthèse et la libération des cyanotoxines. Ces facteurs abordés dans la littérature sont les suivants : phosphore, azote, fer, pH, température et luminosité.

3.1.1 Phosphore

Le phosphore est un facteur important à considérer pour la synthèse des cyanotoxines, car il s'agit du facteur qui contribue le plus à la prolifération des cyanobactéries. En milieu naturel, le phosphore est le principal élément limitant (Van Coillie et Van Coillie, 2011).

De fait, plus la quantité de phosphore est importante dans le milieu, plus la croissance des cyanobactéries est importante et donc plus de toxines sont synthétisées.

« En effet, une étude de Oh *et al.* (2000) suggère que le taux de production de MC par *Microcystis aeruginosa* est déterminé par le taux de croissance de la cellule, qui est à son tour déterminé par la concentration de phosphore dans l'environnement. » (Lavoie *et al.*, 2007, p. 41)

Selon Sivonen and Jones (1999), une augmentation de la quantité de MCs (synthétisée par *Anabaena sp.*, *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria agardhii*), d'ATX-a (synthétisée par *Aphanizomenon sp.*) et de NOD (synthétisée par *Nodularia spumigena*) est observée lorsque le phosphore est présent en quantité plus importante dans le milieu. Par contre, le phosphore n'a pas d'effet sur la synthèse d'ATX-a par *Anabaena sp.* (Rapala *et al.*, 1993). De leur côté, Giani *et al.* (2005) ont observé que le phosphore a une influence négligeable sur la quantité de MCs synthétisée par cellule, mais qu'il augmente la quantité totale de MCs synthétisée par le biais de l'augmentation du taux de croissance des cyanobactéries. L'influence directe du phosphore sur la synthèse de cyanotoxine par cellule est donc difficile à établir en raison des différences quantitatives et qualitatives entre les différentes espèces et souches de cyanobactéries.

L'étude réalisée par Pattanaik *et al.* (2010) identifie une corrélation significative entre les quantités de NOD intracellulaire et extracellulaire, ce qui révèle que la synthèse et l'excrétion de NOD sont interdépendantes. Une augmentation intracellulaire de NOD engendre donc une augmentation de NOD extracellulaire. Pattanaik *et al.* (2010) concluent que les concentrations maximales de NOD intracellulaires et leur excrétion dans le milieu se produisent lorsque le phosphore est en quantité très importante dans le milieu environnant. Le phosphore aurait donc une influence sur l'excrétion active de la NOD dans le milieu.

3.1.2 Azote

L'effet de l'azote sur la synthèse des cyanotoxines diffère selon qu'il s'agisse de souches de cyanobactéries fixatrices d'azote ou de souches non fixatrices d'azote. Les souches

d'*Anabaena sp.*, d'*Aphanizomenon sp.* et de *Nodularia sp.* toutes capables de fixer l'azote atmosphérique montrent des niveaux de MC, ATX-a et NOD intracellulaires plus élevées lorsqu'elles sont dans des milieux de culture sans azote (Pattanaik *et al.*, 2010; Rapala *et al.*, 1997). Au contraire, les souches d'*Oscillatoria sp.* et de *Microcystis sp.* non fixatrices d'azote produisent des toxines en quantité plus importante lorsque le niveau d'azote est élevé dans le milieu (Sivonen, 1990).

3.1.3 Fer

L'influence du fer sur la production de toxines est contradictoire. D'une part, les travaux d'Utkilen and Gjølme (1995) suggèrent un rôle positif du fer sur la synthèse de la MC chez les souches *Microcystis aeruginosa*. Les études menées par Lyck *et al.* (1996) et Lukac and Aegerter (1993) montrent aussi que des quantités de MCs sont plus importantes lorsque *Microcystis aeruginosa* est en présence de fer en concentration élevée. D'autre part, les résultats des travaux d'Amé *et al.* (2003) indiquent une baisse des quantités de MCs lorsqu'il y a une hausse de la concentration en fer dans le milieu.

3.1.4 pH

Selon Van der Westhuizen and Eloff (1983), la synthèse de MC par *Microcystis aeruginosa* est plus importante à des pH élevés ou faibles. Par contre, les travaux de Jaiswal *et al.* (2007) soutiennent que le pH n'a pas d'effet significatif sur la synthèse de toxines par *Microcystis aeruginosa*. Les études qui ont trait à l'effet du pH sur la synthèse et l'excrétion des cyanotoxines sont très peu nombreuses dans la littérature scientifique et ne permettent pas de conclure sur l'effet du pH.

3.1.5 Température

Les études sur la température optimale pour la production de toxines par les cyanobactéries révèlent des discordances. En effet, les différentes souches et espèces de cyanobactéries n'ont pas toutes les mêmes températures optimales de croissance. Par contre, une tendance se dégage de nombreuses études. Elle explicite que la synthèse de toxines est plus élevée à des températures entre 18°C et 25°C alors que des températures basses (10°C) ou très élevées (30°C) diminuent la quantité de toxines produites (Sivonen and Jones, 1999). Par exemple, la synthèse de MCs par *Anabaena sp.* est maximale à 25°C (Rapala and Sivonen, 1998; Rapala *et al.*, 1997) alors que celle de NOD par *Nodularia spumigena* l'est à 19-20°C (Lehtimäki *et al.*, 1997). Rapala *et al.* (1997) ont observé une corrélation entre les différentes formes chimiques de toxines produites et les différentes températures; par exemple, *Anabaena sp.* synthétise des MCs-LR à des températures situées sous 25°C alors que des MCs-RR sont produites à des températures supérieures à 25°C.

Il faut souligner que les températures basses et même celles près du point de congélation ne tuent pas les cyanobactéries. Elles ont la capacité de former des akinètes, cellules à parois épaisses contenant des réserves, qui leur permettent de survivre lorsque les conditions environnementales sont défavorables. Au retour de conditions meilleures, elles peuvent croître rapidement dans le milieu et synthétiser à nouveau des cyanotoxines.

Les travaux de Hobson and Fallowfield (2003) ont montré que l'effet combiné de la température et du rayonnement lumineux élevés augmente l'excrétion de NOD dans le milieu. Sivonen (1990) suggère aussi que des rayonnements lumineux et températures élevés favorisent la sécrétion de toxine par *Oscillatoria agardhii*.

3.1.6 Luminosité

Les résultats des études sur la relation entre l'intensité de la lumière et la production de cyanotoxines sont variables. Plusieurs études constatent que les concentrations les plus

faibles en toxines sont observées sous de faibles intensités lumineuses (2-21 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$). La production de quantités plus élevées de toxines est atteinte sous des conditions lumineuses plus importantes (20-142 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$) (Rapala and Sivonen, 1998; Lehtimäki *et al.*, 1994; Rapala *et al.*, 1993; Van der Westhuizen and Eloff, 1985). Van der Westhuizen *et al.* (1986) ont mesuré les plus faibles quantités de toxines synthétisées par *M. aeruginosa* lorsque les niveaux d'intensité lumineuse étaient soit très bas ou très élevés. Utkilen and Gjølme (1992) ont aussi rapporté qu'au-delà d'un seuil maximal d'intensité lumineuse, variable selon les souches de cyanobactéries, une diminution de la synthèse des cyanotoxines a lieu. Par contre, Lehtimäki *et al.* (1994) ont mentionné qu'une variation de la luminosité de 7-42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ n'avait pas d'influence sur la production d'ATX-a par *Anabaena sp.* Rapala and Sivonen (1998) ont observé la même chose sur la production de NOD par *Nodularia spumigena* avec une variation de la lumière de 25-80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$. Chaque souche de cyanobactéries a sa plage de longueur d'onde lumineuse pour sa croissance optimale. Les différences entre les résultats des différentes études peuvent s'expliquer en partie par cet effet de souches, mais également par des facteurs des milieux de cultures.

Par ailleurs, l'excrétion de NOD augmente lorsque le rayonnement lumineux et le phosphore augmentent dans le milieu selon les recherches de Lehtimäki *et al.* (1997).

3.2 Facteurs biologiques

Cette section présente trois facteurs biologiques qui influencent la synthèse et la sécrétion des cyanotoxines.

3.2.1 Phase de croissance cellulaire

L'âge de la culture des cyanobactéries influence la quantité de toxines produites. La synthèse des MCs atteint son maximum pendant la phase logarithmique de croissance des cyanobactéries (Sivonen, 1996). De plus, la concentration maximale d'ATX-a est

également favorisée lors de la phase logarithmique de croissance (*ibid.*). La majorité des études indique que les cyanobactéries synthétisent le maximum de toxines lorsqu'elles sont dans leurs conditions optimales de croissance (Kaebernick and Neilan, 2001). Les résultats de Long *et al.* (2001) explicitent aussi que le contenu en MCs de *Microcystis aeruginosa* peut être prédit par le taux de croissance. En effet, les cellules de petites tailles, c'est-à-dire qui croissent rapidement, ont des concentrations de MCs plus élevées.

« Ces résultats sont cohérents avec le fait que la concentration en toxines dans l'eau ne coïncide pas nécessairement avec la biomasse maximale, mais plutôt avec la croissance maximale. » (Lavoie *et al.*, 2007, p. 43)

Par ailleurs, l'étude de Welker *et al.* (2003) a montré que le contenu en MCs de *Microcystis sp.* était moins important lorsque le taux de croissance était maximal.

Les résultats de Pattanaik *et al.* (2010) suggèrent que les conditions environnementales influencent la sécrétion de NOD dans le milieu lorsque les cellules sont en phase exponentielle de croissance. L'étude de Belov (1998) renforce cette idée puisqu'il a observé une augmentation de la sécrétion de cyanotoxines par les cultures d'*Oscillatoria sp.* qui étaient en phase exponentielle de croissance.

3.2.2 Présence de compétiteurs et de prédateurs

La présence d'*Aphanizomenon sp.* dans le même milieu de culture que *Nodulari spumigena* n'a eu aucun effet sur la concentration intracellulaire de NOD ou sur la sécrétion de NOD par *Nodulari spumigena* (Pattanaik *et al.*, 2010). De plus, le taux de croissance d'*Aphanizomenon sp.* n'a pas été affecté par la présence de *Nodulari spumigena*. Ces résultats permettent de penser qu'*Aphanizomenon sp.* et *Nodulari spumigena* occupent des niches écologiques différentes (Vahtera *et al.*, 2007; Kononen *et al.*, 1996).

La présence de prédateur comme le zooplancton induit une augmentation de la synthèse de MCs par *Microcystis sp.* selon l'étude réalisée par Jang *et al.* (2003). Ceci mène à une

hypothèse, à savoir que les toxines sont synthétisées comme mécanisme de défense. Par contre, le peu d'informations dans la littérature scientifique quant à l'effet de prédateur sur la synthèse et la sécrétions de cyanotoxines ne nous permet pas d'établir une influence évidente de la présence des prédateurs.

3.2.3 Facteurs génétiques

La variation de la quantité de MC synthétisée résulte de changements au niveau de la transcription des gènes qui codent pour cette toxine et subséquentement au niveau du nombre de copies d'ARN_m. Le groupe de gènes qui code pour la MC est *mcyABCDEFGHIJ* (Tillet *et al.*, 2001; Nishizawa *et al.*, 1999). Kaebernick *et al.* (2000) ont étudié l'effet de la lumière sur la transcription des gènes *mcyB* et *mcyD*. Leurs travaux montrent que le nombre de transcriptions augmente sous des intensités lumineuses élevées et sous la lumière rouge tandis que la lumière bleue cause une diminution des transcriptions de ces gènes. Tonk *et al.* (2005) ont observé que l'intensité de la lumière influence sur la synthèse de diverses variantes de MCs. Par exemple, lorsqu'elle est exposée à une forte intensité lumineuse, la cyanobactérie *Planktothrix agardhii* synthétise des variantes plus toxiques de MCs.

Il est établi qu'une multitude de facteurs influencent la synthèse et la sécrétion des cyanotoxines dans l'environnement (Kardinaal and Visser, 2005). Par contre, aucun résultat ne se révèle incontestable pour les effets de ces différents facteurs. En effet, les diverses études réalisées ne sont pas facilement comparables en raison de différentes souches de cyanobactéries et de différentes méthodes de culture et techniques d'analyse des toxines employées par les différents laboratoires. De plus, des études multifactorielles devraient être favorisées afin d'étudier l'impact de plusieurs facteurs combinés, car les études où seulement un facteur est évalué, ne sont pas très représentatives des conditions présentes dans les milieux naturels.

4 TOXICOCINÉTIQUE

La toxicocinétique est l'étude de la cinétique d'une substance toxique lors de son passage dans un organisme biologique. Elle comprend l'absorption, la distribution, la biotransformation et l'élimination de la substance à l'étude (Van Coillie, 2011). Il n'y a pas ou très peu de données sur la toxicocinétique des cyanotoxines chez les humains; les données présentées dans les sections suivantes réfèrent surtout à des animaux de laboratoire.

4.1 Absorption

L'absorption d'une substance toxique est sa pénétration à l'intérieur des cellules. Elle peut se faire par diverses façons telles que la diffusion passive par liposolubilité transmembranaire, le transport actif, la diffusion à travers des pores aqueux, la pinocytose et la phagocytose (Van Coillie, 2011).

Les principales voies d'exposition aux cyanotoxines chez l'humain sont l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminées, l'inhalation et le contact cutané.

Plusieurs exemples d'intoxication par les MCs sont présents dans la littérature; en grande majorité, ils concernent des animaux. L'incident le plus cité impliquant une intoxication chez des humains par la MC est celui de Caruaru au Brésil en 1996. Dans un centre d'hémodialyse, plusieurs patients ont subi une exposition à de l'eau contaminée avec des MCs. Environ 116 patients ont exprimé divers symptômes comme une perturbation de la vue, des nausées, des vomissements, des faiblesses musculaires; certains ont même eu des insuffisances hépatiques aiguës. Suite à cette intoxication par des MCs, 52 patients sont décédés (Azevedo *et al.*, 2002). Chez les animaux de laboratoire, la MC-LR a été la MC la plus étudiée. La MC-LR est une toxine hautement hydrophile et a une masse moléculaire relativement élevée; elle ne peut donc pas traverser les membranes cellulaires par diffusion

passive à l'aide d'une liposolubilité transmembranaire. Elle est absorbée par transport actif des transporteurs de l'acide biliaire et des transporteurs d'anions organiques au niveau de la muqueuse intestinale de l'iléon. Par la suite, la MC-LR pénètre, par transport actif, dans les hépatocytes via ces mêmes transporteurs (Fischer *et al.*, 2005). Ce type de transport actif a lieu non seulement au foie mais aussi aux reins, au tractus gastro intestinal et à la barrière hémato-encéphalique (Azevedo *et al.*, 2002). Bien que le transport actif soit le principal moyen d'absorption des MCs, Sivonen and Jones (1999) suggèrent que quelques congénères moins hydrophiles pourraient traverser les membranes cellulaires par diffusion passive. Il importe de garder une nuance lors de l'interprétation de nombreuses études sur l'absorption, car dans la plupart des études, la MC-LR est injectée ip et est donc directement disponible pour l'absorption par les hépatocytes. L'absorption, par le système de transport actif, au niveau de la muqueuse gastro intestinale, est alors contournée en raison de l'injection ip. L'administration par voie ip est peu représentative des conditions d'exposition des humains aux MCs, soit l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminés (Funari and Testai, 2008).

L'absorption de la NOD se fait par transport actif, en raison de sa nature hydrophile, au niveau de l'iléon. Les transporteurs de l'acide biliaire présents dans la paroi cellulaire de l'iléon permettent l'entrée de la NOD dans la circulation sanguine (Carmichael, 1992). Ensuite, la NOD est transportée préférentiellement dans les hépatocytes qui possèdent aussi des transporteurs de l'acide biliaire (Runnegar *et al.*, 1981).

Peu de données sont disponibles sur la toxicocinétique des CYNs chez les humains. Toutefois, un exemple d'intoxication chez des humains est présent dans la littérature; il s'agit de celui de l'île de Palm sur la côte Nord de Queensland en Australie en 1979 où des humains ont été intoxiqués suite à la consommation d'eau issue d'un réservoir contaminé par la CYN provenant de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Cette intoxication de CYN a affecté 139 enfants et 10 adultes qui ont souffert d'hépatite et, à moindre degré, de troubles rénaux et d'autres dysfonctionnements au niveau du tractus gastro intestinal (Hawkins *et al.*, 1985). Les informations suivantes sur la toxicocinétique de la CYN proviennent d'études réalisées chez des souris. L'absorption de la CYN dans l'organisme

s'effectue par deux voies différentes principalement au niveau du tractus gastro intestinal. En raison de sa nature hydrophile, la CYN est absorbée par transport actif des transporteurs de l'acide biliaire. Par contre, les travaux de Chong *et al.* (2002) montrent qu'une partie de la CYN est absorbée par diffusion passive; en effet, ils ont observé que des cultures d'hépatocytes primaires de rat dépourvus de transporteurs pour l'acide biliaire, présentaient des effets cytotoxiques lorsqu'elles étaient en présence de CYN.

L'absorption de l'ATX-a est peu documentée dans la littérature. Les principales voies d'exposition chez les humains sont la voie orale et la peau. En raison de sa petite taille, l'ATX-a est absorbée rapidement lorsqu'elle est ingérée par voie orale (Funari and Testai, 2008). Tout comme son analogue, l'homoATX-a est également vite absorbée au niveau du tractus gastro intestinal (Lilleheil *et al.*, 1997).

Les efflorescences de cyanobactéries qui synthétisent les STXs sont documentées à travers le monde, notamment dans les eaux eutrophes du Brésil (Molica *et al.*, 2002). Les voies d'exposition sont la consommation d'eau contaminée et l'ingestion de fruits de mers provenant de milieux aquatiques contaminés par des STXs. Ces dernières sont rapidement absorbées au niveau du tractus gastro intestinal (Funari and Testai, 2008). Andrinolo *et al.* (2002) ont réalisé des études avec des GTX II et III administrées par voie orale à des chats; leurs résultats soutiennent que les GTXs sont absorbées par transport actif au niveau de l'épithélium intestinal.

Les études faites avec des rats et des singes montrent que la BMAA est rapidement et presque totalement absorbée par voie orale (Duncan *et al.*, 1992; Duncan *et al.*, 1991).

L'absorption de la lyngbyatoxine-a par la peau chez le cochon d'inde et l'humain est respectivement 23 et 26% après 1h (Osborne *et al.*, 2001). Aucune autre donnée n'a été trouvée concernant l'absorption des autres dermatoxines.

4.2 Distribution

Après leur absorption à différents lieux, les toxines sont distribuées via le système circulatoire (sang et/ou lymph) dans les divers organes et tissus.

Chez les mammifères, après une absorption par voie orale, les MCs sont véhiculées par la circulation sanguine d'où elles sont extraites principalement par les hépatocytes qui possèdent des transporteurs de l'acide biliaire (Sivonen and Jones, 1999). Les travaux de Hrudney *et al.* (1994) sur la distribution de la MC-LR dans les tissus montrent que 50-70 % de la toxine se situent dans le foie, 7-10 % dans les intestins et 1-5 % dans les reins. L'injection intrapéritonéale ou intraveineuse de doses de MCs chez le porc, la souris ou le rat montrent qu'environ 65 % de la dose se retrouvent rapidement au niveau du foie (Stotts *et al.*, 1997a; Robinson *et al.*, 1989; Runnegar *et al.*, 1986). Après un gavage à l'aide d'un mélange de cyanobactéries contenant de la MC-LR chez des truites arc-en-ciel, il y a une distribution de la toxine à 60 % au niveau du foie (Fischer *et al.*, 2000; Tencalla and Dietrich, 1997).

Peu de données sont disponibles sur la distribution de la NOD chez les mammifères. Les travaux de Spooft *et al.* (2003) montrent que, deux heures après l'injection de NOD par voie intraveineuse chez des souris, les proportions suivantes de la NOD sont détectées : 1,6 % dans le foie, 0,5 % dans le sang, 0,5 % dans les intestins et 0,1 % dans les reins.

Il y a peu d'informations sur la distribution de la CYN dans l'organisme. Cependant, les travaux de Norris *et al.* (2001), réalisés chez des souris qui ont reçu une dose ip de 0,2 mg de CYN marquée au carbone 14/kg p.c., montrent que la CYN s'y retrouve principalement au niveau du foie (20,6 % après 6h, 13,1 % après 48h et 2,1 % après 5 à 6 jours) et des reins (4,3 % après 6 h). La CYN présente au niveau du foie n'est pas sous sa forme d'origine mais plutôt sous la forme de métabolites. Une partie de ceux-ci est extractible à l'aide de méthanol et l'autre par une extraction sans méthanol. La fraction extractible à l'aide du méthanol est plus hydrophile que la CYN et ne se décèle pas au niveau des reins (Norris *et al.*, 2001).

La distribution des ATXs dans l'organisme est peu documentée. Toutefois, Carmichael *et al.* (1990) indiquent que l'ATX-a(s) a une affinité relativement importante pour l'acétylcholine estérase présente dans le sang des humains.

Une fois absorbées, les STXs sont rapidement distribuées par le sang dans le corps, entre autres dans le cerveau (Humpage, 2008). En effet, les STXs ont la capacité de diffuser à travers la barrière hémato-encéphalique et donc d'entrer dans le système nerveux central (Funari and Testai, 2008; Andrinolo *et al.*, 1999). Elles peuvent également être captées dans le foie et la rate (Bownik, 2010).

La BMAA est distribuée dans l'organisme; elle peut notamment franchir la barrière hémato-encéphalique grâce à des transporteurs actifs d'acides aminés neutres (Duncan *et al.*, 1992).

Aucune donnée n'a été trouvée pour la distribution des dermatoxines.

4.3 Biotransformation

Suite à leur absorption et à leur distribution, la plupart des toxines sont biotransformées par l'organisme en métabolites. Ceux-ci sont en général moins toxiques que les composés d'origine; toutefois, dans certains cas, leur toxicité est parfois amplifiée suite à leur biotransformation (Van Coillie, 2011).

La métabolisation des MCs s'effectue au niveau du foie où elle a lieu par conjugaison. Celle-ci se fait avec le glutathion (GSH) et la cystéine (Cys). La conjugaison des MCs avec le GSH est réalisée par la glutathion S-transférase qui forme des MCs-GSH, lesquels sont des composés plus polaires que les MCs. Cette conjugaison se produit tant chez les organismes aquatiques que chez les mammifères et entraîne une diminution de GSH (Pflugmacher *et al.*, 1998; Kondo *et al.*, 1992). Chez les souris et les rats, les conjugués

MCs-GSH et MCs-Cys sont moins toxiques que la MC. De plus, ces conjugués n'induisent pas l'inhibition des protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine (Kondo *et al.*, 1992).

La biotransformation de la NOD est peu documentée. Les travaux de Sipiä *et al.* (2002) ont montré que la glutathion S-transférase forme un conjugué avec le GSH, soit la NOD-GSH. Par contre, la présence de ce conjugué n'a été observée que chez des moules.

Les travaux de Norris *et al.* (2002) suggèrent que les cytochromes P-450 (CYP450) métabolisent la CYN et produisent ainsi des dérivés plus actifs et toxiques. Ceci est aussi soutenu par les travaux de Froscio *et al.* (2003) qui montrent que, lorsque l'activité enzymatique des CYP450 est bloquée, les effets toxiques de la CYN sont réduits. Les CYP450 sont des complexes enzymatiques qui catalysent des oxydations métaboliques. La toxicité des dérivés de la CYN étant plus importante que celle de la CYN, il s'agit d'une bioactivation. Les recherches de Norris *et al.* (2001) indiquent que 50 % du carbone 14 de la CYN non métabolisée se retrouvent au niveau des urines, ce qui soutient qu'environ 50 % de la CYN sont biotransformés.

La biotransformation des ATXs s'avère peu précisée. Mentionnons cependant que Funari and Testai (2008) révèlent que l'ATX-a est rapidement dégradée dans l'organisme.

Humpage (2008) affirme qu'il n'y a pas d'évidence de biotransformation des STXs. Par contre, Hall *et al.* (1990) mentionnent que les STXs subissent une hydrolyse acide qui augmente leur toxicité par six. García *et al.* (2010) ont quant à eux observé une séquence d'oxydation et de glucuronidation de la néoSTX, de la GTX II et de la GTX III lors de leurs travaux avec des microsomes de foie humain. Il semblerait que tous les mammifères n'aient pas la capacité de métaboliser l'ensemble des STXs. En effet, les résultats d'Andrinolo *et al.* (1999) indiquent que seule la STX est métabolisée par les chats après une injection intraveineuse.

Hashmi and Anders (1991) ont observé que la BMAA est métabolisée par une oxydase d'acides aminés L mais que ce taux de biotransformation est très lent.

Aucune donnée n'a été trouvée pour la biotransformation des dermatoxines.

4.4 Élimination

L'élimination est l'étape finale de la toxicocinétique. La toxine peut être éliminée sous sa forme d'origine, de métabolites et/ou de conjugués. L'élimination prend diverses voies dans l'organisme; la principale est l'urine mais il y a aussi une excrétion aux niveaux de la bile hépatique, des fèces et autres.

Les MCs sont excrétées au niveau de la bile sous leur forme d'origine ou sous leur forme conjuguée. L'excrétion des MCs présentes dans le foie par le système biliaire permet une recirculation entéro hépatique des MCs selon les travaux de Falconer *et al.* (1986). L'élimination par voie urinaire est plus rapide et représente 9,2 % de la dose alors que l'élimination fécale plus lente (après six jour, elle est 14,5 %). 60 % de ces quantités excrétées ont la forme originale tandis que 40 % sont des dérivés conjugués de la MC et s'avèrent plus hydrophiles que cette dernière (Robinson *et al.*, 1991).

Aucune donnée n'a été trouvée sur l'élimination de la NOD.

L'élimination de la CYN a été étudiée par l'équipe de Norris *et al.* (2001). Leurs travaux montrent que les principales voies d'élimination de la CYN sont la voie urinaire et la voie fécale. En effet, dans les 12 premières heures, 73,4 % de la CYN sont éliminés; 65,2 % au niveau de l'urine et 8,2 % au niveau des fèces.

L'élimination des ATXs n'est pas documentée.

L'élimination des STXs se fait principalement par filtration glomérulaire dans les reins (Humpage, 2008) ; elles sont ainsi surtout excrétées par l'urine (Funari and Testai, 2008). Les études réalisées chez des rats indiquent qu'approximativement 58 % de la STX non métabolisés sont rejetés via les urines 24h après l'exposition à la toxine par injection intraveineuse et qu'aucune élimination fécale n'a été observée (Stafford and Hines, 1995). Chez les chats, 25 % de la STX non métabolisés sont éliminés via les urines 4h après son injection (Andrinolo *et al.*, 1999).

L'élimination de la BMAA n'a pas été étudiée à notre connaissance.

C'est également le cas pour l'élimination des dermatoxines.

4.5 Demi-vies des cyanotoxines

La rétention d'une substance dans l'organisme se détermine selon la demi-vie de celle-ci; la demi-vie est la durée pour éliminer 50 % de la substance dans l'organisme. La demi-vie est influencée par neuf facteurs : la substance, la spéciation de cette dernière, sa phase d'élimination, l'espèce, le tissu biologique, le poids et l'âge des individus, le sexe, la température et la durée d'exposition (Van Coillie, 2011).

Peu de données sont disponibles sur les demi-vies de la MC et elles sont variables en fonction de l'animal à l'étude, de la voie d'administration de la dose et d'autres facteurs. La MC est éliminée du sang en deux phases. La demi-vie de sa phase initiale est 3,7 minutes (min) après une injection intraveineuse de 25 µg/kg p.c. chez une truie; à la seconde phase, sa demi-vie est 134 min (Stotts *et al.*, 1997b). Chez le même organisme recevant une dose intraveineuse de 75 µg/kg p.c., la demi-vie de la phase initiale est 3 min alors que celle de la seconde phase est 270 min (*ibid.*). Chez un rat femelle albinos, une dose intraveineuse de 10 µg/kg p.c. de MCs est suivie par une demi-vie dans le sang de 2,1 min pour sa phase initiale et de 42 min pour sa seconde phase (Falconer *et al.*, 1986). Chez une souris mâle exposée à de la MC-LR par injection ip de 70 µg/kg p.c., la demi-vie au niveau du plasma

est 29 min (Robinson *et al.*, 1989). L'absorption de 5700 µg/kg p.c. de MC-LR par le tractus gastro intestinal chez la truite arc-en-ciel est suivie par une demi-vie de 3,3h au niveau du plasma (Tencalla and Dietrich, 1997).

Les données concernant la demi-vie de la STX sont variables. La demi-vie sérique de la STX est 22 min alors que sa demi-vie dans tout l'organisme humain est 12 à 18h (AFSSA et AFSSET, 2006). Les travaux de Kao (1993) indiquent quant à eux que la demi-vie de la STX dans l'organisme humain est 90 min.

Aucune donnée n'est disponible, à notre connaissance, sur les demi-vies des autres cyanotoxines.

Vu que les demi-vies des cyanotoxines s'avèrent courtes (3,7 min à 18 h : voir ci-dessus), il n'y a guère de bioaccumulation.

5 TOXICODYNAMIQUE

La toxicodynamique étudie les mécanismes d'action des substances toxiques dans l'organisme et permet ainsi de comprendre le pourquoi de la toxicité (Van Coillie, 2011).

5.1 Microcystines et nodularine

La MC et la NOD sont de puissants inhibiteurs des protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine. Après leur pénétration dans le foie par les transporteurs de l'acide biliaire, elles se fixent aux deux phosphatases. La MC établit des liaisons covalentes avec elles contrairement à la NOD qui n'en établit pas. L'inhibition des deux phosphatases entraîne une diminution de la synthèse des protéines des microtubules des hépatocytes (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). Il en résulte une déformation de ceux-ci et entraîne ainsi une séparation des cellules du foie (hépatocytes) et conséquemment une perturbation de la structure hépatique. Ceci induit une accumulation de sang au niveau du foie et éventuellement la mort par hémorragie interne ou une insuffisance hépatique (Carmichael, 1997). À faible dose d'exposition, l'inhibition des phosphatases cause une prolifération cellulaire au niveau du foie, ce qui entraîne une hypertrophie de celui-ci (Gehringer, 2004).

Les travaux de Botha *et al.* (2004), réalisés avec des lignées cellulaires humaines, ont explicité que la MC-LR a la capacité de provoquer des dommages oxydants qui mènent à l'apoptose (une mort cellulaire programmée) des cellules hépatiques.

5.2 Cylindrospermopsine

La CYN agit principalement dans le foie mais d'autres organes peuvent également être affectés par cette cyanotoxine, entre autres, les reins, les poumons, le thymus, les glandes

surrénales, la rate et le cœur. La CYN inhibe la synthèse des protéines de façon irréversible et cause des perturbations au niveau de l'activité métabolique cellulaire et ainsi mène à la nécrose des cellules. Ce dérèglement de l'activité métabolique cellulaire s'effectue en quatre étapes. Premièrement, les ribosomes se détachent des membranes du reticulum endoplasmique rugueux et s'accumulent dans le cytoplasme des hépatocytes. Deuxièmement, il y a une prolifération des membranes intracellulaires. Troisièmement, une diminution de la synthèse de GSH permet aux radicaux libres de provoquer l'accumulation de gouttelettes de gras dans la partie centrale des lobules hépatiques. La dernière phase est une nécrose des cellules hépatiques (Duy *et al.*, 2000; Terao *et al.*, 1994). Contrairement aux autres hépatotoxines (MCs et NOD), la CYN n'est pas un inhibiteur des protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine (Chong *et al.*, 2002). Pour devenir toxique, la CYN nécessite une activation endogène par les enzymes cytochrome P-450. La CYN diminue la synthèse de GSH, bien que les travaux de Norris *et al.* (2002) suggèrent que le GSH n'est pas associé au mécanisme primaire de toxicité de la CYN.

La toxicité de la CYN s'exerce en deux temps. Une toxicité rapide est engendrée par la biotransformation de la CYN à l'aide des CYP450 en des dérivés toxiques et la toxicité à long terme est due à une inhibition de la synthèse protéique (Humpage *et al.*, 2005; Froscio *et al.*, 2003; Norris *et al.*, 2002; Runnegar *et al.*, 1995).

5.3 Anatoxines

L'ATX, l'homoATX-a et l'ATX-a (s) agissent au niveau de la même cible, à savoir la jonction neuromusculaire. Elles provoquent une paralysie des muscles squelettiques dont font partie les muscles respiratoires. La mort survient par arrêt respiratoire en raison de la paralysie des muscles respiratoires. Selon le niveau de toxicité, la mort peut survenir entre quelques minutes et quelques heures. L'ATX-a (s) ayant la DL₅₀ la plus faible et donc le niveau de toxicité le plus élevé parmi les ATXs, est la toxine qui provoque la mort le plus rapidement.

L'ATX-a est un puissant agent de dépolarisation postsynaptique neuromusculaire qui perturbe la communication entre les neurones et les cellules musculaires. Son mécanisme d'action est le mimétisme moléculaire du neurotransmetteur acétylcholine. L'ATX-a, un agoniste nicotinique de l'acétylcholine, se fixe aux récepteurs de l'acétylcholine situés sur les cellules musculaires. L'ATX-a est plus puissant que la nicotine et a une affinité plus importante avec les récepteurs nicotiniques que l'acétylcholine qui est pourtant l'agoniste naturel. L'affinité de la liaison de l'ATX-a avec les récepteurs nicotiniques est environ 3,6 fois plus élevée que celle de la nicotine (Swanson *et al.*, 1986). En conditions normales, les canaux cationiques de l'ion sodium (Na^+) s'ouvrent et ces ions entrent dans la cellule musculaire où ils déclenchent une contraction musculaire. Lorsque l'enzyme acétylcholine estérase est incapable de dégrader l'ATX-a, les ions de Na^+ continuent à entrer de façon constante, ce qui provoque une surstimulation de la cellule musculaire qui devient épuisée, convulse et paralyse (figure 5.1).

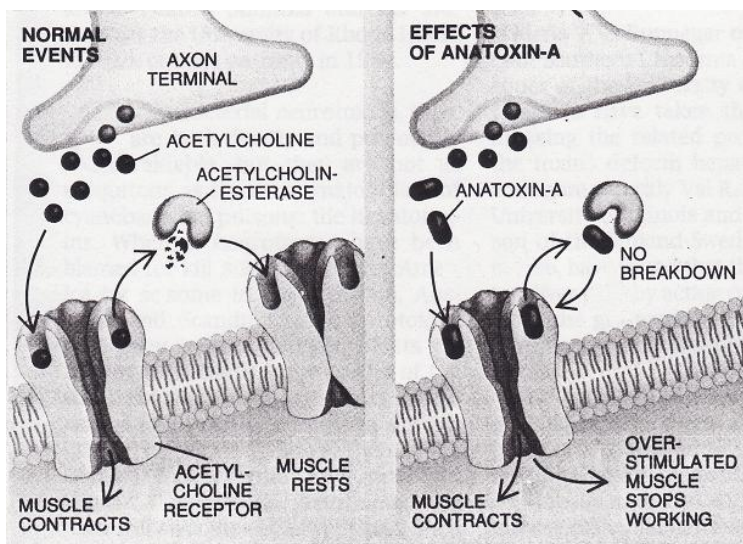


Figure 5.1 Mécanisme d'action de l'anatoxine-a

Tirée de Carmichael, 1994, p.82

L'ATX-a (s) inhibe aussi la transmission de l'influx nerveux à la jonction neuromusculaire, mais adopte un autre mécanisme toxicodynamique à cette fin, à savoir l'inhibition de

l'activité de l'acétylcholine estérase (Carmichael, 1994). En se fixant à l'acétylcholine estérase de façon irréversible, l'ATX-a (s) empêche celle-ci de dégrader l'acétylcholine qui se fixe sur les récepteurs des cellules musculaires (figure 5.2). Le résultat est le même que celui de l'ATX-a, soit une surstimulation des cellules musculaires qui convulsent et paralysent. De plus, l'ATX-a (s) provoque une salivation excessive (*ibid.*). Le mécanisme d'action de l'ATX-a (s) est similaire à celui des insecticides organophosphorés (Sivonen and Jones, 1999). Par contre, l'ATX-a (s) agit seulement en périphérie et n'inhibe pas l'activité des cholinestérases du cerveau et de la rétine (Briand *et al.*, 2003).

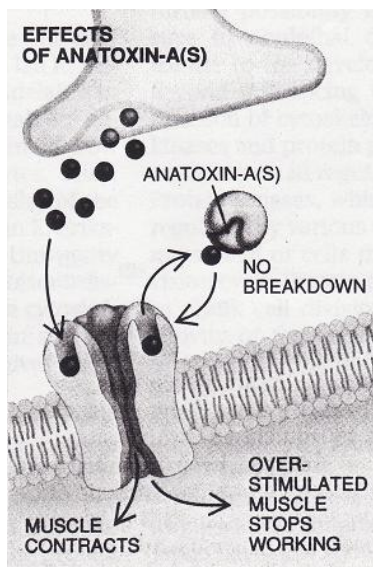


Figure 5.2 Mécanisme d'action de l'anatoxine-a (s)

Tirée de Carmichael, 1994, p.82

Contrairement à l'ATX-a et l'ATX-a(s) qui agissent au niveau des récepteurs d'acétylcholine des cellules musculaires, l'homoATX-a occupe les récepteurs nicotiques des cellules nerveuses et empêche ainsi la transmission de l'influx nerveux à la jonction neuromusculaire (Lilleheil *et al.*, 1997). L'homoATX-a augmente la libération d'acétylcholine provenant des nerfs périphériques cholinergiques (Lilleheil *et al.*, 1997; Aas *et al.*, 1996). Cette toxine entraîne des changements neurophysiologiques; chez le rat,

elle cause un arrêt des contractions du diaphragme tandis que, chez la grenouille, elle stimule des contractions abdominales (Lilleheil *et al.*, 1997).

5.4 Saxitoxine et dérivés

Toutes les STXs ont le même mécanisme d'action; elles bloquent la transmission de l'influx nerveux en se fixant de façon réversible au site d'entrée des canaux de Na⁺ localisés à la membrane cellulaire des neurones (Carmichael, 1994) (figure 5.3).

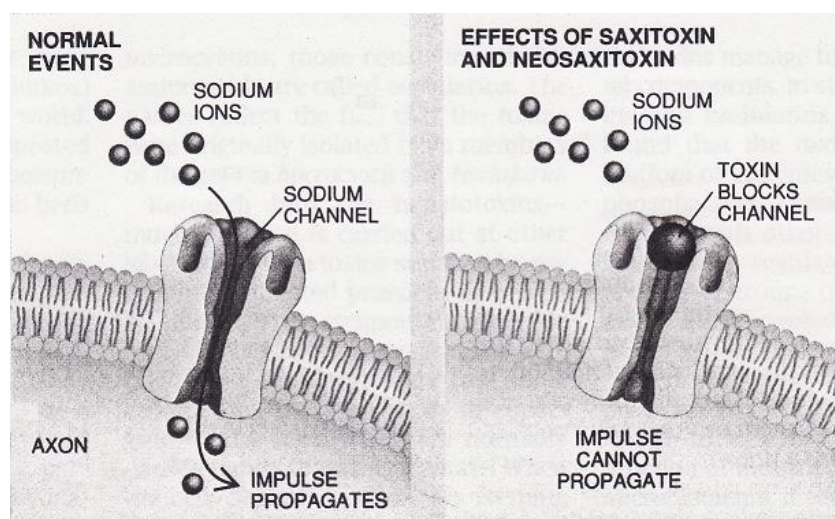


Figure 5.3 Mécanisme d'action de la saxitoxine et de la néo-saxitoxine

Tirée de Carmichael, 1994, p.82

Les STXs bloquent aussi les canaux de l'ion calcium (Ca²⁺) et de l'ion potassium (K⁺) des cellules cardiaques et empêchent ainsi la propagation du potentiel d'action; ceci peut mener à une arythmie cardiaque (Su *et al.*, 2004). Le blocage du passage des ions de Na⁺ dans les canaux des cellules neuronales arrête la propagation du potentiel d'action et inhibe ainsi indirectement par rétroaction la libération de l'acétylcholine des neurones (Carmichael, 1994). Les STXs ne se fixent pas aux canaux de K⁺ des cellules neuronales (Carmichael,

1992). Les STXs ont des affinités différentes pour les canaux de Na⁺ selon l'ordre décroissant suivant: STX > GTX I et IV > néoSTX > GTX II et III > GTX V (Carmichael, 2001). Le niveau d'affinité de la STX pour les canaux de Na⁺ correspond à son niveau de toxicité (Usup *et al.*, 2004). Chez les mammifères, une intoxication aux STXs se manifeste par des engourdissements des extrémités et des lèvres, des vertiges, de la désorientation et une paralysie du système respiratoire (Chankrachang *et al.*, 2009).

5.5 β -N-méthylamino-L-alanine

Aucune donnée n'est disponible, à notre connaissance, sur les mécanismes d'action de la BMAA.

5.6 Dermatoxines

Une exposition à des LPS induit des effets locaux dus au contact direct, tels qu'une irritation de la peau ou des yeux, des problèmes gastro intestinaux et des réactions allergiques (Falconer, 1994). Les LPS se fixent à des récepteurs transmembranaires de la famille des récepteurs de type Toll et initient une cascade de réponses chez l'hôte. Il y a, entre autres, une libération de cytokines et autres médiateurs de l'inflammation, une stimulation des monocytes et des macrophages, une affluence de neutrophiles et de plaquettes; ceci peut mener à des lésions vasculaires (Heumann *et al.*, 2002).

L'aplysiatoxine et la débromoaplysiatoxine sont des agents inflammatoires et la lyngbyatoxine-a cause des dermatites et de l'inflammation sévère au niveau de la bouche et du tractus gastro intestinal (Carmichael, 1997). De plus, Fujiki *et al.* (1990) soutiennent que l'aplysiatoxine et la débromoaplysiatoxine sont de puissants promoteurs de tumeurs cutanées via des activations de la protéine kinase C.

Les travaux de Ito and Nagai (2000) révèlent qu'une injection intraveineuse d'aplysiatoxine (100 µg/kg p.c.) entraîne un dépôt de fibrines dans les artères pulmonaires et provoque ainsi une brèche de ces artères et conséquemment des saignements au niveau de celles-ci. Des saignements ont également été observés au niveau du petit intestin à la suite d'un dépôt de fibrines.

Le mécanisme de toxicité de la lyngbyatoxine est semblable à celui de l'aplysiatoxine. La lyngbyatoxine provoque des dommages sévères au niveau des villosités capillaires du petit intestin, ce qui y cause des saignements, après une injection intraveineuse d'une dose létale (250 µg/kg p.c.) chez la souris. Une dose sublétale de cette toxine entraîne également une érosion de l'estomac, du petit et grand intestin ainsi qu'une inflammation des poumons (Ito *et al.*, 2002).

6 PRÉVENTION

La prévention est capitale face à la problématique des cyanotoxines. En effet, celle-ci permet de diminuer la fréquence et l'ampleur des épisodes d'exposition aux toxines des cyanobactéries et ainsi réduire l'impact de celles-ci sur la population. La prévention s'effectue par divers moyens dont le traitement de l'eau potable contre les cyanobactéries et leurs toxines, le suivi de celles-ci dans les plans d'eau et des avis de santé publique sur les risques de celles-ci.

Le traitement de l'eau potable conventionnel qui comprend la coagulation, la décantation et la filtration ne permet pas d'enlever les toxines des cyanobactéries présentes dans l'eau ou issues de cyanobactéries éclatées lors du traitement. Il est subséquent nécessaire d'ajouter des étapes et équipements supplémentaires aux stations de production d'eau potable à cette fin. Tout d'abord, il est nécessaire d'optimiser l'enlèvement des cyanobactéries en début de procédé car la majorité des cyanotoxines se retrouvent à l'intérieur des cyanobactéries et les étapes ultérieures du traitement peuvent provoquer la lyse de celles-ci et libérer ainsi des quantités importantes de cyanotoxines. La filtration en début de traitement est un moyen efficace pour l'enlèvement des cyanobactéries. Selon Ellis (2009), les procédés de filtration les plus efficaces sont la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse. Toutes ces techniques ont une efficacité de plus de 99 % pour l'élimination des cyanobactéries. D'autres traitements existent pour enlever ces dernières mais ils sont en général beaucoup moins efficaces et présentent des risques de lyse des cyanobactéries. Certaines situations favorisent la libération des cyanotoxines dans le milieu; des moyens supplémentaires sont alors nécessaires pour procéder à l'enlèvement de ces toxines. La nanofiltration ou l'osmose inverse sont deux traitements qui permettent l'élimination de plus de 95 % des cyanotoxines (*ibid.*).

Les procédés efficaces contre les cyanotoxines après une filtration en début de procédé sont l'ajout de permanganate de potassium, l'ozonation, la chloration, l'adsorption sur charbon

actif en poudre et la filtration sur charbon actif en grain. Ces traitements ont un taux d'efficacité variant entre 85 % et 98 % (*ibid.*).

Chacun des procédés possède des avantages et inconvénients. La nanofiltration et l'osmose inverse sont de très bons procédés car ils permettent l'enlèvement des cyanobactéries et des cyanotoxines en une seule étape. Par contre, leur complexité et leur coût élevé de mise en place ne les favorisent pas pour le traitement de l'eau potable. L'ajout de permanganate de potassium est efficace contre les cyanotoxines et des contaminants organiques et inorganiques. C'est une technique plus simple et moins onéreuse à mettre en place que celle du charbon actif en poudre. Cependant, il engendre une eau rosée et du manganèse dans l'eau qu'il faudra par la suite enlever avec une étape supplémentaire de traitement. Les solutions les plus fréquemment mises en application sont l'ozonation, l'ajout de charbon actif et l'ajout de chlore. L'ozonation est efficace pour l'ensemble des cyanotoxines. Par contre, il faut doser la quantité d'ozone en fonction de la qualité de l'eau. L'adsorption sur du charbon actif en poudre agit sur la majorité des cyanotoxines et est efficace contre une grande variété de contaminants en plus d'être simple d'utilisation. Son usage nécessite cependant une étape supplémentaire de filtration pour éliminer le charbon actif de l'eau et génère une quantité plus importante de boues. L'adsorption sur du charbon actif en grain capte les toxines des cyanobactéries et les autres contaminants. Son fonctionnement est simple et efficace pour une eau brute dont la qualité est variable. Toutefois, sa durée de vie est limitée et les coûts de remplacement s'avèrent très élevés. La chloration après filtration est efficace pour la plupart des cyanotoxines sauf si elle est utilisée avec une faible concentration de chlore ou si le pH de l'eau est supérieur à 8 (Ellis, 2009).

Le MDDEP a commencé, en 2001, un suivi rigoureux des plans d'eau. Celui-ci comprenait entre autres un suivi de la présence des cyanobactéries et des cyanotoxines à six stations de production d'eau potable de 2001 à 2003. Lors de la période suivante de 2004 à 2006, le suivi a été effectué à sept stations. Face aux efflorescences de cyanobactéries de plus en plus fréquentes, le MDDEP a réagi avec un plan, de plus grande envergure, d'intervention contre les algues bleu-vert entre 2007 et 2017. Ce plan comprend de nombreuses actions avec des échéances et implique les collaborateurs suivants : le ministère des Affaires

municipales, des Régions et de l'Occupation du territoire (MAMROT), le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), le ministère des Ressources naturelles et de la Faune (MRNF), le ministère des Transports du Québec (MTQ), le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), le ministère de la Sécurité publique (MSP) et le ministère du Développement économique, de l'Innovation et de l'Exportation (MDEIE) (MDDEP, 2011a).

Lors du programme 2001 à 2003, les cyanotoxines surveillées sont les MC-LR, MC-RR, MC-YR et ATX-a; aucun test n'a malheureusement pas été effectué pour évaluer la présence des autres cyanotoxines (Robert *et al.*, 2004). La phase du programme 2004 à 2006 analyse les cyanotoxines suivantes : MC-LR, MC-LA, MC-RR, MC-YR et ATX-a (Robert, 2008). La STX et la néoSTX ne sont pas analysées bien que la présence d'*Aphanizomenon flos-aquae*, qui les synthétise, soit observée au niveau des efflorescences depuis 2001 (Robert *et al.*, 2004). Il s'avère donc essentiel à l'avenir de faire une analyse plus poussée des différentes toxines pouvant être présentes dans les efflorescences, notamment les autres hépatotoxines, les neurotoxines et les dermatoxines, vu l'impact important que celles-ci peuvent avoir sur la santé humaine. Au Québec, il n'y a que le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) du MDDEP qui est accrédité pour analyser les cyanotoxines. Les toxines des cyanobactéries sont mesurées à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (Ellis, 2009).

Selon les différents plans d'eau touchés par une efflorescence de cyanobactéries, diverses mesures sont mises en application. S'il s'agit d'un plan d'eau en général, le MDDEP et le Directeur de la santé publique (DSP) concerné analysent les résultats du CEAEQ. Le DSP diffuse ensuite un avis de santé publique s'il recommande une restriction de l'usage du plan d'eau concerné. Le DSP est également responsable de la levée de l'avis lorsque la situation ne présente plus de risque pour la santé publique. Si le plan d'eau touché par une fleur d'eau de cyanobactéries est une plage privée, le propriétaire de celle-ci doit aviser le MDDEP et fermer la plage ainsi que le secteur touché. Depuis 2011, le propriétaire doit également prévoir une bande de protection d'un mètre le long du rivage lors de la fermeture

partielle ou complète de la plage. De plus, le responsable des lieux a l'obligation d'informer les usagers sans délai avec des affiches indiquant la fermeture de la plage et du secteur s'il y a lieu. Quand des réseaux municipaux ou privés assujettis au *Règlement sur la qualité de l'eau potable* sont infectés par des cyanobactéries, le DSP est responsable d'émettre et de lever l'avis de non consommation de l'eau potable (MDDEP, 2011b).

La liste des plans d'eau qui font l'objet d'une restriction d'usage est disponible sur le site internet du MDDEP; les avis de non consommation d'eau potable sont également présents à ce même site. En plus des affiches, il est également recommandé d'annoncer dans les médias locaux (journaux, télévision et radio) les fermetures de plages, les avis de santé publique et les avis de non consommation de l'eau potable afin d'informer le plus rapidement possible le plus de personnes concernées.

7 SUGGESTIONS

À la suite de la présente étude écotoxicologique des toxines des cyanobactéries, des suggestions sont apportées dans la présente section. Celles-ci concernent trois volets importants, soit les traitements des eaux brutes pour la production d'eau potable, l'analyse et le suivi des cyanotoxines présentes dans les cours d'eau ainsi que l'avancement des recherches concernant la toxicocinétique et la toxicodynamique des cyanotoxines.

Selon le MDDEP (2011c), les principales techniques utilisées par les stations municipales de production d'eau potable approvisionnées en eau de surface sont les suivantes : des filtrations (conventionnelle, membranaire, lente ou autre), la chloration, l'ozonation, l'adsorption sur du charbon actif (en poudre ou en grains) et l'irradiation avec des rayons ultraviolets. Sachant que l'ensemble des moyens de filtration utilisé dans ces réseaux municipaux n'élimine qu'entre 30 % et 99 % des différents types de cyanobactéries, il importe de se questionner sur la nécessité de la mise en place de techniques de filtration plus efficaces. De plus, l'ensemble des autres procédés utilisés dans les stations municipales peut provoquer la lyse des cyanobactéries si ces dernières sont encore présentes après une filtration plus ou moins efficace. D'après ces observations, il importe de suggérer à nos dirigeants des méthodes de filtration plus performantes telles la nanofiltration et l'osmose inverse en début de procédé. De plus, ces deux techniques sont d'une très grande efficacité sur l'élimination des cyanotoxines (95 %). Leur utilisation permettrait ainsi de réduire l'usage de produits chimiques dans le traitement de l'eau potable en plus d'assurer une plus grande sécurité de la santé publique. L'emploi des rayons ultraviolets a une efficacité faible contre les cyanotoxines à moins qu'une filtration efficace comme la nanofiltration ou l'osmose inverse soit d'abord utilisée. Il est donc important de considérer la modernisation des stations municipales de production d'eau potable à l'aide de procédés comme la nanofiltration et l'osmose inverse. Malgré les frais onéreux et la complexité d'installation de ces méthodes, il faut protéger la santé de la population; si cette dernière est insuffisamment protégée, ceci peut entraîner des coûts très

élevés du système de santé si plusieurs personnes sont atteintes d'une intoxication aux cyanotoxines.

L'analyse et le suivi des cyanotoxines dans nos plans d'eau sont essentiels. Toutefois, des lacunes ont été identifiées quant au nombre de toxines des cyanobactéries analysé. En effet, il importe d'analyser un nombre plus grand de cyanotoxines surtout si la cyanobactérie qui les synthétise est identifiée dans le milieu. Les frais engendrés par des études supplémentaires ne devraient pas constituer un argument valable pour limiter le nombre de cyanotoxines recherchées car la santé publique dépend de l'efficacité de ces analyses.

Le suivi des plans d'eau et plages concernés par un avis de restriction d'usage devrait être fait de façon plus rigoureuse par le MDDEP et le MAMROT en partenariat avec des municipalités et des propriétaires de plages privées. Il faut aussi une campagne de sensibilisation auprès de la population pour expliquer les dangers que représentent les cyanotoxines et l'interdiction de se baigner lorsqu'un avis de santé publique de restriction d'usage est émis. De plus, il devrait y avoir un suivi régulier par les municipalités afin de vérifier que les affiches annonçant la fermeture d'un plan d'eau et de sa bande riveraine s'il y a lieu sont toujours en place et de s'assurer que peu de citoyens transgressent l'avis ou le périmètre de la bande de protection.

Cet essai a permis d'identifier de nombreuses lacunes dans la toxicocinétique et la toxicodynamique de certaines toxines. Il est suggéré à l'Institut national de santé publique du Québec de faire des études plus poussées en vue de combler ce manque de connaissances sur les cyanotoxines.

CONCLUSION

Le *Plan d'intervention sur les algues bleu-vert 2007 à 2017* du MDDEP vise des actions contre l'invasion des cyanobactéries dans les plans d'eau du Québec. Le nombre de plans d'eau affectés, étant de plus en plus important au cours des dernières années, justifie ce plan d'intervention, mais également la nécessité d'acquérir des meilleures connaissances sur les toxines des cyanobactéries. C'est dans ce contexte que l'objectif principal de cet essai a été fixé. L'essai répond à cet objectif en fournissant une étude de l'écotoxicologie des toxines des cyanobactéries avec divers volets précisés ci-après comme objectifs spécifiques.

Des recherches ont d'abord permis d'acquérir une connaissance des configurations, des caractéristiques physicochimiques et des valeurs toxiques des toxines des cyanobactéries. Ensuite, les facteurs qui influencent la synthèse et la sécrétion des cyanotoxines dans l'environnement ont été analysés. Ces résultats peuvent servir à des actions contre les éléments qui influencent le plus la synthèse et la libération des cyanotoxines; ils peuvent également servir à sensibiliser la population sur l'importance de poser des gestes ayant le moins d'influence possible sur la synthèse et la libération des toxines des cyanobactéries. Par exemple, utiliser des produits sans phosphate serait approprié. Par la suite, la toxicocinétique des cyanotoxines a été explicitée. Les données trouvées dans la littérature ont montré qu'il n'y a guère de bioaccumulation, car les demi-vies des cyanotoxines s'avèrent courtes. Une étude complémentaire toxicodynamique a exposé les mécanismes d'action des diverses toxines des cyanobactéries, ce qui procure une meilleure compréhension de celle-ci.

L'ensemble de ces volets de l'écotoxicologie des toxines des cyanobactéries identifie des lacunes et incite de faire des recherches supplémentaires sur les cyanotoxines afin de combler ces méconnaissances. De plus, des suggestions sont apportées afin de minimiser les risques d'exposition de la population aux cyanotoxines.

En somme, cet essai vient confirmer qu'il y a encore beaucoup à faire dans l'étude de l'écotoxicologie des toxines des cyanobactéries et qu'il est primordial d'adopter des actions proactives face aux cyanobactéries et leurs toxines telles que le plan d'intervention du MDDEP.

RÉFÉRENCES

- Aas, P., Eriksen, S., Kolderup, J., Lundy, P., Haugen, J., Skulberg, O.M. and Fonnum, F. (1996). Enhancement of acetylcholine release by homoanatoxin-a from *Oscillatoria formosa*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 2, n° 2-3, p. 223-232.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments et Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (2006). Risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau. Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. Maisons-Alfort, 227 p.
- Amé, M.V., del Pilar Díaz, M. and Wunderlin, D.A. (2003). Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in San Roque Reservoir (Córdoba, Argentina): A field and chemometric study. *Environmental Toxicology*, vol. 18, n° 3, p. 192-201.
- Andrinolo, D., Iglesias, V., García, C. and Lagos, N. (2002). Toxicokinetics and toxicodynamics of gonyautoxins after an oral toxin dose in cats. *Toxicon*, vol. 40, n° 6, p. 699-709.
- Andrinolo, D., Michea, L.F. and Lagos, N. (1999). Toxic effects, pharmacokinetics and clearance of saxitoxin, a component of paralytic shellfish poison (PSP), in cats. *Toxicon*, vol. 37, n° 3, p. 447-464.
- Aráoz, R., Molgó, J. and Tandeau de Marsac, N. (2010). Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*, vol. 56, n° 5, p. 813-828.
- Azevedo, S.M.F.O., Carmichael, W.W., Jochimsen, E.M., Rinehart, K.L., Lau, S., Shaw, G.R. and Eaglesham, G.K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil. *Toxicology*, vol. 181-182, p. 441-446.
- Banack, S.A., Johnson, H.E., Cheng, R. and Cox, P.A. (2007). Production of the neurotoxin BMAA by a marine cyanobacterium. *Marine Drugs*, vol. 5, n° 4, p. 180-196.
- Banker, R., Teltsch, B., Sukenik, A. and Carmeli, S. (2000). 7-epicylindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret, Israel. *Journal of Natural Products*, vol. 63, n° 3, p. 387-389.
- Belov, A.P. (1998). A model of phycotoxin release by cyanobacterial cells. *Ecological Modelling*, vol. 110, n° 2, p. 105-117.
- Botha, N., Gehringer, M.M., Downing, T.G., Van De Venter, M. and Shephard, E.G. (2004). The role of microcystin-LR in the induction of apoptosis and oxidative stress in CaCo2 cells. *Toxicon*, vol. 43, n° 1, p. 85-92.

- Bownik, A. (2010). Harmful algae: Effects of alkaloid cyanotoxins on animal and human health. *Toxin Reviews*, vol. 29, n° 3-4, p. 99-114.
- Briand, J., Jacquet, S., Bernard, C. and Humbert, J. (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Veterinary Research*, vol. 34, n° 4, p. 361-377.
- Carmichael, W.W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and Ecological Risk Assessment*, vol. 7, n° 5, p. 1393-1407.
- Carmichael, W.W. (1997). The Cyanotoxins. *Advances in Botanical Research*, vol. 27, n° C, p. 211-256.
- Carmichael, W.W. (1994). The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, vol. 270, n° 1, p. 78-86.
- Carmichael, W.W. (1992). Cyanobacteria secondary metabolites - The cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 72, n° 6, p. 445-459.
- Carmichael, W.W., Mahmood, N.A. and Hyde, E.G. (1990). Natural toxins from cyanobacteria (blue-green algae). In Hall, S. and Strichartz, G, *Marine toxins: origins, structure and molecular pharmacology* (p. 87-106). Washington, American Chemical Society.
- Centre universitaire de formation en environnement (2010). Protocole de rédaction. Université de Sherbrooke, 28 p.
- Chankrachang, S., Sribanditku, P. and Subanan, N. (2009). Nervous system complications from suspected saxitoxin from the greatest outbreak of puffer fish poisoning. *19th World Congress of Neurology*, Bangkok, 24-30 octobre 2009.
- Chiswell, R.K., Shaw, G.R., Eaglesham, G., Smith, M.J., Norris, R.L., Seawright, A.A. and Moore, M.R. (1999). Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology*, vol. 14, n° 1, p. 155-161.
- Chong, M.W.K., Wong, B.S.F., Lam, P.K.S., Shaw, G.R. and Seawright, A.A. (2002). Toxicity and uptake mechanism of cylindrospermopsin and lophyrotomin in primary rat hepatocytes. *Toxicon*, vol. 40, n° 2, p. 205-211.
- Chorus, I., Falconer, I.R., Salas, H.J. and Bartram, J. (2000). Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*, vol. 3, n° 4, p. 323-347.

- Devlin, J.P., Edwards, O.E., Gorham, P.R., Hunter, N.R., Pike, R.K. and Starvic, B. (1977). Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NRC-44h. *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 55, n° 8, p. 1367-1371.
- Duncan, M.W., Markey, S.P., Weick, B.G., Pearson, P.G., Ziffer, H., Hu, Y. and Kopin, I.J. (1992). 2-Amino-3-(methylamino)propanoic acid (BMAA) bioavailability in the primate. *Neurobiology of Aging*, vol. 13, n° 2, p. 333-337.
- Duncan, M.W., Villacreses, N.E., Pearson, P.G., Wyatt, L., Rapoport, S.I., Kopin, I.J., Markey, S.P. and Smith, Q.R. (1991). 2-Amino-3-(methylamino)-propanoic acid (BMAA) pharmacokinetics and blood-brain barrier permeability in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 258, n° 1, p. 27-35.
- Duy, T.N., Lam, P.K., Shaw, G.R. and Connell, D.W. (2000). Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 163, p. 113-185.
- Ellis, D. (2009). Guide d'intervention pour les propriétaires, les exploitants ou les concepteurs de stations de production d'eau potable municipales aux prises avec une problématique de fleurs d'eau de cyanobactéries. In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/algues-bv/guide-mun.pdf> (Page consultée le 26 octobre 2011).
- Falconer, I.R. (1994). Health problems from exposure to cyanobacteria and proposed safety guidelines for drinking and recreational water. In Codd, G.A., Jefferies, T.M., Keevil, C.W. and Potter E., *Detection methods for cyanobacterial toxins* (p. 3-10). London, Royal Society for Chemistry.
- Falconer, I.R., Buckley, T. and Runnegar, M.T. (1986). Biological half-life, organ distribution and excretion of 125-I-labelled toxic peptide from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Australian Journal of Biological Sciences*, vol. 39, n° 1, p. 17-21.
- Fischer, W.J., Alheimer, S., Cattori, V., Meier, P.J., Dietrich, D.R. and Hagenbuch, B. (2005). Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 203, n° 3, p. 257-263.
- Fischer, W.J., Hitzfeld, B.C., Tencalla, F., Eriksson, J.E., Mikhailov, A. and Dietrich, D.R. (2000). Microcystin-LR toxicodynamics, induced pathology, and immunohistochemical localization in livers of blue-green algae exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicological Sciences*, vol. 54, n° 2, p. 365-373.
- Froschio, S.M., Humpage, A.R., Burcham, P.C. and Falconer, I.R. (2003). Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from

- acute toxicity in mouse hepatocytes. *Environmental Toxicology*, vol. 18, n° 4, p. 243-251.
- Fujuki, H., Sukanuma, M., Suguri, H., Yoshizawa, S., Takagi, K., Nakayasu, M., Ojika, M., Yamada, K., Yasumoto, T., Moore, R.E. and Sugimura, T. (1990). New tumor promoters from marine natural products. In Hall, S. and Strichartz, G., *Marine toxins: origin, structure and molecular pharmacology* (p. 232-240). Washington, American Chemical Society.
- Funari, E. and Testai, E. (2008). Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 38, n° 2, p. 97-125.
- García, C., Barriga, A., Díaz, J.C., Lagos, M. and Lagos, N. (2010). Route of metabolism and detoxication of paralytic shellfish toxins in humans. *Toxicon*, vol. 55, n° 1, p. 135-144.
- Gehring, M.M. (2004). Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: A dualistic response. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, vol. 557, n° 1-3, p. 1-8.
- Giani, A., Bird, D.F., Prairie, Y.T. and Lawrence, J.F. (2005). Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 62, n° 9, p. 2100-2109.
- Hall, S., Strichartz, G., Moczydlowski, E., Ravindran, A. and Reichardt, P. (1990). The saxitoxins: sources, chemistry, and pharmacology. In Hall, S. and Strichartz, G. (eds.), *Marine toxins: origin, structure, and molecular pharmacology* (p. 29-65). Washington, American Chemical Society Symposium Series.
- Hashmi, M. and Anders, M.W. (1991). Enzymatic reaction of β -N-methylaminoalanine with L-amino acid oxidase. *Biochimica and Biophysica Acta - General Subjects*, vol. 1074, n° 1, p. 36-39.
- Hawkins, P.R., Runnegar, M.T.C., Jackson, A.R.B. and Falconer, I.R. (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 50, n° 5, p. 1292-1295.
- Heumann, D., Glauser, M.P. and Calandra, T. (2002). The generation of inflammatory responses. In Sussman, M., *Molecular medical microbiology* (p. 687-727). London, Academic Press.
- Hobson, P. and Fallowfield, H.J. (2003). Effect of irradiance, temperature and salinity on growth and toxin production by *Nodularia spumigena*. *Hydrobiologia*, vol. 493, p. 7-15.

- Hotto, A.M., Satchwell, M.F. and Boyer, G.L. (2007). Molecular characterization of potential microcystin-producing cyanobacteria in Lake Ontario embayments and nearshore waters. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, n° 14, p. 4570-4578.
- Hrudney, S.E., Kenefick, S.L., Lambert, T.W., Kotak, B.G., Prepas, E.E. and Holmes, C.F.B. (1994). Sources of uncertainty in assessing the health risk of cyanobacterial blooms in drinking water supplies. In Codd, G.A., Jefferies, T.M., Keevil, C.W. and Potter, E., *Detection methods for cyanobacterial toxins* (p.122-130). London, Royal Society of Chemistry.
- Humpage, A. (2008). Toxin types, toxicokinetics and toxicodynamics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 619, p. 383-415.
- Humpage, A.R., Fontaine, F., Froschio, S., Burcham, P. and Falconer, I.R. (2005). Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity: Role of cytochrome P-450 and oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health - part A*, vol. 68, n° 9, p. 739-753.
- Ince, P.G. and Codd, G.A. (2005). Return of the cycad hypothesis - Does the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex (ALS/PDC) of Guam have new implications for global health? *Neuropathology and Applied Neurobiology*, vol. 31, n° 4, p. 345-353.
- International Agency for Research on Cancer of World Health Organization (WHO) (2010). Cyanobacterial peptide toxins. In Ingested nitrate and nitrite and cyanobacterial peptide toxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Lyon, France, vol. 94, p. 329-411.
- Ito, E. and Nagai, H. (2000). Bleeding from the small intestine caused by aplysiatoxin, the causative agent of the red alga *Gracilaria coronopifolia* poisoning. *Toxicon*, vol. 38, n° 1, p. 123-132.
- Ito, E., Satake, M. and Yasumoto, T. (2002). Pathological effects of lyngbyatoxin A upon mice. *Toxicon*, vol. 40, n° 5, p. 551-556.
- Jackim, E. and Gentile, J. (1968). Toxins of a blue-green alga: Similarity to saxitoxin. *Science*, vol. 162, n° 3856, p. 915-916.
- Jaiswal, P., Singh, P.K. and Prasanna, R. (2008). Cyanobacterial bioactive molecules - An overview of their toxic properties. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 54, n° 9, p. 701-717.
- Jaiswal, P., Singh, P.K. and Prasanna, R. (2007). Factors influencing algicide production by *Microcystis* sp., and its effect on selected cyanobacteria. In *Advances in applied phycology* (p. 75-84). New Delhi, Daya publishing house.

- James, E.K. (2000). Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. *Field Crops Research*, vol. 65, n° 2-3, p. 197-209.
- Jang, M., Ha, K., Joo, G. and Takamura, N. (2003). Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biology*, vol. 48, n° 9, p. 1540-1550.
- Kaebnick, M. and Neilan, B.A. (2001). Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology ecology*, vol. 35, n° 1, p. 1-9.
- Kaebnick, M., Neilan, B.A., Borner, T. and Dittmann, E. (2000). Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, n° 8, p. 3387-3392.
- Kao, C.Y. (1993). Paralytic shellfish poisoning. In Falconer, I.R., *Algal toxins in seafood and drinking water* (p. 75-86). San Diego, Academic Press.
- Kardinaal, W.E.A and Visser, P.M. (2005). Dynamics of cyanobacterial toxins. Sources of variability in microcystin concentrations. In Huisman, J, Matthijs, H.C.P. and Visser, P.M (eds), *Harmful Cyanobacteria* (p. 41-63). Dordrecht, Springer.
- Kondo, F., Ikai, Y., Oka, H., Okumura, M., Ishikawa, N., Harada, K., Matsuuja, K., Murata, H. and Suzuki, M. (1992). Formation, characterization, and toxicity of the glutathione and cysteine conjugates of toxic heptapeptide microcystins. *Chemical Research in Toxicology*, vol. 5, n° 5, p. 591-596.
- Kononen, K., Kuparinen, J., Mäkelä, K., Laanemets, J., Pavelson, J. and Nömmann, S. (1996). Initiation of cyanobacterial blooms in a frontal region at the entrance to the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Limnology and Oceanography*, vol. 41, n° 1, p. 98-112.
- Lavoie, I., Laurion, I., Warren, A. et Vincent, W. (2007). Les fleurs d'eau de cyanobactéries, revue de littérature. Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Québec, rapport n° 916, 124 p.
- Lehtimäki, J., Moisander, P., Sivonen, K. and Kononen, K. (1997). Growth, nitrogen fixation, and Nodularin production by two Baltic Sea cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n° 5, p. 1647-1656.
- Lehtimäki, J., Sivonen, K., Luukainen, R. and Niemela, S.I. (1994). The effects of incubation time, temperature, light, salinity, and phosphorus on growth and hepatotoxin production by *Nodularia* strains. *Archiv fur Hydrobiologie*, vol. 130, n° 3, p. 269-282.
- Lilleheil, G., Andersen, R.A., Skulberg, O.M. and Alexander, J. (1997). Effects of homoanatoxin-A-containing extract from *Oscillatoria formosa* (Cyanophyceae/cyanobacteria) on neuromuscular transmission. *Toxicon*, vol. 35, n° 8, p. 1275-1289.

- Lobner, D., Piana, P.M.T., Salous, A.K. and Peoples, R.W. (2007). β -N-methylamino-l-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms. *Neurobiology of Disease*, vol. 25, n° 2, p. 360-366.
- Long, B.M., Jones, G.J. and Orr, P.T. (2001). Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, n° 1, p. 278-283.
- Lukac, M. and Aegerter, R. (1993). Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, vol. 31, n° 3, p. 293-305.
- Lyck, S., Gjølme, N. and Utkilen, H. (1996). Iron starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 228/1 (Chroococcales, Cyanophyceae). *Phycologia*, vol. 35, n° SUPPL., p. 120-124.
- MDDEP (2011a). Plan d'intervention détaillé sur les algues bleu-vert 2007-2017. In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/algues-bv/plan_intervention_2007-2017.pdf (Page consultée le 17 octobre 2011).
- MDDEP (2011b). La gestion des épisodes de fleurs d'eau d'algues bleu-vert en 2011. In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/algues-bv/outil-gestion/gestion-episodes.pdf> (Page consultée le 20 octobre 2011).
- MDDEP (2011c). Répertoire des stations municipales de production d'eau potable approvisionnées en eau de surface. In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/potable/production/index.asp#types> (Page consultée le 13 octobre 2011).
- MDDEP (2010). Les plans d'eau touchés par une fleur d'eau d'algues bleu-vert. Bilan final de la gestion des épisodes en 2010. In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/algues-bv/bilan/saison2010/bilan2010.pdf> (Page consultée le 10 septembre 2011).
- Molica, R., Onodera, H., García, C., Rivas, M., Andrinolo, D., Nascimento, S., Meguro, H., Oshima, Y., Azevedo, S. and Lagos, N. (2002). Toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) isolated from Tabocas reservoir in Caruaru, Brazil, including demonstration of a new saxitoxin analogue. *Phycologia*, vol. 41, n° 6, p. 606-611.
- Namikoshi, M., Murakami, T., Watanabe, M.F., Oda, T., Yamada, J., Tsujimura, S., Nagai, H. and Oishi, S. (2003). Simultaneous production of homoanatoxin-a, anatoxin-a, and a new non-toxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja. *Toxicon*, vol. 42, n° 5, p. 533-538.

- Nishizawa, T., Asayama, M., Fujii, K., Harada, K. and Shirai, M. (1999). Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. *Journal of Biochemistry*, vol. 126, n° 3, p. 520-529.
- Norris, R.L., Eaglesham, G.K., Pierens, G., Shaw, G.R., Smith, M.J., Chiswell, R.K., Seawright, A.A. and Moore, M.R. (1999). Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology*, vol. 14, n° 1, p. 163-165.
- Norris, R.L.G., Seawright, A.A., Shaw, G.R., Senogles, P., Eaglesham, G.K., Smith, M.J., Chiswell, R.K. and Moore, M.R. (2002). Hepatic xenobiotic metabolism of cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Toxicol*, vol. 40, n° 4, p. 471-476.
- Norris, R.L.G., Seawright, A.A., Shaw, G.R., Smith, M.J., Chiswell, R.K. and Moore, M.R. (2001). Distribution of ¹⁴C cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Environmental Toxicology*, vol. 16, n° 6, p. 498-505.
- Oh, H., Lee, S.J., Jang, M. and Yoon, B. (2000). Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, n° 1, p. 176-179.
- Ohtani, I., Moore, R.E. and Runnegar, M.T.C. (1992). Cylindrospermopsin, a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 114, n° 20, p. 7941-7942.
- Oliver, R.L. and Ganf, G.C. (2000). Freshwater blooms. In Whitton, B.A. and Potts M., *The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space* (p. 149-194). Dordrecht, Kluwe Academic Publishers.
- Osborne, N.J.T., Webb, P.M. and Shaw, G.R. (2001). The toxins of *Lyngbya majuscula* and their human and ecological health effects. *Environment International*, vol. 27, n° 5, p. 381-392.
- Pattanaik, B., Wulff, A., Roleda, M.Y., Garde, K. and Mohlin, M. (2010). Production of the cyanotoxin nodularin-A multifactorial approach. *Harmful Algae*, vol. 10, n° 1, p. 30-38.
- Pflugmacher, S., Wiegand, C., Oberemm, A., Beattie, K.A., Krause, E., Codd, G.A. and Steinberg, C.E.W. (1998). Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: The first step of detoxication. *Biochimica and Biophysica Acta - General Subjects*, vol. 1425, n° 3, p. 527-533.
- Rao, S.D., Banack, S.A., Cox, P.A. and Weiss, J.H. (2006). BMAA selectively injures motor neurons via AMPA/kainate receptor activation. *Experimental Neurology*, vol. 201, n° 1, p. 244-252.

Rapala, J. and Sivonen, K. (1998). Assessment of environmental conditions that favor hepatotoxic and neurotoxic *Anabaena sp.* strains cultured under light limitation at different temperatures. *Microbial Ecology*, vol. 36, n° 2, p. 181-192.

Rapala, J., Sivonen, K., Luukkainen, R. and Niemela, S.I. (1993). Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena*-strains - A laboratory study. *Journal of Applied Phycology*, vol. 5, n° 6, p. 581-591.

Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C. and Niemelä, S.I. (1997). Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena sp.* as a function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n° 6, p. 2206-2212.

Ressom, R., San Soong, F., Fitzgerald, J., Turczynowicz, L., El Saadi, O., Roder, D., Maynard, T. and Falconer, I. (1994). Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae). In Australian government National Health and Medical Research Council. [En ligne]. http://www.nhmrc.gov.au/files_nhmrc/publications/attachments/eh14.pdf (Page consultée le 5 septembre 2011).

Robarts, R.D. and Zohary, T. (1987). Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine & Freshwater Research*, vol. 21, n° 3, p. 391-399.

Robert, C. (2008). Résultats de cyanobactéries et cyanotoxines à sept stations de production d'eau potable (2004-2006). In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/potable/cyano/Resultats_cyanos.pdf (Page consultée le 20 octobre 2011).

Robert, C., Tremblay, H. et Deblois, C. (2004). Cyanobactéries et cyanotoxines au Québec: suivi à six stations de production d'eau potable (2001-2003). In MDDEP. *MDDEP*, [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/potable/cyano/cyanobacteries-cyanotoxines.pdf> (Page consultée le 18 octobre 2011).

Robinson, N.A., Miura, G.A., Matson, C.F., Dinterman, R.E. and Pace, J.G. (1989). Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. *Toxicon*, vol. 27, n° 9, p. 1035-1042.

Robinson, N.A., Pace, J.G., Matson, C.F., Miura, G.A. and Lawrence, W.B. (1991). Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 256, n° 1, p. 176-182.

Runnegar, M.T.C., Falconer, I.R., Buckley, T. and Jackson, A.R.B. (1986). Lethal potency and tissue distribution of ¹²⁵I-labelled toxic peptides from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, vol. 24, n° 5, p. 506-509.

- Runnegar, M.T., Falconer, I.R. and Silver, J. (1981). Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, vol. 317, n° 3, p. 268-272.
- Runnegar, M.T., Kong, S., Zhong, Y.A. and Lu, S.C. (1995). Inhibition of reduced glutathione synthesis by cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, vol. 49, n° 2, p. 219-225.
- Sipiä, V.O., Kankaanpää, H.T., Pflugmacher, S., Flinkman, J., Furey, A. and James, K.J. (2002). Bioaccumulation and detoxication of nodularin in tissues of flounder (*Platichthys flesus*), mussels (*Mytilus edulis*, *Dreissena polymorpha*), and clams (*Macoma balthica*) from the northern Baltic Sea. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 53, n° 2, p. 305-311.
- Sivonen, K. (1996). Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, vol. 35, n° SUPPL., p. 12-24.
- Sivonen, K. (1990). Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 56, n° 9, p. 2658-2666.
- Sivonen, K. and Jones, G. (1999). Cyanobacterial Toxins. In Chorus, I. and Bartram, J., *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management* (p. 41-111). London, E & FN Spon.
- Spoof, L., Klimova, S., Mikhailov, A., Eriksson, J.E. and Meriluoto, J. (2003). Synthesis and organotropism of 3H-dihydro derivatives of the cyanobacterial peptide hepatotoxin nodularin. *Toxicon*, vol. 41, n° 2, p. 153-162.
- Stafford, R.G. and Hines, H.B. (1995). Urinary elimination of saxitoxin after intravenous injection. *Toxicon*, vol. 33, n° 11, p. 1501-1510.
- Stevens, D.K. and Krieger, R.I. (1991). Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-A. *Toxicon*, vol. 29, n° 2, p. 167-179.
- Stotts, R.R., Namikoshi, M., Haschek, W.M., Rinehart, K.L., Carmichael, W.W., Dahlem, A.M. and Beasley, V.R. (1993). Structural modifications imparting reduced toxicity in microcystins from *Microcystis sp.* *Toxicon*, vol. 31, n° 6, p. 783-789.
- Stotts, R.R., Twardock, A.R., Haschek, W.M., Choi, B.W., Rinehart, K.L. and Beasley, V.R. (1997a). Distribution of tritiated dihydromicrocystin in swine. *Toxicon*, vol. 35, n° 6, p. 937-953.
- Stotts, R.R., Twardock, A.R., Koritz, G.D., Haschek, W.M., Manuel, R.K., Hollis, W.B. and Beasley, V.R. (1997b). Toxicokinetics of tritiated dihydromicrocystin-LR in swine. *Toxicon*, vol. 35, n° 3, p. 455-465.

- Su, Z., Sheets, M., Ishida, H., Li, F. and Barry, W.H. (2004). Saxitoxin Blocks L-Type ICa. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 308, n° 1, p. 324-329.
- Svrcek, C. and Smith, D.W. (2004). Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: A review. *Journal of Environmental Engineering and Science*, vol. 3, n° 3, p. 155-185.
- Swanson, K.L., Allen, C.N. and Aronstam, R.S. (1986). Molecular mechanisms of the potent and stereospecific nicotinic receptor agonist (+)-anatoxin-a. *Molecular Pharmacology*, vol. 29, n° 3, p. 250-257.
- Tencalla, F. and Dietrich, D. (1997). Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, vol. 35, n° 4, p. 583-595.
- Terao, K., Ohmori, S., Igarashi, K., Ohtani, I., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ito, E. and Watanabe, M. (1994). Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, vol. 32, n° 7, p. 833-843.
- Tillett, D., Parker, D.L. and Neilan, B.A. (2001). Detection of toxigenicity by a probe for the microcystin synthetase a gene (mcyA) of the cyanobacterial genus *Microcystis*: comparison of toxicities with 16S rRNA and phycocyanin operon (phycocyanin intergenic spacer) Phylogenies. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, n° 6, p. 2810-2818.
- Tonk, L., Visser, P.M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E.O.F.M., Wiedner, C., Mur, L.R. and Huisman, J. (2005). The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes toward a more toxic variant with increasing light intensity. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 71, n° 9, p. 5177-5181.
- Usup, G., Leaw, C., Cheah, M., Ahmad, A. and Ng, B. (2004). Analysis of paralytic shellfish poisoning toxin congeners by a sodium channel receptor binding assay. *Toxicon*, vol. 44, n° 1, p. 37-43.
- Utkilen, H. and Gjørlme, N. (1995). Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, n° 2, p. 797-800.
- Utkilen, H. and Gjørlme, N. (1992). Toxin production by *Microcystis aeruginosa* as a function of light in continuous cultures and its ecological significance. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 58, n° 4, p. 1321-1325.
- Vahtera, E., Laamanen, M. and Rintala, J. (2007). Use of different phosphorus sources by the bloom-forming cyanobacteria *Aphanizomenon flos-aquae* and *Nodularia spumigena*. *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 46, n° 3, p. 225-237.

- Van Apeldoorn, M.E., Van Egmond, H.P., Speijers, G.J.A. and Bakker, G.J.I. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition and Food Research*, vol. 51, n° 1, p. 7-60.
- Van Coillie, R. (2011). *Écotoxicologie générale et appliquée*. 1ere édition, Québec, Télé-Université, 521 p. (Collection Sciences de l'environnement).
- Van Coillie, R. et Van Coillie, G. (2010) *Les eaux douces au Québec; constatation et évolution*. Lévis, Les productions Jacques Bernier, 198 p.
- Van der Westhuizen, A.J. and Eloff, J.N. (1985). Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta*, vol. 163, n° 1, p. 55-59.
- Van der Westhuizen, A.J. and Eloff, J.N. (1983). Effect of culture age and pH of culture medium on the growth and toxicity of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Planzensphysiol*, vol. 110, p. 157-163.
- Van Der Westhuizen, A.J., Eloff, J.N. and Kruger, G.H.J. (1986). Effect of temperature and light (fluence rate) on the composition of the toxin of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Archiv fur Hydrobiologie*, vol. 108, n° 2, p. 145-154.
- Welker, M., Von Döhren, H., Täuscher, H., Steinberg, C.E.W. and Erhard, M. (2003). Toxic *Microcystis* in shallow lake Müggelsee (Germany) - Dynamics, distribution, diversity. *Archiv fur Hydrobiologie*, vol. 157, n° 2, p. 227-248.