

# Microcystines : intoxication des animaux domestiques et sécurité des aliments d'origine animale

J. P. JAEG

UMR INRA/ENVIT 1089 – 180, chemin de Tournefeuille – BP3 – 31931 Toulouse cedex 9 - E-mail : jp.jaeg@envt.fr

## RÉSUMÉ

Les cyanobactéries sont des micro-organismes ubiquistes qui se développent généralement dans les eaux douces. A cause de certaines caractéristiques, par exemple leur couleur bleu-vert et la présence de chlorophylle a, elles sont improprement appelées algues bleues. En fonction des conditions environnementales, elles peuvent proliférer et certains clones peuvent synthétiser une ou plusieurs toxines. Plusieurs familles de cyanotoxines ont été caractérisées dont les microcystines qui sont les cyanotoxines les plus fréquentes. Les microcystines peuvent être responsables d'intoxication d'animaux domestiques et représentent également un risque sanitaire pour l'homme en contaminant l'eau de boisson ou les denrées alimentaires d'origine animale. Ces deux points sont développés dans cette revue.

**Mots-clés :** Cyanobactérie, microcystine, intoxication, évaluation du risque, sécurité des aliments

## SUMMARY

**Microcystins : intoxication in domestic animals and food safety.**

Cyanobacteria, incorrectly called blue-green algae, are worldwide prokaryotes that mostly live in fresh-water. Depending on environmental conditions, cyanobacteria may bloom and some clones may produce one or more toxins. There are many families of cyanotoxins but the microcystins are the most common and potent. The microcystins have been linked with animal poisonings and they also present a hazard to human populations that are exposed to them through drinking water or eating meat. These two items will be developed in this review.

**Keywords :** Cyanobacteria, microcystin, intoxication, risk assessment, food safety

## Introduction

Les cyanobactéries sont des micro-organismes procaryotes à pigmentation, généralement de couleur bleu-vert. Improprement appelées algues bleues car elles contiennent, comme les algues, de la chlorophylle a [20], les cyanobactéries sont des organismes ubiquistes capables de coloniser de nombreux milieux. Ainsi, on les retrouve sur l'ensemble de la planète, des régions polaires aux régions équatoriales [20, 133]. En France par exemple, une enquête récente [121] a montré qu'elles pouvaient affecter n'importe quel plan d'eau douce. En fonction des conditions environnementales, elles peuvent proliférer. Ce phénomène est également appelé

efflorescence ou bloom. Les blooms sont à l'origine de nombreux problèmes car d'une part ils déstabilisent l'écosystème [59] et d'autre part, certaines cyanobactéries produisent des toxines [112] à l'origine d'empoisonnement humain ou animal. Toutes les cyanobactéries ne sont pas toxigènes. Parmi celles qui ont été étudiées, une quarantaine de genres s'est révélée toxigène [15, 102]. Les toxines actuellement caractérisées sont classées en 5 groupes toxicologiques : les hépatotoxines, les neurotoxines, les cytotoxines, les dermatotoxines et les toxines irritantes [112]. Les hépatotoxines sont constituées par 2 familles de toxines : les microcystines et les nodularines. Bien que la situation soit assez complexe, car souvent, des souches toxiques coexistent avec des souches non toxiques et une souche peut synthétiser plusieurs toxines (du même groupe ou de groupes différents) [112], les microcystines sont les cyanotoxines les plus fréquentes en France.

L'objectif de cette revue est de faire le point sur les intoxications des animaux par les microcystines, ainsi que d'évaluer le risque d'intoxication alimentaire pour l'homme. Mais avant d'aborder ces deux points, nous allons présenter les propriétés chimiques et biologiques des microcystines.

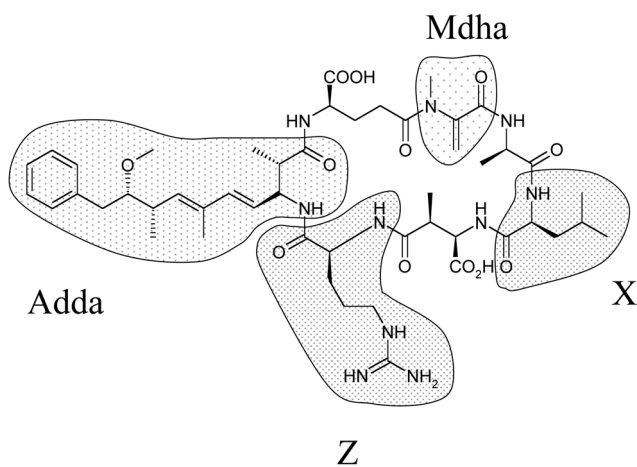
### 1. Abréviations

CMA : concentration maximale acceptable  
DJA : dose journalière admissible  
DNA PK/Ku : complexe ADN-protéine kinase / protéine Ku  
Dow : coefficient de distribution octanol eau  
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay  
GMQ : gain moyen quotidien  
HPLC : chromatographie liquide haute performance  
IP : intrapéritonéale  
IV : intraveineux  
LMR : limite maximale en résidus  
OATP : polypeptide transporteur d'anions organiques  
OMS : organisation mondiale de la santé  
PP1 - PP2A : protéine phosphatase de type 1 – protéine phosphatase de type 2 A  
UV : ultra violet

# 1. Toxicité des microcystines

## 1.1. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES MICROCYSTINES

Les microcystines sont des heptapeptides cycliques [14, 112] produits par des cyanobactéries du genre *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Anabaenopsis*, *Nostoc* et *Hapalosiphon*. La structure chimique (figure 1) est caractérisée par deux acides aminés inhabituels : la N-méthylaldéhydealanine (Mdha) et l'acide 3-amino-9-méthoxy-2-6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dinéoïque (Adda). De plus, deux acides aminés sont variables et permettent de désigner la microcystine. Par exemple, pour X = leucine et Z = arginine, on obtient la microcystine LR (figure 1). Ainsi, en fonction de différentes combinaisons, plus de 60 microcystines différentes ont été caractérisées. La biosynthèse des microcystines a été élucidée chez certaines souches du genre *Microcystis* et *Planktothrix* [17, 95, 96, 127]. C'est une biosynthèse complexe, non ribosomale faisant intervenir des complexes enzymatiques comprenant entre autres, des peptidases synthétases et des polycétides synthases. Des études ont montré que toutes les cyanobactéries n'ont pas les gènes codant pour les enzymes de synthèse des microcystines. Les cyanobactéries qui n'ont pas ces gènes ne sont pas toxigènes. Par contre, l'inverse n'est pas vrai car certains clones possédant ces gènes ne sont pas toxigènes [76].



**Figure 1.** structure chimique des microcystines. La nature des acides aminés en position X et Z varie en fonction de la microcystine. La microcystine représentée ici, avec X = leucine et Z = arginine, est la microcystine LR.

Les microcystines sont des composés intracellulaires qui ne se retrouvent dans l'eau qu'après la lyse des cyanobactéries. Elles présentent plusieurs groupements ionisables et ont une charge nette nulle pour un pH compris entre 2,09 et 2,19. En dehors de cette zone, la charge nette est soit positive, soit négative, soit doublement négative [24]. Le coefficient de distribution eau / octanol (Dow) de la microcystine LR est faible, à pH compris entre 6 et 8, logDow varie de 0 à -1,76. Ce sont des composés hydrophiles [132]. La lipophilie varie en fonction des acides aminés en position X et Z mais elle est généralement faible. Les microcystines sont des composés assez stables dans l'eau : la microcystine LR persiste plus de

10 jours dans de l'eau stérile ou déionisée [19]. Des traitements physiques comme les UV [128] ou chimiques (hypochlorite de sodium ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de Fe<sup>2+</sup>) [4, 129] accélèrent la dégradation. Mais la biodégradation correspond à la voie principale de dégradation. Dans ce cas, un temps d'adaptation de la flore et de la microfaune de 2 à 9 jours est nécessaire [19, 56, 61, 64, 70, 77]. Ainsi la demi-vie, en général de 2 à 4 jours, varie en fonction de la température et de la saison.

## 1.2. TOXICOCINÉTIQUE

L'importance de l'absorption par voie orale varie en fonction de la structure des microcystines. La microcystine LR qui est ionisée aux pH physiologiques, est hydrophile et peu lipophile, elle a donc des propriétés physico-chimiques peu favorables au passage des membranes cellulaires par diffusion passive. Par contre, la diffusion passive peut être un peu plus importante pour les microcystines qui contiennent des acides aminés lipophiles en position X et Z [148]. Il a été démontré, *in vitro* et *in vivo*, chez le rat et le poulet que le passage membranaire des microcystines est possible mais assez faible [34, 37, 119]. De plus, il peut être inhibé par des composés comme les sels biliaires, la cyclosporine A et la rifampine [37, 55]. Ces résultats indiquent que des transporteurs membranaires spécialisés dans le transport d'anions organiques comme les sels biliaires sont impliqués dans le passage membranaire des microcystines. Dernièrement, Ficher et al. (2005) ont démontré *in vitro*, que les transporteurs humains OATP1A2, OATP1B1 et OATP2B1 et le transporteur Oatp1b2 de rat assuraient le passage membranaire des microcystines. Suite à une exposition par voie orale, l'absorption des microcystines est faible et se fait surtout au niveau de l'ileum, partie du tube digestif riche en transporteurs d'anions organiques [21, 66, 124]. La concentration sanguine maximale est obtenue 90 minutes après une administration iléaque chez la truie [124]. Quel que soit le modèle animal utilisé (rongeur ou truie) ou la voie d'administration (orale, IV ou IP), la toxine est surtout retrouvée dans le foie [58, 66, 113, 115, 123]. Le tropisme d'organe s'explique surtout par la présence d'un nombre important de transporteurs d'anions organiques au niveau de cet organe. Une étude réalisée sur des souris exposées par voie orale, montre que les cellules intestinales contiennent également des microcystines, certes en quantité moins importante, mais néanmoins non négligeable [66]. Leur présence dans les cellules intestinales révèle en fait l'absorption de la toxine via les transporteurs membranaires des cellules intestinales. La quantité de microcystine retrouvée dans les autres organes est très faible, par exemple, moins de 1% de la dose administrée est retrouvée dans le muscle [113]. La demi-vie d'élimination (t<sub>1/2</sub> β) varie de 30 minutes à 7 heures en fonction de la voie d'administration et de la dose [113, 115, 124]. Par contre, il a été montré que des résidus liés persistaient dans le foie de rongeurs pendant 6 jours [115], mais ces résidus liés ne semblent pas toxiques. Les principaux métabolites obtenus sont des conjugués au glutathion [73, 103, 125]. La formation de ces conjugués n'est pas spontanée mais est catalysée par des glutathion-S-transférases [103, 125]. D'autres métabo-

lites minoritaires ont été identifiés : un conjugué avec la cystéine et un double conjugué sulfate glutathion [73]. Les métabolites sont obtenus dès 3 heures après une administration intrapéritonéale [73]. Robinson et al. (1991) ont également montré dans une étude réalisée chez la souris avec une molécule microcystine LR radiomarquée, que 60% de la radioactivité retrouvée dans les urines et les fèces correspondait à la molécule mère [114].

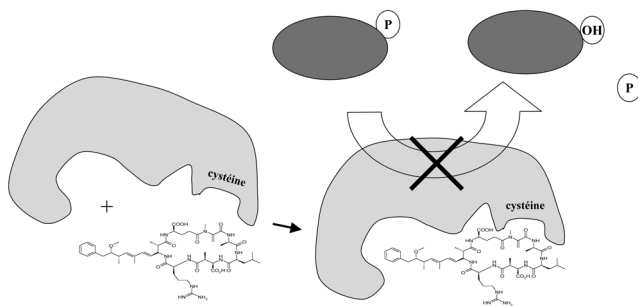
Chez les poissons les résultats publiés sont moins clairs : Bury et al. ont montré que le passage transmembranaire n'est pas saturable et ne peut pas être inhibé par du déoxycholate [11]. Ces résultats tendent à démontrer que le passage membranaire ne se ferait pas chez les poissons par des transporteurs spécifiques, mais par un mécanisme passif. Ces résultats sont surprenants car, comme nous l'avons vu plus haut, d'une part les propriétés physico-chimiques des microcystines ne sont pas favorables à la diffusion passive et d'autre part les transporteurs d'anions organiques sont présents chez les poissons [12, 44]. Enfin, une équipe a montré que de nombreux substrats pour les OATP diminuaient, *in vitro*, le passage de la microcystine LR dans les hépatocytes de raies (*Raja erinacea*) [117]. L'hypothèse d'un transport actif des microcystines à l'intérieur des cellules de poisson ne peut donc pas être abandonnée. Lors d'exposition par voie orale, l'absorption est faible, par exemple 24 heures après le gavage de truites, il a été retrouvé dans l'organisme de ces truites 0,3% de la dose administrée [11]. Bien que ce résultat ne corresponde pas à une biodisponibilité et ne tienne pas compte des composés déjà excrétés, il montre que l'absorption de la toxine est faible. Par contre, l'absorption est assez rapide, dès 1 heure, il est possible d'isoler la toxine dans le plasma de truites [126], la concentration plasmatique maximale étant obtenue 3 heures après le gavage. Chez les poissons, comme chez les mammifères, il est possible de mettre en évidence un tropisme hépatique [88, 120, 126, 136]. Mais la toxine, en quantité moindre, est également présente dans les reins, les branchies et l'intestin (même après administration par voie IP) [136]. La quantité retrouvée dans les muscles est par contre très faible [136]. Les principaux métabolites sont des conjugués au glutathion, réaction catalysée par des glutathion-S-transférases [88, 103]. Les métabolites et la molécule mère sont en partie éliminés par la bile. Il est possible de les mettre en évidence jusqu'à 72 heures après une exposition unique par voie orale [120] et 7 jours dans le plasma de raies (*Raja erinacea*) exposées par voie IV [117].

### 1. 3. CYTOTOXICITÉ

A l'intérieur des cellules, les microcystines peuvent avoir plusieurs effets. L'action la plus importante est l'inhibition des protéines phosphatases de type 1 et 2A (PP1 et PP2A) [51, 57, 114, 116]. La fixation des microcystines sur les protéines phosphatases se fait en 2 étapes (figure 2) : la première étape fait intervenir des interactions de faibles énergies de type Van der Waals et électrostatiques entre la toxine et les protéines phosphatases. Cette première étape permet un rapprochement entre l'acide aminé méthyl-déhydro-alanine (Mdha) de la toxine et la cystéine 273 de PP1 ou 266 de PP2A

qui réagissent alors et forment une liaison covalente [84, 116]. Suite à cette liaison covalente, l'acide 3-amino-9-méthoxy-2-6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dinéoïque (Adda) se trouve dans un sillon hydrophobique de la partie catalytique de l'enzyme, entraînant son inactivation [48]. L'inhibition de la phosphatase est observée dès la première étape qui correspond à la formation du complexe phosphatase / microcystine par les liaisons de faibles énergies [53, 143]. La toxicité des microcystines dépend de la structure de la molécule [135]. Comme la biodisponibilité par voie IP est bonne, la DL<sub>50</sub> par voie IP permet de caractériser la toxicité intrinsèque des microcystines. Comme le montre le tableau I, les DL<sub>50</sub> par voie IP, chez la souris, varient de 50 à 800 µg/kg de poids vif en fonction de la microcystine [50, 148]. Mais il faut relativiser cette information, car la voie d'exposition pertinente est la voie orale. Les biodisponibilités par voie orale étant beaucoup plus faible, les DL<sub>50</sub> sont nettement supérieures. Ainsi la DL<sub>50</sub> par voie orale de la microcystine LR est de 10,9 mg/kg chez la souris [140]. Malheureusement, on ne connaît pas les DL<sub>50</sub> par voie orale des autres microcystines plus lipophiles ou une biodisponibilité plus grande pourrait contrebalancer une toxicité intrinsèque plus faible. L'effet toxique est dépendant de la présence de la partie Adda, car si on la supprime, la toxicité diminue fortement [1]. L'inhibition des phosphatases diminue également fortement si la toxine est linéaire [10]. L'inhibition des PP1 et PP2A s'observe à la fois dans le compartiment cytosolique et nucléaire de la cellule [51]. Les conséquences de cette inhibition sont importantes car les PP1 et PP2A catalysent l'hydrolyse des groupements phosphate (figure 2) sur les résidus sérine et thréonine de nombreuses protéines dont l'actine et la cytokératine, protéines qui participent à l'organisation du cytosquelette de la cellule [7]. La mise en place du cytosquelette n'est pas possible quand les protéines sont phosphorylées. Les microcystines étant des inhibiteurs de protéines phosphatases, les protéines du cytosquelette restent phosphorylées et ne peuvent pas s'assembler ce qui provoque une désorganisation structurale de la cellule [38] et à terme la mort de la cellule. L'inhibition des PP1 et PP2A entraînent également la disparition des jonctions intercellulaires : les cellules ne forment plus un tissu mais s'individualisent. Dernièrement, une autre cible intracellulaire a été mise en évidence : l'ATP-synthase [91]. Les microcystines peuvent se fixer sur cet enzyme et ainsi l'inhiber. Le mécanisme n'est pas caractérisé et les conséquences sur la physiologie cellulaire ne sont pas connues. Malgré tout, il semble que les microcystines ont moins d'affinité pour cet enzyme que pour les PP1 et PP2A. Pour l'instant, d'autres cibles intracellulaires n'ont pas été révélées [63]. Enfin, de nombreuses études montrent que les microcystines induisent aussi un stress oxydatif à l'intérieur des cellules [8, 28, 26, 80, 93, 139]. Ce phénomène a été observé *in vivo* chez les poissons [80] et les rongeurs [47, 93] et son intensité varie en fonction de la dose mais aussi de la nature de la microcystine [108]. Ses conséquences sont une diminution du glutathion réduit dans la cellule, une peroxydation des lipides et des cassures de l'ADN [8, 139, 142]. L'administration de pièges à radicaux en même temps que l'exposition aux microcystines protège la cellule et permet d'éviter le stress oxydatif [28].

Comme nous l'avons vu plus haut, les microcystines, après absorption, s'accumulent dans le foie induisant des lésions importantes au niveau de cet organe [82, 118]. Mais l'effet n'est pas spécifique au foie et il est possible d'observer des lésions au niveau des reins [92, 97] et de l'épithélium intestinal [37]. Les lésions hépatiques, qui sont les lésions les mieux caractérisées se traduisent, lors d'intoxication aiguë, par une hémorragie, une individualisation des hépatocytes et des foyers de nécrose [38, 82, 118]. En plus de ces foyers nécrotiques, de cellules apoptotiques sont observées. Ces lésions cellulaires sont des conséquences de l'inhibition de PP1 et PP2A mais aussi du stress oxydatif provoqué par les microcystines [29, 28, 26].



**Figure 2.** fixation de la microcystine LR sur la protéine phosphatase. Le radical Mdha de la microcystine interagit avec une cystéine. Il se forme un complexe microcystine / protéine phosphatase. Le radical Adda se place alors dans un sillon hydrophobe. La microcystine inhibe la protéine phosphatase qui ne peut plus catalyser l'hydrolyse des groupements phosphate de certaines protéines.

#### 1.4. CANCÉROGÈNESE

Des études épidémiologiques et des analyses effectuées en Chine mettent en évidence une relation entre la présence de microcystines dans l'eau de boisson et le développement de cancers hépatiques et colo-rectaux [130, 144]. Ces observations sont confortées par les résultats de plusieurs études de cancérogenèse [60, 65, 94, 99, 145]. La majorité des ces études montre que la microcystine LR agit comme un promoteur plutôt que comme un initiateur. Les résultats de tests d'Ames, un test de mutagenèse, sont contradictoires : certains résultats sont négatifs [49, 111] d'autres sont positifs [27]. Des résultats positifs sont également obtenus avec d'autres tests de génotoxicité à court terme : le SOS chromotest, l'essai comète ou le test des micronoyaux [27, 90]. Les lésions de l'ADN, observées à la fois dans des études *in vitro* et *in vivo*, sont des cassures et des oxydations de l'ADN [9, 78, 83, 110, 141]. Par contre, il n'a jamais été mis en évidence d'adduits à l'ADN. Il ressort de ces différents résultats que les microcystines ne semblent pas être directement génotoxiques. En effet, d'une part, une partie des résultats positifs obtenus avec l'essai comète est due à l'apoptose des cellules [78] d'autre part, les lésions de l'ADN qui sont observées sont des conséquences du stress oxydatif induit par les microcystines [142]. Les cassures de l'ADN peuvent être réparées par un système faisant intervenir le complexe DNA-PK/Ku, qui est très peu actif sous forme phosphorylée. Or comme cela a été exposé plus haut, les microcystines inhibent des protéines phosphatases (PP1 et PP2A) qui assurent l'hydro-

lyse des phosphates de ces enzymes [31]. Il a été démontré dernièrement que la microcystine LR inhibe aussi la réparation des lésions de l'ADN provoquées par des radiations ionisantes [79]. Les bases oxydées sont réparées par un autre système de réparation qui fait également intervenir des enzymes actives sous forme déphosphorylée. Or pour ces enzymes également, l'hydrolyse des phosphates est catalysée par PP1 et PP2A [2]. La persistance des lésions entraîne deux possibilités pour la cellule : soit la mort (par apoptose ou par nécrose), soit la tolérance si la cellule survit. La tolérance des lésions augmente alors très fortement le risque de mutation génique [107]. De plus, en inhibant PP1 et PP2A, les microcystines perturbent également le contrôle de la prolifération cellulaire et donc favorisent la promotion des tumeurs [98, 145]. Ces différents éléments renforcent l'hypothèse d'une action non génotoxique. Malheureusement, les études réalisées et disponibles ne permettent pas de définir des doses sans effet cancérogène.

La toxicité des microcystines est assez complexe et s'exprime différemment en fonction de la dose [46, 54]. A forte dose, les microcystines provoquent la mort cellulaire tandis qu'à faible dose elles entraînent une prolifération cellulaire. Actuellement, dans l'évaluation du risque, seule la cytotoxicité hépatique est prise en compte.

## 2. Intoxication des animaux domestiques par les microcystines

Lors d'épisodes de proliférations de cyanobactéries toxigènes, les animaux s'intoxiquent soit en se désaltérant, soit en avalant l'eau pendant des baignades. Malgré la faible biodisponibilité des microcystines, les quantités de toxines dans l'eau sont suffisamment importantes pour empoisonner les animaux. En France, une enquête [121] révèle que l'ensemble du territoire peut être affecté par la prolifération de cyanobactéries, même si les proliférations touchent préférentiellement les étendues d'eau stagnante dont la température varie de 20 à 23 °C. En France, les intoxications se rencontrent surtout en été et début d'automne, période de prolifération. Mais ces indications ne sont pas absolues car des proliférations de cyanobactéries appartenant au genre *Planktothrix* (un genre potentiellement toxigène) ont été observées dans des eaux à 5 - 10°C [121].

### 2.1. INTOXICATION CHEZ LE CHIEN

Un épisode d'intoxication de chiens, en 1989 au centre de l'Angleterre, a été décrit par plusieurs vétérinaires [18, 32, 71]. Au cours de cet épisode, 15 chiens sont morts avec pour la majorité d'entre eux, une évolution très rapide, inférieure à 24 heures. Les chiens intoxiqués présentent un affaiblissement pouvant aller jusqu'à la torpeur et des vomissements qui deviennent rapidement sanguinolents. Ils ont également une diarrhée sanguinolente et des convulsions. Certains chiens meurent pendant une crise convulsive. Les chiens qui survivent plus longtemps souffrent d'une oligurie qui évolue rapi-

dement en anurie. Des signes cliniques similaires et non spécifiques (abattement, vomissement et diarrhée) apparus rapidement (moins d'une heure après l'exposition) sont décrits dans un autre article [25]. En plus de ces signes, le chien a présenté une hyperthermie (39,4°C) et une tachypnée. A la palpation, les auteurs ont senti une hépatomégalie modérée. Des fasciculations musculaires occasionnelles peuvent être observées. Les examens hématologiques et biochimiques révèlent une augmentation de l'activité des phosphatases alcalines, une augmentation importante des alanines amino transférases (ALAT) et des aspartates amino transférases (AST), une hyperbilirubinémie, une augmentation du temps de prothrombine et une thrombocytopenie. Malgré des traitements non spécifiques (réhydrations, transfusion de plasma, vitamine K1, anticonvulsivants), beaucoup de chiens sont morts dans les 24 heures. Les chiens qui ont survécu plus longtemps ont été euthanasiés car leur état ne s'était pas amélioré. A l'autopsie, le foie est gros, rouge sombre et friable, le tube digestif présente de nombreuses pétéchies et hémorragies. L'examen anatomopathologique du foie révèle une nécrose hémorragique massive située en région centrolobulaire ainsi que dans la zone intermédiaire. Au niveau rénal, on observe une dégénérescence cellulaire et des nécroses de l'épithélium tubulaire ainsi que des foyers de nécrose au niveau de certains glomérules. Des nécroses intestinales sont également observées, elles sont surtout situées autour des artérioles de la sous muqueuse. Des ulcères sont également visibles dans cet organe.

## 2.2. INTOXICATION CHEZ LES RUMINANTS

Plusieurs cas d'intoxication de bovins, jeunes ou adultes, vaches en lactation ou au tarissement ont été décrits [41, 43, 45, 52, 72, 109, 122]. Chaque fois, les animaux s'intoxiquent en s'abreuvant à une étendue d'eau contaminée par des cyanobactéries toxigènes. Par conséquent, souvent l'intoxication touche de nombreux animaux, parfois plus de 20 vaches [45, 109]. Par contre, la contamination de l'étendue d'eau n'est pas forcément homogène, surtout s'il y a un peu de vent qui localise les cyanobactéries en certains endroits à la surface de l'eau [5]. Les animaux du troupeau n'absorbent pas la même quantité de toxines, il n'est donc pas surprenant de constater que tous les animaux d'un même troupeau ne sont pas intoxiqués. Les signes cliniques rapportés dans les articles cités ci-dessus sont peu spécifiques : certains animaux sont retrouvés morts, d'autres sont faibles, abattus, anorexiques avec une atonie du rumen et une pâleur des muqueuses. Ces signes cliniques sont complétés par une diarrhée, aqueuse dans un premier temps puis sanguinolente. Lors d'intoxication importante, l'animal est couché, il a des tremblements musculaires, présente un nystagmus et des périodes d'expiration forcée. Puis, il tombe dans le coma et meurt. La mort peut être rapide (moins d'une heure) ou plus lente (3 jours). Les animaux qui survivent soit retrouvent un état normal en une semaine, mais la production laitière ne retrouvera pas les niveaux atteints avant l'intoxication, soit souffrent d'insuffisance hépatique et peuvent alors développer une photosensibilisation [5]. Dans certains cas, l'intoxication ressemble à une fièvre de lait. Cette ressem-

blance est confortée par une réaction temporaire à l'administration de calcium. Dans d'autres cas, l'intoxication peut être confondue avec une hypomagnésémie [5]. Parfois, le pelage de l'animal est souillé par des cyanobactéries. C'est une information précieuse et utile pour le diagnostic, même si toutes les cyanobactéries ne sont pas toxigènes et donc cette observation ne permet pas de faire un diagnostic de certitude.

Le foie est l'organe le plus touché : sa taille est augmentée, sa couleur est rouge sombre, il est congestionné, friable et présente des hémorragies. L'examen histologique révèle de nombreuses nécroses centrolobulaires [41, 45, 109]. Il est impossible d'évaluer les doses de microcystines à l'origine des intoxications à partir de ces observations. Par contre, une étude réalisée sur des moutons [67] révèle que des doses supérieures ou égales à 1040 mg/kg, administrées par voie orale, provoquaient la mort des animaux en moins de 2 jours. Les signes cliniques sont similaires à ceux exprimés par les bovins intoxiqués. Dans un premier temps, on note une légère dépression. L'animal est couché mais se relève s'il est dérangé. Il y a une augmentation de la température, des fréquences cardiaque et respiratoire. Puis l'état général se détériore de plus en plus, l'animal reste couché et a des tremblements musculaires et des mouvements de pédalage. Sa respiration est profonde et irrégulière. La plus faible dose létale (1040 mg/kg) a provoqué la mort de l'animal en 48 heures, alors qu'une dose plus forte (1840 mg/kg) a provoqué une mort plus rapide (19 heures). Les auteurs ne font pas référence à la présence éventuelle d'une diarrhée. D'autres auteurs ont rapporté des cas d'intoxication de moutons [30, 52], mais malheureusement, ils ne donnent pas de description clinique. Les examens biochimiques révèlent une augmentation sérique des enzymes hépatiques [67] chez les animaux ayant reçu des doses létales mais aussi chez ceux qui ont reçu des doses un peu plus faibles et non létales. A l'autopsie, le foie apparaît plus gros, rouge sombre, friable et hémorragique [30, 52, 67]. On observe des pétéchies et des hémorragies sur l'ensemble de la carcasse et surtout au niveau du tube digestif.

## 2.3. INTOXICATIONS CHEZ LES PORCS

Les porcs qui sont élevés à l'extérieur peuvent également être intoxiqués par les microcystines s'ils boivent une eau contaminée [122]. La contamination de l'eau peut être suffisante pour entraîner la mort rapide des animaux. Les signes cliniques rapportés sont peu spécifiques : salivation importante, respiration difficile et mort de l'animal.

## 2.4. INTOXICATIONS CHEZ LES POISSONS

Même si certaines cyanobactéries peuvent se développer dans de l'eau saumâtre, les intoxications des organismes aquatiques qui sont décrites dans la littérature scientifique concernent essentiellement l'eau douce et, dans la majorité des cas, stagnante [89, 148].

Tous les poissons, quel que soit leur régime alimentaire (planctonivore, herbivore, omnivore ou carnivore,) peuvent

être intoxiqués. Des études réalisées dans des laboratoires révèlent que les poissons sont moins sensibles aux microcystines que les animaux terrestres [89, 148]. En cas de prolifération massive de cyanobactéries toxigènes, une mortalité importante de poissons peut être observée [35, 146], même s'il n'est pas possible d'affirmer qu'elle est provoquée par les microcystines seules ou associées à d'autres substances produites par les mêmes cyanobactéries comme les endotoxines. La mortalité peut également être le résultat d'une perturbation importante de l'écosystème (par exemple : déficit en oxygène, concentration élevée en ammoniacque) [148]. En cas de prolifération moins importante, la mortalité des poissons sera faible voire nulle. Les signes cliniques sont alors frustes. Une modification de l'activité motrice peut être observée chez certains poissons comme le dard perche (*Percina caprodes*) [148]. Le jour, si la dose est faible, l'activité motrice volontaire est plus élevée, par contre elle est diminuée si les doses sont importantes. La nuit, le phénomène inverse est observé. Si des analyses histologiques sont réalisées, des lésions hépatiques et branchiales pourront être observées [13, 35, 36, 126]. Certaines analyses révèlent également une atteinte du système immunitaire sans faire ressortir de conséquences pratiques pour la santé des poissons. Les microcystines sont également embryotoxiques et induisent des malformations [35].

Les amateurs d'aquarium sont parfois confrontés à des proliférations de cyanobactéries dans leurs aquariums. Ces proliférations provoquent des gênes importantes car les cyanobactéries peuvent envahir rapidement la totalité de l'aquarium et donc entraîner sa destruction. Par contre d'après les principaux forums des sites Internet spécialisés dans ce domaine, les aquariophiles qui ont été envahis par les cyanobactéries ne font pas référence à une éventuelle intoxication des poissons et autres organismes se trouvant dans leurs aquariums.

## 2.5. DIAGNOSTIC ET ANALYSES

Le diagnostic des intoxications par les microcystines est délicat car les symptômes ne sont pas spécifiques [6, 22]. Par contre le contexte particulier doit orienter le clinicien vers cette hypothèse. Les éléments marquant sont : animaux à l'extérieur au contact d'une eau dans laquelle prolifèrent des organismes ressemblant à des algues microscopiques de couleur bleu-vert, un pelage souillé par des organismes ressemblant à des algues ainsi que la période : été ou début d'un automne chaud. Mais, il ne faut pas oublier que ces éléments ne suffisent pas à faire un diagnostic de certitude. En effet, toutes les proliférations de cyanobactéries ne sont pas toxigènes. Par contre, on ne peut pas exclure cette hypothèse sous prétexte que tous les animaux exposés ne sont pas intoxiqués, car comme nous l'avons vu plus haut, la répartition des microcystines dans l'eau n'est pas forcément homogène, et donc l'exposition réelle n'est pas la même pour l'ensemble des animaux s'abreuvant à la même source. L'historique est également une information précieuse car si les conditions climatiques sont favorables, les proliférations se déroulent aux mêmes endroits d'années en année.

En cas de suspicion, il est possible de doser les microcystines dans l'eau. Les techniques les plus utilisées sont les tests ELISA et l'analyse HPLC en phase inverse [133]. Certains kits ELISA sont spécifiques de la microcystine LR avec parfois, de façon variable en fonction du kit, des réactions croisées avec d'autres microcystines. Mais il y a aussi des kits moins spécifiques qui reconnaissent la partie Adda qui est présente dans toutes les microcystines [33]. La limite de détection la plus basse obtenue avec le test ELISA est 0,025 µg/L [33]. L'analyse par HPLC, avec détection UV, permet de caractériser et de quantifier plusieurs microcystines. Les limites de détection de cette technique sont moins bonnes que celles obtenues avec les tests ELISA [33, 134]. Pour ces deux techniques, la préparation de l'échantillon et surtout l'extraction des microcystines sont délicates [39]. Tous les laboratoires ne réalisent pas ces analyses, il faut donc se renseigner avant de faire des prélèvements. Par contre, les recherches à partir de matrices animales ne se font pas en routine.

## 2.6. TRAITEMENT

Il n'y a pas de traitement spécifique. Il a été démontré que l'administration de cyclosporine ou rifampine, des compétiteurs pour les transporteurs membranaires, diminuait la gravité de l'intoxication en réduisant fortement l'absorption des microcystines. Malheureusement, ce résultat est obtenu uniquement quand on administre ces composés avant d'exposer les animaux aux microcystines [6, 22, 55]. Par conséquent, en pratique, l'utilisation de ces composés est sans intérêt. Une équipe a développé des anticorps polyclonaux et monoclonaux contre les microcystines et a démontré, *in vitro*, qu'ils neutralisaient les microcystines empêchant ainsi l'inhibition des phosphatases [81]. On pourrait envisager d'utiliser ces anticorps pour soigner des intoxications, mais ils ne sont pas disponibles sur le terrain et le coût d'un tel traitement serait prohibitif. Cette solution ne peut donc être retenue. En pratique, si une intoxication aux microcystines est suspectée, il faut retirer les animaux de la source de microcystines et mettre en place un traitement non spécifique qui repose sur la correction de la déshydratation, de la balance en électrolytes et de la température. Il faut assurer aux animaux une alimentation et de l'eau de qualité. Si on intervient suffisamment tôt, on peut limiter l'absorption en administrant du charbon activé, voire en réalisant, chez les ruminants, une ruminotomie et le nettoyage mécanique du rumen [5, 6, 22].

## 3. Microcystines et sécurité des aliments

Les microcystines constituent également un problème de santé publique pour l'homme. L'exposition peut être iatrogène (eau des dialyses par exemple) [3, 16, 69, 106], se faire par l'intermédiaire de l'eau de baignade [42, 133] ou de l'eau de boisson [87, 133, 144] ou encore par des denrées alimentaires contaminées. Les deux premières expositions ne seront pas développées car elles sortent des limites de

cette revue. Par contre, l'exposition via l'eau de boisson et les denrées alimentaires constitue un problème délicat qui sera développé dans ce paragraphe. L'évaluation du risque sanitaire dû aux microcystines est assez récente et concerne uniquement la microcystine LR qui est la plus toxique des microcystines. Mais cela ne signifie pas que les autres microcystines ne présentent pas de danger. Les DL<sub>50</sub> par voie IP du tableau I doivent être relativisées en fonction des biodisponibilités par voie orale des microcystines qui varient en fonction de la structure chimique [132]. Ainsi certaines microcystines sont plus biodisponibles par voie orale (voie d'intoxication des animaux ou de l'homme) que la microcystine LR. La dose journalière admissible (DJA) a été calculée à partir des résultats d'une étude réalisée sur des souris. Il a été observé dans cette étude que des souris exposées, par voie orale, à 40 µg/kg de poids vif pendant une période assez courte (13 semaines) ne présentaient pas de lésions hépatiques [134]. Cette dose a été retenue comme la dose sans effet observable. Elle a été divisée par un facteur 1000 (100 pour tenir compte des incertitudes d'extrapolation entre la souris et l'homme et 10 pour les incertitudes d'extrapolation entre expositions subchroniques et chroniques). On

obtient ainsi une DJA de 0,04 µg/kg/j qu'il faut ventiler en fonction des sources possibles. On estime que l'eau de boisson représente 80% de l'exposition en microcystine LR. Si on considère que le consommateur moyen pèse 60 kg et boit 2 litres d'eau par jour, on obtient alors un seuil à ne pas dépasser qui est 1,2 µg/L d'eau. En pratique, l'OMS propose comme concentration maximale acceptable (CMA) de 1 µg/L d'eau. De nombreux pays, dont la France, ont intégré ce seuil dans leur réglementation, mais d'autres pays ont défini des CMA différentes à partir de ces mêmes données, par exemple le Canada (CMA = 1,5 µg/L) ou l'Australie (CMA = 1,3 à 10 µg/L) [23]. Il est important de noter que ces données sont calculées à partir de la toxicité hépatique. Or comme cela a été exposé plus haut, les microcystines sont suspectées d'être, à des doses plus faibles, des cancérigènes non génotoxiques. Une évaluation du risque en fonction de ce danger conduirait à une diminution de la DJA et donc de la CMA. S'il y a une CMA définie en France pour l'eau potable, il n'y a aucune limite maximale en résidus (LMR) pour les denrées alimentaires d'origine animale (théoriquement, d'après les hypothèses du scénario d'exposition, 20% de la DJA).

Microcystine	X	Z	DL <sub>50</sub> , voie IP, souris
MC-AR	alanine	arginine	250 µg/kg
MC-FR	phénylalanine	arginine	250 µg/kg
MC-HilR	homoisoleucine	arginine	100 µg/kg
MC-HtyR	homotyrosine	arginine	80-100 µg/kg
MC-LA	leucine	alanine	50 µg/kg
MC-LR	leucine	arginine	50 µg/kg
MC-LY	leucine	tyrosine	90 µg/kg
MC-M(O)R	méthionine sulfoxyde	arginine	700-800 µg/kg
MC-RR	arginine	arginine	500-800 µg/kg
MC-WR	tryptophane	arginine	150-200 µg/kg
MC-YA	tyrosine	alanine	60-70 µg/kg
MC-YM(O)	tyrosine	méthionine sulfoxyde	56-110 µg/kg
MC-YR	tyrosine	arginine	150-200 µg/kg

D'après Zurawell et al. 2005

TABLEAU I : toxicité comparée des microcystines

De nombreuses études montrent que les microcystines peuvent être transférées dans les différents compartiments d'un réseau trophique aquatique [13, 35, 68, 75, 86, 85, 104, 138, 137, 146, 147]. L'exposition des différents éléments du réseau trophique aquatique se fait essentiellement par l'alimentation. Le point de départ de son transfert dans le réseau trophique est d'une part la toxine libre dans l'eau et d'autre part les cyanobactéries toxigènes qui libéreront les toxines dans la lumière du tube digestif après leur lyse. Cette deuxième possibilité est plus importante car les quantités solubilisées dans l'eau sont faibles par rapport aux quantités

se trouvant à l'intérieur des cyanobactéries. S'il est démontré que les microcystines peuvent être transférées dans les différents maillons d'un réseau trophique, il n'est pas possible de faire ressortir une relation simple entre les quantités de cyanobactéries toxigènes dans l'eau et la quantité de toxines dans le réseau trophique. Des observations montrent que certains poissons évitent d'ingérer les cyanobactéries toxigènes [68, 85]. D'autres organismes comme la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) seraient capables de filtrer les particules et de rejeter spécifiquement les colonies de *Microcystis* dans des pseudofèces [131], mais ces observations ne sont

pas confirmées par d'autres études [105]. Les teneurs mesurées confirment qu'on ne peut pas parler de bioconcentration car l'exposition se fait à partir des cyanobactéries plutôt qu'à partir des toxines libres dans l'eau, ni de bioaccumulation car les quantités retrouvées dans les différents organismes ne sont pas supérieures aux quantités se trouvant dans les cyanobactéries [138]. Un phénomène de bioamplification n'est pas démontré : les teneurs mesurées dans les organismes se trouvant dans des niveaux élevés du réseau trophique ne sont pas supérieures aux teneurs enregistrées dans les organismes situés à la base du réseau [62, 74]. Dans certaines études, les microcystines ne sont pas détectées dans les tissus de prédateurs supérieurs alors qu'elles sont détectées dans les tissus des maillons primaires et intermédiaires du réseau trophique [62]. Ces observations ne sont pas surprenantes car les microcystines, composés chimiques peu biodisponibles, assez hydrosolubles et rapidement éliminés, n'ont pas le profil des composés bioaccumulables. Pendant des épisodes de proliférations de cyanobactéries toxigènes, les quantités de microcystines produites peuvent être très importantes. Des pics à 240 µg/g matières sèches ont été rapportés par une équipe chinoise [138]. Même si, comme on l'a vu plus haut, l'absorption est très faible et que la distribution des microcystines dans les muscles des poissons est limitée, les teneurs enregistrées peuvent être importantes. Ainsi les quantités de microcystines dans 100 g de muscle des poissons du lac chinois Chaohu [138] étaient 1,3 à 25 fois supérieures à la quantité journalière admissible pour un consommateur de 60 kg (c'est à dire la DJA x 60) et elles étaient jusqu'à 42 fois supérieures dans les muscles des poissons d'un étang brésilien [85]. Il est important de noter que dans les deux cas cités ci-dessus, les auteurs n'ont pas observé de mortalité de poissons ni de modification de leur comportement. Ces deux observations prouvent qu'en cas de proliférations de cyanobactéries, les poissons peuvent être impropres à la consommation humaine et ce très rapidement car le transfert des microcystines du seston au poisson est rapide [85]. Par contre, l'élimination des résidus de microcystines dans les muscles des poissons se fait avec un certain retard. Ainsi, même quand les concentrations de microcystines dans le seston se trouvent en dessous des limites de détection, la quantité de résidus de microcystines dans 100 g de muscle de poisson peuvent être, supérieures ou égales à la quantité journalière admissible pour un consommateur de 60 kg [85]. Ces données montrent qu'en cas de prolifération de cyanobactéries toxigènes, il est conseillé de ne pas consommer les poissons et qu'il serait nécessaire de définir un temps d'attente. Malheureusement, il n'est pas possible actuellement de définir ce temps d'attente. On peut cependant rappeler que l'élimination de la toxine et donc le temps d'attente dépendent de la température : en cas de prolifération automnale, il sera plus long qu'en été car les températures seront plus faibles

La viande de bovins élevés à l'extérieur et qui ont bu une eau contaminée par des cyanobactéries toxigènes constitue un autre vecteur possible de microcystines. Des chercheurs se sont intéressés à cette exposition [101]. Ils ont exposé des jeunes bovins de 164 kg, via l'eau de boisson, à des doses subcliniques de microcystines (entre 6,7 et 7,7 mg / j)

pendant 28 jours. Ces cyanobactéries produisaient 4 microcystines dont la microcystine LR qui représentait 93% de la totalité. Pendant les 28 jours d'expérience, des prises de sang ont été réalisées (2 fois par semaine) pour quantifier les enzymes hépatiques. Les GMQ et les consommations des animaux ont également été suivis. A la fin du traitement, les animaux ont été sacrifiés et autopsiés. Les auteurs n'ont pas observé de différences zootechniques entre les animaux exposés et le lot témoin : la consommation d'aliment et le GMQ étaient similaires dans les deux lots. Ils n'ont pas observé de souffrance hépatique et, à l'autopsie, les foies ne présentaient aucune lésion. Les microcystines ont été recherchées dans le plasma et dans le foie des animaux, et dosées par HPLC et avec un kit ELISA. Les résultats des analyses réalisées par HPLC se sont révélés négatifs à la fois pour les plasmas et les foies. Par contre les kits ELISA ont donné des résultats positifs. Ces différences n'étaient pas dues à un défaut de sensibilité de la technique HPLC car les teneurs relevées par les kits ELISA (0,28 µg d'équivalent microcystine LR/g de foie) étaient largement supérieures à la limite de détection de l'analyse par HPLC. Les auteurs de l'étude ont fait l'hypothèse d'un manque de spécificité de l'ELISA (donc un résultat faussement positif) et n'ont pas retenu les chiffres obtenus avec cette technique. Mais ces résultats différents posent un sérieux problème car ils aboutissent à des conclusions opposées dans l'évaluation du risque. En effet, si on retient les résultats de l'analyse chromatographique, c'est à dire des teneurs en microcystines dans le foie inférieures à la limite de détection, on peut conclure que le risque est acceptable pour le consommateur. Par contre, si on retient les résultats des kits ELISA, la conclusion est différente. En effet, comme cela a été dit plus haut, la DJA de la microcystine LR est 0,04 µg/kg/j, ce qui représente une limite de 2,4 µg/j pour un individu de 60 kg. L'eau de boisson représente 80% de l'exposition, il reste donc 20% pour les denrées alimentaires (figure 3). Si on attribue la totalité des 20% restant au foie et si on considère qu'un adulte de 60 kg consomme 100 g de foie par jour (hypothèse OMS), on obtient une LMR de 4,8 ng/g de foie. Or la teneur la plus faible rapportée par les auteurs de l'étude est 280 ng/g de foie, soit plus de 58 fois la LMR. Il y a un risque non acceptable pour le consommateur.

Des études similaires [40, 100] se sont intéressées à la contamination du lait. Les résultats des deux études sont identiques : on ne retrouve pas de microcystines dans le lait de vaches exposées à des doses subcliniques (environ 15 mg dans la première et 7,4 mg dans la deuxième étude). D'après ces données, le lait peut être consommé.

## Conclusion

Les microcystines sont responsables d'intoxications, encore rares aujourd'hui, mais dont la fréquence pourrait augmenter car les épisodes de proliférations de cyanobactéries sont de plus en plus nombreux. Le diagnostic est difficile car l'intoxication n'est pas courante et les signes cliniques ne sont pas spécifiques. Par contre, les conséquences peuvent être importantes. L'intoxication est souvent mortelle et elle peut toucher plusieurs animaux au sein d'un même troupeau.



- tock and waterfowl. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 1989, **5**, 345-61.
- 6.– BISCHOFF K.: The toxicology of microcystin-LR: occurrence, toxicokinetics, toxicodynamics, diagnosis and treatment. *Vet Hum Toxicol*, 2001, **43**, 294-7.
  - 7.– BOELSTERLI U. A. Mechanistic toxicology. Londre: Taylor & Francis; 2003.
  - 8.– BOUAICHA N., MAATOUK I.: Microcystin-LR and nodularin induce intracellular glutathione alteration, reactive oxygen species production and lipid peroxidation in primary cultured rat hepatocytes. *Toxicol Lett*, 2004, **148**, 53-63.
  - 9.– BOUAICHA N., MAATOUK I., PLESSIS M. J., PERIN F.: Genotoxic potential of Microcystin-LR and nodularin in vitro in primary cultured rat hepatocytes and in vivo in rat liver. *Environ Toxicol*, 2005, **20**, 341-7.
  - 10.– BOURNE D. G., JONES G. J., BLAKELEY R. L., JONES A., NEGRI A. P., RIDDLES P.: Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**, 4086-94.
  - 11.– BURY N. R., NEWLANDS A. D., EDDY F. B., CODD G.: In vivo and in vitro intestinal transport of <sup>3</sup>H-microcystin-LR, a cyanobacterial toxin, in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat Toxicol*, 1998, **42**, 139-148.
  - 12.– CAI S. Y., WANG W., SOROKA C. J., BALLATORI N., BOYER J. L.: An evolutionarily ancient Oatp: insights into conserved functional domains of these proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, **282**, G702-10.
  - 13.– CARBIS C. R., RAWLIN G. T., GRANT P., MITCHELL G. F., ANDERSON J. W., MCCAULEY I.: A study of feral carp, *Cyprinus carpio* L., exposed to *Microcystis aeruginosa* at Lake Mokoan, Australia, and possible implications for fish health. *Journal of Fish Diseases*, 1997, **20**, 81-91.
  - 14.– CARMICHAEL W. W.: Cyanobacteria secondary metabolites - The cyanotoxins. *J Appl Bacteriol*, 1992, **72**, 445-459.
  - 15.– CARMICHAEL W. W.: The cyanotoxins. *Adv Bot Res*, 1997, **27**, 211-256.
  - 16.– CARMICHAEL W. W., AZEVEDO S. M., AN J. S., MOLICA R. J., JOCHIMSEN E. M., LAU S., RINEHART K. L., SHAW G. R., EAGLESHAM G. K.: Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environ Health Perspect*, 2001, **109**, 663-8.
  - 17.– CHRISTIANSEN G., FASTNER J., ERHARD M., BORNER T., DITTMANN E.: Microcystin biosynthesis in planktothrix: genes, evolution, and manipulation. *J Bacteriol*, 2003, **185**, 564-72.
  - 18.– CORKILL N., SMITH R., SECKINGTON M., PONTEFRACT R.: Poisoning at Rutland Water. *Vet Rec*, 1989, **125**, 356.
  - 19.– COUSINS I. T., BEALING D. J., JAMES H. A., SUTTON A.: Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations. *Wat Res*, 1996, **30**, 481-485.
  - 20.– COUTÉ A., BERNARD C. Les cyanobactéries toxiques. In: Frémy JM, Lassus P, editors. Toxines d'algues dans l'alimentation. Paris: Ifremer; 2001. p. 21-37.
  - 21.– DAHLEM A. M., HASSAN A. S., SWANSON S. P., CARMICHAEL W. W., BEASLEY V. R.: A model system for studying the bioavailability of intestinally administered microcystin-LR, a hepatotoxic peptide from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Pharmacol Toxicol*, 1989, **64**, 177-81.
  - 22.– DAWSON R. M.: The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 1998, **36**, 953-62.
  - 23.– DE FIGUEIREDO D. R., AZEITEIRO U. M., ESTEVES S. M., GONCALVES F. J., PEREIRA M. J.: Microcystin-producing blooms - a serious global public health issue. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2004, **59**, 151-63.
  - 24.– DE MAAGD P. G., HENDRIKS A. J., SEINEN W., SIJM D. T.: pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR. *Water Res*, 1999, **33**, 677-680.
  - 25.– DEVRIES S. E., GALEY F. D., NAMIKOSHI M., WOO J. C.: Clinical and pathologic findings of blue-green algae (*Microcystis aeruginosa*) intoxication in a dog. *J Vet Diagn Invest*, 1993, **5**, 403-408.
  - 26.– DING W. X., SHEN H. M., ZHU H. G., ONG C. N.: Studies on oxidative damage induced by cyanobacteria extract in primary cultured rat hepatocytes. *Environ Res*, 1998, **78**, 12-8.
  - 27.– DING W. X., SHEN H. M., ZHU H. G., LEE B. L., ONG C. N.: Genotoxicity of microcystin cyanobacteria extract of a water source in China. *Mutat Res*, 1999, **442**, 69-77.
  - 28.– DING W. X., SHEN H. M., ONG C. N.: Critical role of reactive oxygen species formation in microcystin-induced cytoskeleton disruption in primary cultured hepatocytes. *J Toxicol Environ Health A*, 2001, **64**, 507-19.
  - 29.– DING W. X., ONG C. N.: Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiol Lett*, 2003, **220**, 1-7.
  - 30.– DONE S. H., BAIN M.: Hepatic necrosis in sheep associated with ingestion of blue-green algae. *Vet Rec*, 1993, **133**, 600.
  - 31.– DOUGLAS P., MOORHEAD G. B., YE R., LEES-MILLER S. P.: Protein phosphatases regulate DNA-dependent protein kinase activity. *J Biol Chem*, 2001, **276**, 18992-8.
  - 32.– EDNEY A. T. B.: Toxic blue-green algae. *Veterinary Record*, 1990, **127**, 434-435.
  - 33.– ELHINEY J., LAWTON L. A.: Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, **203**, 219-230.
  - 34.– ERIKSSON J. E., GRONBERG L., NYGARD S., SLOTTE J. P., MERILUOTO J. A.: Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochim Biophys Acta*, 1990, **1025**, 60-6.
  - 35.– ERNST B., HITZFELD B., DIETRICH D.: Presence of Planktothrix sp. and cyanobacterial toxins in Lake Ammersee, Germany and their impact on whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Environ Toxicol*, 2001, **16**, 483-8.
  - 36.– ERNST B., HOEGER S. J., O'BRIEN E., DIETRICH D. R.: Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *Aquat Toxicol*, 2006, **79**, 31-40.
  - 37.– FALCONER I. R., DORNBUSCH M., MORAN G., YEUNG S. K.: Effect of the cyanobacterial (blue-green algal) toxins from *Microcystis aeruginosa* on isolated enterocytes from the chicken small intestine. *Toxicon*, 1992, **30**, 790-3.
  - 38.– FALCONER I. R., YEUNG D. S.: Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by Microcystis toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chem Biol Interact*, 1992, **81**, 181-96.
  - 39.– FASTNER J., CODD G., METCALF J. S., WOITKE P., WIEDNER C., UTKILEN H.: An international intercomparison exercise for the determination of purified microcystin-LR and microcystins in cyanobacterial field material. *Anal Biochem Chem*, 2002, **374**, 437-444.
  - 40.– FEITZ A. J., LUKONDEH T., MOFFITT M. C., BURNS B. P., NAIDOO D., VEDOVA J. D., GOODEN J. M., NEILAN B. A.: Absence of detectable levels of the cyanobacterial toxin (microcystin-LR) carry-over into milk. *Toxicon*, 2002, **40**, 1173-1180.
  - 41.– FITZGERALD S. D., POPPENG R. H.: Toxicosis due to microcystin hepatotoxins in three Holstein heifers. *J Vet Diagn Invest*, 1993, **5**, 651-653.
  - 42.– FRANK C. A.: Microcystin-producing cyanobacteria in recreational waters in southwestern Germany. *Environ Toxicol*, 2002, **17**, 361-6.
  - 43.– FRAZIER K., COLVIN B., STYER E., HULLINGER G., GARCIA R.: Microcystin toxicosis in cattle due to overgrowth of blue-green algae. *Vet Hum Toxicol*, 1998, **40**, 23.
  - 44.– FRICKER G., DUBOST V., FINSTERWALD K., BOYER J. L.: Characteristics of bile salt uptake into skate hepatocytes. *Biochem J*, 1994, **299** (Pt 3), 665-70.
  - 45.– GALEY F. D., BEASLEY V. R., CARMICHAEL W. W., KLEPPE G., HOOSER S. B., HASCHKE W. M.: Blue-green algae (*Microcystis aeruginosa*) hepatotoxicosis in dairy cows. *Am J Vet Res*, 1987, **48**, 1415-1420.
  - 46.– GEHRINGER M. M.: Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: a dualistic response. *FEBS Lett*, 2004, **557**, 1-8.
  - 47.– GEHRINGER M. M., SHEPARD E. G., DOWNING T. G., WIEGAND C., NEILAN B. A.: An investigation into the detoxification of microcystin-LR by the glutathione pathway in Balb/c mice. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, **36**, 931-41.
  - 48.– GOLDBERG J., HUANG H. B., KWON Y. G., GREENGARD P., NAIRN A. C., KURIYAN J.: Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1. *Nature*, 1995, **376**, 745-53.
  - 49.– GRABOW W. O. K., DU RANDT W. C., PROZESKY O. W., SCOTT W. E.: *Microcystis aeruginosa* toxins: cell culturotoxicity, hemolysis and mutagenicity assays. *Appl Environ Microbiol*, 1982, **43**, 1425-1433.
  - 50.– GUPTA N., PANT S. C., VIJAYARAGHAVAN R., RAO P. V.: Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology*, 2003, **188**, 285-96.
  - 51.– GUZMAN R. E., SOLTER P. F., RUNNEGAR M. T.: Inhibition of nuclear protein phosphatase activity in mouse hepatocytes by the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Toxicon*, 2003, **41**, 773-81.
  - 52.– HALDEREN A. V., HARDING W. R., WESSELS J. C., SCHNEIDER D. J., HEINE E. W. P., MERWE J. V. D., FOURIE J. M.: Cya-

- nobacterial (blue-green algae) poisoning of livestock in the Western Cape Province of South Africa. *J S Afr Vet Assoc*, 1995, **66**, 260-264.
- 53.– HASTIE C. J., BORTHWICK E. B., MORRISON L. F., CODD G. A., COHEN P. T.: Inhibition of several protein phosphatases by a non-covalently interacting microcystin and a novel cyanobacterial peptide, nostocyclin. *Biochim Biophys Acta*, 2005, **1726**, 187-193.
- 54.– HERFINDAL L., SEDHEIM F.: Microcystin produces disparate effects on livers cells in a dose dependent manner. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2006, **6**, 109-120.
- 55.– HERMANISKY S. J., CASEY P. J., STOHS S. J.: Cyclosporin A -a chemoprotectant against microcystin-LR toxicity. *Toxicol Lett*, 1990, **54**, 279-85.
- 56.– HOLST T., JORGENSEN N. O., JORGENSEN C., JOHANSEN A.: Degradation of microcystin in sediments at oxic and anoxic, denitrifying conditions. *Wat Res*, 2003, **37**, 4748-4760.
- 57.– HONKANEN R. E., ZWILLER J., MOORE R. E., DAILY S. L., KHATRA B. S., DUKELOW M., BOYNTON A. L.: Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and type 2A protein phosphatases. *J Biol Chem*, 1990, **265**, 19401-4.
- 58.– HOOSER S. B., KUHLENSCHMIDT M. S., DAHLEM A. M., BEASLEY V. R., CARMICHAEL W. W., HASCHEK W. M.: Uptake and subcellular localization of tritiated dihydro-microcystin-LR in rat liver. *Toxicol*, 1991, **29**, 589-601.
- 59.– HUMBERT J. F., BÉRARD A., LÉBOULANGER C. Impact écologique des cyanobactéries des eaux douces et saumâtres. In: Frémy JM, Lassus P, editors. *Toxines d'algues dans l'alimentation*. Paris: Ifremer; 2001. p. 89-108.
- 60.– HUMPAGE A. R., HARDY S. J., MOORE E. J., FROSCIO S. M., FALCONER I. R.: Microcystins (cyanobacterial toxins) in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon. *J Toxicol Environ Health A*, 2000, **61**, 155-65.
- 61.– HYENSTRAND P., ROHRLACK T., BEATTIE K. A., METCALF J. S., CODD G. A., CHRISTOFFERSEN K.: Laboratory studies of dissolved radiolabelled microcystin-LR in lake water. *Wat Res*, 2003, **37**, 3299-3306.
- 62.– IBELINGS B. W., BRUNING K., DE JONGE J., WOLFSTEIN K., PIRES L. M., POSTMA J., BURGER T.: Distribution of microcystin in a lakes foodweb: no evidence for biomagnification. *Microbial Ecology*, 2005, **49**, 487-500.
- 63.– IMANISHI S., HARADA K.: Proteomics approach on microcystin binding proteins in mouse liver for investigation of microcystin toxicity. *Toxicol*, 2004, **43**, 651-9.
- 64.– IMANISHI S., KATO H., MIZUNO M., TSUJI K., HARADA K.: Bacterial degradation of microcystin and nodularin. *Chem Res Toxicol*, 2005, **18**, 591-598.
- 65.– ITO E., KONDO F., TERAOKA K., HARADA K.: Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicol*, 1997, **35**, 1453-7.
- 66.– ITO E., KONDO F., HARADA K.: First report on the distribution of orally administered microcystin-LR in mouse tissue using an immunostaining method. *Toxicol*, 2000, **38**, 37-48.
- 67.– JACKSON A. R. B., MCINNES A., FALCONER I. R., RUNNEGAR M. T. C.: Clinical and pathological changes in sheep experimentally poisoned by the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Vet Pathol*, 1984, **21**, 102-113.
- 68.– JANG M. H., HA K., LUCAS M. C., JOO G. J., TAKAMURA N.: Changes in microcystin production by *Microcystis aeruginosa* exposed to phytoplanktivorous and omnivorous fish. *Aquat Toxicol*, 2004, **68**, 51-9.
- 69.– JOCHIMSEN E. M., CARMICHAEL W. W., AN J. S., CARDO D. M., COOKSON S. T., HOLMES C. E., ANTUNES M. B., DE MELO FILHO D. A., LYRA T. M., BARRETO V. S., AZEVEDO S. M., JARVIS W. R.: Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N Engl J Med*, 1998, **338**, 873-8.
- 70.– JONES G. J., ORR C. L.: Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in recreational lake, as determined by HPLC and a protein phosphatase inhibition assay. *Wat Res*, 1994, **28**, 871-876.
- 71.– KELLY D. F., PONTEFRAC T.: Hepatorenal toxicity in a dog following immersion in Rutland Water. *Vet Rec*, 1990, **127**, 453-454.
- 72.– KERR L. A., MCCOY C. P., EAVES D.: Blue-green algae toxicosis in five dairy cows. *J Am Vet Med Assoc*, 1987, **191**, 829-830.
- 73.– KONDO F., MATSUMOTO H., YAMADA S., ISHIKAWA N., ITO E., NAGATA S., UENO Y., SUZUKI M., HARADA K.: Detection and identification of metabolites of microcystins formed in vivo in mouse and rat livers. *Chem Res Toxicol*, 1996, **9**, 1355-9.
- 74.– KOTAK B. G., SEMALULU S., FRITZ D. L., PREPAS E. E., HRUDEY S. E., COPPOCK R. W.: Hepatic and renal pathology of intraperitoneally administered microcystin-LR in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol*, 1996, **34**, 517-25.
- 75.– KOTAK B. G., ZURAWELL R. W., PREPAS E. E., HOLMES C. F. B.: Microcystin-LR concentration in aquatic food web compartments from lakes of varying trophic status. *Can J Fish Aquat Sci*, 1996, **53**, 1974-1985.
- 76.– KURNMAYER R., CHRISTIANSEN G., FASTNER J., BÖRNER T.: Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environmental Microbiology*, 2004, **6**, 831-841.
- 77.– LAHTI K., RAPALA J., FÄRDIG M., NIEMELA M., SIVONEN K.: Persistence of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR in particulate material and dissolved in lake water. *Water Res*, 1997, **37**, 1005-1012.
- 78.– LANKOFF A., KRZOWSKI L., GLAB J., BANASIK A., LISOWSKA H., KUSZEWSKI T., GOZDZ S., WOJCIK A.: DNA damage and repair in human peripheral blood lymphocytes following treatment with microcystin-LR. *Mutat Res*, 2004, **559**, 131-42.
- 79.– LANKOFF A., BIALCZYK J., DZIGA D., CARMICHAEL W. W., GRADZKA I., LISOWSKA H., KUSZEWSKI T., GOZDZ S., PIORUM I., WOJCIK A.: The repair of gamma-radiation-induced DNA damage is inhibited by microcystin-LR, the PP1 and PP2 phosphatase inhibitor. *Mutagenesis*, 2006, **21**, 83-90.
- 80.– LI X., LIU Y., SONG L., LIU J.: Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR. *Toxicol*, 2003, **42**, 85-9.
- 81.– LIN J.-R., CHU F. S.: In vitro neutralization of the inhibitory effect of microcystin-LR to protein phosphatase 2A by antibody against the toxin. *Toxicol*, 1994, **32**, 605-613.
- 82.– LOVELL R. A., SCHAEFFER D. J., HOOSER S. B., HASCHEK W. M., DAHLEM A. M., CARMICHAEL W. W., BEASLEY V. R.: Toxicity of intraperitoneal doses of microcystin-LR in two strains of male mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 1989, **9**, 221-37.
- 83.– MAATOUK I., BOUAICHA N., PLESSIS M. J., PERIN F.: Detection by 32P-postlabelling of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in DNA as biomarker of microcystin-LR- and nodularin-induced DNA damage in vitro in primary cultured rat hepatocytes and in vivo in rat liver. *Mutat Res*, 2004, **564**, 9-20.
- 84.– MACKINTOSH R. W., DALBY K. N., CAMPBELL D. G., COHEN P. T., COHEN P., MACKINTOSH C.: The cyanobacterial toxin microcystin binds covalently to cysteine-273 on protein phosphatase 1. *FEBS Lett*, 1995, **371**, 236-40.
- 85.– MAGALHAES V. F., SOARES R. M., AZEVEDO S. M.: Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicol*, 2001, **39**, 1077-85.
- 86.– MAGALHAES V. F., MARINHO M. M., DOMINGOS P., OLIVEIRA A. C., COSTA S. M., AZEVEDO L. O., AZEVEDO S. M.: Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). *Toxicol*, 2003, **42**, 289-95.
- 87.– MAJSTEREK I., SICINSKA P., TARCZYNSKA M., ZALEWSKI M., WALTER Z.: Toxicity of microcystin from cyanobacteria growing in a source of drinking water. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2004, **139**, 175-9.
- 88.– MALBROUCK C., TRAUSCH G., DEVOS P., KESTEMONT P.: Hepatic accumulation and effects of microcystin-LR on juvenile goldfish *Carassius auratus* L. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2003, **135**, 39-48.
- 89.– MALBROUCK C., KESTEMONT P.: Effects of microcystins on fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, **25**, 72-86.
- 90.– MANKIEWICZ J., WALTER Z., TARCZYNSKA M., PALYVODA O., WOJTYSIAK-STANIASZCZYK M., ZALEWSKI M.: Genotoxicity of cyanobacterial extracts containing microcystins from Polish water reservoirs as determined by SOS chromotest and comet assay. *Environ Toxicol*, 2002, **17**, 341-50.
- 91.– MIKHAILOV A., HARMALA-BRASKEN A. S., HELLMAN J., MERILUOTO J., ERIKSSON J. E.: Identification of ATP-synthase as a novel intracellular target for microcystin-LR. *Chem Biol Interact*, 2003, **142**, 223-37.
- 92.– MILUTINOVIC A., ZIVIN M., ZORC-PLESKOVIC R., SEDMAK B., SUPUT D.: Nephrotoxic effects of chronic administration of microcystins -LR and -YR. *Toxicol*, 2003, **42**, 281-8.
- 93.– MORENO I., PICHARDO S., JOS A., GOMEZ-AMORES L., MATE A., VAZQUEZ C. M., CAMEAN A. M.: Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-LR administered intraperitoneally. *Toxicol*, 2005, **45**, 395-402.

- 94.– NISHIWAKI-MATSUSHIMA R., OHTA T., NISHIWAKI S., SUGANUMA M., KOHYAMA K., ISHIKAWA T., CARMICHAEL W. W., FUJIKI H.: Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1992, **118**, 420-4.
- 95.– NISHIZAWA T., ASAYAMA M., FUJII K., HARADA K., SHIRAI M.: Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. *J Biochem (Tokyo)*, 1999, **126**, 520-9.
- 96.– NISHIZAWA T., UEDA A., ASAYAMA M., FUJII K., HARADA K., OCHI K., SHIRAI M.: Polyketide synthase gene coupled to the peptide synthetase module involved in the biosynthesis of the cyclic heptapeptide microcystin. *J Biochem (Tokyo)*, 2000, **127**, 779-89.
- 97.– NOBRE A. C., COELHO G. R., COUTINHO M. C., SILVA M. M., ANGELIM E. V., MENEZES D. B., FONTELES M. C., MONTEIRO H. S.: The role of phospholipase A(2) and cyclooxygenase in renal toxicity induced by microcystin-LR. *Toxicon*, 2001, **39**, 721-4.
- 98.– OHTA T., NISHIWAKI R., YATSUNAMI J., KOMORI A., SUGANUMA M., FUJIKI H.: Hyperphosphorylation of cytokeratins 8 and 18 by microcystin-LR, a new liver tumor promoter, in primary cultured rat hepatocytes. *Carcinogenesis*, 1992, **13**, 2443-7.
- 99.– OHTA T., SUEOKA E., IIDA N., KOMORI A., SUGANUMA M., NISHIWAKI R., TATEMATSU M., KIM S. J., CARMICHAEL W. W., FUJIKI H.: Nodularin, a potent inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A, is a new environmental carcinogen in male F344 rat liver. *Cancer Research*, 1994, **15**, 6402-6406.
- 100.– ORR P. T., JONES G. J., HUNTER R. A., BERGER K., PAOLI D. A., ORR C. L. A.: Ingestion of toxic *Microcystis aeruginosa* by dairy cattle and the implications for microcystin contamination of milk. *Toxicon*, 2001, **39**, 1847-1854.
- 101.– ORR P. T., JONES G. J., HUNTER R. A., BERGER K.: Exposure of beef cattle to sub-clinical doses of *Microcystis aeruginosa*: toxin bioaccumulation, physiological effects and human health risk assessment. *Toxicon*, 2003, **41**, 613-20.
- 102.– PATOCKA J.: The toxins of Cyanobacteria. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2001, **44**, 69-75.
- 103.– PFLUGMACHER S., WIEGAND C., OBEREMM A., BEATTIE K. A., KRAUSE E., CODD G. A., STEINBERG C. E.: Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: the first step of detoxication. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1425**, 527-33.
- 104.– PIETSCH C., WIEGAND C., AME M. V., NICKLISCH A., WUNDERLIN D., PFLUGMACHER S.: The effects of a cyanobacterial crude extract on different aquatic organisms: evidence for cyanobacterial toxin modulating factors. *Environ Toxicol*, 2001, **16**, 535-42.
- 105.– PIRES L. M., KARLSSON K. M., MERILUOTO J. A., KARDINAAL E., VISSER P. M., SIEWERTSEN K., DONK E. V., IBE-LINGS B. W.: Assimilation and depuration of microcystin-LR by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquat Toxicol*, 2004, **69**, 385-96.
- 106.– POURIA S., DE ANDRADE A., BARBOSA J., CAVALCANTI R. L., BARRETO V. T., WARD C. J., PREISER W., POON G. K., NEILD G. H., CODD G. A.: Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, 1998, **352**, 21-6.
- 107.– PRAKASH S., JOHNSON R. E., PRAKASH L.: Eukaryotic translation synthesis DNA polymerases: specificity of structure and function. *Annu Rev Biochem*, 2005, **74**, 317-53.
- 108.– PRIETO A. I., JOS A., PICHARDO S., MORENO I., CAMEAN A. M.: Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.). *Aquat Toxicol*, 2006, **77**, 314-321.
- 109.– PUSCHNER B., GALEY F. D., JOHNSON B., DICKIE C. W., VONDY M., FRANCIS T., HOLSTEGE D. M.: Blue-green algae toxicosis in cattle. *JAVMA*, 1998, **213**, 1605-1607.
- 110.– RAO P. V., BHATTACHARYA R.: The cyanobacterial toxin microcystin-LR induced DNA damage in mouse liver in vivo. *Toxicology*, 1996, **114**, 29-36.
- 111.– REPAVICH W. M., SONZOGNI W. C., STANDRIDGE J. H., WEDEPOHL R. E., MEISNER L. F.: Cyanobacteria (blue-green algae) in wisconsin waters: acute and chronic toxicity. *Water Research*, 1990, **24**, 225-231.
- 112.– ROBILLOT C., HENNION M. C. Les principales classes de cyanotoxines et leur détermination. In: Frémy JM, Lassus P, editors. Toxines d'algues dans l'alimentation. Paris: Ifremer; 2001. p. 41-85.
- 113.– ROBINSON N. A., MIURA G. A., MATSON C. F., DINTERMAN R. E., PACE J. G.: Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. *Toxicon*, 1989, **27**, 1035-42.
- 114.– ROBINSON N. A., MATSON C. F., PACE J. G.: Association of microcystin-LR and its biotransformation product with a hepatic-cytosolic protein. *J Biochem Toxicol*, 1991, **6**, 171-80.
- 115.– ROBINSON N. A., PACE J. G., MATSON C. F., MIURA G. A., LAWRENCE W. B.: Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 1991, **256**, 176-82.
- 116.– RUNNEGAR M., BERNDT N., KONG S. M., LEE E. Y., ZHANG L.: In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **216**, 162-9.
- 117.– RUNNEGAR M., SEWARD D. J., BALLATORI N., CRAWFORD J. M., BOYER J. L.: Hepatic toxicity and persistence of ser/thr protein phosphatase inhibition by microcystin in the little skate *Raja erinacea*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1999, **161**, 40-9.
- 118.– RUNNEGAR M. T., ANDREWS J., GERDES R. G., FALCONER I. R.: Injury to hepatocytes induced by a peptide toxin from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, 1987, **25**, 1235-9.
- 119.– RUNNEGAR M. T., GERDES R. G., FALCONER I. R.: The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. *Toxicon*, 1991, **29**, 43-51.
- 120.– SAHIN A., TENCALLA F. G., DIETRICH D. R., NAEGELI H.: Biliary excretion of biochemically active cyanobacteria (blue-green algae) hepatotoxins in fish. *Toxicology*, 1996, **106**, 123-30.
- 121.– SARAZIN G., QUIBLIER-LLOBÉRAS C., BERTRU G., BRIENT L., VEZIE C., BERNARD C., COUTÉ A., HENNION M. C., ROBILLOT C., TANDEAU DE MARSAC N.: Première évaluation du risque toxique lié aux cyanobactéries d'eau douce en France : le programme "EFFLOCYA". *Rev. Sci. Eau*, 2001, **15**, 315-326.
- 122.– SHORT S. B., WILLIAM C. E.: Blue-green algae toxicoses in Oklahoma. *Vet Hum Toxicol*, 1990, **32**, 558-560.
- 123.– STOTTS R. R., TWARDOCK A. R., HASCHEK W. M., CHOI B. W., RINEHART K. L., BEASLEY V. R.: Distribution of tritiated dihydromicrocystin in swine. *Toxicon*, 1997, **35**, 937-53.
- 124.– STOTTS R. R., TWARDOCK A. R., KORITZ G. D., HASCHEK W. M., MANUEL R. K., HOLLIS W. B., BEASLEY V. R.: Toxicokinetics of tritiated dihydromicrocystin-LR in swine. *Toxicon*, 1997, **35**, 455-65.
- 125.– TAKENAKA S.: Covalent glutathione conjugation to cyanobacterial hepatotoxin microcystin LR by F344 rat cytosolic and microsomal glutathione S-transferases. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2001, **9**, 135-139.
- 126.– TENCALLA F., DIETRICH D.: Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, 1997, **35**, 583-95.
- 127.– TILLETT D., DITTMANN E., ERHARD M., VON DOHREN H., BORNER T., NEILAN B. A.: Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chem Biol*, 2000, **7**, 753-64.
- 128.– TSUJI K., WATANUKI T., KONDO F., WATANABE M. F., SUZUKI S., NAKAZAWA H., SUZUKI M., UCHIDA H., HARADA K. I.: Stability of microcystins from cyanobacteria--II. Effect of UV light on decomposition and isomerization. *Toxicon*, 1995, **33**, 1619-31.
- 129.– TSUJI K., WATANUKI T., KONDO F., WATANABE M. F., NAKAZAWA H., SUZUKI M., UCHIDA H., HARADA K.: Stability of microcystins from cyanobacteria - IV. Effect of chlorination on decomposition. *Toxicon*, 1997, **35**, 1033-41.
- 130.– UENO Y., NAGATA S., TSUTSUMI T., HASEGAWA A., WATANABE M. F., PARK H. D., CHEN G. C., CHEN G., YU S. Z.: Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 1996, **17**, 1317-21.
- 131.– VANDERPLOEG H. A., LIEBIG J. R., CARMICHAEL W. W., AGY M. A., JOHNGEN T. H., FAHNENSTIEL G. L., NALEPA T. F.: Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Can J Fish Aquat Sci*, 2001, **58**, 1208-1221.
- 132.– VESTERKVIIST P. S., MERILUOTO J. A.: Interaction between microcystins of different hydrophobicities and lipid monolayers. *Toxicon*, 2003, **41**, 349-55.
- 133.– WHO. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Geneva: F&FN Spon; 1999.
- 134.– WHO. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking water. Background document for preparation of WHO guidelines for drinking water quality. Geneva; 2003.

- 135.– WIEGAND C., PFLUGMACHER S.: Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites: a short review. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, **203**, 201-18.
- 136.– WILLIAMS D. E., KENT M. L., ANDERSEN R. J., KLIX H., HOLMES C. F.: Tissue distribution and clearance of tritium-labeled dihydromicrocystin-LR epimers administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection. *Toxicon*, 1995, **33**, 125-31.
- 137.– XIE L., XIE P., OZAWA K., HONMA T., YOKOYAMA A., PARK H. D.: Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment. *Environ Pollut*, 2004, **127**, 431-9.
- 138.– XIE L., XIE P., GUO L., LI L., MIYABARA Y., PARK H. D.: Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. *Environ Toxicol*, 2005, **20**, 293-300.
- 139.– YIN L., HUANG J., HUANG W., LI D., WANG G., LIU Y.: Microcystin-RR-induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in tobacco BY-2 cells. *Toxicon*, 2005, **46**, 507-12.
- 140.– YOSHIDA T., MAKITA Y., NAGATA S., TSUTSUMI T., YOSHIDA F., SEKIJIMA M., TAMURA S., UENO Y.: Acute oral toxicity of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in mice. *Nat Toxins*, 1997, **5**, 91-95.
- 141.– ZEGURA B., SEDMAK B., FILIPIC M.: Microcystin-LR induces oxidative DNA damage in human hepatoma cell line HepG2. *Toxicon*, 2003, **41**, 41-8.
- 142.– ZEGURA B., LAH T. T., FILIPIC M.: The role of reactive oxygen species in microcystin-LR-induced DNA damage. *Toxicology*, 2004, **200**, 59-68.
- 143.– ZHANG Z., ZHAO S., DEANS-ZIRATTU S., BAI G., LEE E. Y.: Mutagenesis of the catalytic subunit of rabbit muscle protein phosphatase-1. *Mol Cell Biochem*, 1993, **127-128**, 113-9.
- 144.– ZHOU L., YU H., CHEN K.: Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomed Environ Sci*, 2002, **15**, 166-71.
- 145.– ZHU Y., ZHONG X., ZHENG S., GE Z., DU Q., ZHANG S.: Transformation of immortalized colorectal crypt cells by microcystin involving constitutive activation of Akt and MAPK cascade. *Carcinogenesis*, 2005, **26**, 1207-14.
- 146.– ZIMBA P. V., KHOO L., GAUNT P. S., BRITAIN S., CARMICHAEL W. W.: Confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from *Microcystis* toxins. *Journal of Fish Diseases*, 2001, **24**, 41-47.
- 147.– ZURAWELL R. W., KOTAK B. G., PREPAS E. E.: Influence of lake trophic status on the occurrence of microcystin-LR in the tissue of pulmonate snails. *Freshwater Biology*, 1999, **42**, 707-718.
- 148.– ZURAWELL R. W., CHEN H., BURKE J. M., PREPAS E. E.: Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2005, **8**, 1-37.