

Cylindrospermopsin i dricksvattentäkt

Riskvärdering

Denna titel kan laddas ner från: www.livsmedelsverket.se/publicerat-material/.

Citera gärna Livsmedelsverkets texter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd att använda dem.

© Livsmedelsverket, 2018

ISSN 1104-7089

Handläggare: Ulla Beckman Sundh, UN/RN

Frågeställare: Torbjörn Lindberg, LK/SU

Diarienummer: 2015/08376

Riskvärderingsunderlag angående cylindrospermopsin i dricksvattentäkt

Bakgrund: I arbetet med projekt "Metoder för tidig varning och krisberedskap för toxiner från cyanobakterier i dricksvatten" (SOFÄ 24-12) har arter identifierats som har förmåga att bilda toxinet cylindrospermopsin. Toxinet har identifierats i sjöar som används som ytvattentäkter i Sverige.

Övergripande frågeställning: Begäran om utredning av riskerna med olika cyanotoxiner i svenskt dricksvatten. Behövs det specifika rekommendationer om riskhanteringsåtgärder för olika cyanotoxiner i svenskt dricksvatten. Detta underlag rör cylindrospermopsin i dricksvattentäkt.

Underlaget ska användas till/målgrupp: Underlaget ska användas av Livsmedelsverket som riskvärderingsunderlag för ställningstagande och inriktningsbeslut för myndighetsutövning (i.e. riskhanteringsåtgärd), i praktiken för vägledning/rådgivning. Dokumentet ska vara av sådan kvalitet att det kan vidarebefordras till kommuner och vid behov publiceras på hemsidan.

Underlaget rapporteras som: Skriftligt dokument.

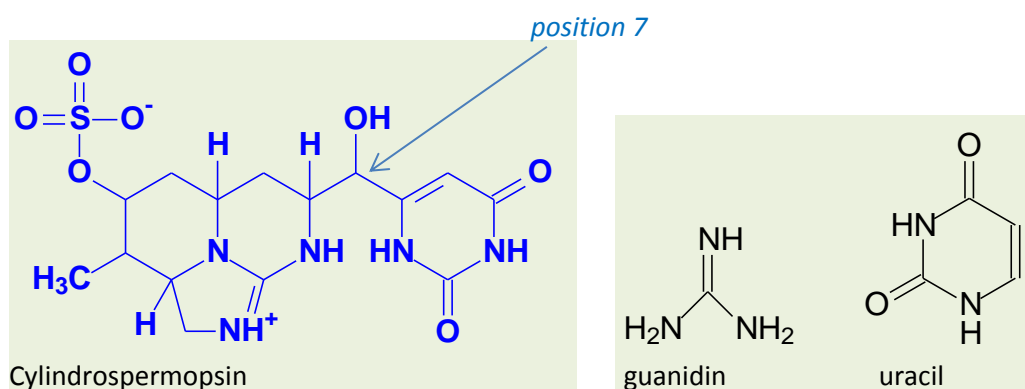
Inledning

Cylindrospermopsin är ett toxin som kan bildas av flera arter av cyanobakterier, och kan förekomma i söt-, brack- och marina vatten. Toxinet kan återfinnas intracellulärt i cyanobakterier, eller frisättas till vattenmassan. Cylindrospermopsin är relativt stabilt. Enligt nuvarande kunskap är främsta målorgan för toxicitet av cylindrospermopsin lever och njure.

Arter med förmåga att producera cylindrospermopsin

Bland arter som har visat sig producera cylindrospermopsin finns: *Cylindrospermopsis raciborskii* (Hawkins *et al*, 1985; Ohtani *et al*, 1992), *Umezakia natans* (Harada *et al*, 1994; Terao *et al*, 1994), *Aphanizomenon ovalisporum* (Banker *et al*, 1997; 2000; Shaw *et al*, 1999). Enligt EPA (2015) kan även följande arter producera cylindrospermopsin: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Aphanizomenon gracile*, , *Anabaena bergii*, *Anabaena lapponica*, *Anabaena planctonica*, *Lyngbya wollei*, *Raphidiopsis curvata* och *Raphidiopsis mediterranea*.

Struktur



Cylindrospermopsin är en tricyklisk alkaloid, där guanidin och uracil ingår som strukturelement. Efter att ha isolerats från en blomning av *Cylindrospermopsis raciborskii* namngavs och strukturbestämde molekyl 1992 (Ohtani *et al*, 1992). Strukturen har sedan dess ändrats vad gäller orienteringen av hydroxylgruppen i position 7, från S- till R-konfiguration. Med beteckningarna R- och S- anges ordningen i vilken strukturelementen sitter hos en organisk molekyl som är osymmetrisk, alltså som har fyra olika substituenten på en och samma kolatom.

Det finns tre kända strukturvarianter av cylindrospermopsin, vilka produceras av cyanobakterier. Cylindrospermopsin som har R-konfiguration av hydroxylgruppen i position 7. En epimer, 7-epi-Cylindrospermopsin, har S-konfiguration i samma position (Banker *et al*, 2000). Det finns även en strukturvariant där hydroxylgruppen i position 7 är ersatt med ett väte, 7-deoxycylindrospermopsin.

Molekylen är en zwitterjon, dvs den är elektriskt neutral men har positiv och negativ laddning på olika atomer i molekylen. Detta gör den mycket polär och löslig i polära lösningsmedel, som till exempel vatten.

Biosyntes

Biosyntes av cylindrospermopsin börjar med produktion av guanidinoacetat utgående från aminosyrorna glycin och arginin. Guanidinoacetat har visat sig ackumuleras i vissa arter av *Cylindrospermopsis*, och kan eventuellt bidra till den totala toxiciteten när en art visar sig vara toxisk.

Biodegradation

Likt flera andra kända cyanobakterietoxiner kan cylindrospermopsin brytas ned genom fotodegradation, att substansen bryts ned genom inverkan av ljusenergi, liksom genom bakteriell nedbrytning. Toxinet kan även adsorberas till sediment på sjöbotten och på så vis transporteras bort ur vattenmassan i en sjö.

Cylindrospermopsin i vattenlösning var stabilt i upp till 5 veckor i mörker och temperaturer mellan 4 och 50°C (Moore *et al*, 1998).

Chiswell *et al* (1999) fann att cylindrospermopsin bröts ned relativt snabbt ($T_{1/2}$ 1,5 timme) i solljus om det även fanns celler innehållande fotopigment i lösningen, men att rent cylindrospermopsin löst i rent vatten inte märkbart påverkades av solljus. Fotopigment är pigment som stimuleras och exiteras av ljus, och kan på så vis överföra ljusenergi till kemisk energi.

En långsam nedbrytning märktes i vattenlösning vid pH7, efter 10 veckor i 50°C återstod 57% av ursprungskoncentrationen. Samtidigt som cylindrospermopsin bröts ned ökade halten av ett strukturellt ämne. Efter att cylindrospermopsin kokats i vatten i 15 minuter kunde ingen nedgång i koncentration noteras.

Nedbrytningshastigheten kan vara beroende av toxinkoncentrationen.

I sjövattnet sker oftast en bakteriell nedbrytning av toxiner som frisätts från cyanobakterieceller. Cylindrospermopsin har rapporterats ha en halveringstid på 11-15 dagar i sjövattnet (Chiswell *et al*, 1999, enligt Funari E, Testai E 2008).

Tillgång till syre kan påverka halveringstiden för toxinet, i ett försök av Klitzke och Fastner (2012) var $T_{1/2}$ för nedbrytning av cylindrospermopsin i sediment 2,4 dagar vid aeroba förhållanden, och 23,6 dagar under anaeroba förhållanden.

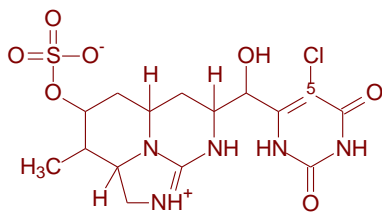
Mekanism för toxicitet

De mekanistiska studier som finns har främst undersökt levertoxicitet, eftersom lever har ansetts vara målorgan för toxicitet förmedlad av cylindrospermopsin.

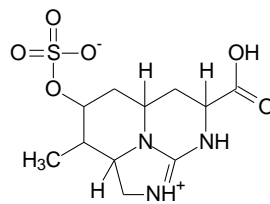
Toxicitet av cylindrospermopsin har ansetts bero på inhibition av proteinsyntes, medan metaboliter av cylindrospermopsin sannolikt verkar via andra vägar. Proteinsyntes inhiberades i hepatocyter från möss under 4 timmar vid en cylindrospermopsinkoncentration $\leq 0,5$ mM, medan cellnekros uppstod vid 10 gånger högre koncentration efter 18 timmar. Om substanser som inhiberar cytokrom P450-systemet var närvarande förhindrades celldöd, men inte inhibition av proteinsyntes. En möjlig tolkning är att toxiciteten vid låga koncentrationer främst är beroende av modersubstansen som ger proteinsyntesinhibition, medan toxiciteten vid högre koncentrationer beror på metaboliter av cylindrospermopsin. (Froschio et al, 2003; Funari&Testai, 2008)

Strukturens betydelse för toxiciteten

Syntetiska analoger av cylindrospermopsin har framställts, en där vätet i vinylposition, position 5 i uracil-delen av molekylerna, ersattes med klor (5-klorocylindrospermopsin) och en där kolet i position 6 i uracilgruppen oxiderades till en karboxylsyra (cylindrospermopsinsyra), molekylerna "förkortades". Båda visade sig vara avsevärt mindre toxiska än cylindrospermopsin i en intraperitoneal LD50 test, så tillvida att i testet sågs inga effekter vid en dos 50 gånger högre än letal dos av cylindrospermopsin (Banker et al, 2001). Utifrån detta antog författarna att uracilgruppen behöver vara intakt, för att molekylerna ska bibehålla sin akuta toxicitet.



5-klorocylindrospermopsin



cylindrospermopsinsyra (artikel författarnas benämning)

Absorption, biotransformation och eliminering

Cylindrospermopsin är en mycket polär substans med hög vattenlöslighet, och bör därför ha en dålig förmåga att passivt diffundera in i celler i mag-tarmkanalen eller i levern. Laboratorieförsök på djur visar dock att peroral administrering ger systemiska effekter, vilket tyder på att toxinet tas upp och distribueras systemiskt (Humpage & Falconer, 2003). Efter att ha utfört laboratorieförsök med leverceller drog författarna slutsatsen att cylindrospermopsin kan transporteras in i celler med hjälp av det transportsystem som transporterar gallsyror (Chong et al, 2002).

Biotransformation och eliminering ur kroppen undersöktes med hjälp av C^{14} -märkt cylindrospermopsin (0,2 mg/kg kroppsvikt) som injicerades intraperitonealt på möss. Efter 6 timmar återfanns radioaktiviteten framförallt i lever (21%) och i njure (4%). Efter en vecka fanns fortfarande 2% av radioaktiviteten kvar i lever. Urin och faeces samlades in under 6 timmar. Det mesta av radioaktiviteten eliminerades via urin, 20-70% av administrerad dos uppmättes i urin och 0-30% i faeces (avrundade siffror) efter 6 timmar. För en av fyra möss utsöndrades 40% av radioaktiviteten via faeces. I ett annat delförsök fick 12 möss 0,2 mg/kg kroppsvikt i.p. och urin och faeces samlades efter 12 och 24 timmar. Efter 24 timmar hade 77% av given dos återfunnits, 66±27% i urin och 9±8% i faeces. Försöket angav att ungefär hälften av administrerad dos utsöndrades oförändrad i urinen, vilket skulle innebära att ungefär hälften av dosen genomgick biotransformation. Försöket indikerade även förekomst av en proteinbunden metabolit i urin. Förekomst av radioaktivitet i faeces anger att även viss utsöndring sker via gallan (Norris et al, 2001).

Bioaktivering

Experimentella data *in vivo* och *in vitro* anger att cylindrospermopsin bioaktiveras via cytokrom P450-systemet (CYP). När leverceller förbehandlades med ämnen som hämmar CYP minskade de toxiska effekterna av cylindrospermopsin (Froschio et al, 2003). Möss som förbehandlats med hämmare av CYP fick ett skydd mot akut toxicitet av cylindrospermopsin (Norris et al, 2002).

Toxikologiska studier

Akut toxicitet

Eftersom cylindrospermopsin tycks kräva bioaktivering för att utöva toxicitet, så uppträder symtom på akut förgiftning med viss fördröjning.

LD50 hos möss var efter intraperitoneal injektion med rent toxin 2,1 mg cylindrospermopsin/kg kroppsvikt när observationsperioden var 24 timmar, men om observationsperioden utsträcktes till 120-144 timmar så var LD50-dosen 10 gånger lägre; 0,2 mg/kg kroppsvikt (Ohtani et al, 1992).

I ett försök där lysat av celler från *Cylindrospermopsis raciborskii* injicerats intraperitonealt på möss var LD50 efter 24 timmar enligt beräkning motsvarande 0,29 mg cylindrospermopsin/kg kroppsvikt, medan det efter 7 dygn var motsvarande 0,18 mg/kg kroppsvikt (Hawkins et al, 1997). Författarna ansåg att celllysaten inte enbart innehöll cylindrospermopsin, i och med att symtombilden inte överensstämde med den där möss fått rent toxin intraperitonealt.

Subakut/subkronisk toxicitet

3-veckors studie (Reisner et al, 2004)

Studien var inte en toxikologisk studie, utan var designad för att pröva teorin att cylindrospermopsin utövar toxicitet genom att påverka syntesen av pyrimidinnukleotider, i detta fall uridin, genom att hämma uridinmonofosfatsyntas, ett enzym som omvandlar orotsyra till uridinmonofosfat. Åtta ICR-möss fick cylindrospermopsin i dricksvatten (0,6 mg cylindrospermopsin/L vatten) under en period av 3 veckor. Dosen beräknades av författarna vara 66 mikrogram/kg kroppsvikt och dag. Endast hanmöss ingick i studien. Cylindrospermopsin var framrenat från *Aphanizomenon ovalisporum*, toxinet renades enligt den metod som beskrivits av Banker et al (2000). Åtta kontrollmöss ingick i försöket. Dricksvattenåtgång och urinmängder mättes en gång i veckan. Mängd oratat i urin mättes vid dessa tillfällen. Blodprover togs en gång i veckan för mätning av hematokrit. Kolesterol mättes i röda blodkroppar och plasma. Efter 3 veckor avlivades djuren och lever, njurar, testiklar och mjälte vägdes. Kolesterol i lever analyserades, samt UMP-syntesaktivitet i leverhomogenat.

Det var vid försökets slut ingen skillnad i kroppsvikt mellan de djur som fått toxin och kontrollgrupp. De djur som fått toxin hade signifikant ökade lever- och testikelvikter, njurvikter var förhöjda men ej signifikant. Samtliga djur hade minskade urinmängder mot slutet av försöket, urinmängden för de djur som fått toxin var signifikant lägre än för kontrolldjur. Koncentration av orotsyra (en mellanprodukt vid syntes av pyrimidin-nukleotider) i urin, och även hematokrit var signifikant förhöjda hos djur som fått toxin. Vid mikroskopering av blodprover noterades förekomst av akantocyter (röda blodkroppar med utskott som ger dem ett taggigt utseende) hos toxindoserade möss efter varje vecka. Kolesterolhalten i membran från röda blodceller var signifikant förhöjt hos toxinbehandlade möss jämfört med kontroll, och kolesterolhalten i lever visade en signifikant reduktion.

Författarna ansåg att förekomst av akantocyter kunde bero på förhöjd kolesterolhalt, och spekulerade i att påverkan på kolesterol kan bero på minskad aktivitet av plasma-

lecitinacylkolesteroltransferas (LCAT), ett enzym som kan påverka syntes av kolesterolestrar, och att detta skulle kunna spela en roll för toxiciteten av cylindrospermopsin. Den ursprungliga hypotesen att cylindrospermopsin utövar toxicitet via påverkan på UMP-syntes kunde inte bekräftas i försöket.

Slutsats. Studien är utformad för att bekräfta en mekanistisk hypotes, och kan inte användas i annat syfte. Påverkan på lever- och njur-vikt, samt minskad urinutsöndring mm är observationer som kan stärka vikten av resultat funna i andra studier.

10- respektive 11-veckors studie (Humpage & Falconer, 2003)

10-veckors studie – halvrenat toxin i dricksvatten

I en studie av Humpage & Falconer (2003) fick hanmöss (Swiss albino mice) cylindrospermopsin i dricksvatten. Toxinet var frampreparerat från frystorkade odlade celler av toxinproducerande *Cylindrospermopsis raciborskii*, genom att cellerna i zonikerats, frusits, tinats och späts i flera cykler. Slutligen centrifugerades hela volymen, och supernatanten användes till studien och gavs till mössen i dricksvatten. Det slutliga extraktet analyserades och innehåll av cylindrospermopsin var 51,6 mg cylindrospermopsin/L enligt HPLC-analys och 61,6 mg cylindrospermopsin/L enligt proteinsyntesinhibitionstest. De beräknade toxindoserna var 0 (kontroll), 216, 432, 657 och 687 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag i 10 veckor, vilket naturligtvis inte går att beräkna så exakt och därför avrundas till 220, 430, 660 resp. 690. Vid den högsta doseringen (690 mikrog) minskade mössen sitt dricksvattenintag och blev dehydrerade, därför utgick data för denna grupp ur försöket, alltså endast data för föjande grupper redovisas; 0, 220, 430 och 660 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag (avrundat). Samtliga möss som fick toxin reducerade dock sitt dricksvattenintag, vilket föranledde försöksledarna att minska dricksvattentillgången i kontrollgruppen till 5 mg/mus/dag, vilket motsvarade dricksvattenintaget hos lägsta dosgrupp. I kontrollgruppen ingick 12 hanmöss, i de övriga 3 grupperna 10 hanmöss/grupp. Urin samlades i över 20 timmar från varje mus innan försöket påbörjades, efter 5 veckor och vid 10 veckor. Vid försökets slut bedövades djuren med pentobarbital, och blodprover togs via hjärtpunktion, vilket också var avlivningsmetod. Lever, njure och mjälte från alla djur vägdes postmortem och histologiska undersökningar utfördes på två möss från varje dosgrupp på dessa organ. Analyser av urin utfördes på samtliga grupper, serumanalyser endast i kontrollgrupp och i de två lägre dosgrupperna. Resultat:

Kroppsvikten var signifikant lägre i medel- och högdosgrupp jämfört med kontroll. Lever och njurvikt var signifikant högre hos alla tre dosgrupperna, jämfört med kontroll.

Serumparametrar. Signifikanta dosberoende skillnader noterades hos båda de analyserade dosgrupperna (220 och 430 mikrog/kg och dag), dessa var ökat serumalbumin; ökat total bilirubin; minskad gallsyrekoncentration; minskat Se-fosfatas. Signifikant ökning av Se-alkaliskt fosfatas (ALP) uppmättes endast i gruppen som fått 430 mikrog/kg och dag. Signifikant minskat Se-aspartataminotransferas (ASAT) uppmättes gruppen som fått 220 mikrog/kg och dag. Se-alaninaminotransferas (ALAT) visade en dosberoende ökning som ej var signifikant.

Urin: Det var inga signifikanta skillnader i mängd flytande föda mössen intog under de tider urin samlades, och inga signifikanta skillnader i urinvolym mellan grupperna. Urinprotein/kreatinin visade en dosberoende minskning som var signifikant i de två högsta dosgrupperna. Urinkalium/kreatinin var minskat i grupperna som fått toxin, men endast signifikant i mellandosgruppen, i samma dosgrupp var fosfat/kreatinin minskat. I högsta dosgrupp var "Renal failure index", $[RFI, U-Na/(U-Crea/Se-Crea)]$ signifikant minskat.

Histologiskt noterades skada på hepatocyter hos de två undersökta mössen i mellandosgruppen. Njurpåverkan med cellinfiltration och tubulär degeneration noterades hos alla möss, även i kontrollgruppen, men degenerationen var mest märkbar hos mössen i högsta dosgrupp, vilka hade haft en minskad dricksvattenkonsumtion.

Kommentar till försöket: Det framgår att dricksvattenintaget är minskat för alla möss som fått toxin, dricksvattentillgången för kontrollgruppen begränsades i försöket till 5 ml dricksvatten/mus och dag, vilket motsvarade åtgången i lägsta dosgrupp (220 mikrog toxin/kg kroppsvikt och dag). Det framgår inte i hur hög grad åtgången av dricksvatten minskade i de två dosgrupper som fått 430 resp. 660 mikrog toxin/kg kroppsvikt och dag i dricksvattnet, om det var i motsvarande grad som lägsta dosgrupp, eller i högre eller lägre grad. Den grupp som fått 690 mikrog toxin/kg kroppsvikt och dag uteslöts dock från försöket på grund av för låg dricksvattenkonsumtion. Eftersom konsumtionen inte är känd för samtliga grupper går det därför inte att diskutera i vilken grad låg dricksvattenkonsumtion kan ha påverkat resultaten av försöket.

Cellextraktet som gavs till mössen var delvis renat med avseende på cylindrospermopsin, men även andra toxiner eller ämnen med fysiologisk verkan kan ha funnits i extraktet och påverkat resultatet av försöket.

11-veckorsstudie – renat toxin via sond

På basis av försöket med toxin givet i dricksvatten gjordes en studie med lägre doser av cylindrospermopsin, där toxiner renats ytterligare baserat på en metod som beskrevs av Banker *et al* (2000). Av totalt 22 mg torrsvikt renat material var 10,4 mg toxin. Analys med NMR och MS/TOF indikerade att kontaminanten var fenylalanin. Det renade toxinet gavs via sond till hanmöss i 11 veckor, grupper på vardera 10 hanmöss ingick i studien, utom högsta dosgrupp där endast 6 möss ingick. De doseringar som användes var 0 (kontroll), 30, 60, 120 och 240 mikrogram cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag. Det framgår inte vilken vehikel som användes. Eftersom det inte anges något om att kontrollmöss fick fenylalanin i motsvarande grad som de doserade djuren, så får man anta att kontroldjuren fick ren vehikel.

I detta försök samlades urin under en 20-timmarsperiod endast vid ett tillfälle strax innan försöket avslutades. Under dessa 20 timmar har mössen fått "liquid diet".

Hjärna, tymus, lever, njure, binjure, mjälte, hjärta, testes och epididymis vägdes och undersöktes makroskopiskt vid försökets slut, och histopatologi utfördes på djur i kontrollgrupp samt högsta dosgrupp. Gjordes avvikande observationer i högsta dosgrupp undersöktes även övriga djur avseende detta.

På grund av liten volym på blodproverna fick serumkemi och hematologi utföras på olika djur. Serumkemi utfördes på 5 av 10 djur per dosgrupp, utom i högsta dosgrupp som endast innehöll 6 djur och där serumkemi utfördes på alla dessa. Detta innebar att hematologi utfördes på 5 djur per dosgrupp utom i högsta dosgrupp där det inte gjordes några hematologiska undersökningar.

Resultat:

Klinisk undersökning och daglig observation

Inga negativa effekter av toxinadministrering noterades vid klinisk undersökning av mössen när försöket pågick i 9 veckor, och inga negativa effekter noterades vid den dagliga observation som skedde vid sondmatning.

Under de sista 4 veckorna av försöket mättes vattenkonsumtionen hos mössen. För alla grupper som fått toxin var vattenkonsumtionen signifikant reducerad jämfört med kontrollgruppen. Denna minskning var inte dosberoende, utan konsumtionen var från lägsta till högsta dosgrupp 58, 68, 72 respektive 68% av konsumtionen hos kontrollgrupp.

Kroppsvikt

Under de 4 sista veckorna av försöket var kroppsvikten var lätt förhöjd hos alla grupper av möss som fått toxin, ökningen var signifikant i de två lägsta dosgrupperna.

Organvikter

I förhållande till kroppsvikt var organvikt signifikant ökad för lever i gruppen som fått 240 mikrogram cylindrospermopsin/kg kroppsvikt per dag jämfört med kontrollgrupp. För njurvikt i förhållande till kroppsvikt noterades en dosberoende viktökning, jämfört med kontroll var denna viktökning signifikant i de tre högsta dosgrupperna, men ej i lägsta dosgrupp.

Serumparametrar

Serumkemi utfördes endast på 5 djur per dosgrupp, utom i högsta dosgrupp där serumkemi utfördes på samtliga 6 djur. Ingen statistisk signifikans noterades, utom för Se-kolesterol som var signifikant ökat för de två lågdosgrupperna, i jämförelse med kontroll. Det fanns tendens till dosberoende ökning av Se-bilirubin och Se-albumin, och möjligen en tendens till minskning av Se-urea och gallsyror. På grund av det låga antalet djur är det svårt att utläsa någon trend, eller att överhuvudtaget utläsa något av vikt, ur serumkemin.

Hematologi

Dessa undersökningar utfördes endast på 5 djur per dosgrupp, och inte på något djur i högsta dosgrupp. Lymfocyter var påtagligt högre hos djur i lågdosgruppen jämfört med kontroll. För övrigt gjordes inga observationer av avvikelser.

Urinparametrar

Urinvolymen var minskad hos djuren i högsta dosgrupp, 68% av volymen i kontrollgrupp. Motsvarande minskning i urinvolym fanns ej hos övriga dosgrupper i jämförelse med kontroll, detta trots att vattenkonsumtionen de senare 4 veckorna av försöket var minskad i ungefär motsvarande grad som i högdosgrupp hos samtliga dosgrupper (58, 68, 72 resp. 68% konsumtion jämfört med kontroll, se ovan under rubriken "Kliniska undersökningar och daglig observation"). Statistiskt signifikanta skillnader uppmättes för ökad U-kreatinin (högsta dosgrupp), minskad specifik gravitet/kreatinin (högsta dosgrupp), minskad U-protein/kreatinin (näst-högsta och högsta dosgrupp) en dosberoende minskning noterades också i de två lägre dosgrupperna, minskat U-kalium/kreatinin (samtliga dosgrupper, ej dosberoende). En trend mot dosberoende minskad RFI (se ovan för definition) noterades, men var ej signifikant i någon dosgrupp. Glomerulär filtrationshastighet var sänkt i dosgrupperna jämfört med kontroll (73, 73, 93 resp. 64% av kontrollgruppens värde).

Patologi och histopatologi

Inga förändringar noterades makroskopiskt i några organ vid undersökning efter försökets slut. Följande organ undersöktes histopatologiskt: hjärna, ryggmärg, tyroidea, tymus, oesofagus, spottkörtlar, magsäck, tarmar, lever, gallblåsa, pankreas, njure, binjure, mjälte, hjärta, luftstrupe, lungor, aorta, testiklar, bitestiklar, prostata, urinblåsa, axillära lymfnoder, femoral perifer nerv, benmärg, ögon. Histopatologi undersöktes i kontrollgrupp och högsta dosgrupp. Lever var det enda organ som uppvisade histopatologiska förändringar i högsta dosgrupp, vilket föranledde undersökning av lever från alla djur i samtliga dosgrupper. En dosrelaterad ökning av nekrotiska eller inflammatoriska foci i lever noterades. I kontroll och lågdosgrupp uppvisade 10% av djuren sådana förändringar, och i högre dosgrupper uppvisade 20, 60 respektive 90% av djuren dessa förändringar. Inga andra dosrelaterade förändringar noterades, utom skador i proximala tubuli i njure hos två möss i högdosgruppen.

Artikelförfattarna ansåg att den kritiska effekten för att ange 'no observed adverse effect level' (NOAEL) var förändrad organvikt för njure i förhållande till kroppsvikt, vilket noterades i de tre högre dosgrupperna, men ej i lägsta dosgrupp; 30 mikrogram/kg kroppsvikt och dag, vilken dos angavs som NOAEL. För att beräkna tolerabelt dagligt intag (TDI) har de tillämpat en säkerhetsfaktor 10 för variation mellan arter, en faktor 10 för individvariation och en faktor 10 för bristande databas (avsaknad av data över kronisk toxicitet, över gentoxicitet och carcinogenicitet liksom över teratogenicitet och reproduktionstoxikologi), totalt en säkerhetsfaktor 1000 vilket ger TDI 0,03 mikrog/kg kroppsvikt.

Kommentarer till 10- respektive 11-veckors försöken:

- Det är en stor begränsning att endast hanmöss ingår i studierna.
- I det första försöket (10 veckor), det där mössen fick toxin via dricksvatten, var toxinet delvis renat och det extrakt som gavs till mössen innehöll okända kontaminanter med okänd verkan. I det andra försöket, där mössen matades med toxin via sond, var toxinet ytterligare renat, men innehöll dock c:a 50% av en enskild kontaminant som analyserades och bedömdes vara fenylalanin, men det framgår inte om kontrollmössen fick motsvarande mängd fenylalanin.

I inget av försöken har mössen fått rent toxin, och i det första försöket ingår okända kontaminanter med okänd fysiologisk och toxisk verkan, detta försvagar möjligheten att tolka resultaten av försöken.

- Det finns brister i försöksupplägg och frågetecken i resultatredovisning vad gäller mössens dricksvattenkonsumtion och urinproduktion.

I det första försöket (*10 veckor*) där 5 olika dosgrupper får toxin via dricksvatten anges att högsta dosgrupp (beräknat intag c:a 690 mikrog toxin/kg kroppsvikt och dag) har så stor reduktion i sitt dricksvattenintag att djuren är dehydrerade och därför utgår ur studien. Det framgår också att övriga doserade djur reducerar sitt dricksvattenintag så mycket att kontroldjuren ges begränsad tillgång till dricksvatten motsvarande dricksvattenåtgången i lägsta dosgrupp (5 mg dricksvatten/mus och dag), Det framgår dock inte i vilken grad de övriga två grupperna (430 respektive 660 mikrog toxin/kg kroppsvikt och dag) minskade sitt dricksvattenintag, men gruppen som fick 690 mikrog/kg kroppsvikt och dag, marginellt högre toxindos än 660 mikrog/kg kroppsvikt och dag minskade sitt intag så mycket att det ledde till dehydrering. Det är en brist att det inte dricksvattenintaget framgår för samtliga grupper. I detta försök anges det att det inte var någon signifikant skillnad i urinvolym mellan grupperna.

I det andra försöket (*11 veckor*) där möss sondmatas med toxin framgår att dricksvattenintaget är avsevärt minskat jämfört med kontroll för samtliga 4 dosgrupper under de 4 sista veckorna av försöket; 53, 68, 72 respektive 68% av kontrollgruppens intag. Vid beräkning (siffrorna är inte givna, utan har approximerats utifrån diagrammet) blir dricksvattenintaget per mus och dag c:a 6100 mg för kontrollgrupp och c:a 3500, 4150, 4400 respektive 4150 för dosgrupperna. Under de sista 4 veckorna var kroppsvikterna lätt förhöjda hos de möss som fått toxin jämfört med kontroldjur, vilket var signifikant hos de två lägre dosgrupperna. Tidigare veckor av försöket är inte redovisade. I redovisningen av resultaten anges att urinvolymerna vid den 20-timmarsinsamling som görs mot slutet av försöket är för respektive dosgrupp 114, 105, 119 och 68% av kontroll. Den minskade urinvolymen hos högdosdjur förklaras med deras låga dricksvattenintag. Det saknas en diskussion kring varför det låga dricksvattenintaget inte påverkade urinvolymerna hos de övriga dosgrupperna, och vilken roll det spelar i de effekter som ses på njurar hos de doserade djuren. Kroppsvikten var signifikant ökad hos de två lägsta dosgrupperna, vilket inte heller har diskuterats i förhållande till dricksvattenintag och urinvolym. En ökad kroppsvikt liksom ett minskat dricksvattenintag liksom en ökad urinvolym skulle kunna bero på förändringar i förmåga att upprätthålla en adekvat vätskebalans, och kunna vara ett tidigt tecken på en progredierande njurpåverkan. Dock är det till dels motsägelsefulla uppgifter om dricksvattenintag kontra urinvolym och kroppsvikt, så det är svårt att dra slutsatser utifrån de uppgifter som givits. Den minskade dricksvattenkonsumtionen i alla dosgrupper, i samband med den signifikant ökade kroppsvikten hos de två lågdosgrupperna, skulle kunna vara en effekt av toxinadministrering. Det skulle kunna vara en tidig effekt som har samband med, eller skulle kunna utvecklas till, den ökning av relativ njurvikt som observerades vid doseringar över lägsta dos, och om så skulle lägsta dos, 30 mikrogram cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag, istället för NOAEL kunna uppfattas som LOAEL i studien.

Slutsats av 10- och 11-veckorsstudierna

10-veckorsstudien med orenat toxin kan inte i sig användas som underlag för att bestämma NOAEL eller LOAEL, men det är intressanta observandum att lever och njure tycks vara målorgan för toxicitet, samt att alla toxindoserade djur hade minskat dricksvattenintag. Dessa observationer överensstämmer med resultat som kommit fram i 11-veckorsstudien.

11-veckorsstudien har mycket stora begränsningar, men är hittintills den enda studie där djur fått (någorlunda) renat toxin under (någorlunda) kontrollerade former och under (någorlunda) lång tidsperiod. De effekter som observerats och som använts för att bestämma NOAEL (LOAEL) kan till viss del bekräftas av andra studier som gjorts (Reisner et al, 2004; Sukenik et al, 2006). Av de studier som finns att tillgå är detta trots sina begränsningar den som är bäst lämpad att ligga till grund för att föreslå ett NOAEL (LOAEL). Detta skulle kunna vara 30 mikrogram/kg kroppsvikt och dag.

42-veckors studie (Sukenik et al, 2006)

I detta försök som varade i 42 veckor fick ICR-möss medium som används för att odla cyanobakterier som enda dricksvattenkälla. I försöket ingick en kontrollgrupp och en dosgrupp, båda bestående av 20 hanar och 20 honor. Kontrollgrupp fick färskt medium och försöksgrupperna fick medium innehållande cylindrospermopsin, vilket använts till odling av *Aphanizomenon ovalisporum* men som var fritt från cyanobakterier. I det använda mediet identifierades cylindrospermopsin och 7-epicylindrospermopsin som enda toxiska komponenter, med stor dominans för cylindrospermopsin (>95%).

Försöksgruppen fick gradvis ökande doser av cylindrospermopsin, dosökningar skedde vecka 8, 16 och 24. Det ungefärliga dagliga intaget av cylindrospermopsin var för hanrättor 10, 15, 30 och 48 mikrogram/kg kroppsvikt under de respektive 4 perioderna (vecka 1-8, vecka 8-16, vecka 16-24 och vecka 24-42), och för honrättor 10, 17, 34 respektive 55 mikrogram/kg kroppsvikt. Det högre intaget hos honor är relaterat till lägre kroppsvikt.

Kroppsvikt mättes varje vecka. Vattenkonsumtion och urinvolym mättes varannan vecka. Var fjärde vecka togs blodprover för att mäta hematokrit.

Efter 20 veckor avlivades hälften av djuren, och resterande djur avlivades efter 42 veckor. Lever, mjälte, njurar och testiklar vägdes och inspekterades.

Kroppsvikt och organvikt

Det var ingen skillnad i kroppsvikt mellan toxinbehandlade djur och kontroldjur.

Relativ njurvikt var signifikant förhöjd hos de djur som fått cylindrospermopsin både vid 20 veckor och vid 42 veckor jämfört med kontroldjur. Relativ levervikt var förhöjd hos toxinbehandlade djur vid vecka 42, liksom relativ testikelvikt hos handjur var förhöjd vid vecka 42.

Hematologi

Hematokrit var signifikant förhöjd hos toxinbehandlade djur mellan veckor 16 och 32, men hade återgått till kontrollvärdet vid vecka 36. Vid mikroskopering sågs många abnormala röda blodceller vid 20 veckor, och vid 42 veckor mycket få normala röda blodceller. Förekomst av abnormala röda blodceller tycktes relaterat till kolesterol i cellmembranet. Kolesterol mättes i membran av röda blodceller, liksom i plasma och i lever hos 8 han- och 8 honmöss i vecka 20 och 42. Kolesterol var signifikant ökat i membran av röda blodceller och minskat i lever hos både hanar och honor vid vecka 42. Vid vecka 20 var kolesterol signifikant minskat i lever endast hos hanar. Kolesterol i plasma var ökat vid 42 veckor, vilket dock endast var signifikant för honor.

Baserat på förhöjda hematokritvärden vid vecka 16 ansåg författarna att 20 mikrogram cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag (motsvarande 200 mikrogram/L) kan anses vara lowest adverse effect level (LOAEL).

Slutsats. Studien kan inte användas för att beräkna NOAEL eller LOAEL, den substans och den dosering djuren fått är för dåligt definierad. Det är intressant att se att de effekter som observerats motsvarar de som uppkommit i andra studier; effekter på lever, njure, testikel samt påverkan på kolesterolomsättning.

Kronisk toxicitet

Det saknas studier av kronisk toxicitet.

Reproduktionstoxicitet, teratogenicitet (studier av fosterskador)

Sibaldo de Almeida et al, 2013

Detta är den enda tillgängliga studien där cylindrospermopsin givits peroralt till dräktiga djur.

Dräktiga råttor, 10 per grupp, gavs 0; 0,03; 0,3 respektive 3 mg kommersiellt inköpt (Abraxis) cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag via sond. Djuren doserades från dag 1 av dräktigheten till dag 20. Intag av dricksvatten och foder samt kroppsvikt följdes under försöket. Blodprov togs dräktighetsdag 20, djuren avlivades och äggstockar, uterus, njurar, pankreas, binjurar, hjärta och mjälte vägdes. Lever och njure preparerades för histologisk undersökning. Antal foster räknades, vägdes och undersöktes för att upptäcka eventuella missbildningar. Antal implantationsställen, gulkropp och resorptioner, samt döda respektive levande foster räknades och undersöktes. Hälften av fostren från varje hona undersöktes med avseende på missbildningar i kroppsliga organ, och hälften med avseende på skelettmisbildningar. Inga signifikanta skillnader noterades avseende någon av de undersökta parametrarna.

Slutsats. Det är endast en kort tidsperiod som djuren doserats, och det är inte många parametrar som är undersökta hos moderdjuren. Det är dock höga doser som givits djuren, utan att moderdjuren visat tecken på toxicitet. Försöket kan ej användas för att fastställa NOAEL.

Det finns ett antal studier där rent (>98%) cylindrospermopsin givits intraperitonealt under olika perioder av dräktigheten till dräktiga möss. (Rodgers et al, 2007; Chernoff et al, 2011) Möss gavs 50 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag under dag 8-12 eller dag 13-17 av dräktigheten. Toxinbehandling i den tidiga delen av dräktigheten ledde till mer märkbara toxiska effekter hos moderdjuren jämfört med behandling under senare delen av dräktigheten. Effekter på moderdjur var minskad viktökning och kroppsvikt, vilken var signifikant jämfört med kontroll. Endast två-fem möss per grupp undersöktes för serumkemi, där noterades minskat serumalbumin och förhöjda enzymnivåer (ALT, AST, SDH och laktadehydrogenas), även markörer för njurskada (förhöjt urea-N och kreatinin i serum) konstaterades. Dessa effekter var reversibla, och hade återgått till normalnivåer 7 dagar efter avslutad dosering. Hos de djur som avlivades dagen efter sista dosering noterades hepatocytnekros hos 7 av 19 djur som doserats dag 8-12, hos 4 av 19 hos de som doserats dag 13-17, och hos 1 av 19 djur i kontrollgrupp. Inga skillnader noterades i relativ njur- eller levervikt. Signifikant minskad kullstorlek noterades hos båda de toxinbehandlade grupperna jämfört med kontroll. Behandling dag 13-17 ledde till signifikant lägre överlevnad hos avkomman, liksom till minskad fostervikt. Hos foster som dött under dräktigheten noterades blodfyllda tarmar.

Det bör noteras att om toxicitet föreligger hos moderdjur, så kan detta påverka avkomman, oavsett om ämnet som givits moderdjuren har teratogen eller reproduktionsstörande potential eller ej.

Slutsats. Studierna har utförts med intraperitoneal dosering, och skulle inte kunna användas för att ange NOAEL för peroral dosering, oavsett. Det kan dock vara intressant att jämföra vilka effekter som uppkommit hos moderdjuren med de som uppkommit efter oral dosering i andra studier.

Mutagenicitet och gentoxicitet

Cylindrospermopsin i olika koncentrationer var inte mutagent i Ames test med och utan S9 mix (Sieroslawska et al, 2013).

Det finns studier som antyder eller anger att cylindrospermopsin kan inducera strängbrott i DNA, och ha klastogena egenskaper. Men de data som finns är för osäkra för att kunna uttala sig om eventuell genotoxisk potential av cylindrospermopsin. (Bazin et al, 2010; Humpage et al, 2000; Humpage et al, 2005; Shen et al, 2002; Shaw et al, 2000)

Toxicitet, sammanfattning

Utifrån de studier över toxicitet som finns att tillgå tycks det som att njure och lever är främsta målorgan för toxicitet av cylindrospermopsin.

Data över reproduktionstoxikologi och teratogenicitet är mycket begränsade, men har inte visat på att cylindrospermopsin skulle ha teratogena eller reproduktionstoxiska effekter. I några studier har moderdjuren visat toxiska effekter som kan ha påverkat avkomman.

De data som finns är alltför osäkra för att ge möjlighet att uttala sig om eventuell gentoxisk effekt av cylindrospermopsin.

Trots sina begränsningar är den *11-veckorsstudie* (Humpage & Falconer, 2003) hittintills den enda studie där djur fått (någorlunda) renat toxin under (någorlunda) kontrollerade former och under (någorlunda) lång tidsperiod, och som är bäst lämpad för att ligga till grund för ett NOAEL (LOAEL). De effekter som observerats och som använts för att bestämma NOAEL (LOAEL), ökad relativ njurvikt, kan till viss del bekräftas av andra studier som gjorts (Reisner et al, 2004; Sukenik et al, 2006). NOAEL (LOAEL?) skulle kunna vara 30 mikrogram/kg kroppsvikt och dag.

Förgiftning av människa av cylindrospermopsin

Akuta effekter

År 1979 behandlades en blomning av *Cylindrospermopsis raciborskii* i en damm som användes som råvattentäkt på Palm Island, Australien, med kopparsulfat. Resultat av sådan behandling blir att cellerna dör, och eventuellt intracellulärt toxin frisätts i vattenmassan. Några dagar efter behandlingen med kopparsulfat drabbades personer som fick sitt dricksvatten från dammen av sjukdom som hade likheter med hepatit. Totalt drabbades 148 invånare varav 138 var barn. Det är inte känt hur många individer totalt som drack av detta vatten. Flera fall krävde sjukhusvård. Symtom var kräkning, huvudvärk, feber och blodiga diarréer. Leverförstoring och njurpåverkan förekom (visat genom proteinuri i 89% av fallen, glukosuri 74%, ketonuri 53%, hematuri 20%, urobiligenemi 8%). Flera patienter fick intravenöst dropp för att komma tillrätta med vätske- och elektrolytbalans. (Byth, 1980) Endast personer som fick sitt dricksvatten från dammen som innehöll blomningen fick sjukdomssymtom. Senare identifierades cylindrospermopsin som det toxin som orsakat sjukdomen (Ohtani et al, 1992).

Kroniska effekter

Det är inte känt om förgiftning med cylindrospermopsin ger upphov till kroniska effekter.

Farokarakterisering

Eftersom det saknas studier över eventuella kroniska effekter av cylindrospermopsin går det inte att fastställa ett tolerabelt dagligt intag (TDI). Ett TDI ska kunna täcka in en konsumtion under en livstid, och för att fastställa ett TDI måste alltså data över kronisk toxicitet finnas.

Dataunderlaget för att uttala sig om subakut och subkronisk toxicitet är mycket begränsat, men är vad som finns att tillgå för att, i brist på möjlighet att fastställa ett TDI, förslå en akut referensdos (ARfD). ARfD är den högsta mängd av ett ämne som en person kan inta under en begränsad tidsperiod (upp till ett dygn) utan hälsorisk.

ARfD – Akut Referensdos

ARfD är den högsta mängd av ett ämne som en person kan inta under en begränsad tidsperiod (upp till ett dygn) utan hälsorisk. Av de studier som finns att tillgå är den *11-veckorsstudie* där renat cylindrospermopsin gavs till möss via sond (Humpage&Falconer, 2002) trots sina begränsningar den studie som är bäst lämpad att använda för att ange ett NOAEL (alt. LOAEL), av de som finns att tillgå i dagsläget.

US-EPA (2015) har använt denna studie för beräkning av RfD (referensdos) enligt följande: NOAEL är angivet till 30 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag. En osäkerhetsfaktorn på 300 har använts, den består av faktorn 10 för att kompensera för interindividuella skillnader, 10 för skillnader mellan arter och ytterligare en faktor 3 för att underliggande data ej är fullständiga och innehåller osäkerheter.

$$\text{RfD} = (30 \text{ mikrog/kg kroppsvikt/dag}) / 300 = 0,1 \text{ mikrog/kg kroppsvikt/dag}$$

Det finns inte något bättre alternativ för att beräkna ARfD. Beräkningen av ARfD innehåller dock stora osäkerheter, och i väntan på att studier finns tillgängliga som kan ge ett bättre underlag är det lämpligt att ange ett temporärt ARfD (tARfD) vilket följaktligen är beräknat till 0,1 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag.

Eventuell exponering för cylindrospermopsin via dricksvatten

Arter som kan producera cylindrospermopsin har återfunnits i Sverige, och cylindrospermopsin har analyserats i prover av svenskt sjövattnet, från sjöar som används som vattentäkter för råvattnet till vattenverk. Det finns inte data som kan ge en uppfattning om människor i Sverige har exponerats för toxinerna via dricksvatten, och heller inte data som kan ge underlag för att beräkna hur stor risken är för att sådan exponering kan ske.

Riskkaraktärisering för cylindrospermopsin i dricksvatten

Det tARfD på 0,1 mikrogram cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag som föreslagits ovan kan användas för att beräkna riktvärden och nivågränser vid vilka eventuella åtgärder kan behöva vidtagas för att säkerställa en säker dricksvattenförsörjning.

Nedan, i tabell 1, redovisas beräkningar av intag av cylindrospermopsin från dricksvatten. Då det inte finns någon känd intagsväg för toxinerna annat än via vatten, har 100% av intaget allokerats till dricksvatten.

För den yngsta åldersgruppen har antagandet gjorts att barnen konsumerar modersmjölksersättning beredd med toxininnehållande dricksvatten.

Tabell 1. Beräkning av värden som kan ange en högsta hälsomässigt acceptabel halt (HhaH). Beräkningen bygger på NOAEL 30 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag, vilket med användande av säkerhetsfaktorer enligt ovan ger tARfD på 0,1 mikrog/kg kroppsvikt och dag.

Befolkningsgrupp	Personens vikt (kg)	Vattenkonsumtion (mL/dag)	Beräknad HhaH baserad på att 100% av intaget kommer från dricksvatten (mikrog/L)
spädbarn 3 veckor	4,2	700	0,6
spädbarn > 4 månader	6,6	800	0,8
4-åringar	18	1600	1,1
8-åringar	31	1600	1,9
12-åringar	42	2100	2,0
vuxna	70	2000	3,5

Vikten vid olika åldrar baseras på Livsmedelsverket (2012;2006)

Vattenkonsumtion vid olika åldrar baseras på EFSA (2010)

Baserat på en temporär akut referensdos* (tARfD) 0,1 mikrog cylindrospermopsin/kg kroppsvikt och dag och att 100% av intaget av cylindrospermopsin allokeras till dricksvatten kan ett riktvärde beräknas för när åtgärder kan behöva vidtas, detta riktvärde kan beräknas till 0,6 mikrogram cylindrospermopsin/L dricksvatten. Notera att det finns stora osäkerheter inbyggda i detta värde. *

Akut referensdos (ARfD) är den högsta mängd av ett ämne som en person kan inta under en begränsad tidsperiod (upp till ett dygn) utan hälsorisk. Att ARfD i detta fallet anges som temporär har grund i att underlaget för att fastställa värdet är mycket begränsat.

Osäkerheter

Det finns mycket stora osäkerheter bakom de beräkningar av möjliga högsta hälsomässigt acceptabla halter som presenteras i tabell 1. Eftersom dataunderlaget är begränsat har beräkningen av möjliga högsta hälsomässigt acceptabla halter av cylindrospermopsin i dricksvatten baserats på en temporär akut referensdos vilken bygger på djurstudier som rör subkronisk toxicitet. De subkroniska studier som finns att tillgå har brister, i metodologi och/eller i rapportering vilket sammantaget ger en mycket hög osäkerhet.

Gränsvärden och motsvarande för riskhantering i andra länder

Gränsvärden eller motsvarande för cylindrospermopsin i dricksvatten enligt EFSA (2016)

Land	Eventuell kommentar/beskrivning	Halt toxin	Typ av värde*
Australien	Cylindrospermopsin; motsvarande 15000-20000 celler/ml eller en biomassa 0,6-0,8 mm ³ /L av <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	1 mikrog/L	"Health alert level"
Brasilien		15 mikrog/L	"Guidance value"
Nya Zeeland		1 mikrog/L	"Provisional maximum allowable value"
USA			
USA-EPA	Barn under 6 år	0,7 mikrog/L	"Health advisory"
	Barn över 6 år och vuxna	3,0 mikrog/L	"Health advisory"
Californien	Cylindrospermopsin till människa	saknas	-
	Cylindrospermopsin till boskap, subkronisk exponering	5 mikrog/L	"Guidance value"
	Cylindrospermopsin till boskap, akut exponering	60 mikrog/L	"Guidance value"
	Cylindrospermopsin till hund, subkronisk exponering	10 mikrog/L	"Guidance value"
	Cylindrospermopsin till hund, akut exponering	200 mikrog/L	"Guidance value"
Ohio		1 mikrog/L	"Guidance value/Alert level"
Oregon		1 mikrog/L	"Guidance value"

* De uttryck som förekommer i kolumnen är de som används i respektive lands råd, regler eller motsvarande. Vad uttrycken innebär i praktiken är inte beskrivet i de publikationer som är tillgängliga.

Slutsatser och sammanfattning

Arter som har kapacitet att bilda toxinerna finns i svenska sjöar och cylindrospermopsin har återfunnits i sjöar i Sverige. Det finns inte underlag som kan ge en uppfattning om ifall människor i Sverige har exponerats för toxinerna via dricksvatten, eller som kan ge en uppfattning om hur stor risken är för att detta kan ske. Cylindrospermopsin är relativt stabilt, och tål till exempel kokning under begränsad tid utan att brytas ned. Främsta målorgan för toxicitet av cylindrospermopsin är sannolikt lever och njure.

Om toxinerna skulle förekomma i dricksvatten skulle detta kunna ge allvarliga hälsomässiga följder för dricksvattenkonsumenter, under förutsättning att halterna var tillräckligt höga. Därför finns det anledning att utarbeta rekommendationer för riskhanteringsåtgärder.

Referenser

Banker R, Teltsch B, Sukenik A, Carmeli S. 2000. 7-Epicylindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret, Israel. *J Nat Prod* 63: 387-389.

Banker R, Carmeli S, Hadas O, Teltsch B, Porat R, Sukenik A. 1997. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *J Phycol* 33: 613-616.

Banker R, Carmeli S, Werman M, Teltsch B, Porat R, Sukenik A. 2001. Uracil moiety is required for toxicity of the cyanobacterial hepatotoxin cylindrospermopsin. *J Toxicol Environ Health A*. Feb 23;62(4):281-8.

Bazin E, Mourot A, Humpage AR, Fessard V. 2010. Genotoxicity of a freshwater cyanotoxin, cylindrospermopsin, in two human cell lines: Caco-2 and HepaRG. *Environ Mol Mutagen*, Arp; 51(3):251-9.

Chiswell RK, Shaw GR, Eaglesham G, Smith MJ, Norris RL, Seawright AA, Moore MR. 1999. Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environ Toxicol* 14:155-161.

Chong MWK, Wong BSF, Lam PKS, Shaw GR, Seawright AA. 2002. Toxicity and uptake mechanism of cylindrospermopsin and lophyrotomin in primary rat hepatocytes. *Toxicol* 40:205-211.

EFSA. 2016. External Scientific Report. Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. Istituto Superiore di Sanità-Rome Italy, ANSES- Maisons-Alfort and Fougères, France. EFSA Supporting publication 2016:EN-998N.

EPA. 2015. Health effects support document for cylindrospermopsin.

Froschio SM, Humpage AR, Burcham PC, Falconer IR. 2003. Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from acute toxicity in mouse hepatocytes. *Environ Toxicol*. Aug;18(4):243-51.

Funari E, Testai E. 2008. Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Critical Reviews in Toxicology*. 38: 97-125.

Harada K, Ohtani I, Iwamoto K, Suzuki M, Watanabe MF, Watanabe M, Terao K. 1994. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicol* 32: 73-84.

Hawkins PR, Runnegar MTC, Jackson ARB, Falconer IR. 1985. Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subbs Raju isolated from a domestic supply reservoir. *Appl Environ Microbiol* 50: 1292-1295.

Hawkins PR, Chandrasena NR, Jones GJ, Humpage AR, Falconer IR. 1997. Isolation and toxicity of cylindrospermopsis raciborskii from an ornamental lake. *Toxicol*, Mar; 35(3):341-6.

Humpage AR, Fenech M, Thomas P, Falconer IR. 2000. Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutat Res*, Dec 20; 472(1-2):155-61.

Humpage AR, Falconer IR. 2003. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: Determination of No Observed Adverse Effect Level for deriving a drinking water guideline value. *Env Toxicol* 18: 94-103.

Humpage AR, Fontaine F, Froschio S, Burcham P, Falconer IR. 2005. Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity: role of cytochrome P-450 and oxidative stress. *J Toxicol Environ Health A.*, May 14; 68(9):739-53.

Klitzke S, Fastner J. 2012. Cylindrospermopsin degradation in sediments—the role of temperature, redox conditions, and dissolved organic carbon. *Water Res*, Apr 1; 46(5):1549-55.

Livsmedelsverket. 2006. Riksmaten – barn 2003. Livsmedels och näringsintag bland barn i Sverige.

Livsmedelsverket. 2012. Livsmedels- och näringsintag bland vuxna i Sverige. Resultat från matvaneundersökning genomförd 2010-2011.

Ministry of Health of New Zealand. 2005. Drinking-water Standards for New Zealand. Ministry of Health of New Zealand, Wellington.

Norris RL, Seawright AA, Shaw GR, Smith MJ, Chiswell RK, Moore MR. 2001. Distribution of ¹⁴C cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Environ Toxicol*. 2001;16(6):498-505.

Norris RL, Seawright AA, Shaw GR, Senogles P, Eaglesham GK, Smith MJ, Chiswell RK, Moore MR. 2002. Hepatic xenobiotic metabolism of cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Toxicon*. 2002 Apr;40(4):471-6.

Ohtani I, Moore RE, Runnegar MTC. 1992. Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J Am Chem Soc* 114: 7941-7942.

Shaw GR, Sukenik A, Livne A, Chiswell RK, Smith MJ, Seawright AA, Norris RL, Eaglesham GK, Moore MR. 1999. Blooms of the cylindrospermopsin containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti), in newly constructed lakes, Queensland, Australia. *Environ Toxicol* 14: 167-177.

Shaw GR, Seawright AA, Moore MR, Lam PK. 2000. Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid: evaluation of its toxicological activity. *Ther Drug Monit*, Feb; 22(1):89-92.

Shen X, Lam PK, Shaw GR, Wickramasinghe W. 2002. Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Oct*; 40(10):1499-501.

Sieroslawska A. 2013. Assessment of the mutagenic potential of cyanobacterial extracts and pure cyanotoxins. *Toxicon*, 74: 76-82.

Terao K, Ohmori S, Igarashi K, Ohtani I, Watanabe MF, Harada KI, Ito E, Watanabe M. 1994. Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon* 32: 833-843.

WHO. 1999. Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. Chorus I and Bartram J, eds. Taylor and Francis. New York and London.

