

COLLOQUE PNRPE

PROGRAMME
NATIONAL
DE RECHERCHE
SUR LES
PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS

◎ **Evaluation de l'impact des perturbateurs endocriniens sur les milieux aquatiques (SURVAQUA)**





Objectifs de l'étude

- ① **Contamination des rivières françaises par les perturbateurs endocriniens (PE) ?**
- ② **Comment évaluer la présence et les effets de ces PE sur les organismes ?**

Démarche du programme

IMPACTS

Sites



CONTAMINATIONS

Invertébrés /
Poissons

Sédiments

Etude des
communautés

Biomarqueurs

- biochimiques
- histologique (intersexe)
- Indexes somatiques

Tests *in vitro*

Analyses
chimiques

Indices de
populations

Biomarqueurs

Calcul d'EQs
toxiques
biologiques

Calcul d'EQs
toxiques
chimiques

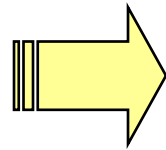
Présentation des sites

Lieux de prélèvement	Impacts sur...	Contexte / Type de contamination
Etang de Méjean (Hérault – 34)	/	Urbain
Etang d'Arnel (Hérault – 34)	/	Urbain
Port du Bec (Vendée – 85)	Invertébrés	Référence
Loire (Mindin – Loire-Atlantique – 44)	Invertébrés	Estuaire
Seine (Le Havre – Seine-Maritime – 76)	Invertébrés	Estuaire
Drôme (Saillans - Drôme -26)	Chevaines	Référence
Rhône (Givors –Rhône - 69)	Chevaines	Industriel et urbain
Nonette (Chantilly – Oise – 60)	Chevaines	Urbain et agricole
Jalles d'Eysine (Gironde - 33)	Chevaines	STEP
Le Lez (Montpellier – Hérault - 34)	Chevaines	STEP jusque fin 2005
Bras de Seine (Venables – Eure – 27)	Gardons	Référence
Deule (Don - Nord -59)	Gardons	Industriel
Vilaine (Sainte Marie - Ile et Vilaine -35)	Gardons	Agricole
Gouessant (Coëtmioux - Ile et Vilaine -35)	Gardons	Agricole
Seine (Poses - Eure - 27)	Gardons	STEP et industriel

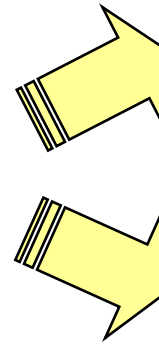
Caractérisation de la contamination des sédiments

⊙ (Bio)analyses des sédiments

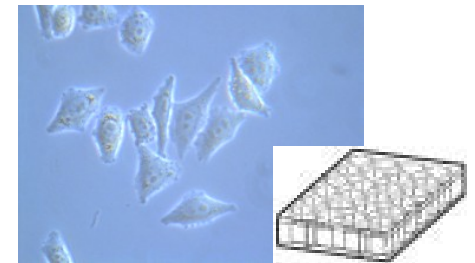
Échantillons
environnementaux
(sédiments)



Lyophilisation
et extraction



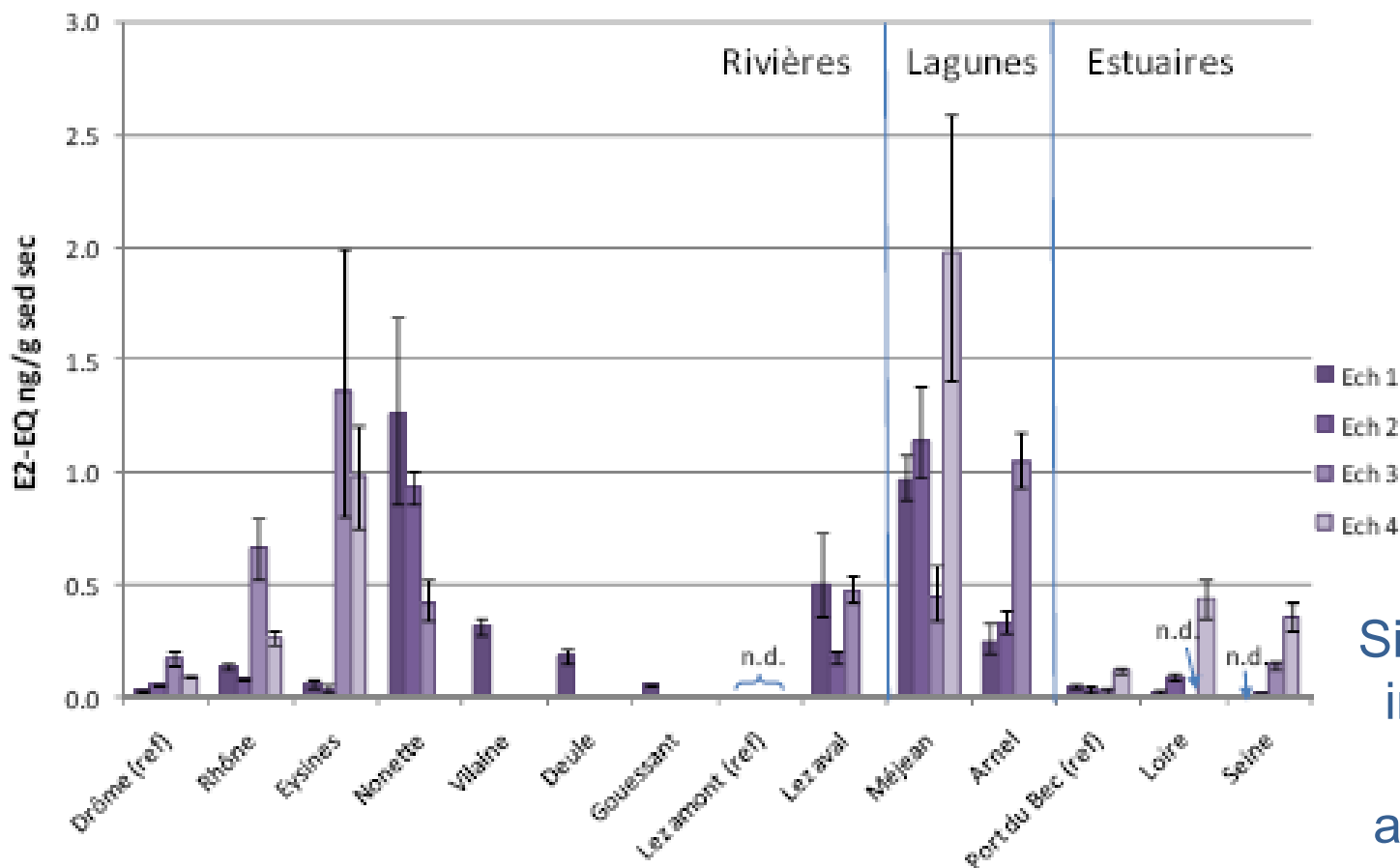
Analyses chimiques :
HAPs, PCB, PBDE



Cible	Modèle	Mesure finale
Oestrogénique (ER)	Lignée MELN (humaine)	Luciférase
Androgénique (AR)	Lignée MDA-kb2 (humaine)	Luciférase
HAP-like	Lignée PLHC-1 (poisson)	Activité EROD
Dioxin-like (AhR)	Lignée PLHC-1 (poisson)	Activité EROD
Aromatase	Microsomes de cerveaux de poissons	Eau tritiée

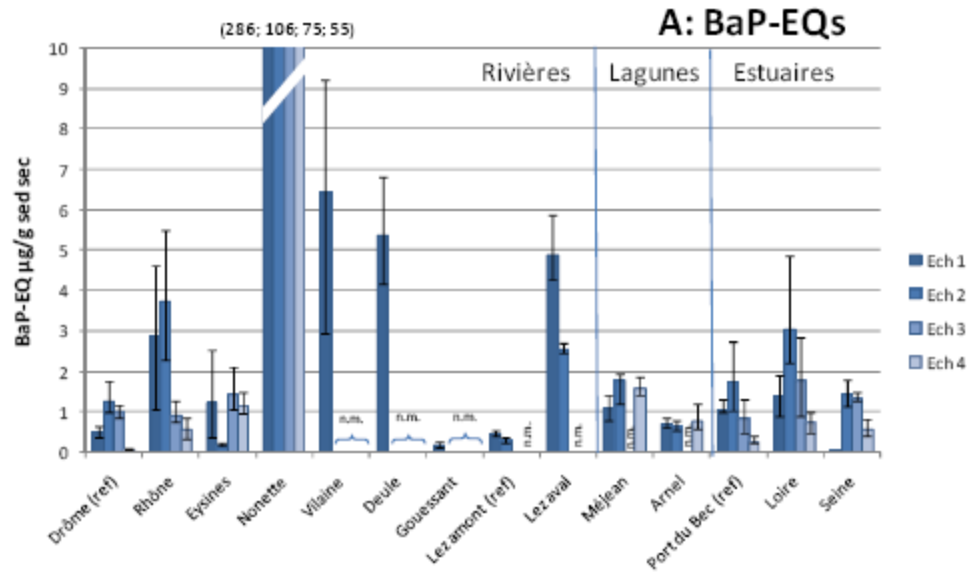
Caractérisation de la contamination des sédiments

- ⊙ Aucune activité (anti)-androgénique détectée (LD: 0.24 ng DHT EQ /g)
- ⊙ Activités oestrogéniques



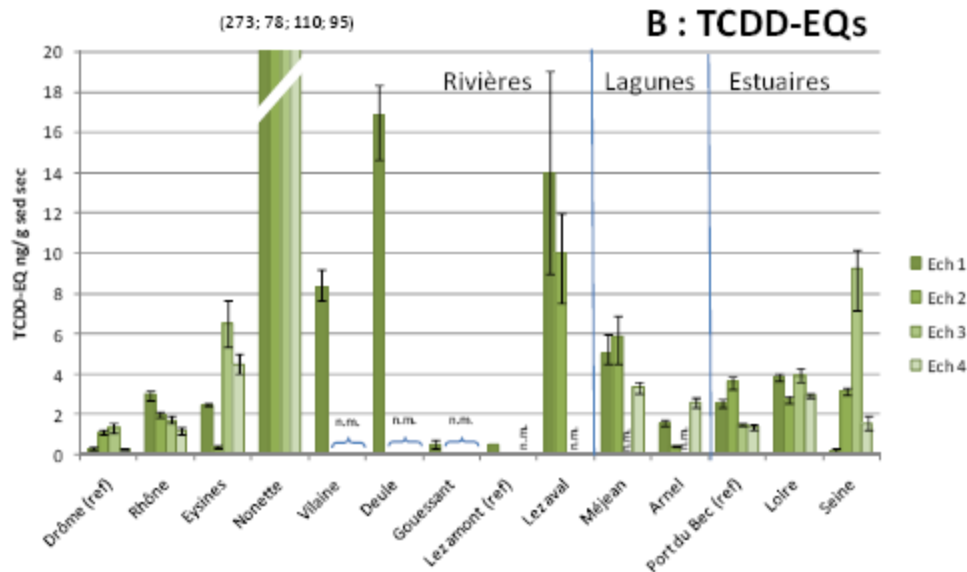
Sites les plus impactés = pression anthropique

Caractérisation de la contamination des sédiments



⊙ Activités BaP-like et Dioxin-like

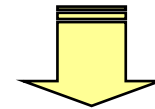
Forte imprégnation
du milieu par les
ligands du AhR



Contribution des HAPs dans les activités BaP-like et dioxin-like

		PBDEs	PCBs	HAPs	Bio-BaP-EQ	Bio-TCDD-EQ
PBDEs	R	1	0,544 ^{**}	-0,160	-0,155	-.149
	p		.001	.344	.397	.431
	n		37	37	32	30
PCBs	R		1	.269	.353 [*]	.345
	p			.108	.048	.062
	n			37	32	30
HAPs	R			1	.864^{***}	.938^{***}
	p				.000	.000
	n				32	30
Bio-BaP-EQ	R				1	.979 [*]
	p					.000
	n					30
Bio-TCDD-EQ	R					1
	p					
	n					

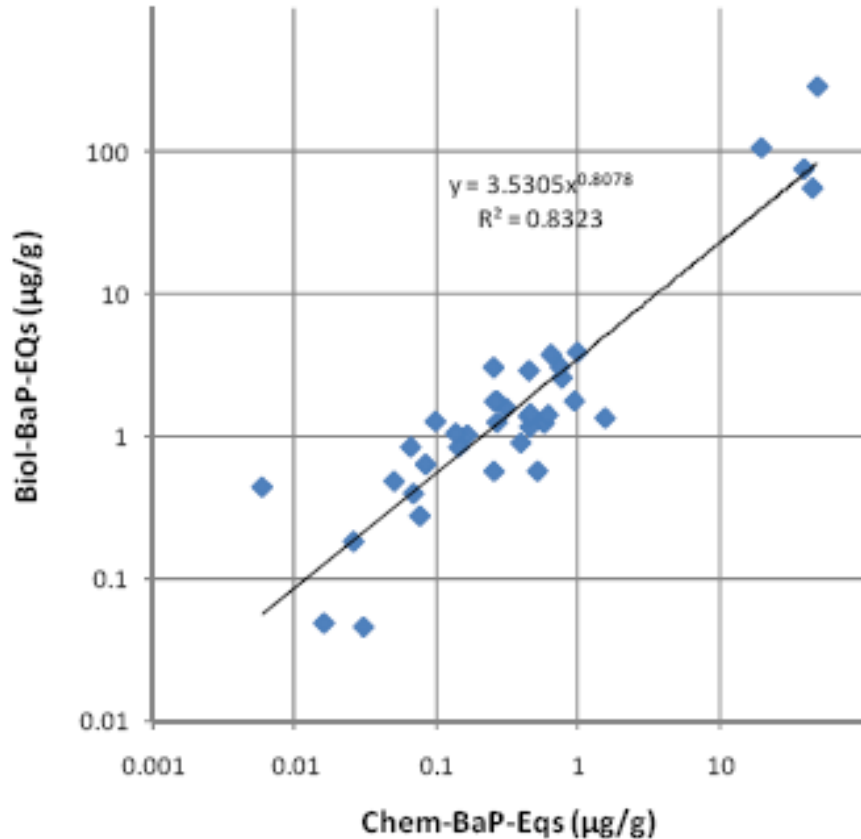
Fortes corrélations



Contribution des HAPs totaux dans les inductions d'EROD mesurées dans les bio-essais

Matrice de corrélation de Pearson entre **analyses chimiques** (HAPs, PCB, PBDE) et **bio-essais in vitro** (bio-BaP-EQ et bio-TCDD-EQ)

Contribution des HAPs dans les activités BaP-like et dioxin-like



Contribution des
HAPs analysés à
l'activité toxique
globale des
sédiments

Régression linéaire entre les équivalents-BaP dérivés des concentrations en HAPs à activité dioxin-like (**Chem-BaP-Eqs**) et les équivalents-BaP dérivés du bioessai PLHC-1 (**Biol-BaP-Eqs**)



Bilan intermédiaire



- ⊙ Très faibles contamination des sédiments des sites choisis comme références
- ⊙ Pas de contamination des sites par des substances à activité (anti)-androgénique
- ⊙ Contamination assez générale des sites par des substances à activités oestrogénique, HAP-like et dioxin-like
- ⊙ Les HAPs contribuent aux inductions d'activité EROD *in vitro*
- ⊙ Bonne corrélation entre les effets observés *in vitro* et les analyses chimiques

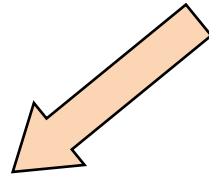
Démarche du programme

Sites



IMPACTS

Invertébrés /
Poissons



Etude des
communautés

Biomarqueurs

- biochimiques
- histologique (intersexe)
- Indexes somatiques



Indices de
populations



Biomarqueurs

Impacts de la contamination sur les organismes

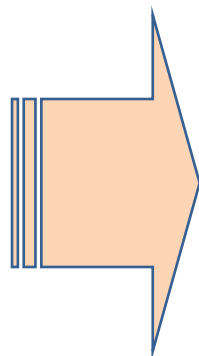
🎯 Analyses sur les poissons



Rutilus rutilus
(Gardon)



Leuciscus cephalus
(Chevaine)



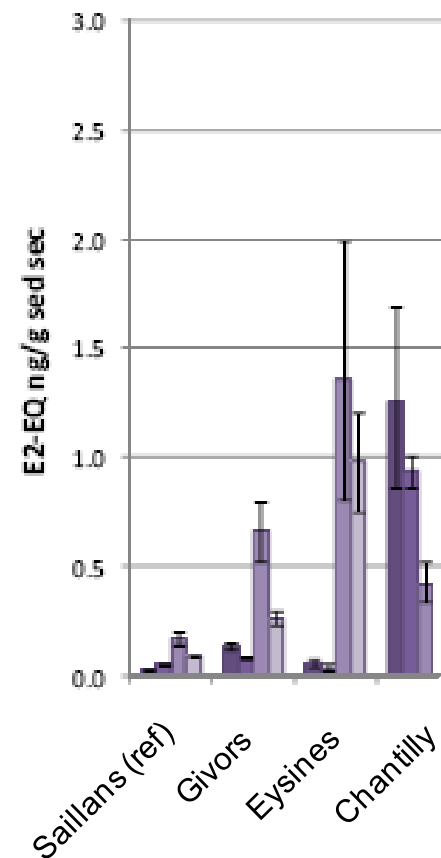
Prélèvements en juin et/ou en septembre:

- **Biométrie** (taille, masse totale, masse des gonades)
- **Analyse histologique** des gonades (stades de développement, intersexes)
- Biomarqueurs
 - **Vitellogénine** (ELISA)
 - **Activité aromatasé cérébrales** (méthode de l'eau tritiée)
 - **Activités EROD**

La vitellogénine, marqueur d'oestrogénicité

Sites	Espèces	Vtg juin 2006	Vtg Sept 2006	% d'intersexes Juin/sept
Saillans	Chevaine	ref	ref	
Givors	Chevaine	=	=	
Eysines	Chevaine	++	++	
Chantilly	Chevaine	=	=/+	
Castelnau	Chevaine	=	=/+	
Venables	Gardon	nm	ref	
Don	Gardon	nm	+	
Coëtmieux	Gardon	nm	=	
Sainte-Marie	Gardon	nm	=	
Pose	Gardon	nm	++	

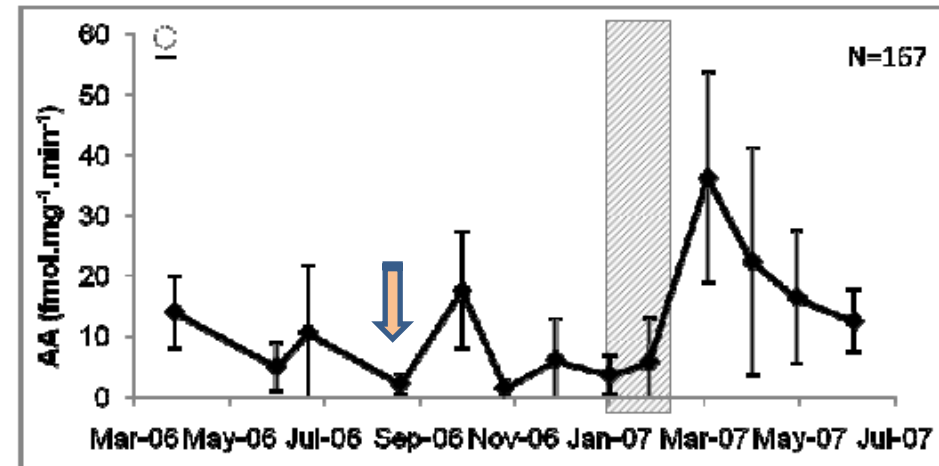
ref: site de référence; nm: non mesuré
+: induction; =: pas de différence



Activités œstrogénique
des extraits de sédiments

Les activités aromatase cérébrales (AA)

Sites	Espèces	AA cerveaux femelles (sept)	AA cerveaux males (juin)	AA cerveaux males (sept)
Saillans	Chevaine	ref	ref	
Givors	Chevaine	=	-	
Eysines	Chevaine	=	--	
Chantilly	Chevaine	=	=	=
Castelnau	Chevaine	=	=	=
Venables	Gardon	ref	nm	ref
Pose	Gardon	++	nm	++



Gardon :
septembre = période de repos
avec de faibles AA cérébrales

↓
Période idéale pour
les inductions d'AA

ref: site de référence; nm: non mesuré
+: induction; =: pas de différence; -: inhibition

Cas particulier de la Jalle d'Eysines



Sites	Espèces	VTG (juin et sept 2006)	AA cerveaux males (juin)	AA cerveaux males (sept)
Saillans	Chevaine	ref	ref	ref
Eysines	Chevaine	++	--	

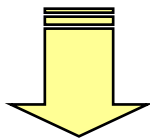
TABLE 2. Steroid Concentrations (ng·L⁻¹) in the Effluent of the Eysines STP^a

steroid	July 2003	Sept 2003	Feb 2004
E1	71.4	57.8 ± 2.8	17.2 ± 0.3
E2	<2.0	4.4 ± 0.8	<1.0
E3	<1.0	2.9 ± 0.1	<1.0
EE2	<4.0	<2.0	<1.0
MeEE2	<2.0	<2.0	<2.0
Pg	<9.0	interference	interference
No	<5.0	<1.0	<2.0
DN	<5.0	<2.0	<2.0

^a Results above the quantification limits are expressed as mean values ± standard deviations ($n = 3$, except in July, $n = 1$) and <X means less than the detection limit (ng·L⁻¹). Interference = matrix interference.

Labadie and Budzinski, 2005

⊙ Rivière connue pour être contaminée par les oestrogènes

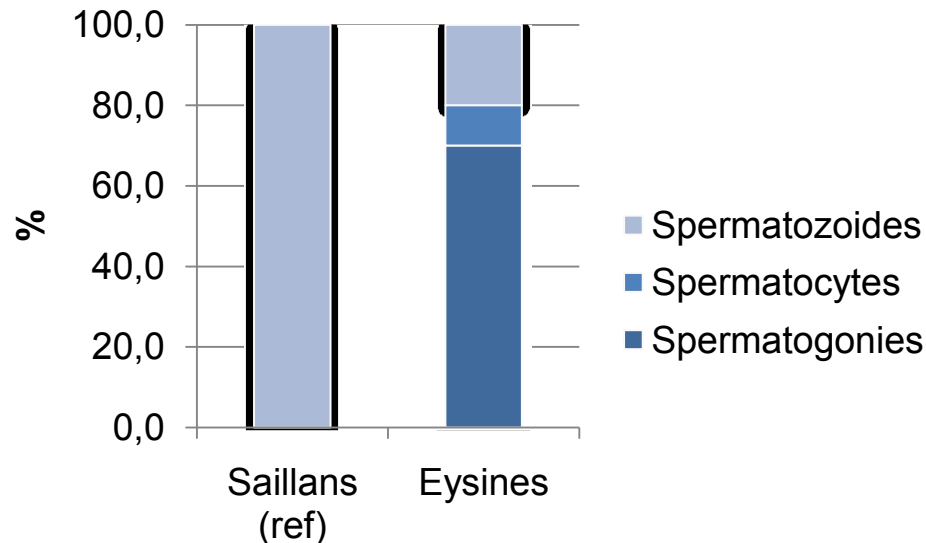


Pourquoi des inhibitions d'activité aromatase cérébrales ?

Cas particulier de la Jalle d'Eysines

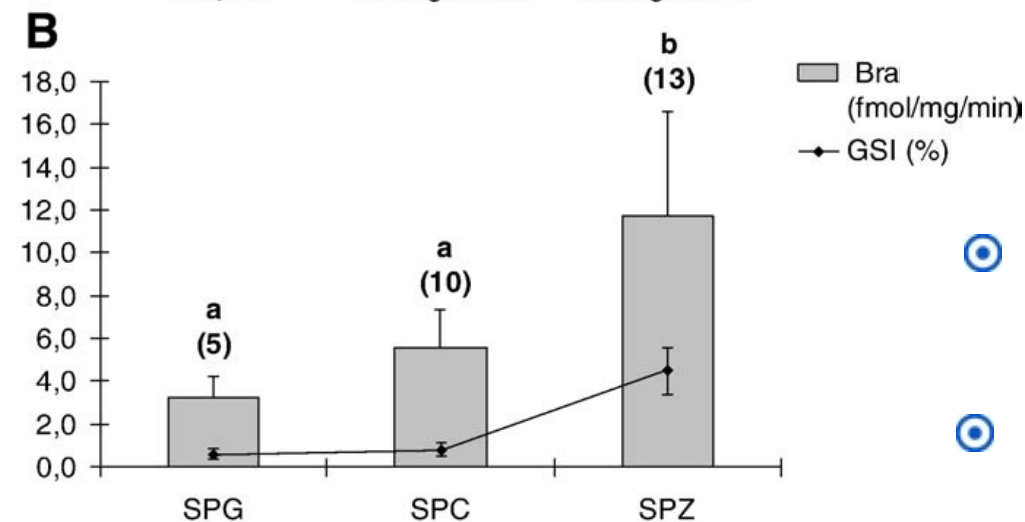


Sites	Espèces	VTG (juin et sept 2006)	AA cerveaux males (juin)	AA cé m (s)
Saillans	Chevaine	ref	ref	
Eysines	Chevaine	++	--	



Stade de maturité des males en juin 2006

- ⊙ Blocage du cycle de reproduction par les oestrogènes
- ⊙ Bien connaître l'espèce utilisée et notamment son cycle de reproduction

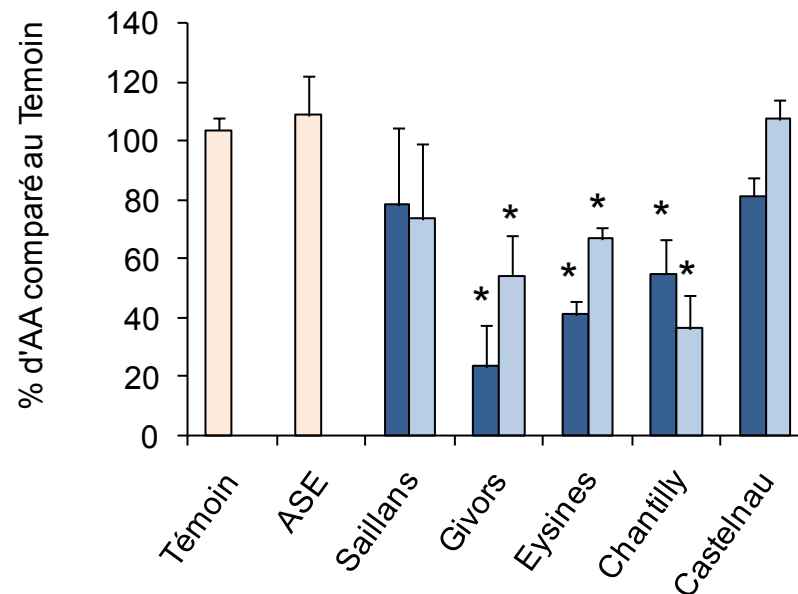


AA cérébrales en fonction du stade de maturité du testicule

Cas particulier de la Jalle d'Eysines



Sites	Espèces	VTG (juin et sept 2006)	AA cerveaux males (juin)	AA cerveaux males (sept)
Saillans	Chevaine	ref	ref	
Eysines	Chevaine	++	--	



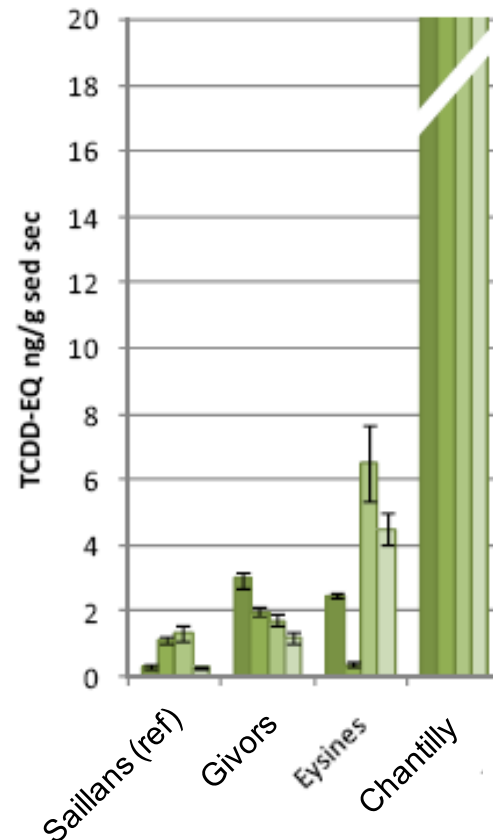
Activités inhibitrices de l'aromatase des extraits de sédiments

Contamination des sédiments par des inhibiteurs d'AA

Activités EROD

Station/Sexe	Juin 2006		Sept 2006		Juin 2007		Sept 2007	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Saillans	ref	ref	ref	ref	ref	ref	ref	ref
Givors	=	=	+	=	++	++	++	++
Eysines	+	+	=	=	++	++	++	++
Chantilly	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++
Castelnau	=	+	=	=	nm	nm	nm	nm

M: males; F: femelles; ref: site de référence; nm: non mesuré



Activités dioxine-like des extraits de sédiments

- ⊙ Une majorité des sites contaminés présentent des inductions d'activités EROD : caractère ubiquiste de la contamination par les HAPs et dioxin-like

Conclusions

- ⊙ **Tester sur le terrain une démarche combinant évaluation de la contamination des milieux et effets induits *in situ* sur les organismes**
 - ⊙ Possibilité d'éprouver des outils d'évaluation d'une contamination des milieux aquatiques par les PE (tests *in vitro* d'activité oestrogénique, androgénique et dioxin-like, activités aromatasés *in vitro* et *in vivo*)
 - ⊙ Aromatase: biomarqueur prometteur
 - ⊙ Bonne corrélation entre les effets *in vitro* et les analyses chimiques
 - ⊙ Correspondance des effets *in vivo* et *in vitro* pour les activités EROD/dioxin-like mais pas pour la synthèse de Vtg et les activités oestrogéniques
- ⊙ **Mise en évidence de la présence de PE et d'effets PE dans des rivières/estuaires français**

poissons

invertébrés

INERIS



HydroSciences
Montpellier



milieux



Conseil Supérieur de la Pêche

