



**Rencontre Agence de l'Eau Artois-Picardie
Perturbations endocriniennes**



Contamination et effets des xéno-oestrogenes dans le compartiment aquatique en Manche Orientale

C. Minier



Lille, 23 novembre 2006



Les perturbateurs endocriniens : Stratégie de recherche

✓ Les questions :

Quels contaminants sont présents dans l'environnement?

Sont-ils biodisponibles ?

Ont-ils des effets mesurables ?

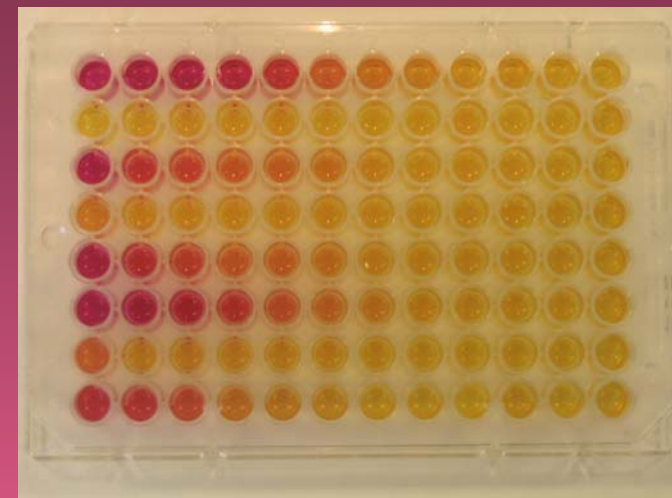
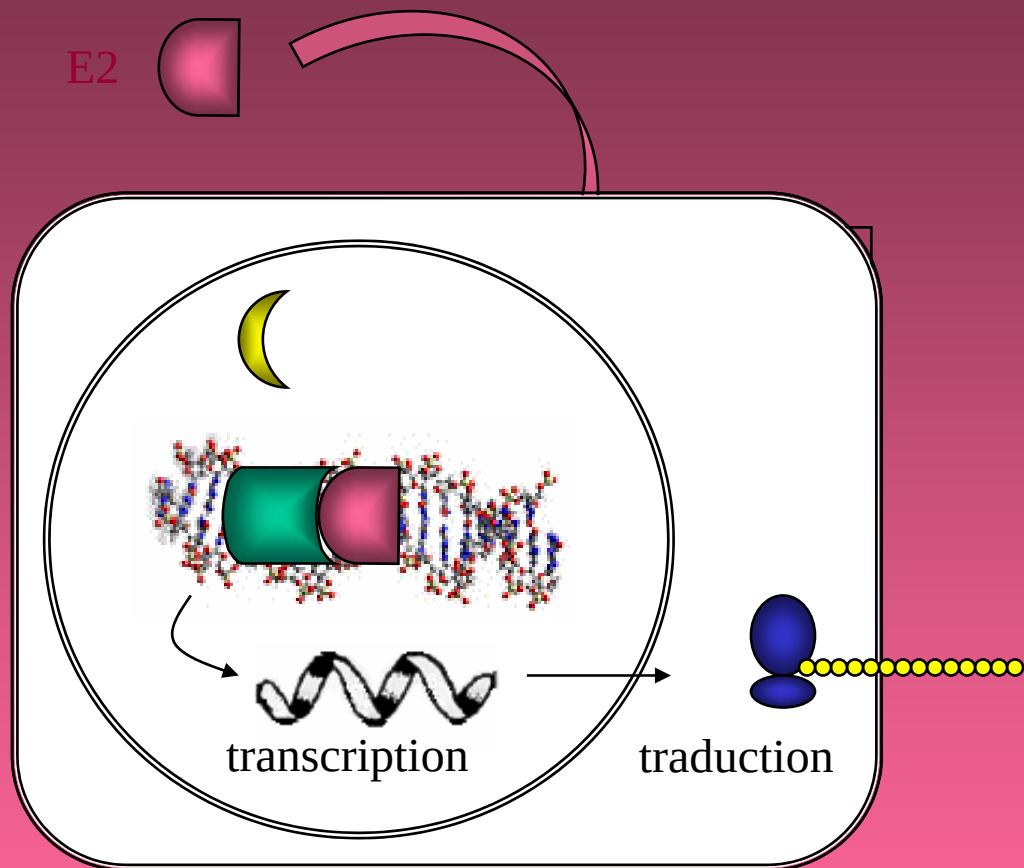
✓ La démarche :

Identifier les composés biologiquement actifs

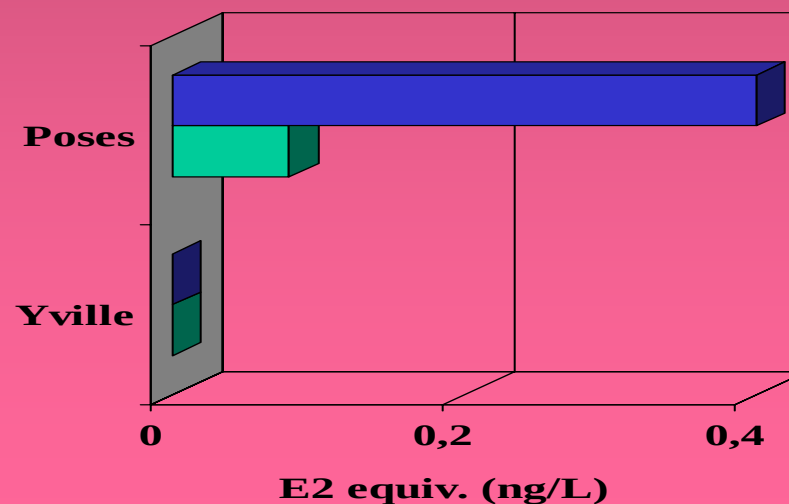
Intégrer différents niveaux d'organisation biologique



L'œstrogénicité des échantillons d'eau et de sédiment



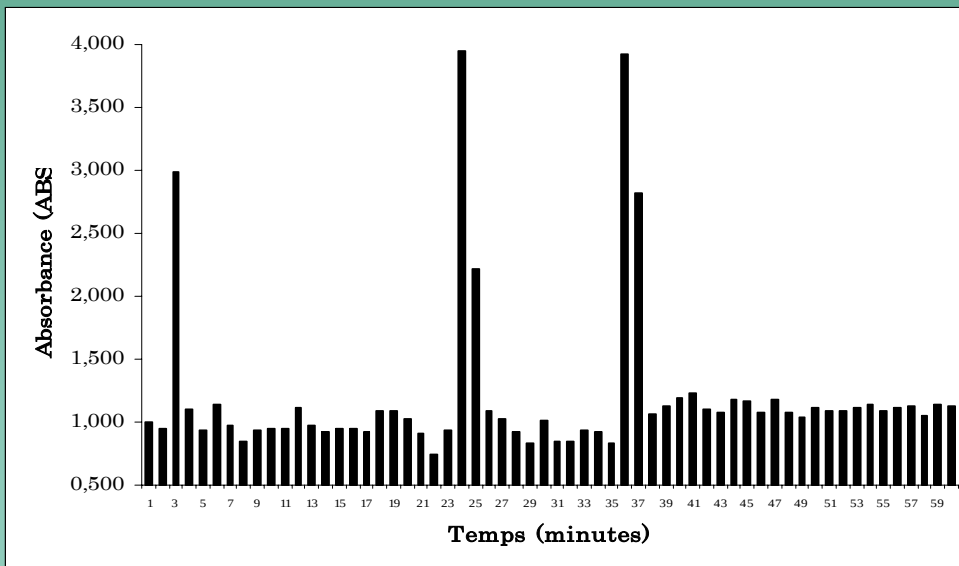
Le test YES (yeast estrogen screen) est basé sur l'expression du récepteur humain à l'oestradiol couplée à un gène rapporteur dans une levure génétiquement modifiée



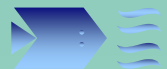
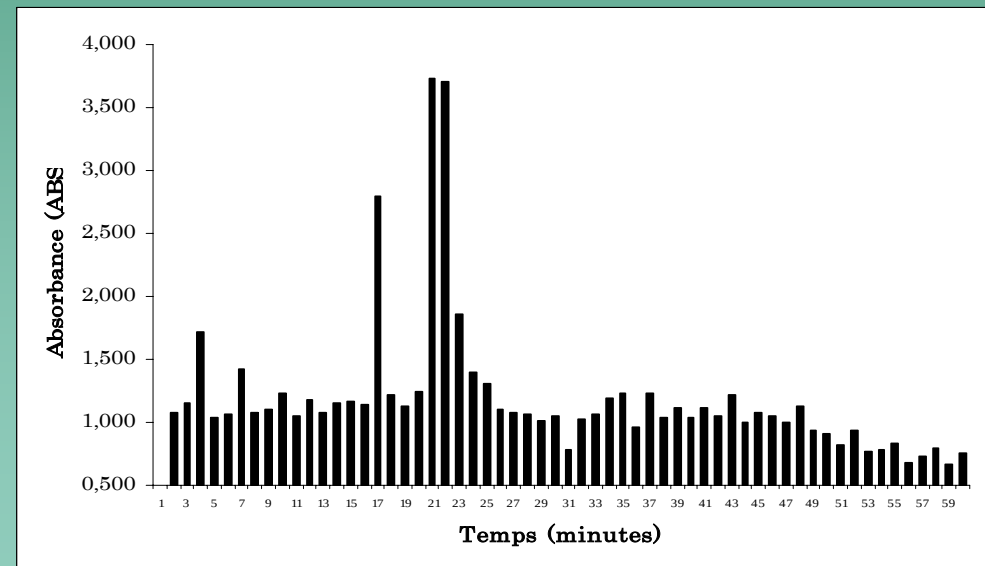
Identification des composés actifs

1 – Fractionnement HPLC 2 – Dosage de l'activité

Profil HPLC de l'eau

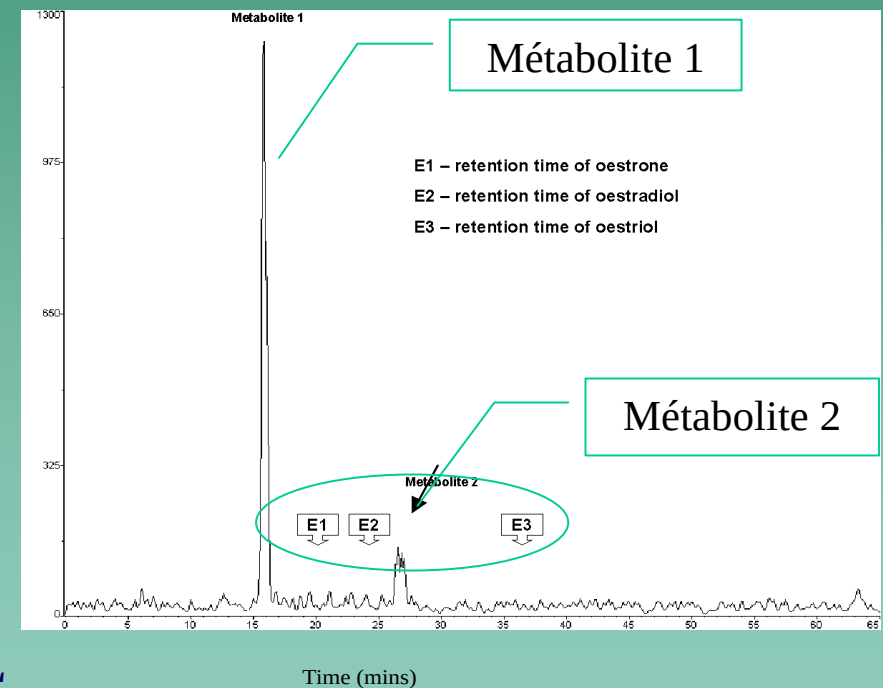
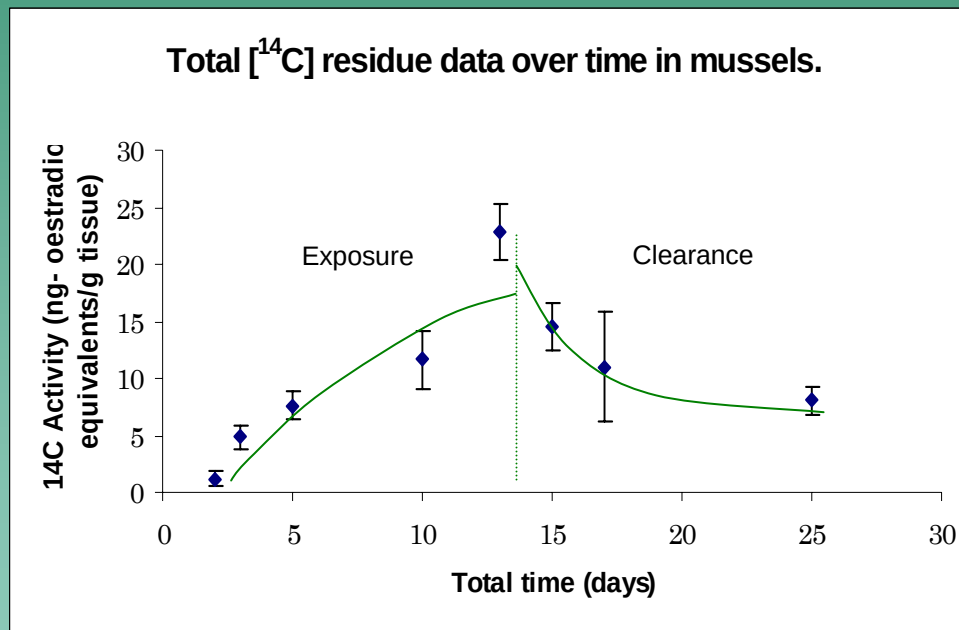


Profil HPLC des extraits tissulaires

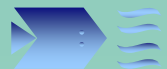


Accumulation et métabolisation de l'estradiol

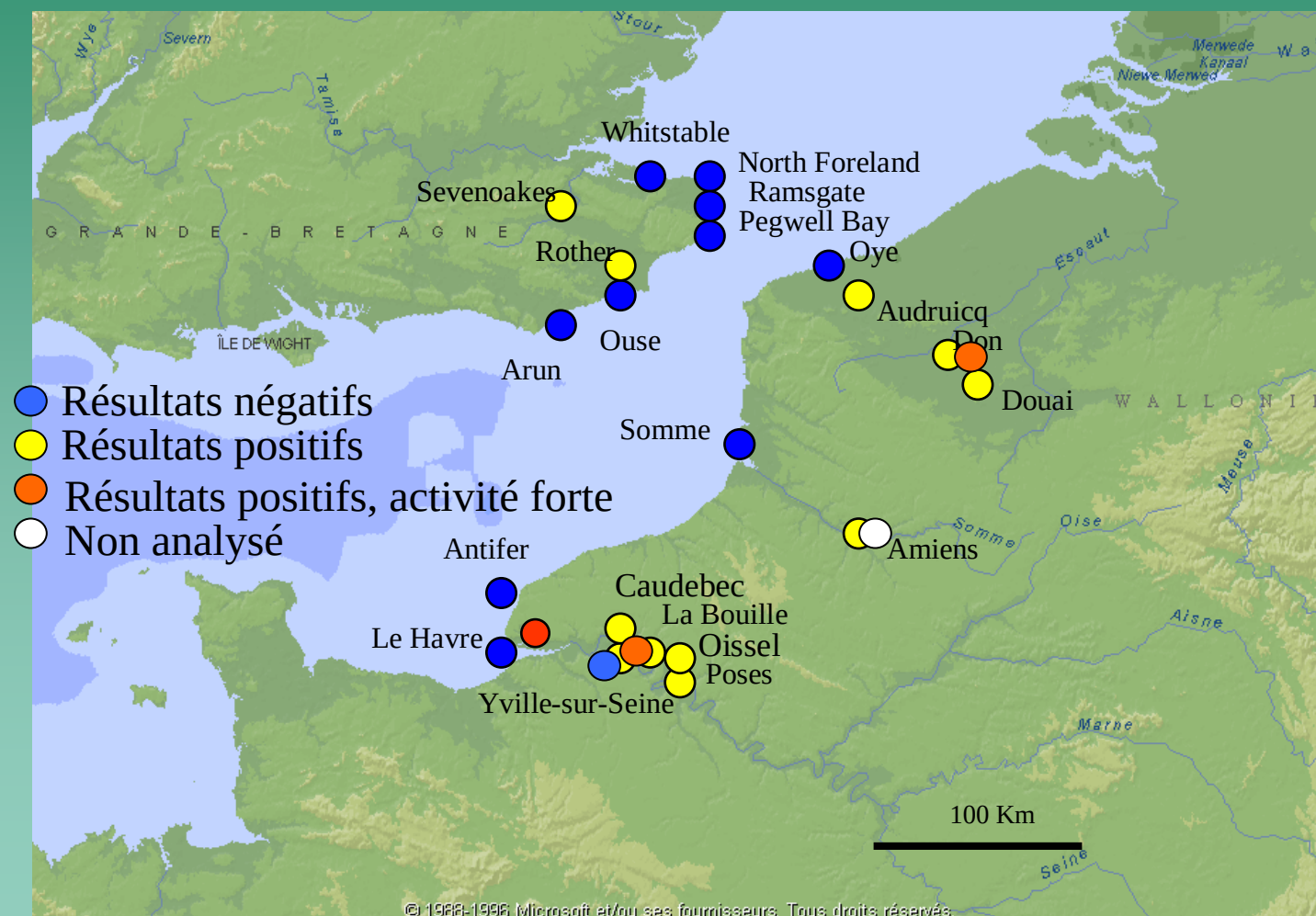
Chromatogramme HPLC des composés
radiomarqués
présents dans les tissus de moules exposées au
[¹⁴C] oestradiol



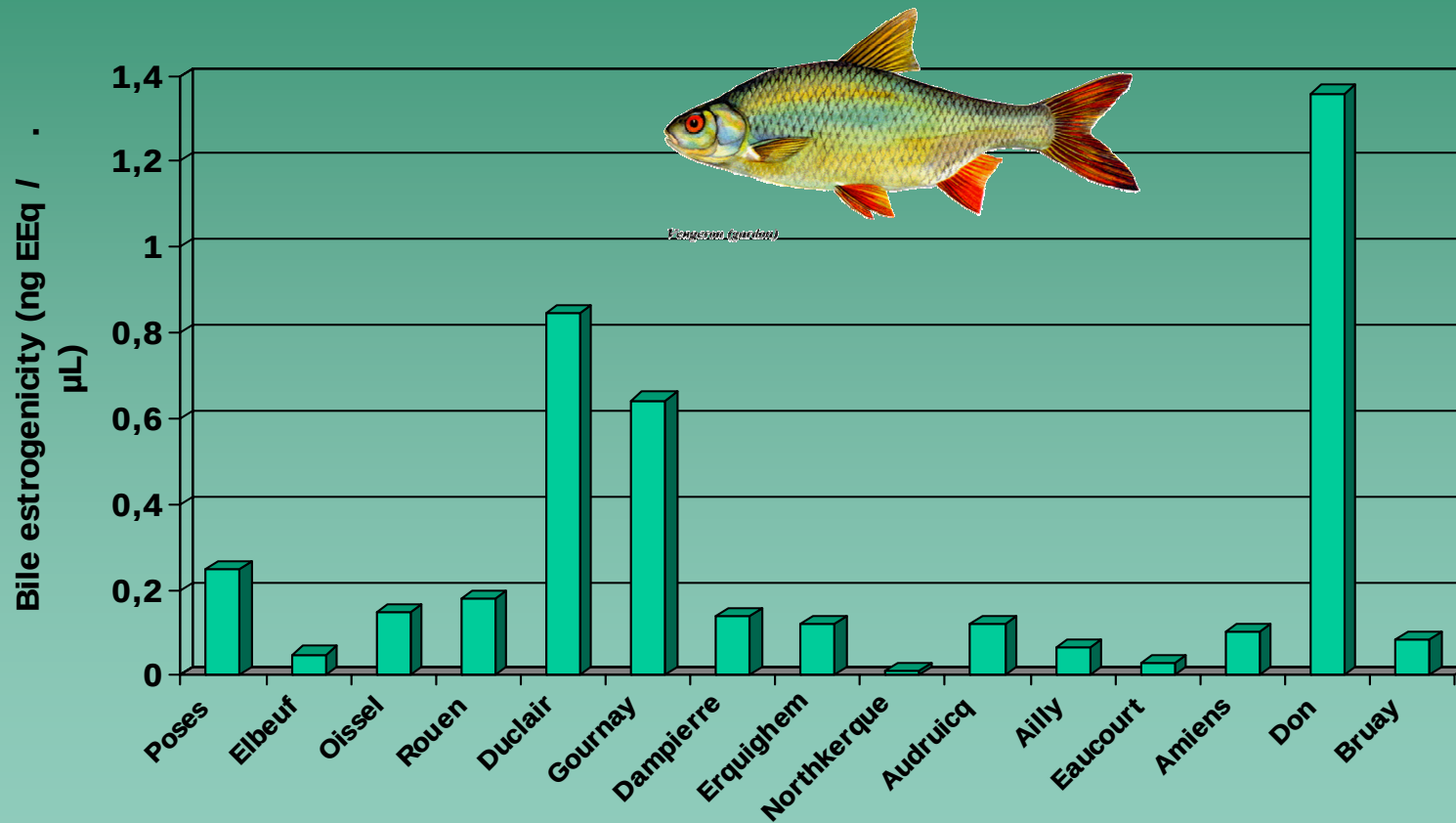
concentration moyenne dans l'eau : $9,4 \pm 2,9$ ng/L
facteur de bioconcentration après 13 jours: 2428 ± 257



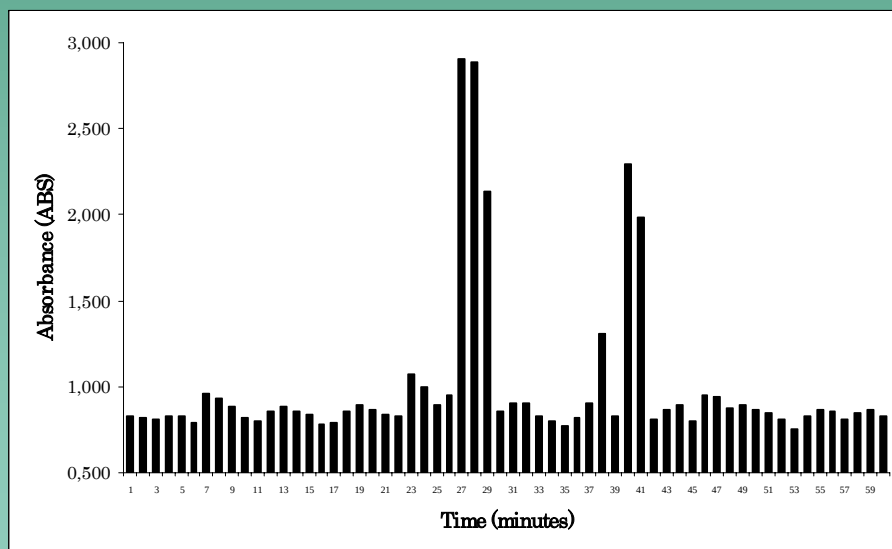
Activité oestrogénique (YES) moules



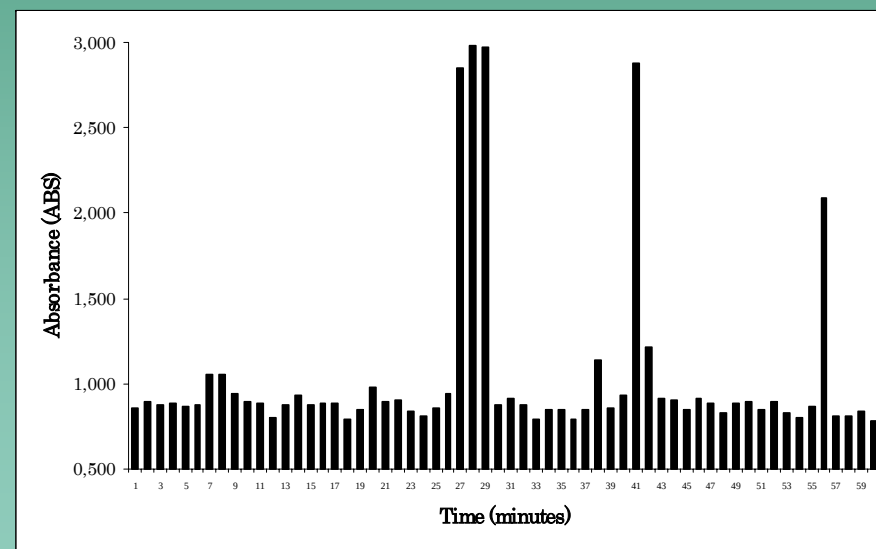
Activité estrogénique de la bile de gardons des rivières du nord de la France



Identification des composés actifs



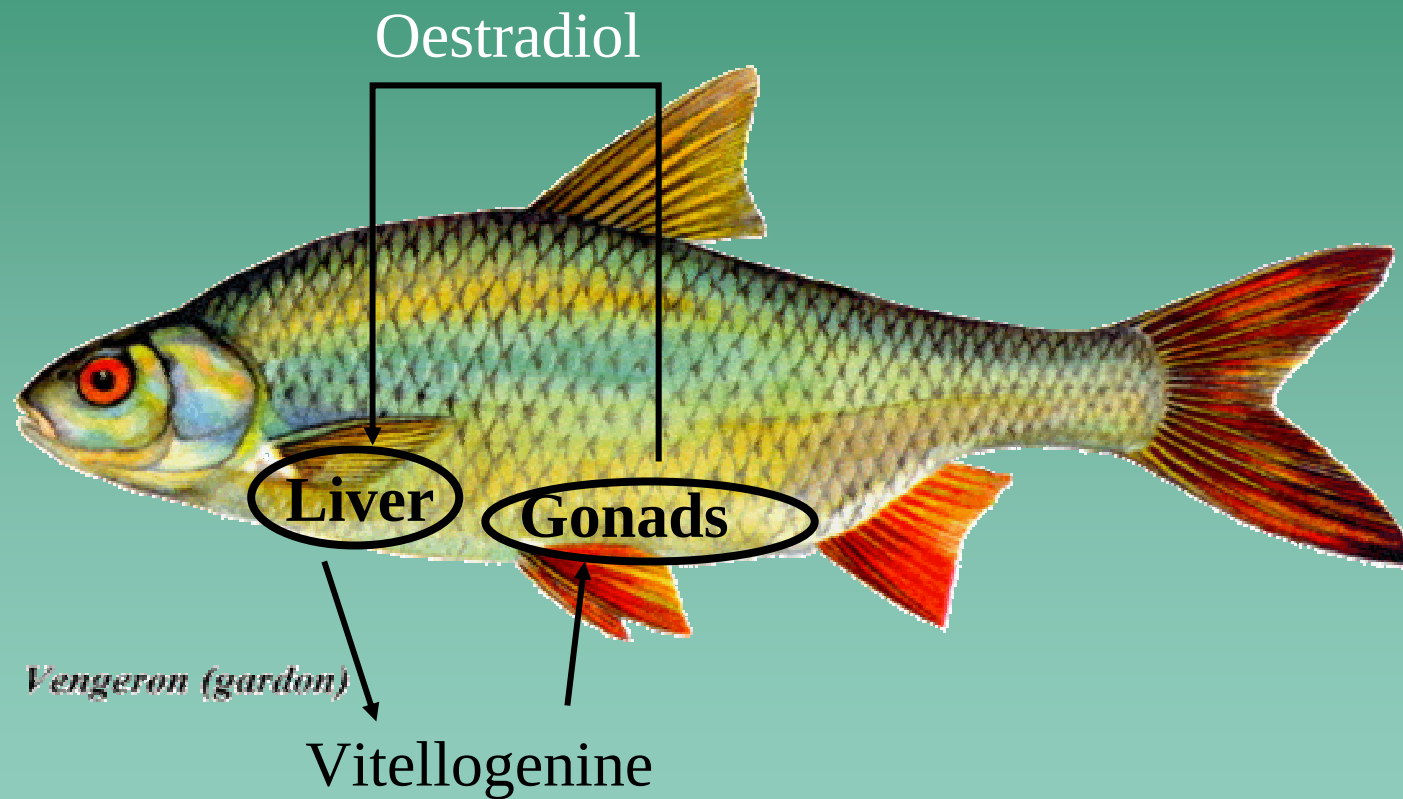
Gournay en Bray



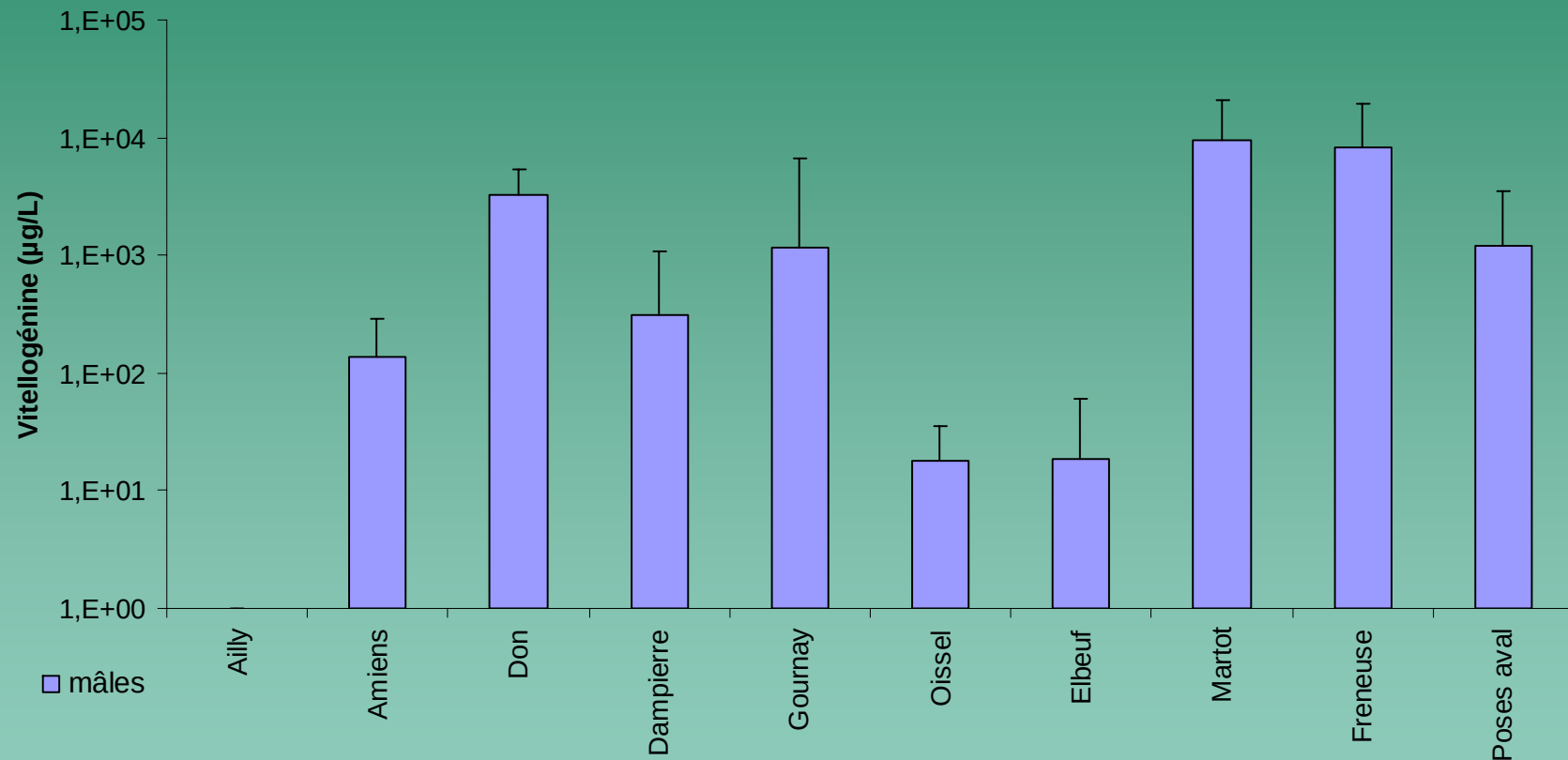
Duclair



Induction de la synthèse de vitellogénine chez les poissons mâles

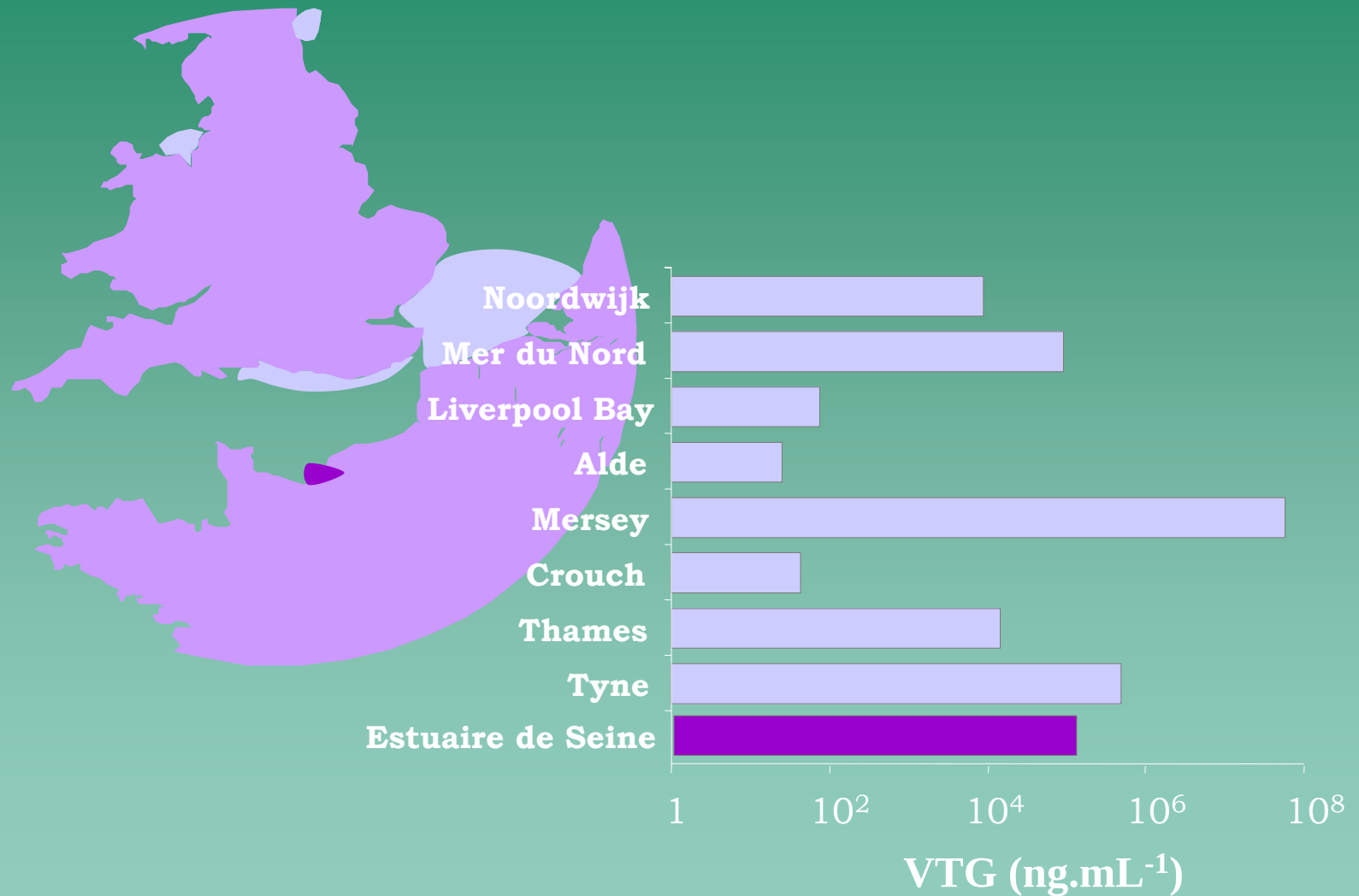


Taux de vitellogénine dans le plasma de gardons mâles



✦ Des concentrations très significatives ($> 100\mu\text{g/L}$) sont trouvés dans certains sites

Taux de vitellogénine dans le plasma de flets mâles

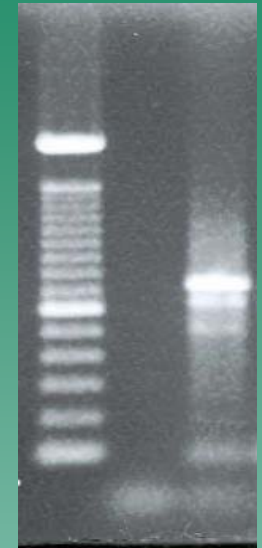


⇒ Un estuaire des plus perturbés d'Europe

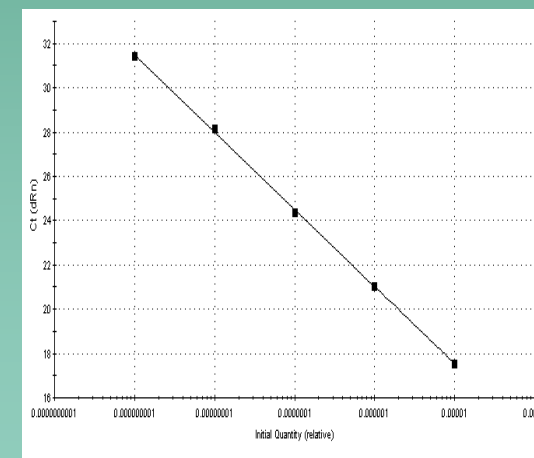
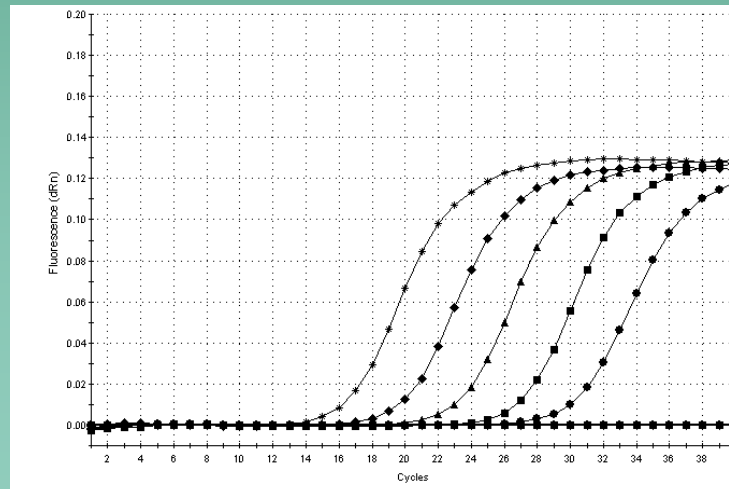
Recherche d'un gène de la vitellogénine chez *Mytilus edulis*

1. Identification du gène:

une portion de 720bp, de séquence homologue à celle de l'huître, a été isolée

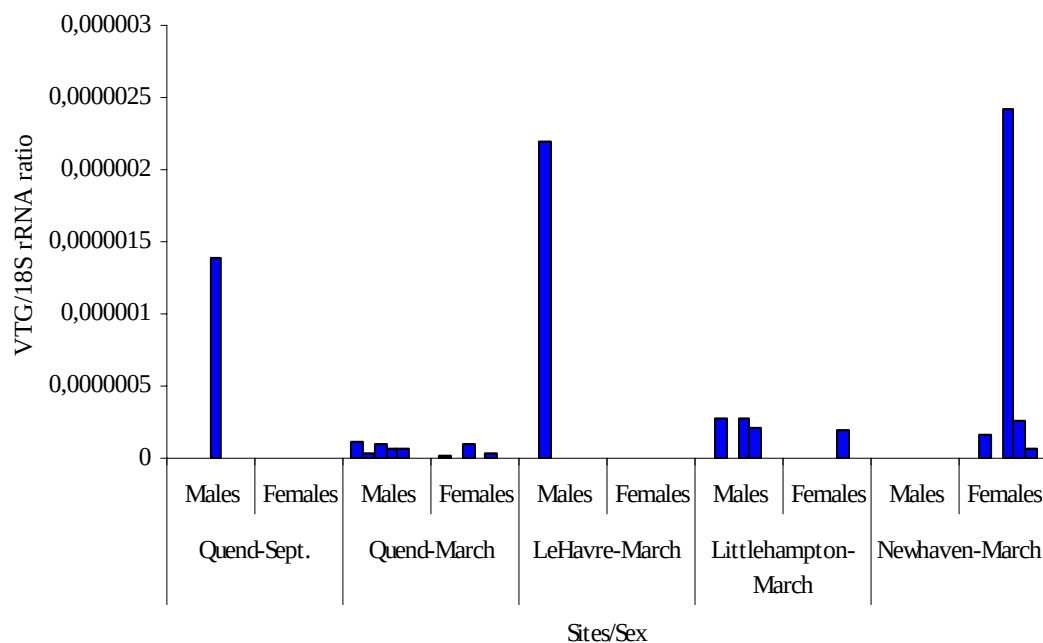


2. Étude de l'expression du gène par QPCR



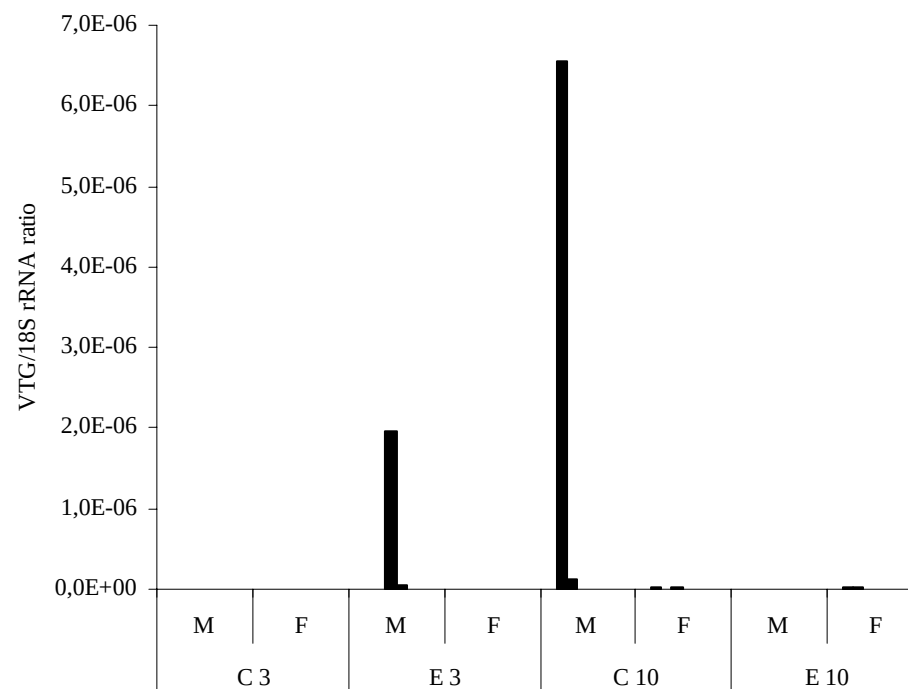
Quantification de l'expression de la vitellogénine chez *M. edulis*

Niveaux relatifs de vtg mRNA dans les gonades
(valeurs individuelles) collectées dans
différents sites en Manche Orientale



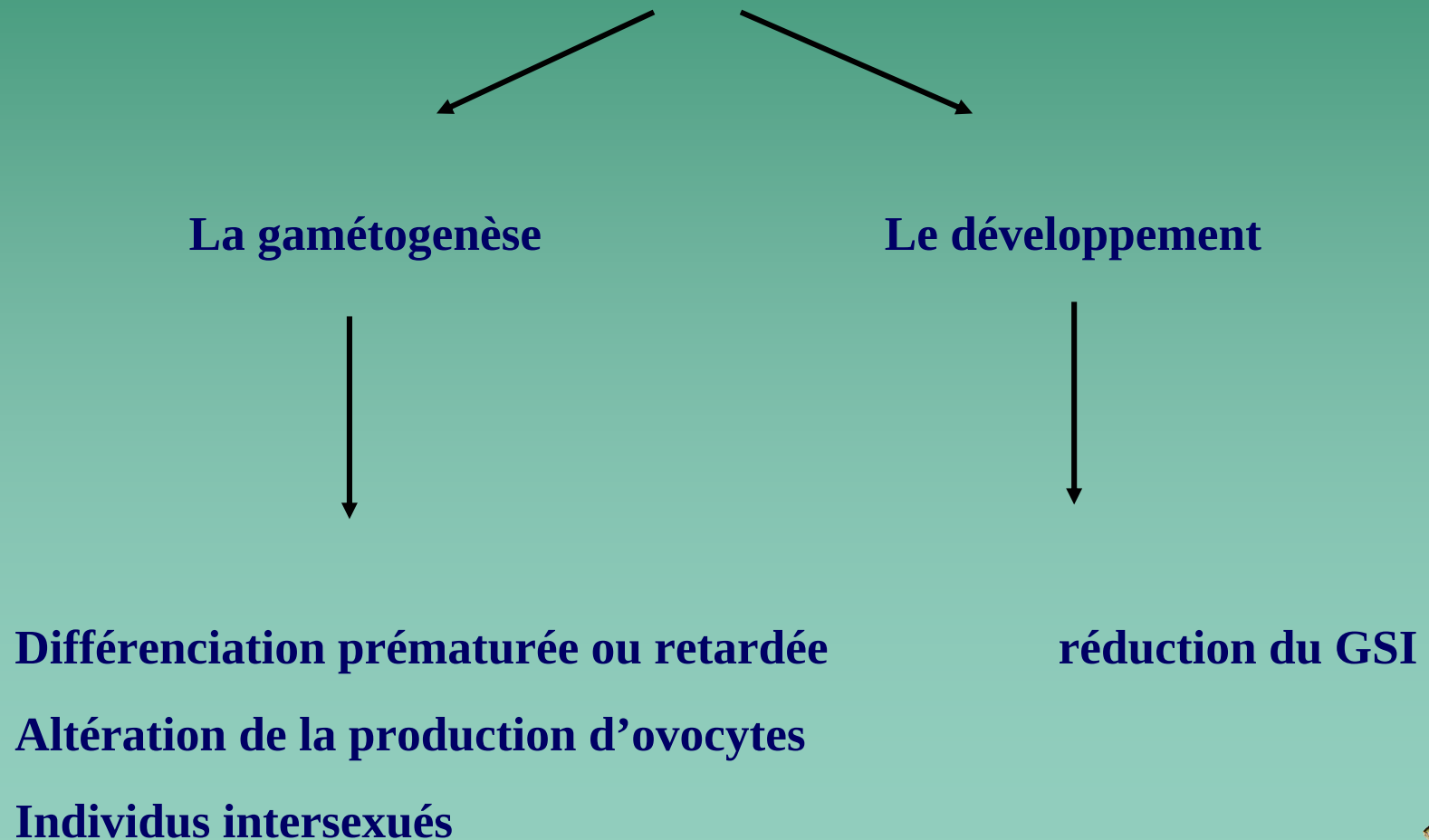
Effet de traitement par
effluent de STEP

Figure 4.7. VTG relative levels in *M.edulis* gonads exposed to equivalent of 10% sewage effluent. C- Control group, E- Exposed group, number- sampling day, M- males, F- females. Data presented as individual values. N=>5

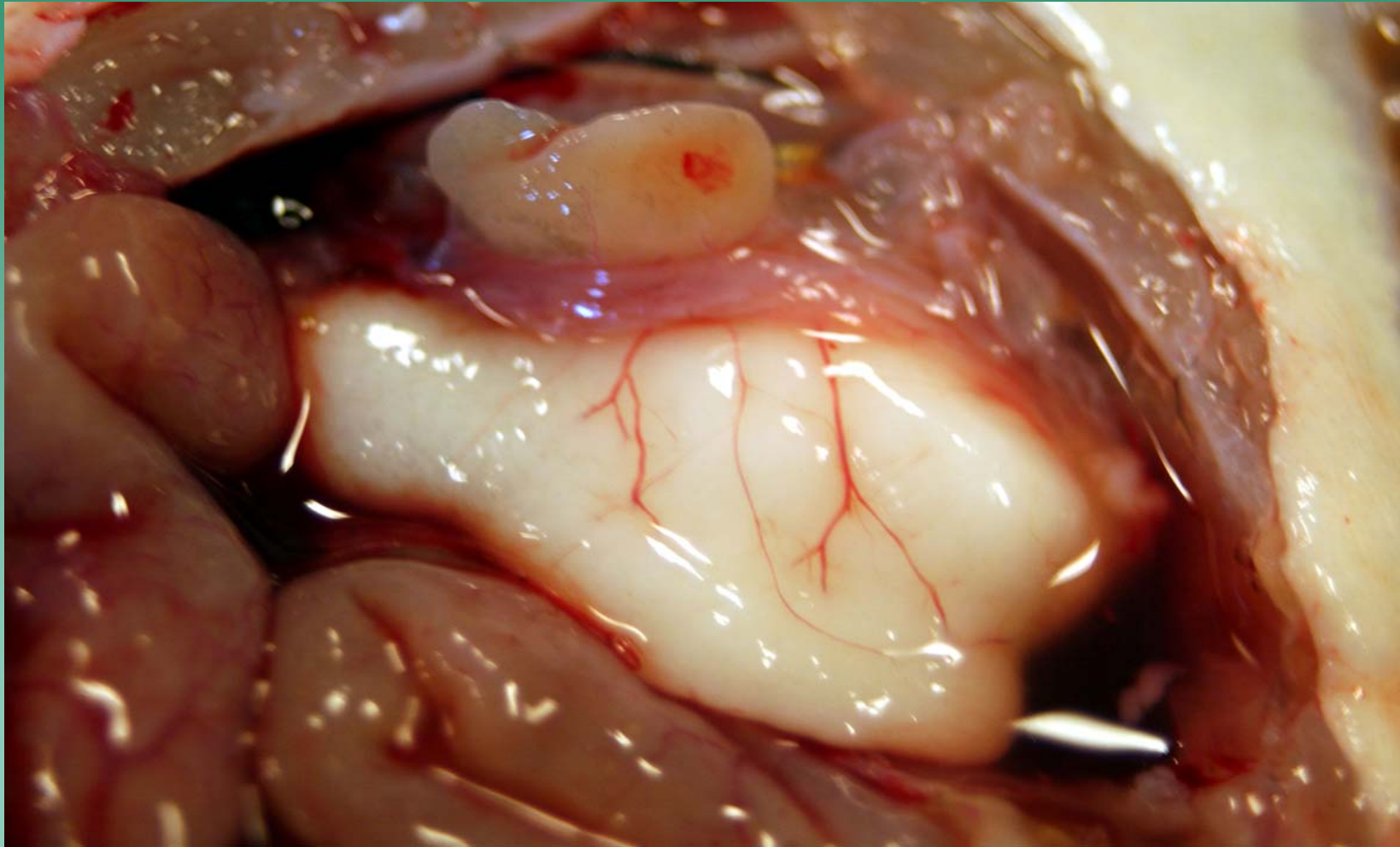


Effets sur les individus

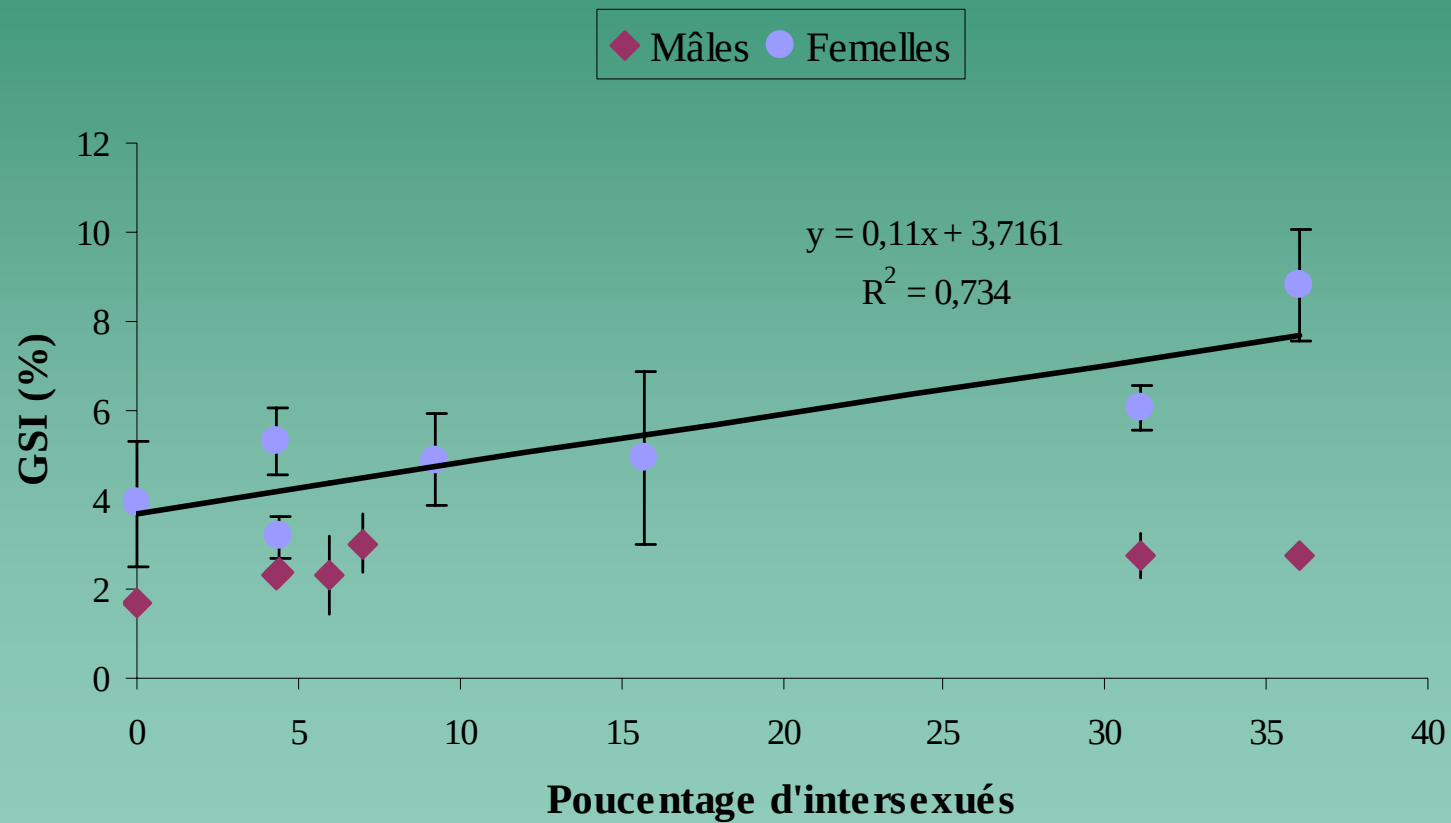
Les marqueurs moléculaires peuvent-ils être reliés à la physiologie?



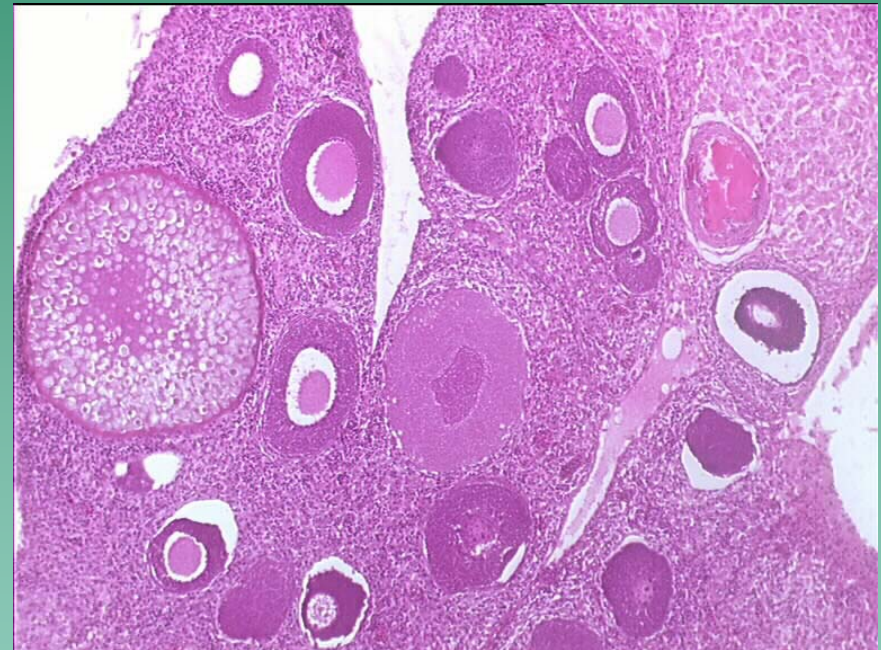
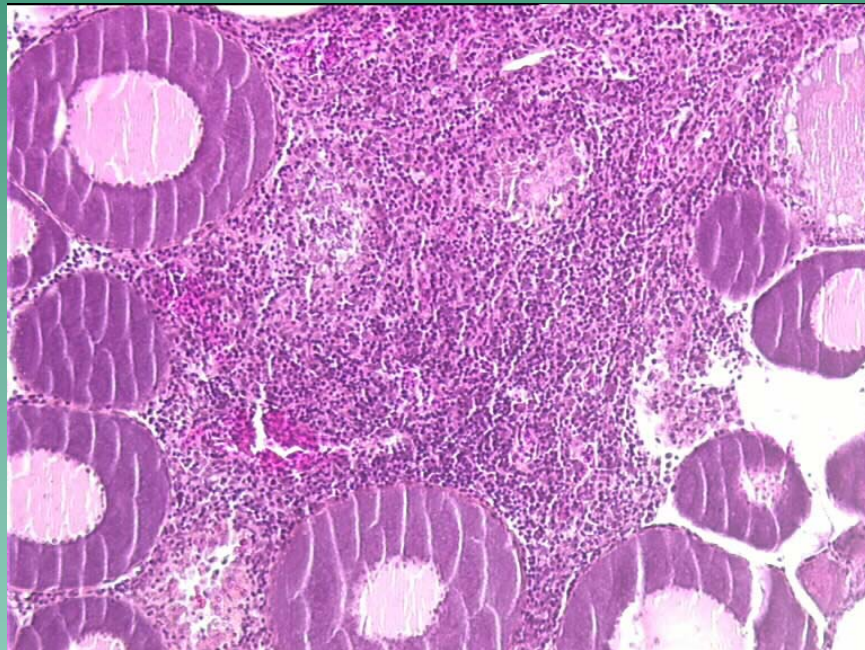
Développement des gonades



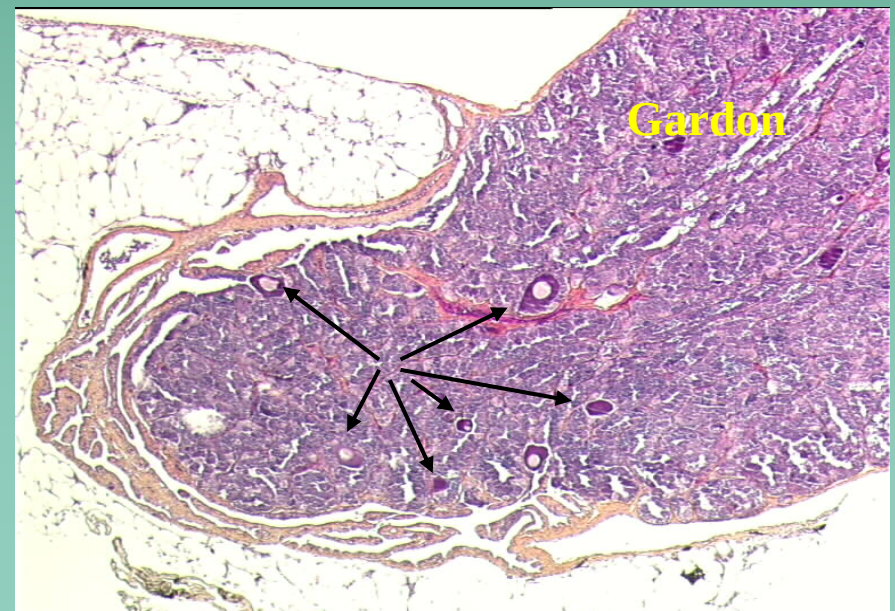
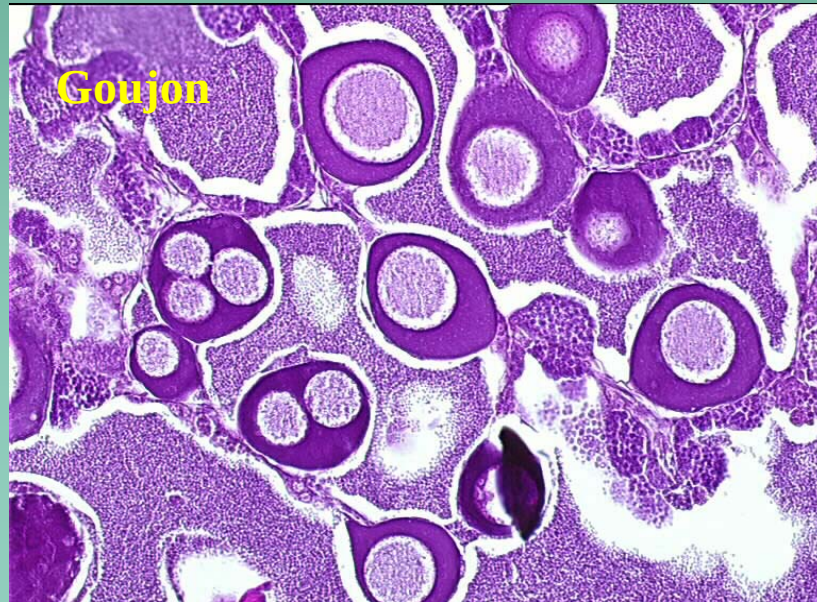
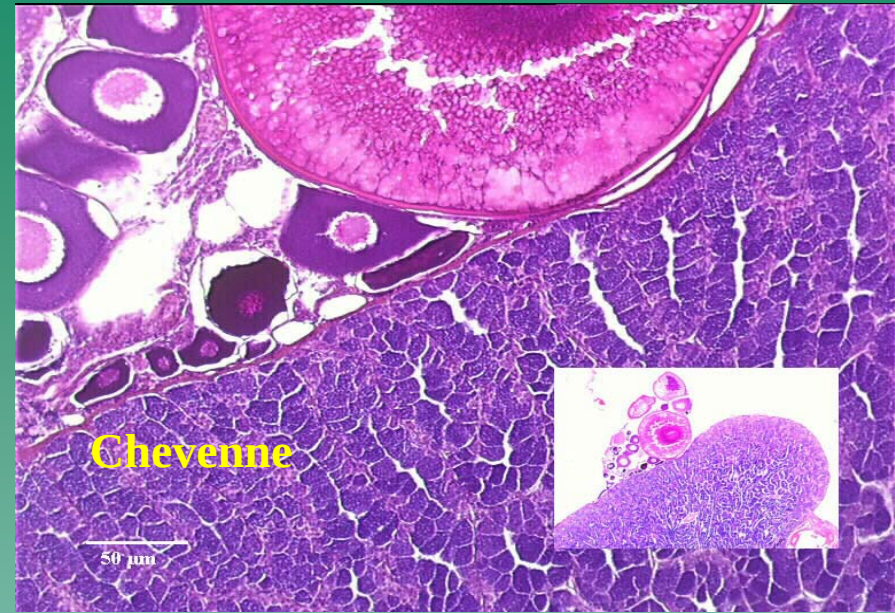
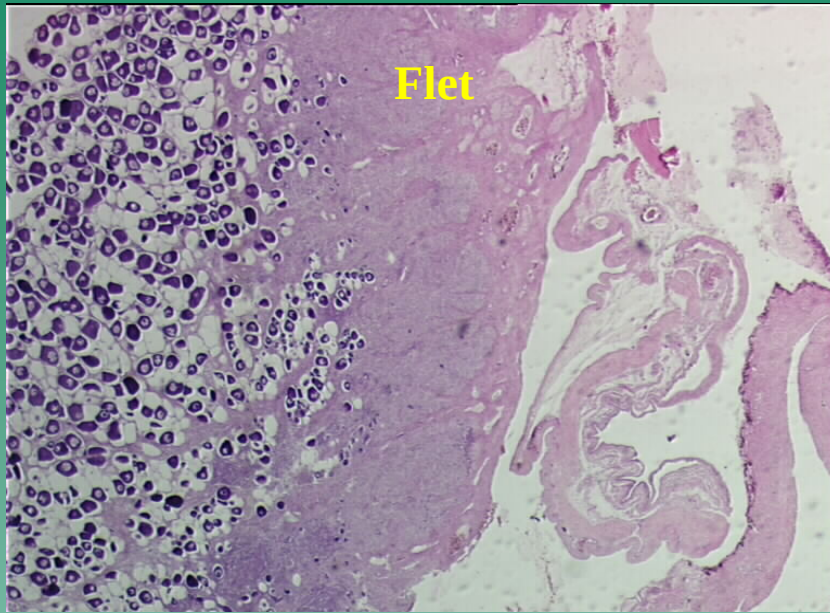
Intersex et développement gonadique (GSI)



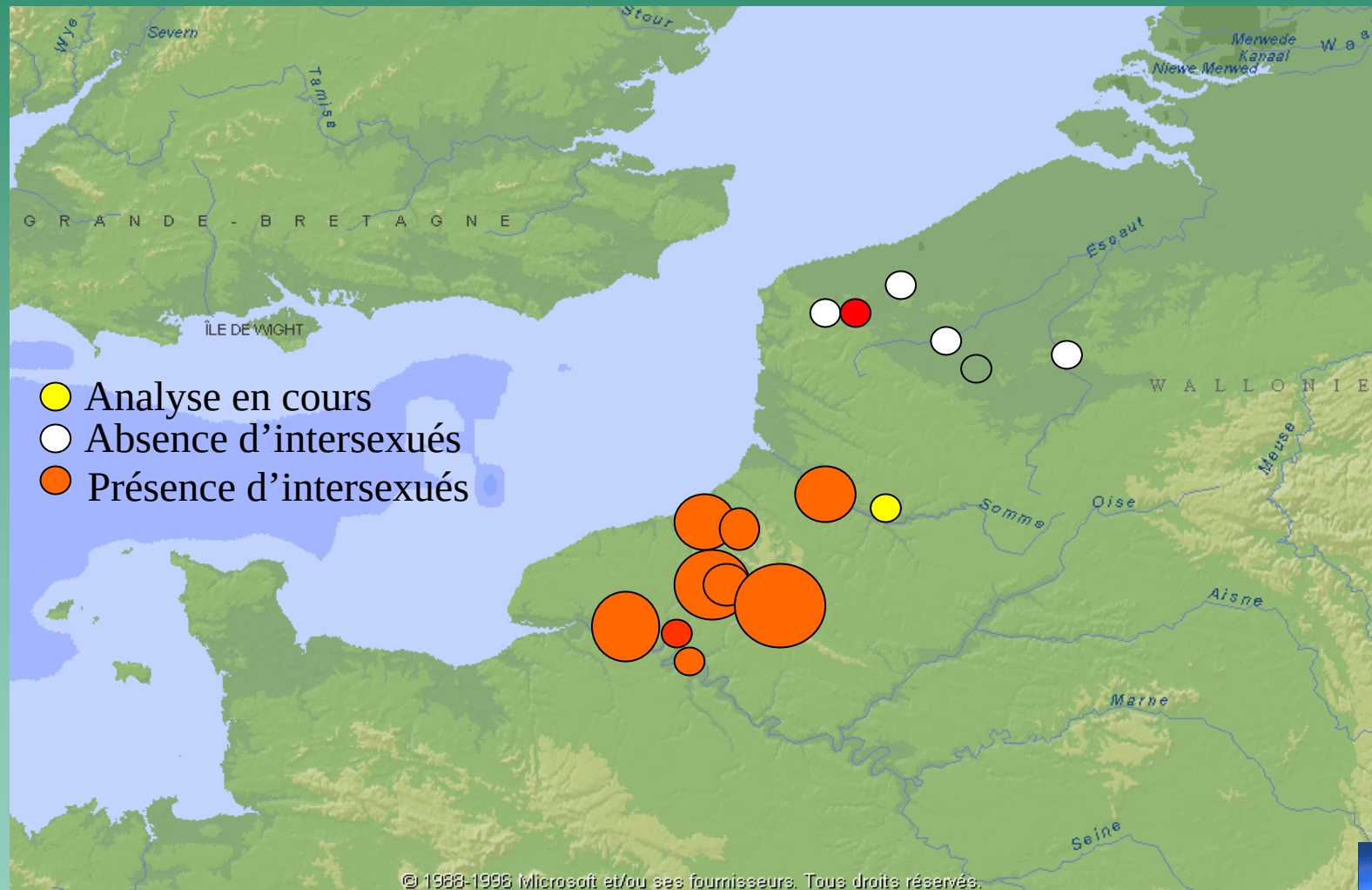
Effets sur la gamétogénèse



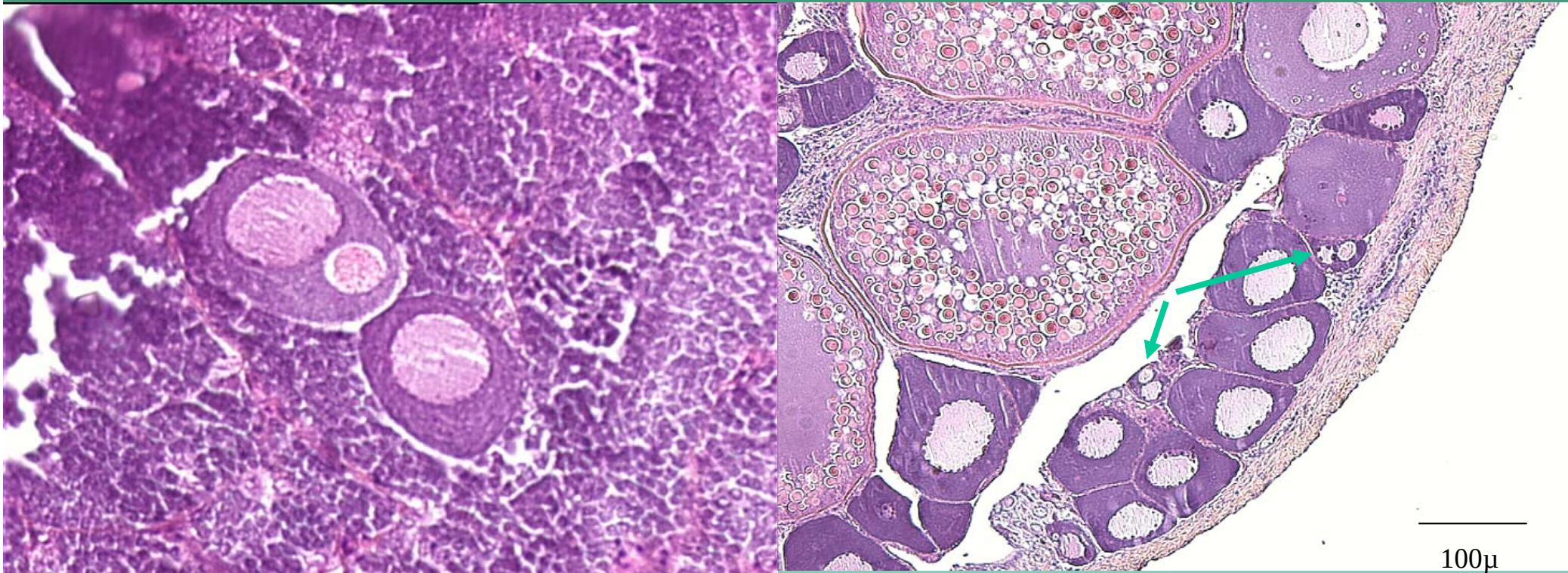
Poissons intersexués



Intersexualisation des poissons



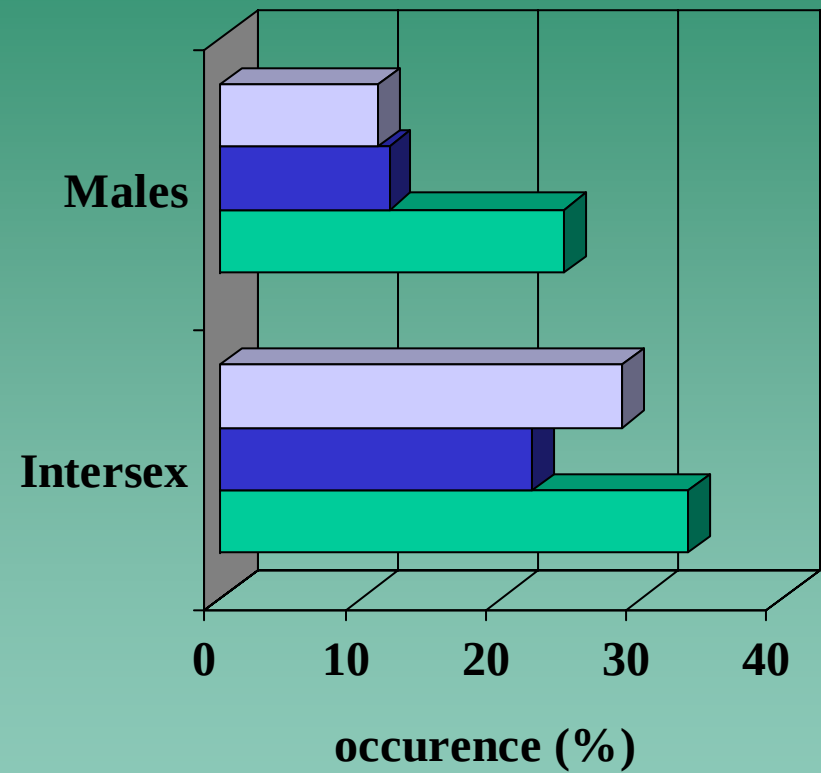
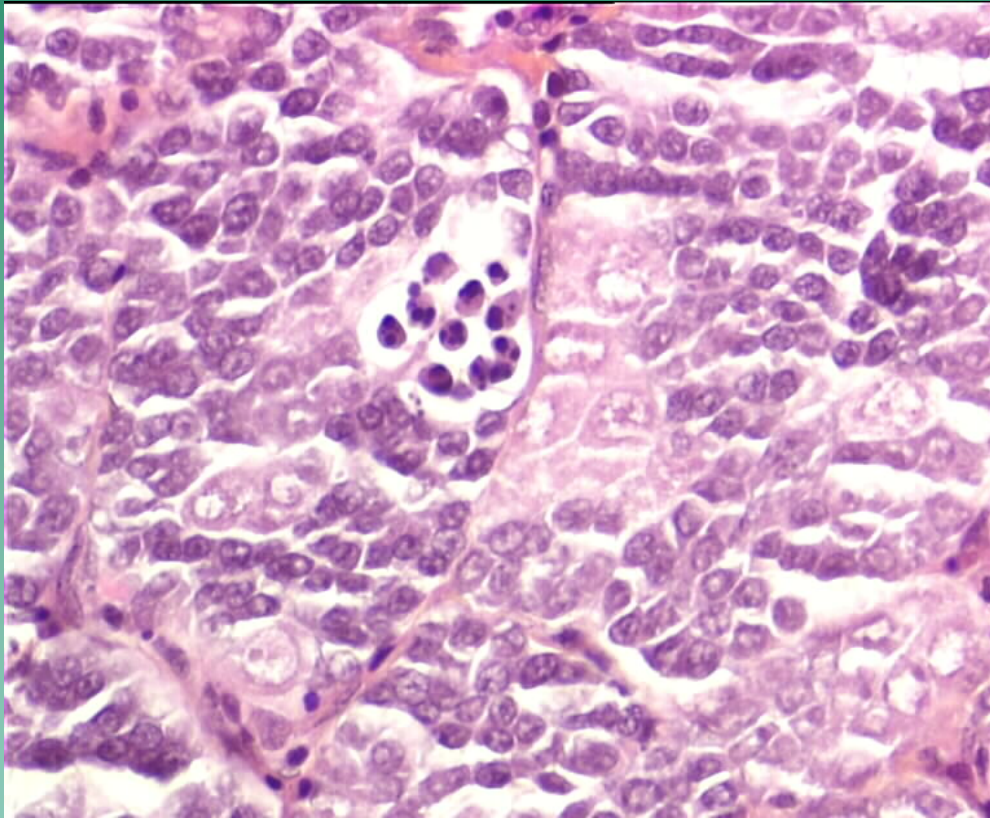
Ovocytes polynucléaires



- ◆ Des ovocytes polynucléaires ont seulement été déjà observés chez des rats exposés à de fortes doses de DES et chez les alligators du lac Apopka



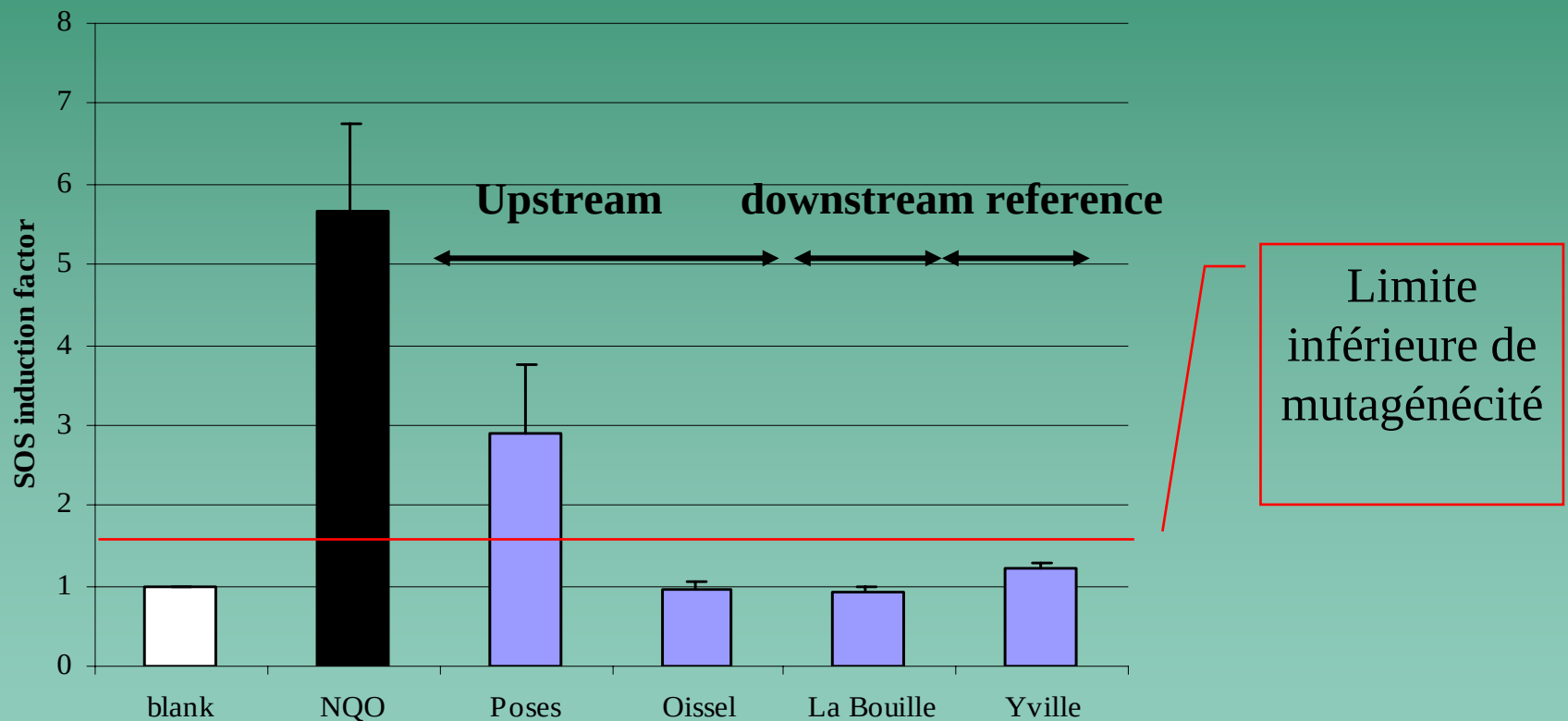
Nécroses



♦ les nécroses sont plus fréquentes chez les poissons intersexués

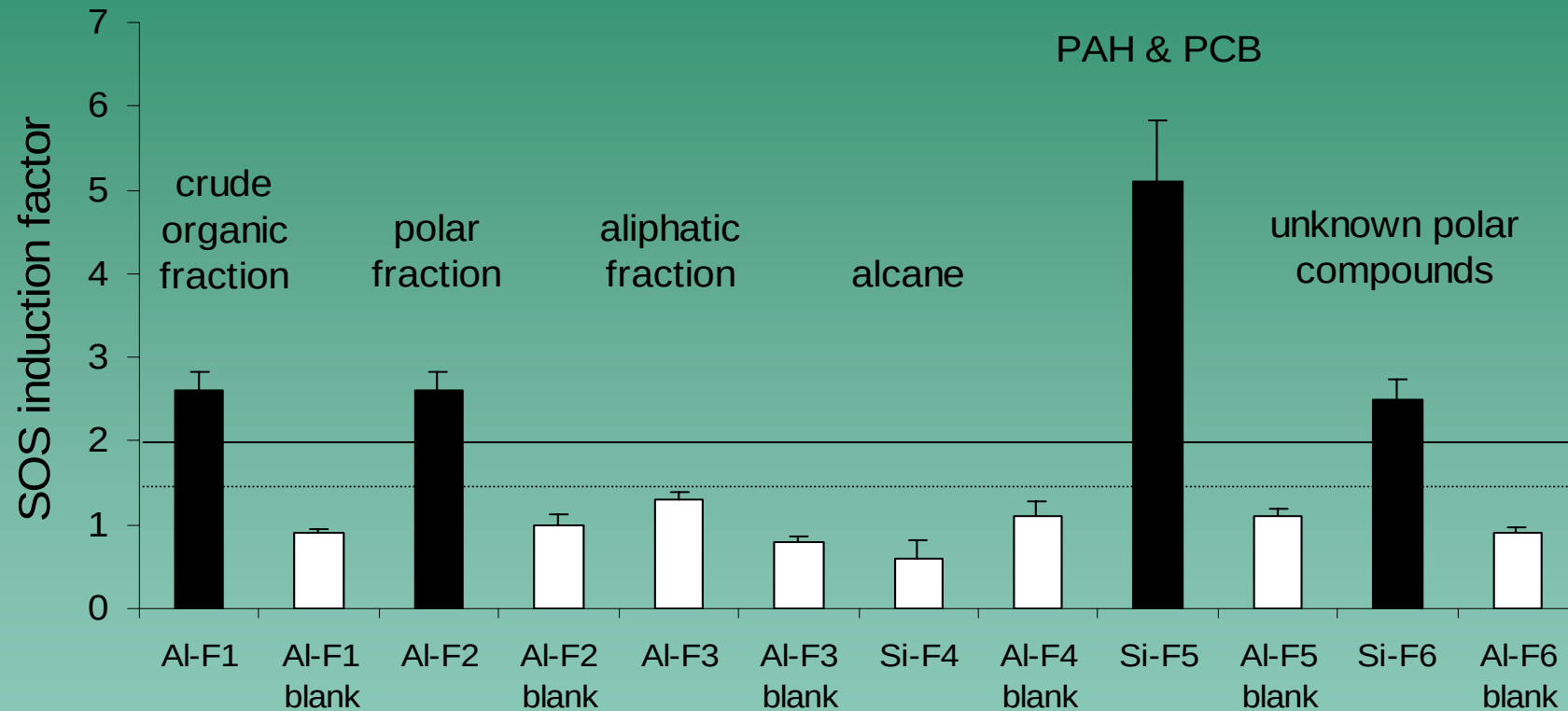
Mesure du potentiel mutagène par SOS chromotest

- Le test SOS chromotest est basé sur l'expression du système de réparation de l'ADN (sfiA gene) dans *E. coli* (Quillardet & Hofnung, 1985)



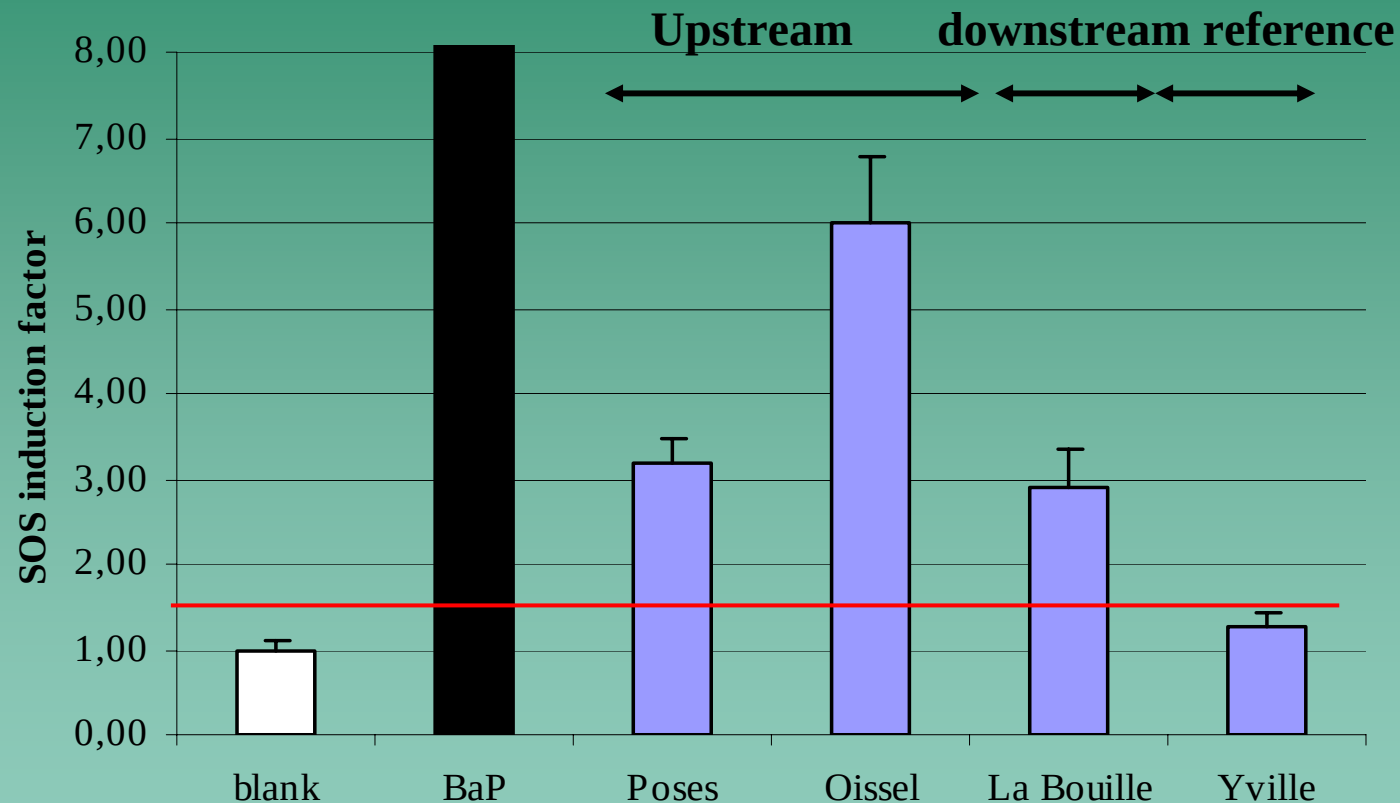
- Certains extraits sédimentaires contiennent des mutagènes directs

Identification des composés mutagènes



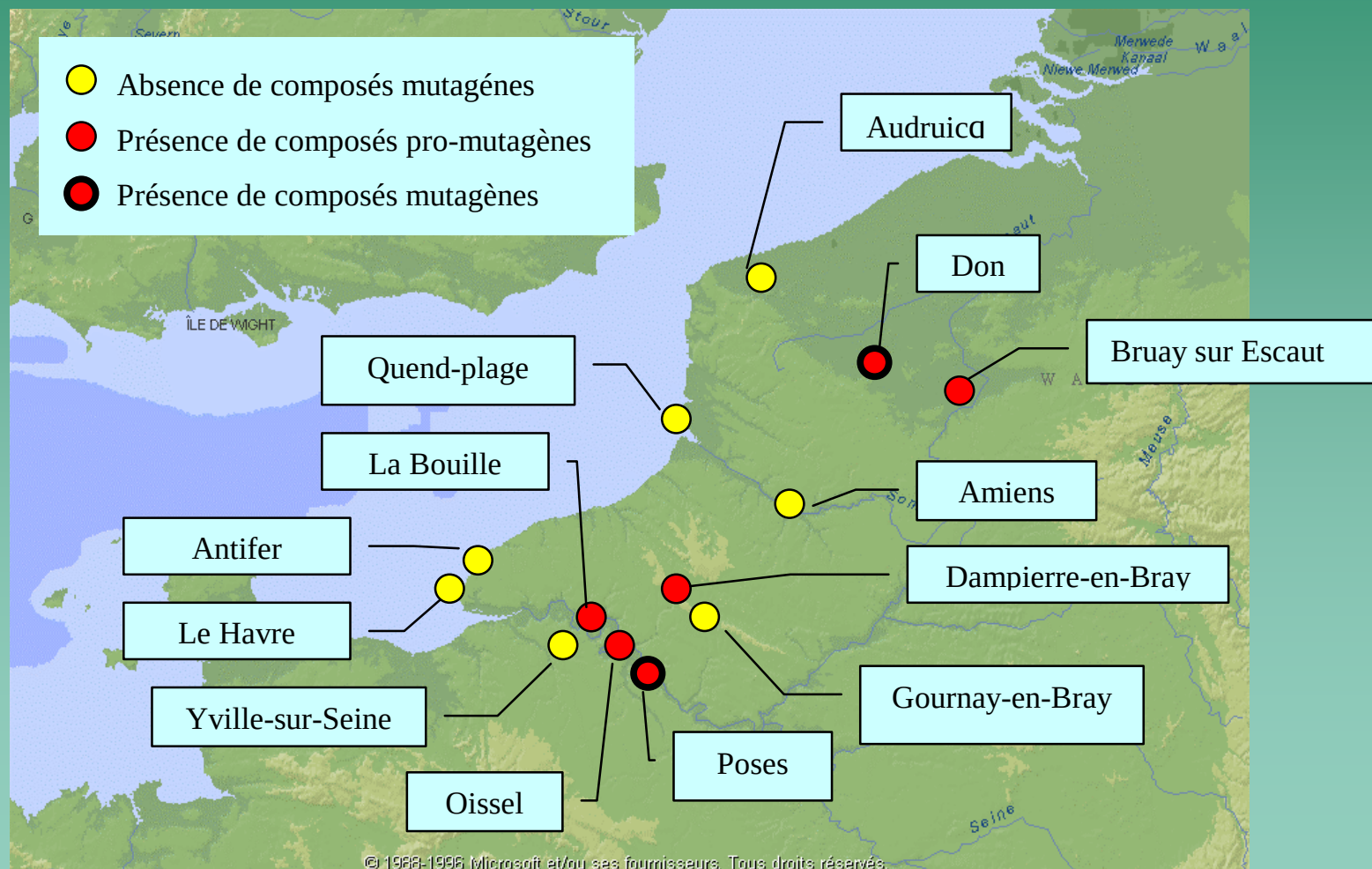
- Les mutagènes indirects correspondent vraisemblablement à des HAP mais d'autres composés semblent impliqués

Potentiel mutagène après bioactivation (fraction S9 de rat)

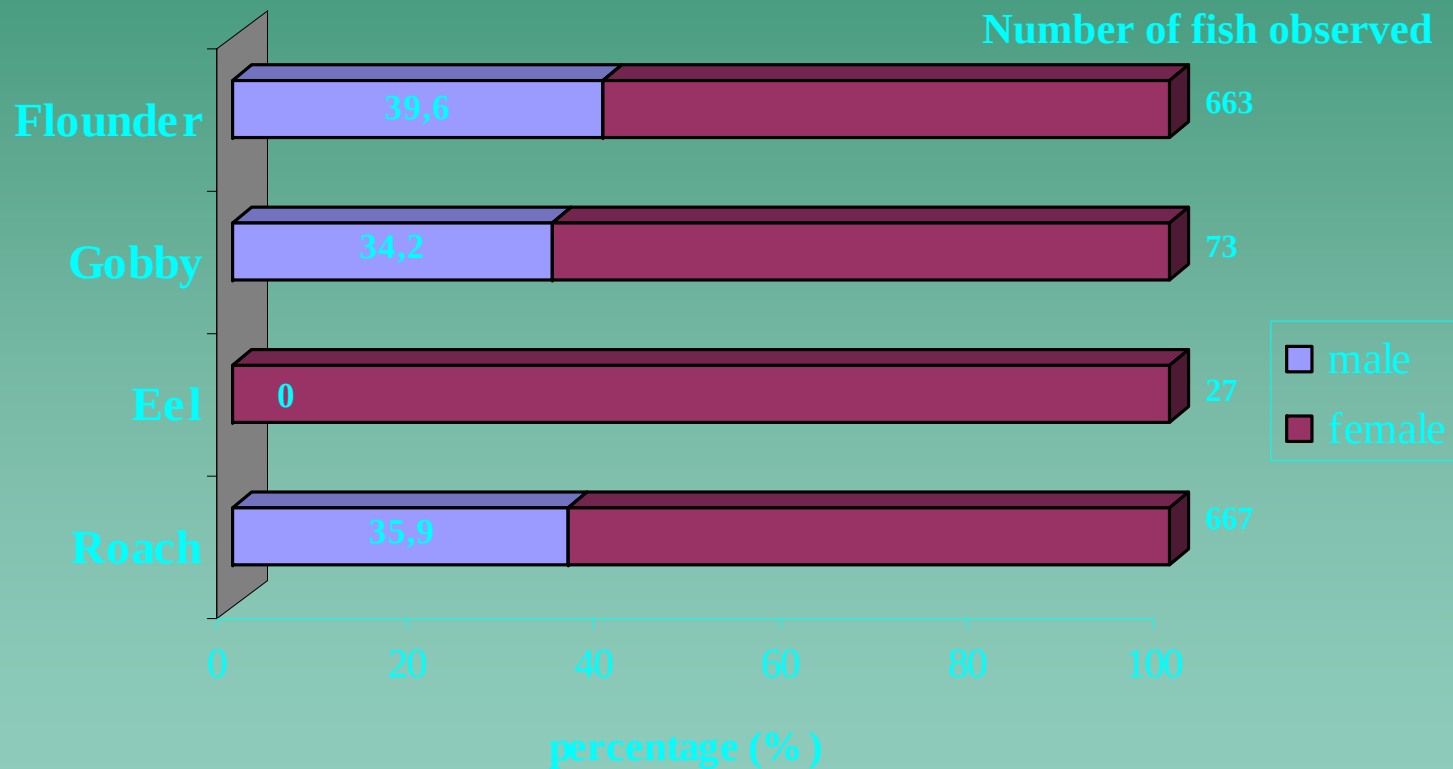


➤ Certains extraits contiennent des mutagènes directs

Carte des sédiments potentiellement mutagènes identifiés par le SOS Chromotest



Sex ratios de quelques espèces présentes en estuaires de Seine



Conclusions

- Les milieux aquatiques (tous?) de la région Manche Orientale sont contaminés par des composés à activité oestrogénique
- Ces composés sont bioaccumulés dans les organismes aquatiques
- Ils sont responsables d'effets sur les organismes vivants
- La signification écologique de ces perturbation est incertaine bien qu'elle concerne de nombreuses espèces et un mécanisme d'action très conservé

Acknowledgements

Thanks to everybody who help in this study ...

