

Programme scientifique Seine-Aval

14 • Des organismes sous stress

Coordinateur
Thierry Burgeot

14 - Des organismes sous stress



14

Programme scientifique
Seine-Aval



Ifremer



573
RES



Présentation du programme Seine-Aval

Seine-Aval est un programme d'études et de recherches interdisciplinaires à caractère appliqué sur l'estuaire de la Seine qui a débuté en 1995. La zone d'étude couvre les 160 km de Poses (en amont de Rouen) à la baie de Seine.

Il réunit plus d'une centaine de chercheurs dans des disciplines aussi diverses que la physique, la géologie, la chimie, l'écologie, l'écotoxicologie, appartenant à plus d'une vingtaine de laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire national et en Belgique.

Le programme Seine-Aval est piloté par un comité exécutif constitué par un directeur, M. Louis-Alexandre Romaña, et trois membres, MM. Daniel Cossa, Ghislain de Marsily et Robert Meyer.

Les objectifs principaux fixés au programme Seine-Aval sont de fournir les connaissances nécessaires à la compréhension du fonctionnement de l'écosystème estuarien et de développer des outils d'aide à la décision pour les acteurs régionaux et nationaux :

- dans l'optique d'une restauration de la qualité des eaux de la Seine et de la préservation des milieux naturels de la vallée,
- dans le souci de concilier les différents usages identifiés.

Pour structurer la démarche opérationnelle, quatre axes de recherche ont été développés :

► **Hydrodynamique et transport sédimentaire** : sont concernés le régime des eaux, l'érosion et la sédimentation. Ces processus ont une incidence directe sur la formation du bouchon

vaseux, phénomène majeur pour le fonctionnement du système estuarien. Cet axe permet aussi de comprendre le transport et le devenir des contaminants qu'ils soient chimiques ou biologiques ;

► **Microbiologie et oxygénation** : ont été étudiés les organismes microscopiques jouant un rôle essentiel dans le maintien de la qualité de l'eau, notamment le taux d'oxygène dissous qui connaît de graves déficits en période estivale. Sont concernés aussi les germes d'intérêt sanitaire ;

► **Dynamique des contaminants** : on cherche la détermination des niveaux de concentrations des contaminants chimiques et à mieux connaître les processus régissant le comportement de certaines espèces chimiques dans l'estuaire ainsi qu'à développer et intégrer la modélisation biogéochimique aux modèles hydro-sédimentaires ;

► **Édifices biologiques** : le constat de l'état biologique de l'estuaire, l'étude des relations trophiques entre les organismes vivants, la bioaccumulation le long de certaines chaînes alimentaires font partie de ce thème. Cela a impliqué de connaître l'état des populations, d'évaluer leur niveau de contamination et d'apprécier les effets de cette contamination sur les organismes (poissons, mollusques bivalves, etc.).

En outre, un important travail de modélisation mathématique a permis d'intégrer les données obtenues dans ces différents domaines. La traduction, sous une forme synthétique et simplifiée, des mécanismes étudiés permet de produire, dans la mesure du possible, des outils descriptifs et prédictifs du fonctionnement de cet écosystème continuellement en cours de réaménagements.



Partenaires du programme Seine-Aval

Le programme scientifique Seine-Aval est inscrit au contrat de plan État-Région de Haute-Normandie et au contrat de plan interrégional du Bassin parisien.

Les travaux et recherches réalisés dans ce cadre sont financés par les partenaires suivants :

► la Région Haute-Normandie (maître d'ouvrage) et les autres Régions du Bassin parisien (Ile-de-France, Basse-Normandie, Pays de la Loire, Centre, Picardie, Champagne-Ardenne, Bourgogne) ;

► le ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement ;

► les industriels de Haute-Normandie ;

► l'agence de l'Eau Seine-Normandie.



ASICEN



Moyens nautiques

Les moyens nautiques sont fournis par les partenaires suivants :

► l'Ifremer ;

► l'Insu/CNRS ;

► la cellule antipollution de la Seine.

Ifremer



DREAL NORMANDIE

SMCAP/BARDO

N° d'inventaire : 7362

Des organismes sous stress

Coordinateur : Thierry Burgeot⁽¹⁾

Auteurs : Thierry Burgeot⁽¹⁾, Christophe Minier⁽²⁾,
Gilles Bocquené⁽¹⁾, Françoise Vincent⁽¹⁾,
Jérôme Cachot⁽²⁾, Véronique Loizeau⁽³⁾, Agnès Jaouen⁽³⁾,
Pierre Miramand⁽⁴⁾, Thierry Guyot⁽⁴⁾, Patrick Lesueur⁽⁵⁾,
Éric Rochard⁽⁶⁾, Philippe Boet⁽⁷⁾

Contributions : Christophe Bessinetton⁽⁸⁾,
Alain Abarnou⁽³⁾, Catherine Munsch⁽¹⁾,
François Leboulenger⁽²⁾, André Ficht⁽⁹⁾

(1) Ifremer Nantes, Del/pc

(2) Université du Havre, laboratoire d'écotoxicologie

(3) Ifremer Brest, Del/eb

(4) Université de La Rochelle, laboratoire de biologie et biochimie marines

(5) Université de Caen, laboratoire de géologie et chimie marines

(6) Cemagref, unité de ressources aquatiques continentales, Cestas

(7) Cemagref, division qualité des eaux, Paris

(8) Cellule de suivi du littoral haut-normand, Le Havre

(9) Cellule antipollution de Rouen, service de la navigation de la Seine

Sommaire

Introduction	3	Chapitre III - Premier bilan de l'état de stress des organismes dans l'estuaire de la Seine	
Chapitre I - Qu'est-ce qu'un stress environnemental et comment l'évaluer dans un estuaire contaminé par les polluants ?		Sources de stress et indicateurs d'effets observés dans l'estuaire	31
Stress et exposition aux contaminants chimiques	4	Sources de stress	31
Deux espèces modèles pour étudier les effets biologiques assimilables à un stress	5	Indicateurs d'exposition	31
La dreissène <i>Dreissena polymorpha</i>	5	Indicateurs d'effets	32
Le flet <i>Platichthys flesus</i>	5	Indicateurs de qualité écologique	32
Les outils applicables comme indicateurs d'un stress en milieu estuarien	6	Des zones de stress plus ou moins vulnérables	32
Des biomarqueurs pour identifier des altérations complexes liées aux polluants	6	Conclusion et perspectives	33
Test de toxicité pour évaluer le potentiel mutagène des polluants dans le sédiment	10	Références bibliographiques	34
Peut-on utiliser des TEQ pour évaluer un risque d'exposition aux polluants dans un estuaire ?	10	Glossaire	35
Une approche d'épidémiologie écologique pour évaluer les effets biologiques des polluants	12		
Chapitre II - Résultats Seine-Aval : Effets de stress dans l'estuaire de la Seine			
Sources de stress étudiées dans l'estuaire	14		
Une typologie caractérisée par une grande instabilité des processus hydrosédimentaires	14		
Toxicité et mutagenèse associées aux contaminants chimiques dans le sédiment	15		
Contamination chimique de la ressource vivante : étude du régime alimentaire du flet	16		
Effets biologiques des contaminants chez le flet	20		
Contamination des foies de flets par les PCB et les HAP	20		
Biomarqueurs d'exposition	21		
Biomarqueurs d'effets	23		
Recensement de la population de flets atteints de pathologies dans l'estuaire et la baie de Seine	23		
Effets biologiques des contaminants chez la dreissène	26		
Contamination par les PCB et les HAP	26		
Trois indicateurs biologiques à l'étude pour évaluer les effets des polluants	28		
Indicateurs de l'état de santé écologique de l'estuaire	29		

Introduction

L'estuaire de la Seine est un lieu d'affrontement entre des facteurs environnementaux multiples auxquels viennent s'ajouter les nombreux aménagements et les flux de contaminants chimiques d'origines diverses. Dans ce contexte de bouleversement naturel permanent et de forte pression anthropique, les organismes subissent de nombreux stress. Les situations de stress peuvent provoquer à long terme des altérations pour la santé des organismes exposés.

L'évaluation du stress sur des organismes vivant dans un estuaire est une opération complexe car c'est un milieu de nature très hétérogène où la contamination chimique est diffuse. Les progrès réalisés pour le développement d'indicateurs sur le littoral français depuis une dizaine d'années permettent de mesurer un stress en relation avec une forte contamination chimique. Le concept d'application de ces indicateurs d'effets biologiques est directement inspiré du diagnostic en médecine humaine. Il est fondé sur la détection de symptômes susceptibles de révéler une maladie. Les formes de stress les plus communément étudiées dans le milieu aquatique sont liées à des composés organiques persistants comme les dioxines, les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Après assimilation, ces composés peuvent perturber certaines fonctions vitales comme les activités enzymatiques de détoxification, la régulation de l'influx nerveux, les défenses immunitaires et provoquer des altérations de l'ADN. Des pathologies comme la promotion de tumeurs, des ulcères cutanés peuvent ensuite apparaître. Des phénomènes très préoccupants comme la féminisation de poissons mâles ont également été observés dans les grands estuaires européens comme celui de la Seine.

Maintenant admis sous l'appellation de « stress environnemental », le stress a été étudié dans l'estuaire de la Seine sur la base d'indicateurs d'effets biologiques de la contamination chimique afin d'identifier différentes formes d'altération des organismes liées à une exposition chronique. Une batterie de tests a été appliquée dans le but de proposer un diagnostic environnemental. Un effort particulier a été ciblé sur l'analyse des contaminants chimiques dans le sédiment et les tissus, des biomarqueurs d'exposition et d'effets dans les organismes, et sur l'étude de la diversité des espèces de poissons comme indice écologique.

L'originalité de cette démarche pluridisciplinaire est fondée sur un schéma d'« épidémiologie écologique » favorisant l'intégration de l'ensemble des paramètres cités pour aboutir à un diagnostic global. L'axe de recherche majeur est basé sur l'évaluation des relations entre les sources de stress dans le milieu et l'impact biologique sur les organismes. L'objectif est de montrer à l'aide d'indicateurs biologiques une atteinte de la physiologie des organismes assimilable à un stress.

Ce fascicule présente donc, dans une première partie, les principaux outils et les concepts qui ont servi à élaborer cette approche expérimentale appliquée pour la première fois dans un estuaire français. La deuxième partie est consacrée aux résultats obtenus sur la base d'une étude d'épidémiologie écologique dans le cadre du programme Seine-Aval. La troisième partie est une synthèse des résultats qui vise à dresser un premier bilan de l'état de stress des organismes qui peuplent l'estuaire.

Chapitre I

Qu'est-ce qu'un stress environnemental et comment l'évaluer dans un estuaire contaminé par les polluants ?

Différentes méthodologies sont développées pour évaluer et surveiller la qualité de l'environnement mais la grande complexité du monde vivant démontre qu'aucune méthode appliquée séparément ne peut apporter des informations suffisantes pour un diagnostic environnemental de l'effet des polluants chimiques. Deux catégories de méthodes sont particulièrement développées pour (1) détecter la présence de polluants dans le milieu naturel et (2) évaluer les effets directs sur des organismes vivants. C'est l'intégration des approches chimiques et biologiques qui permet de comprendre les mécanismes d'altération et d'évaluer les impacts sur des organismes vivant en milieu contaminé. Il faut cependant reconnaître que cette approche met en œuvre des concepts complexes qui ne sont pas toujours bien établis pour les organismes aquatiques. Néanmoins, un certain nombre d'outils ou indicateurs développés depuis une dizaine d'années sont maintenant disponibles et suffisamment avancés chez les organismes aquatiques pour être proposés dans un programme de recherche environnementale. L'application d'une batterie d'indicateurs chimiques et biologiques a ainsi été réalisée dans le programme Seine-Aval.

Cette première partie est donc consacrée à la présentation du concept de stress environnemental lié aux polluants et à la méthode d'épidémiologie écologique appliquée pour évaluer ce stress qui illustre d'une manière plus générale la qualité de l'estuaire.

Stress et exposition aux contaminants chimiques

L'évaluation du stress subi par des organismes vivant dans l'estuaire permet de détecter une réponse biologique globale face à de multiples facteurs d'agressions physiologiques. Ces facteurs qui peuvent être naturels comme l'instabilité générale du milieu estuarien (fortes teneurs en MES*, variations de salinité) ou d'origine anthropique comme la contamination chimique obligent les organismes à s'adapter pour survivre. Dans le cas d'une étude de diagnostic environnemental, le stress peut être considéré comme une étape précoce permettant de signaler des effets non curables. Dans le milieu naturel, les effets biologiques peuvent être évalués à l'aide de biomarqueurs d'exposition aux polluants.

* expliqué dans le glossaire

La représentation des effets des polluants sur une courbe de santé permet d'illustrer différents niveaux de stress. Ce stress est lui-même caractérisé par différents niveaux physiologiques qui évoluent en fonction de la charge en polluants (fig. 1). Quand la charge en polluants est modérée, l'exposition entraîne un ajustement biologique suivi d'un retour à la normale lorsque le stress disparaît. Si la charge est plus importante, des mécanismes physiologiques ou biochimiques interviennent pour une détoxification ou une excrétion des polluants ; c'est la compensation. Lorsque la charge en polluants dépasse les capacités de résistance de l'organisme, c'est la phase de non-compensation. Dans ce cas, peuvent apparaître des pathologies et la mort.

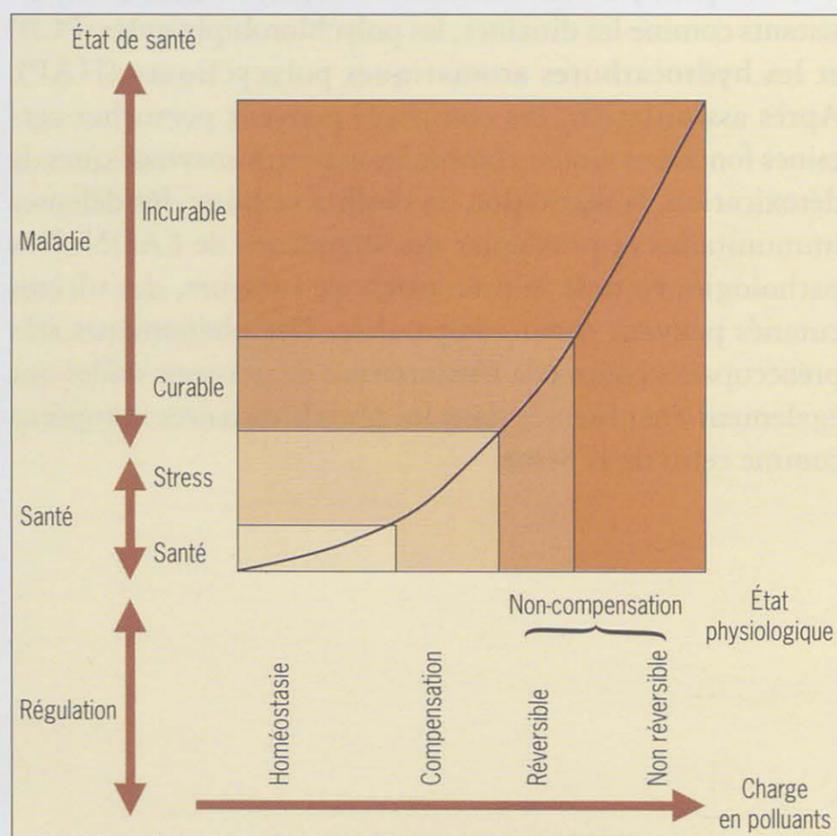


Figure 1 - Présentation de différents niveaux de l'état de santé d'un organisme en fonction de la charge en polluants. Le stress apparaît sur la courbe de santé comme un état intermédiaire précoce avant des pathologies plus graves. Il se caractérise par des mécanismes de compensation mis en place pour faire face à une déstabilisation issue du milieu environnant. Ces mécanismes peuvent être mesurés avec des biomarqueurs pour évaluer l'effet des polluants (d'après Depledge, 1994).

Deux espèces modèles pour étudier les effets biologiques assimilables à un stress

Théoriquement, tous les organismes animaux ou végétaux peuvent être utilisés mais dans la réalité seuls quelques organismes sont étudiés comme espèces sentinelles*. Le développement des biomarqueurs d'exposition aux polluants a été plus particulièrement réalisé à partir d'espèces animales. Plusieurs critères sont classiquement retenus pour la sélection d'une espèce sentinelle. Suivant le site d'étude, la sélection repose d'abord sur l'abondance, la répartition et les possibilités de collecte de l'espèce. Dans un deuxième temps, le mode de vie, le niveau trophique, le cycle biologique, la nature de l'habitat et l'état physiologique doivent être connus ou étudiés afin de différencier les effets biologiques des polluants des effets naturels.

Sur la base des critères établis, nous avons sélectionné un mollusque bivalve d'eau douce, la moule zébrée ou dreissène *Dreissena polymorpha* et un poisson, le flet *Platichthys flesus*. L'utilisation d'un invertébré et d'un vertébré comme espèces modèles permet d'évaluer le stress d'organismes ayant des sensibilités différentes. Par exemple, le flet présente des mécanismes de régulation beaucoup plus évolués que la dreissène.

La dreissène *Dreissena polymorpha*

Les dreissènes sont des moules d'eau douce (fig. 2). Ces mollusques bivalves sont représentés par deux espèces distinctes : *Dreissena polymorpha* et *D. bugensis*. L'espèce présente en Seine est *Dreissena polymorpha*, nommée de façon courante moule zébrée. Originnaire du sud de la Russie, d'une zone proche de la mer Caspienne, elle s'est rapidement répandue depuis 200 ans. Elle est maintenant présente dans la plupart des eaux douces de l'ensemble du continent européen ainsi que dans la région des Grands Lacs aux États-Unis et en Asie Mineure.

Les moules zébrées, organismes filtreurs, se nourrissent essentiellement d'algues microscopiques. Leur capacité de croissance fait apparaître de grandes qualités de tolérance à de nombreux facteurs. Dans l'estuaire de la Seine, cette espèce envahissante prolifère sur les substrats durs. Elle supporte



Figure 2 - La dreissène, *Dreissena polymorpha* ou moule zébrée, taille 2 cm.

l'anoxie et de nombreux toxiques. Les principaux rapports indiquent une tolérance vis-à-vis de la salinité atteignant 5 PSU (Practical Salinity Unit) mais pouvant aller jusqu'à 11 PSU après acclimatation graduelle. La dreissène est un organisme de plus en plus sélectionné pour des études environnementales en eau douce. Elle a été étudiée dans l'estuaire de la Seine pour sa très large répartition entre Poses et Tancarville.

Le flet *Platichthys flesus*

Le flet est un poisson plat très largement réparti en Atlantique Nord-Est (fig. 3). Ce poisson benthique vit sur les fonds sableux, sablo-vaseux et vaseux des eaux marines. L'hiver, bien que toujours présent dans l'embouchure des fleuves, il gagne les fonds marins d'une vingtaine de mètres de profondeur où les eaux sont plus chaudes que dans les fleuves.

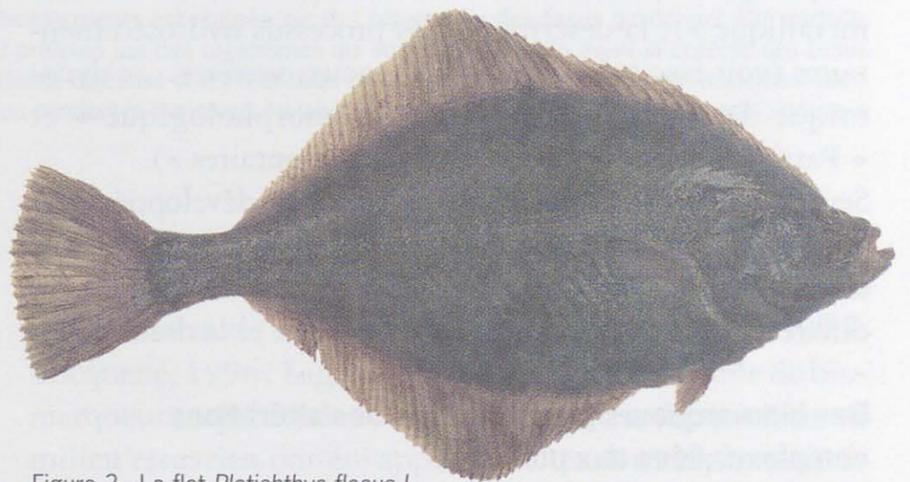


Figure 3 - Le flet *Platichthys flesus* L.

Le flet appartient aux espèces migratrices qui se reproduisent en mer mais dont la croissance s'effectue dans les eaux continentales. Il supporte de larges variations de salinité puisqu'il remonte à la belle saison dans les cours d'eau et en particulier dans l'estuaire de la Seine jusqu'à Poses.

Le flet est un poisson qui possède des capacités d'adaptation qui lui permettent de survivre dans des sites contaminés et très diversifiés. Il possède ainsi les qualités premières d'une espèce sentinelle (large répartition, abondance). Dans l'estuaire de la Seine, le flet a également été sélectionné comme espèce modèle car ce carnivore est situé au sommet du réseau trophique*. Il est ainsi représentatif de l'assimilation des contaminants présents dans les différents maillons de la chaîne trophique.

De très nombreuses études ont été menées sur les effets biologiques des contaminants chez les flets vivant dans les grands estuaires européens et en mer du Nord (Hylland *et al.*, 1998). Cependant, son comportement dans un estuaire et les questions posées sur sa manière d'assimiler et de bioaccumuler les contaminants restent encore une énigme. Dans le cadre du réseau national d'observation RNO, un suivi régulier de la contamination chimique du flet est néanmoins réalisé (Khaled, 1999) dans l'embouchure de la Seine afin d'évaluer l'évolution des niveaux et la tendance de la contamination chimique tout en se conformant aux directives de la convention d'Oslo et Paris (JAMP, 1998).

Les outils applicables comme indicateurs d'un stress en milieu estuarien

Une batterie d'indicateurs biologiques et chimiques a été développée pour évaluer la qualité de l'estuaire de la Seine à partir du stress supporté par les organismes. Cet exercice très complexe ne peut être réalisé que dans un cadre pluridisciplinaire rassemblant le maximum d'informations sur le milieu naturel. Dans le programme Seine-Aval, nous avons ainsi tenté d'intégrer dans notre démarche quelques résultats complémentaires présentés dans d'autres fascicules. Pour la description des méthodologies spécifiques, nous renvoyons donc à la lecture de ces fascicules concernant : l'évaluation des contaminants dans l'environnement (voir fascicules « Les contaminants organiques qui laissent des traces : sources, transport et devenir », « Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant ? » et « La contamination métallique »); la description des processus hydrosédimentaires (voir fascicules « Sables, chenaux, vasières... : dynamique des sédiments et évolution morphologique » et « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »).

Seuls les nouveaux outils plus précisément développés dans le cadre de l'étude d'épidémiologie écologique sont décrits dans ce fascicule sur la base de définitions et d'illustrations des différents biomarqueurs étudiés chez le flet et la dreissène.

Des biomarqueurs pour identifier des altérations complexes liées aux polluants

Directement issus des recherches appliquées dans le milieu médical en toxicologie, les biomarqueurs ont été adaptés au milieu aquatique pour évaluer les effets précoces des mélanges complexes de polluants présents dans le milieu. Les mesures directes réalisées sur des organismes collectés dans leur milieu naturel permettent d'intégrer l'ensemble des facteurs de stress qui interagissent sur les individus et donnent une image de l'état physiologique des organismes avant l'apparition de pathologies ou de mortalités. La sensibilité des biomarqueurs permet également d'évaluer des expositions chroniques à des concentrations très faibles de polluants.

Analyse des biomarqueurs au niveau des individus

Dans le cas d'une contamination chimique, l'évaluation du stress supporté par les organismes peut se faire par mesure de biomarqueurs au niveau des macromolécules naturelles qui composent la cellule (par exemple l'ADN*), au niveau de la cellule tout entière, au niveau de l'individu et même au niveau des populations. Pour des raisons pratiques, ces événements sont plus communément étudiés au niveau de l'individu. Le cheminement des substances chimiques et leur impact toxique au sein de l'organisme sont à l'origine d'une cascade d'événements biologiques plus ou moins réversibles (fig. 4). Ce principe permet de suivre le devenir et la toxicité d'un polluant dans l'organisme. Ces travaux sont ainsi menés sur des espèces modèles plus communément appelées espèces cibles ou espèces sentinelles car elles sont utilisées dans l'environnement pour alerter ou signaler les effets néfastes des polluants.

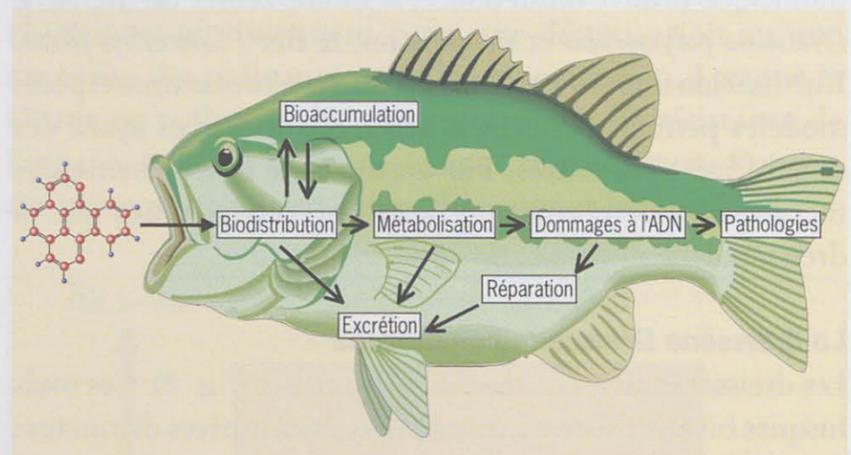


Figure 4 - Devenir d'un polluant dans un organisme et événements biologiques mesurables avec des biomarqueurs (métabolisation, dommages à l'ADN et pathologies) ou par analyse chimique (bioaccumulation) (d'après Goksøyr, 1987).

Prélèvement des échantillons pour analyse des biomarqueurs

Le prélèvement de tissus frais sur des organismes vivants est une étape primordiale pour l'analyse des biomarqueurs. Un soin particulier doit être accordé à la dissection et la collecte des organes ou tissus dès la sortie de l'eau des organismes. Les flets sont pêchés par chalutage et les moules zébrées par un plongeur. Après prélèvement, les tissus et organes destinés à l'analyse des biomarqueurs sont directement

Biomarqueur

Un biomarqueur est défini comme un changement ou une altération biologique précoce apparaissant après pénétration de substances chimiques dans l'organisme. Il est interprété comme un signal précoce en relation avec une exposition aux contaminants chimiques de l'environnement. Un biomarqueur est mesuré directement dans les organes, les tissus ou les cellules des organismes sauvages. Il peut être assimilé à un stress issu de différentes perturbations biologiques

internes comme, par exemple, les mécanismes de détoxification ou de défense immunitaire mais également de phénomènes d'altérations neurotoxiques et génotoxiques. Appliqués en batteries sur des organismes sauvages ou en cage, les biomarqueurs permettent d'évaluer les effets cumulatifs, synergiques ou antagonistes de l'ensemble des contaminants présents dans le milieu naturel.

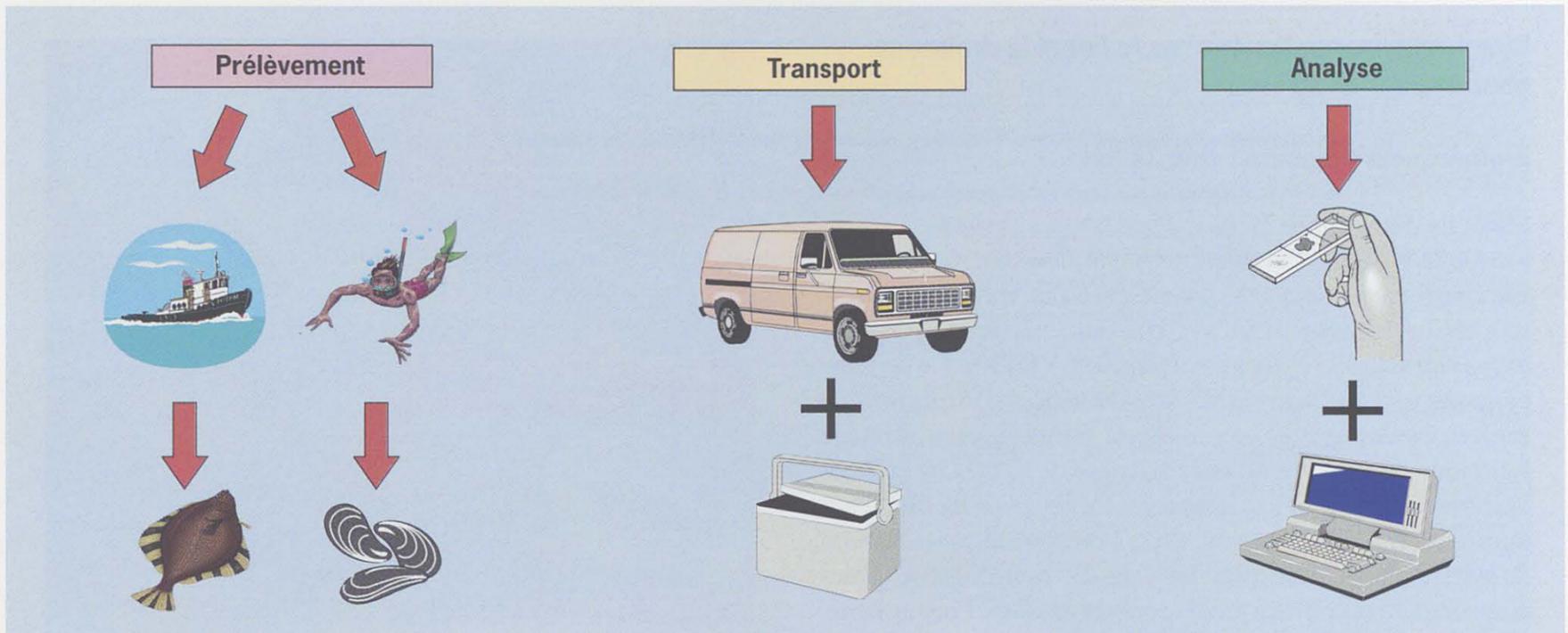


Figure 5 - Prélèvements des tissus pour l'analyse des biomarqueurs. L'analyse des biomarqueurs est réalisée sur des organes ou des tissus qui doivent être parfaitement conservés entre le prélèvement et la mesure au laboratoire. Les organes sont prélevés sur des organismes qui sont sacrifiés juste avant la collecte des tissus sur lesquels seront analysés les biomarqueurs. Le foie et le muscle chez le flet, la glande digestive et les branchies chez la moule zébrée sont ainsi rapidement récupérés et stockés dans l'azote liquide à $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour assurer une bonne conservation pendant le transport. Au laboratoire, les tissus sont placés dans une armoire à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou maintenus dans l'azote liquide avant l'analyse.

plongés dans l'azote liquide à $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour préserver les qualités fonctionnelles des enzymes ou la structure de l'ADN (fig. 5). Les tissus destinés à l'analyse histopathologique sont maintenus dans un liquide de conservation à température ambiante.

Choix des biomarqueurs appliqués dans l'estuaire de la Seine

Parmi la batterie de biomarqueurs applicables pour des études de terrain, certains sont déjà préconisés pour des applications en surveillance. À partir de la liste recommandée par les instances internationales de la mer du Nord

(JAMP, 1998) et des travaux réalisés sur les côtes françaises (Narbonne *et al.*, 1991 ; Minier *et al.*, 1993 ; Burgeot, 1994 ; Bocquené, 1996 ; Lagadic *et al.*, 1998), un ensemble de biomarqueurs capables de caractériser des effets d'exposition en milieu estuarien ont été appliqués chez deux espèces sentinelles, la dreissène *Dreissena polymorpha* et le flet *Platyichthys flesus*. Les mécanismes et altérations mesurés ont ainsi pour objectif de montrer différents types d'effets (assimilables à un stress environnemental) qui apparaissent au cours du temps et en fonction de la concentration des polluants dans le milieu naturel (fig. 6).

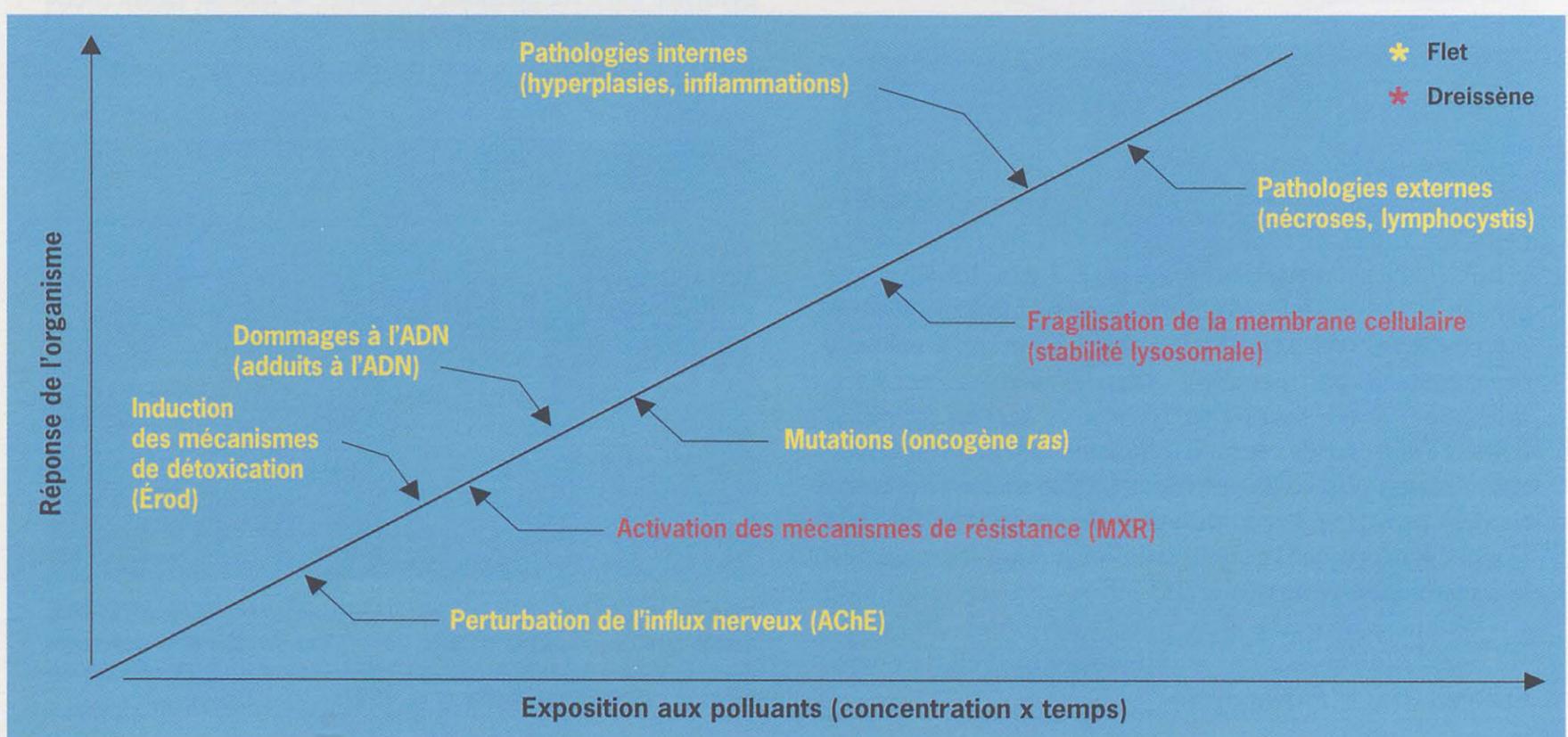


Figure 6 - Biomarqueurs mesurés dans l'estuaire de la Seine chez le flet et la dreissène pour caractériser une exposition aux polluants chimiques (schéma inspiré des travaux de Mc Carthy, 1990).

Biomarqueurs appliqués chez le flet et la dreissène pour évaluer un stress

Biomarqueurs mesurés chez le flet

Effets de détoxication ou de métabolisation mesurés avec le biomarqueur Érod (éthoxyrésorufine-O-dééthylase)
 L'activité enzymatique Érod mesurée par spectrofluorimétrie est dépendante d'un système enzymatique de mono-oxygénases appelé cytochrome P450 (CYP450). Ce système enzymatique est spécialisé dans la biotransformation de molécules endogènes et exogènes. Parmi les nombreuses fonctions de ce système enzymatique, le CYP450 favorise la formation de molécules hydrosolubles pour faciliter leur élimination de l'organisme. C'est pourquoi il porte le nom de système de détoxication. Lorsque des molécules exogènes comme des xénobiotiques* pénètrent dans l'organisme, l'activité du système enzymatique augmente ou diminue suivant la nature des molécules. L'augmentation d'activité est appelée induction et la diminution d'activité est une inhibition enzymatique. Certaines familles de contaminants comme les PCB et les HAP agissent suivant leur concentration comme inducteurs d'activités (fig. 7). D'autres composés comme le cadmium ou le tributylétain se comportent comme des inhibiteurs d'activités.

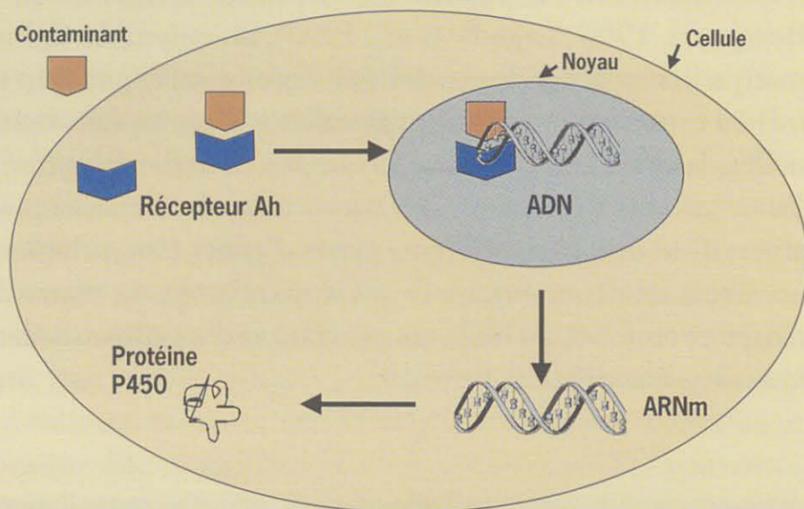


Figure 7 - Mécanisme de production de la protéine P450 après pénétration d'un polluant dans la cellule (Stegeman & Hahn, 1994). La production de protéine P450 peut être mesurée par dosage de l'activité enzymatique.

Effets neurotoxiques mesurés avec le biomarqueur AChE*

Dans les jonctions neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine, qui permet la transmission de l'influx nerveux (fig. 8). Ensuite intervient l'acétylcholinestérase (AChE : activité enzymatique mesurée par spectrophotométrie) en inactivant l'acétylcholine, ce qui permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. L'inhibition de l'acétylcholinestérase par les neurotoxiques (dont la plupart sont des insecticides) provoque l'accumulation de l'acétylcholine dans l'espace synaptique* et l'acétylcholine accumulée maintient la transmission permanente de l'influx nerveux qui conduit à la tétanie musculaire et la mort. L'inhibition de l'AChE est donc appliquée comme biomarqueur d'effets neurotoxiques dans le milieu marin.

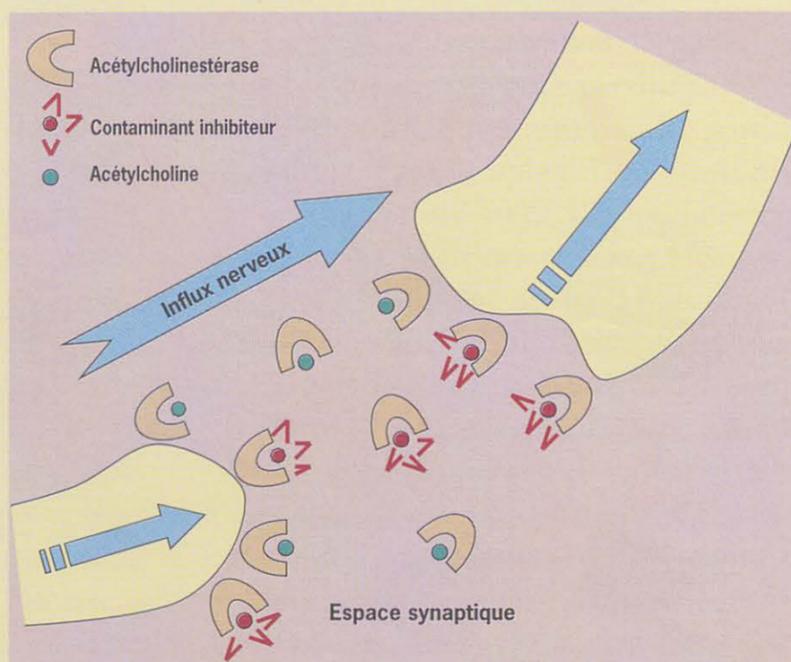


Figure 8 - Action des cholinestérases dans la transmission de l'influx nerveux et inhibition par un contaminant. Le contaminant inhibiteur (rouge) rentre en compétition avec le substrat naturel de l'enzyme, l'acétylcholine (vert). L'enzyme inhibée par le contaminant maintient en permanence la transmission de l'influx ce qui aboutit à la paralysie et la mort.

Effets génotoxiques : les adduits à l'ADN

Lorsque des molécules génotoxiques pénètrent dans l'organisme, des mécanismes de métabolisation (exemple : action du CYP450) transforment les molécules chimiques en composés réactifs qui sont capables de se lier à l'ADN (fig. 9). En s'accrochant à l'ADN, ces composés actifs donnent naissance à des ajouts ou adduits (dérivés du terme anglais adduct). Les adduits formés fragilisent l'ADN et sont représentatifs de dommages à l'ADN. Ils sont ainsi interprétés comme des effets génotoxiques. Si les altérations produites ne sont pas réparées avant réplification de l'ADN, elles sont inscrites définitivement dans le patrimoine génétique de l'organisme sous forme de mutations. Quelques modifications de l'ADN apparaissant après formation d'adduits liés aux polluants chimiques tels que les HAP ont été mises en évidence chez les poissons marins et la moule. La méthode de dosage par post-marquage au phosphore 32 fait actuellement référence pour la surveillance du milieu marin.

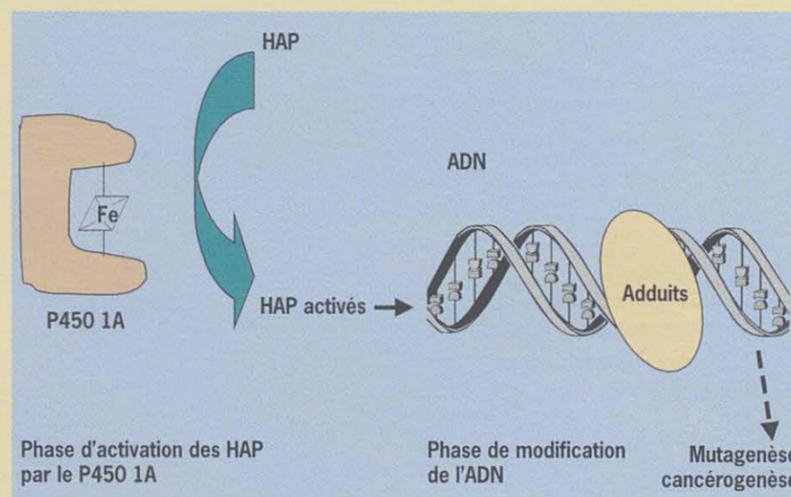


Figure 9 - Schéma d'activation métabolique des HAP par le P450 1A entraînant la formation d'adduits à l'ADN. Dans le cas de mauvaises réparations avant réplification de l'ADN, les adduits à l'ADN peuvent initier des effets mutagènes et cancérogènes (Rether et al., 1997).

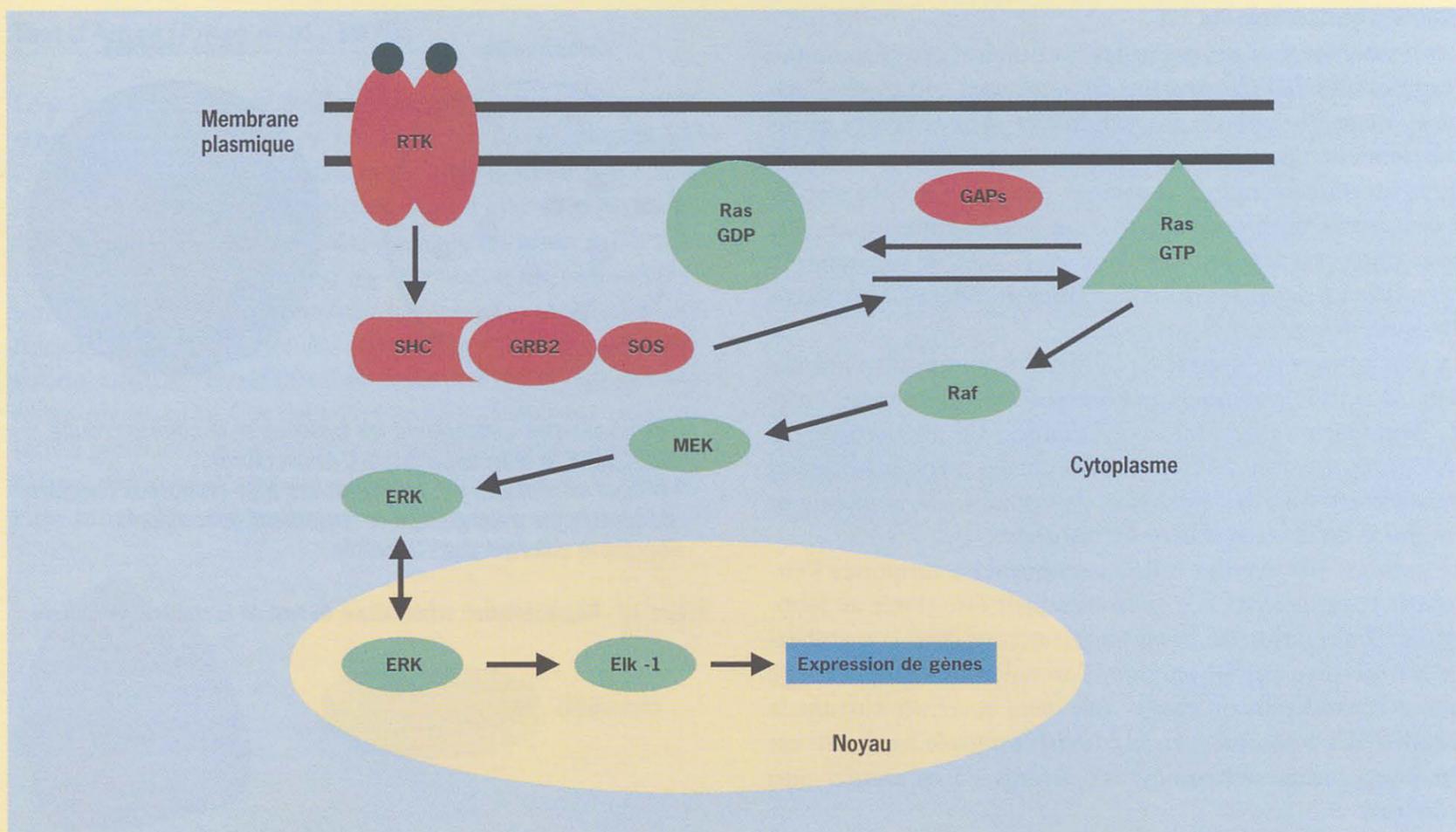


Figure 10 - Régulation de la transmission de l'information par *ras* dans la cellule : Sur cette figure est représentée une des voies majeures par laquelle les protéines *ras* transmettent de l'information vers le noyau. Les protéines *ras*, sont des protéines G, elles ont une fonction d'hydrolyse du GTP. Elles oscillent entre deux états, un état inactif où elles fixent le GDP et un état actif où elles fixent le GTP. Après liaison d'un facteur de croissance sur un récepteur membranaire ici de type tyrosine kinase (RTK), la protéine *ras* est activée par un complexe de protéines SOS ; *ras* active ensuite des protéines de la voie MAP kinases (mitogen activated protein kinases) composée des protéines Raf, MEK puis ERK qui au final, stimulent l'expression de gènes spécifiques au niveau du noyau. *Ras* revient à un état inactif grâce aux protéines GAPs. Si des mutations surviennent sur le gène *ras* (codons 12, 13 et 61), la protéine *ras* mutée reste dans l'état *ras* activé ; en conséquence, la transmission de l'information, normalement contrôlée, se fait de manière constitutive.

Régulation de la transmission de l'information par *ras*

Les protéines *ras*, produites à partir du gène *ras*, sont localisées dans la cellule à la face interne de la membrane plasmique (fig. 10). Le rôle de ces protéines est de transmettre l'information émise par divers signaux extracellulaires, *via* les récepteurs membranaires, vers le noyau où intervient l'expression de gènes spécifiques. Les protéines *ras* ont un rôle déterminant dans les grandes fonctions de la cellule, la prolifération, la différenciation et l'apoptose, ou mort cellulaire programmée. L'analyse met en œuvre des techniques de biologie moléculaire.

Biomarqueurs étudiés chez la dreissène

Mécanismes de résistances aux xénobiotiques : MXR

La résistance à de multiples xénobiotiques est très connue dans les cellules cancéreuses de mammifères où elle est responsable de nombreux échecs de traitement chimiothérapeutique. Ce système de résistance est également très répandu dans l'ensemble du monde vivant. Il repose sur l'action de protéines qui fonctionnent comme des pompes d'expulsion et qui sont situées à la périphérie des cellules. Elles rejettent à l'extérieur de la cellule de nombreux composés toxiques afin de maintenir des concentrations intracellulaires en dessous de leur seuil de toxicité. L'expression de protéines membranaires du type MXR correspond à un moyen simple de détoxification (fig. 11). Ce biomarqueur est

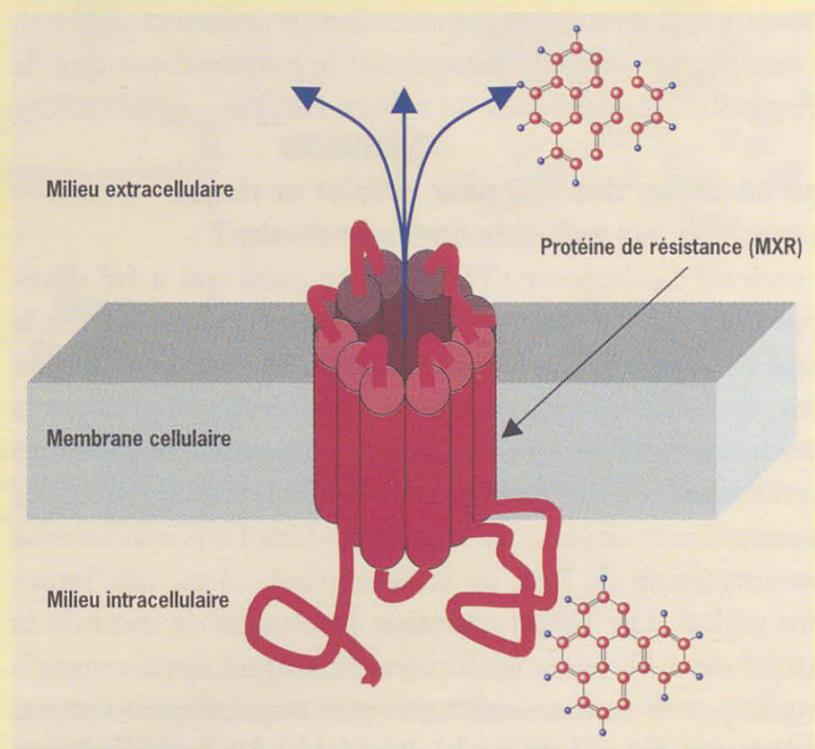


Figure 11 - Schéma de l'action des protéines MXR, véritables pompes d'expulsion des polluants.

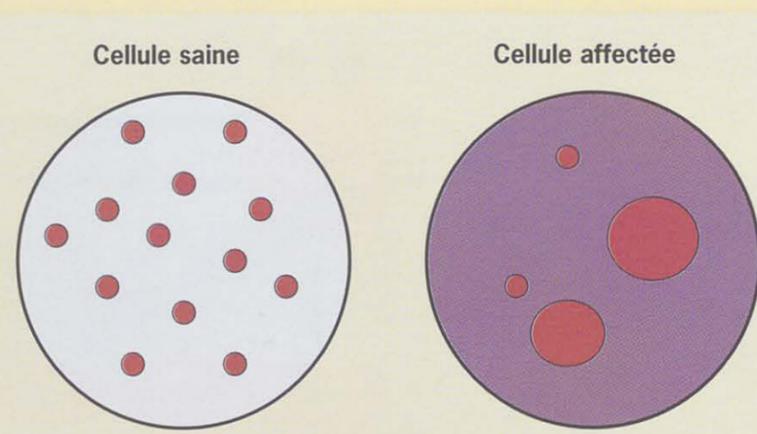
maintenant très étudié pour évaluer les effets de composés toxiques dans le milieu aquatique en Angleterre, Croatie, Californie et en France (Minier *et al.*, 1999). Les MXR sont détectées par analyse immunochimique.

Stabilité lysosomale (fig. 12)

Les lysosomes sont des organites* cellulaires cytoplasmiques responsables de l'élimination de nombreux composés d'origine intracellulaire ou extracellulaire. Les enzymes qu'ils contiennent découpent les différentes molécules toxiques pour les transformer en composés inactifs. En l'absence de mécanismes de biotransformation aussi sophistiqués que ceux observés chez les vertébrés, cette voie de dégradation constitue un des principaux systèmes de défense des moules vis-à-vis des composés toxiques.

La pénétration de grandes quantités de composés toxiques dans la cellule provoque une déstabilisation de cette unité de dégradation que sont les lysosomes. Ce phénomène est très dommageable pour la cellule car les enzymes libérées peuvent attaquer les différents composants de la cellule et conduire finalement à la mort cellulaire.

La capacité limitée des cellules sanguines à supporter l'entrée de toxiques dans les lysosomes peut être testée au laboratoire. L'altération des lysosomes contenus dans la membrane est mesurée par adjonction d'un colorant toxique rouge qui se répand plus ou moins vite dans la cellule suivant la fragilité des lysosomes. La méthode employée est basée sur un pourcentage d'hémocytes* altérés en quarante-cinq minutes.



Les lysosomes concentrent les toxiques et le colorant rouge utilisé pour le test, apparaissant ainsi colorés. Lorsque les cellules ont été exposées à de nombreux toxiques, les lysosomes s'élargissent et finalement se rompent, libérant le colorant dans la cellule.

Figure 12 - Représentation schématique du test de la stabilité lysosomale.

Test de toxicité pour évaluer le potentiel mutagène des polluants dans le sédiment

Un test de toxicité appelé test d'Ames a été appliqué dans l'estuaire de la Seine pour évaluer le potentiel mutagène des contaminants chimiques présents dans le sédiment (fig. 13). Ce test permet ainsi de caractériser le potentiel toxique de mélanges chimiques dans un milieu naturel.

Peut-on utiliser des TEQ pour estimer un risque d'exposition aux polluants dans un estuaire ?

La toxicité équivalente (TEQ) est un outil qui a été développé pour aider les autorités gouvernementales à évaluer le risque de toxicité lié à la dioxine présente dans l'environnement. Ce risque d'exposition est d'abord destiné à protéger la santé humaine. Bien que reposant encore sur de nombreuses incertitudes, cet indicateur de toxicité estimé à partir des concentrations chimiques mesurées dans l'environnement (contamination de l'air, de la nourriture...) est très largement utilisé. Les TEQ présentent l'avantage de sommer la toxicité de différentes molécules chimiques appartenant à des groupes de contaminants toxiques et persistants comme les dioxines, les polychlorobiphényles et les hydrocarbures aromatiques. Des TEQ sont maintenant proposées pour évaluer la toxicité de PCB, de HAP et de dioxines qui contaminent les mammifères, les oiseaux, les poissons et les mollusques. Ces TEQ ont pour but d'informer de la qualité de produits destinés à la consommation ou d'évaluer des niveaux d'exposition dans le milieu naturel.

Dans le cas d'une étude environnementale, l'application des TEQ est ainsi très séduisante car elle offre une estimation des effets toxiques de plusieurs contaminants. C'est probablement un des rares indicateurs intégrant la toxicité additive de contaminants chimiques mesurés dans le milieu naturel, ce qui explique pourquoi son utilisation est aussi répandue.

Cet indicateur est également très attractif pour des scientifiques qui tentent de décrire et d'évaluer les effets biologiques de contaminants dans un estuaire car les TEQ rassemblent sous une même interprétation des données chimiques et toxicologiques. Cependant, cet outil présente de nombreuses lacunes et son application est encore très controversée. Les TEQ sont en particulier calculées à partir de facteurs d'équivalence toxique (TEF sigle anglo-saxon pour facteur d'équivalence toxique désignant la toxicité spécifique d'une substance chimique) reposant sur des données de toxicocinétique* trop limitées pour une application étendue à tous les organismes qui composent un écosystème. Les études sont en particulier réalisées sur des mammifères. Cette limite d'application se pose donc pour des poissons et surtout pour des mollusques comme la moule qui présentent des caractéristiques biologiques bien différentes de celles observées chez un rat de laboratoire. Il faudrait donc développer des TEQ représentatives du stress subi par des organismes aquatiques modèles. De plus, les TEQ ne donnent qu'une estimation des effets toxiques additifs des molécules testées. Les effets additifs de quelques molécules ne

Test d'Ames (Ames et al., 1975)

Le test d'Ames met en évidence un effet mutagène en utilisant des extraits de foie de rat et des bactéries révertantes* (*Salmonella typhimurium*, souche de salmonelles TA98) déposés sur un milieu de culture. Tout d'abord, le foie de rat apporte les fonctions métaboliques nécessaires à l'activation des substances chimiques extraites d'un sédiment ou un effluent. Puis, suivant leur toxicité, les molécules chimiques vont provoquer des mutations spécifiques (substitution, addition ou délétion de bases de l'ADN) sur des bactéries révertantes. Ces bactéries mutées (His-) par manipulation génétique n'ont plus la capacité de métaboliser l'histidine, composé nécessaire à leur développement. C'est l'action mutagène du polluant qui provoque une mutation

(His+) et qui permet aux bactéries ayant fait une nouvelle mutation de proliférer sur un milieu de culture spécifique (fig. 13). Il suffit alors de compter les colonies.

Dans le cas du programme Seine-Aval, l'objectif du test était d'activer (par métabolisation) la toxicité de molécules chimiques présentes dans le sédiment pour démontrer leur potentiel mutagène au contact de bactéries révertantes. Le test a été considéré positif lorsque le rapport du nombre de bactéries révertantes au contact de molécules chimiques sur le nombre de bactéries révertantes témoin était supérieur à 2 (Maron & Ames, 1983). Le test positif a permis de déduire le potentiel mutagène des molécules chimiques extraites du sédiment.

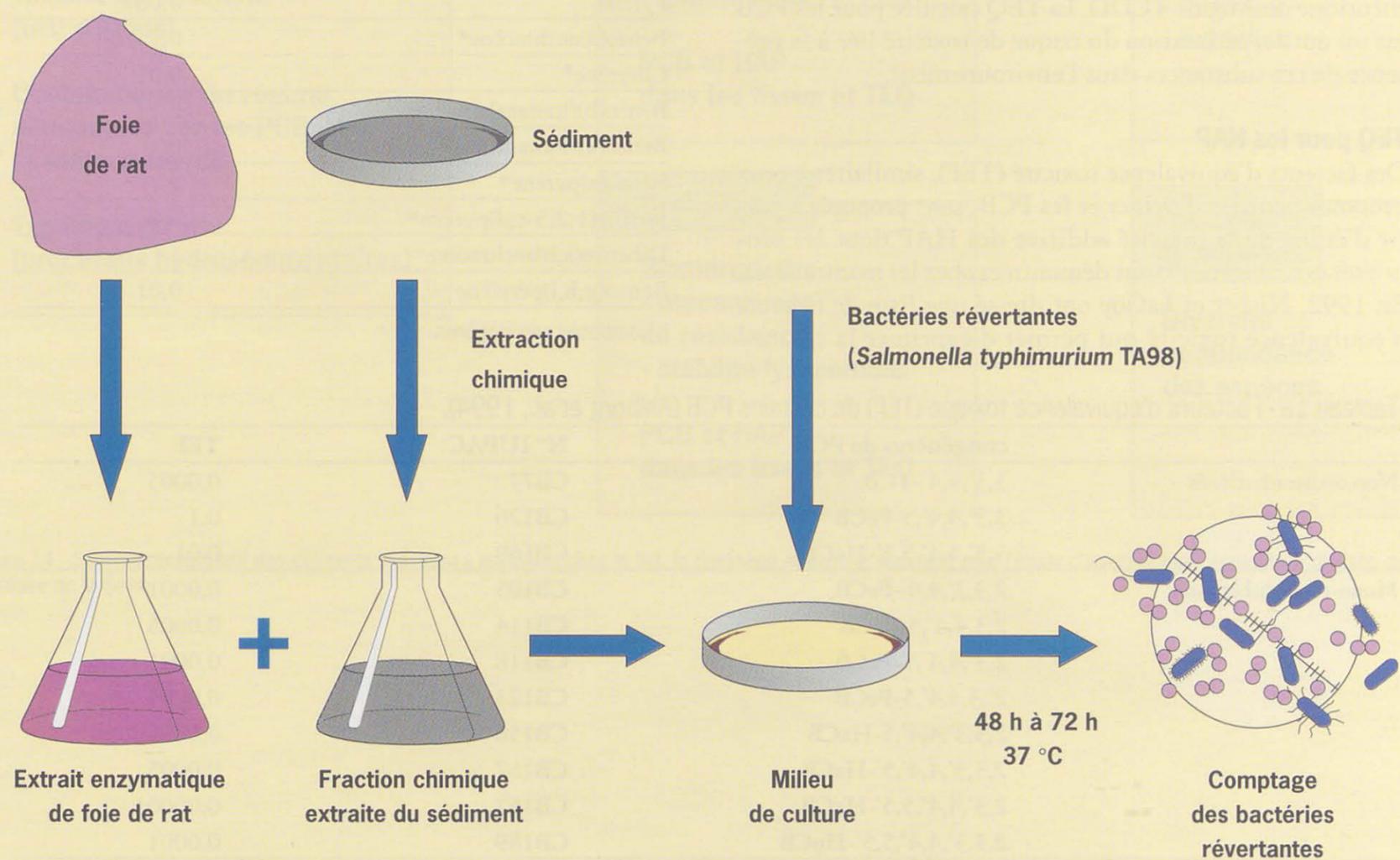


Figure 13 - Présentation schématique du test d'Ames. Les polluants chimiques sont activés par métabolisation due aux enzymes de foie de rat. Déposés sur le milieu de culture, les polluants « activés » provoquent des mutations chez les bactéries révertantes (salmonelles). Dans ces conditions de culture, seules les bactéries mutées peuvent se développer, ce qui permet de déduire l'action mutagène des polluants.

sont pas suffisamment représentatifs des effets de milliers de molécules chimiques rencontrées dans le milieu naturel. Enfin, les TEQ présentent le défaut de ne pas prendre en compte les interactions toxicologiques (effets synergiques et antagonistes) entre les différents contaminants, ce qui constitue un point limitant de leur application dans l'environnement.

Malgré les nombreuses controverses et incertitudes qui portent sur les TEQ, celles-ci sont très largement appliquées

pour des études visant à protéger la santé humaine en Europe et aux États-Unis (Alcok *et al.*, 1998). Plutôt que de réfuter l'utilisation de cet outil encore imparfait, nous avons décidé d'appliquer cet indicateur chez le flet et la dreissène dans le cas de notre étude d'épidémiologie écologique dans l'estuaire de la Seine. Cette approche a permis de comparer les TEQ avec des indicateurs biologiques comme les biomarqueurs capables d'intégrer toutes les interactions du milieu naturel.

Notion de toxicité équivalente

TEQ pour les PCB

Dans le groupe des PCB, les substances les plus toxiques sont les composés mono-orthosubstitués et non orthosubstitués par des atomes de chlore (voir fascicule « Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant ? »). Les PCB coplanaires présentent une configuration plane géométriquement voisine de celle de la dioxine (2,3,7,8-TCDD : tétrachlorodibenzodioxine) et des propriétés toxiques similaires. La toxicité équivalente des PCB est ainsi calculée en multipliant un facteur d'équivalence toxicité dioxine (TEF) par la concentration de PCB mesurée dans un organisme (tab. 1a). Par exemple, une concentration de 30 ng de PCB mesurée dans un muscle multipliée par un TEF de 0,1 permet d'évaluer une toxicité équivalente théorique de 3 ng de TCDD. La TEQ calculée pour les PCB est un outil d'estimation du risque de toxicité liée à la présence de ces substances dans l'environnement.

TEQ pour les HAP

Des facteurs d'équivalence toxicité (TEF), similaires à ceux proposés pour les dioxines et les PCB, sont proposés à partir d'étude de la toxicité additive des HAP dont les propriétés carcinogènes* sont démontrées chez les mammifères. En 1992, Nisbet et LaGoy ont dressé une liste de facteurs d'équivalence toxicité qui permet d'exprimer la toxicité

potentielle d'un mélange d'HAP par rapport au benzo(a)pyrène BaP (tab. 1b). Le BaP est un composé toxique de référence (TEF = 1) utilisé pour étudier les phénomènes de cancérogenèse.

Tableau 1b - Facteurs d'équivalence toxique (TEF) des HAP individuels.

HAP	Nisbet & LaGoy (1992)
Naphtalène	0,001
Fluorène	0,001
Phénanthrène	0,001
Anthracène	0,01
Fluoranthène	0,001
Pyrène	0,001
Benzo(a)anthracène*	0,1
Chrysène*	0,01
Benzo(b)fluoranthène*	0,1
Benzo(k)fluoranthène*	0,1
Benzo(a)pyrène*	1
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène*	0,1
Dibenzo(a,h)anthracène*	1
Benzo(g,h,i)pérylène	0,01

* composés carcinogènes.

Tableau 1a - Facteurs d'équivalence toxique (TEF) de certains PCB (Ahlborg et al., 1994).

	congénères de PCB	N° IUPAC	TEF
Non orthosubstitués	3,3',4,4'-TCB	CB77	0,0005
	3,3',4,4',5-PeCB	CB126	0,1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	CB169	0,01
Mono-orthosubstitués	2,3,3',4,4'-PeCB	CB105	0,0001
	2,3,4,4',5-PeCB	CB114	0,0005
	2,3',4,4',5-PeCB	CB118	0,0001
	2',3,4,4',5-PeCB	CB123	0,0001
	2,3,3',4,4',5-HxCB	CB156	0,0005
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	CB157	0,0005
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	CB167	0,00001
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	CB189	0,0001
	Di-orthosubstitués	2,2',3,3',4,4',5-HpCB	CB170
2,2',3,3',4,4',5,5'-HpCB		CB180	0,00001

Une approche d'épidémiologie écologique pour évaluer les effets biologiques des polluants

Le problème majeur posé pour l'évaluation des effets biologiques liés aux contaminants en zone estuarienne est dû à l'hétérogénéité du milieu et à la diffusion des contaminants. D'une part, il est matériellement impossible de mesurer toutes les molécules d'origines industrielle, agricole et domestique dans l'estuaire. D'autre part, il est peu réaliste de mesurer isolément la toxicité de toutes les molécules qui composent les mélanges complexes pour ensuite tenter une estimation des effets globaux par extrapolation. La démarche la plus proche de la réalité du terrain doit inté-

grer les effets combinés de mélanges toxiques dont la composition dans le milieu est le plus souvent méconnue.

Une étude d'épidémiologie écologique rassemblant les deux espèces modèles et les indicateurs présentés semble ainsi la plus adaptée à l'identification de secteurs particulièrement vulnérables aux polluants et donc sensibles à un stress environnemental (fig. 14). Elle permet d'intégrer le maximum d'interactions sur un milieu aquatique complexe et contaminé. Le principe de cette approche est fondé sur la recherche de liens entre les sources de stress dans l'habitat des organismes et les effets mesurés avec des indicateurs d'exposition et des indicateurs d'effets chez le flet et la dreissène.

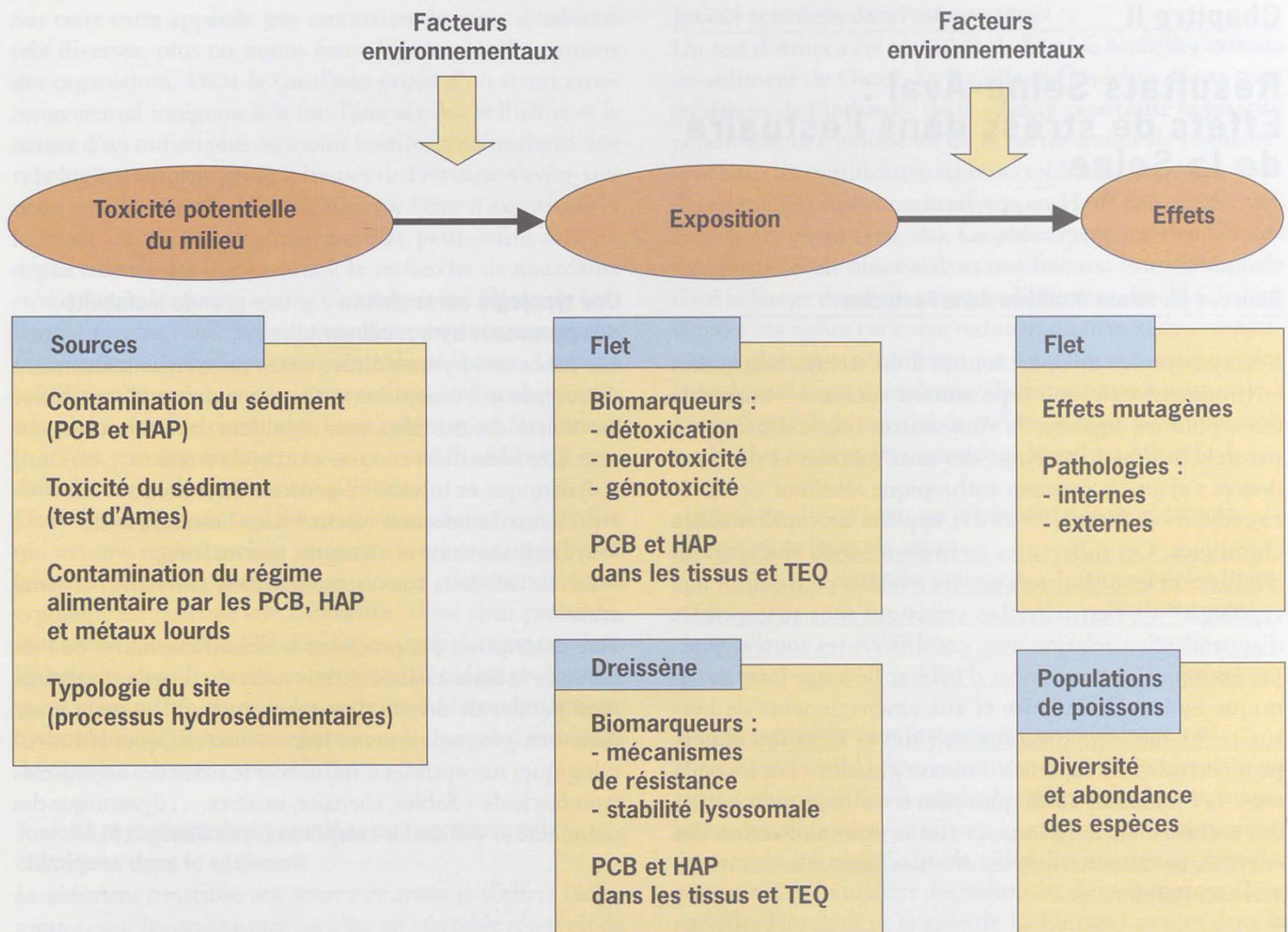


Figure 14 - Schéma récapitulatif des différents indicateurs appliqués chez le flet, la dreissène et dans le sédiment pour l'étude d'épidémiologie écologique réalisée dans l'estuaire de la Seine.

Chapitre II

Résultats Seine-Aval : Effets de stress dans l'estuaire de la Seine

Sources de stress étudiées dans l'estuaire

L'écosystème estuarien est soumis à différentes contraintes environnementales qui représentent autant de sources de stress pour les organismes. Aux sources liées à des facteurs naturels comme le mélange des eaux marines et des eaux douces s'ajoute la pression anthropique résultant des aménagements de l'estuaire et des apports de contaminants chimiques. Ces différentes sources de stress susceptibles d'influencer les organismes ont été retenues pour définir une typologie* de l'estuaire. Les stress qui sont susceptibles d'apparaître en relation avec ces différentes sources sont, par exemple, le changement d'habitat lié à une forte dynamique hydrosédimentaire et aux aménagements de l'estuaire. Le mélange des eaux marines et des eaux douces peut perturber les capacités d'osmorégulation chez les poissons. Les polluants chimiques peuvent altérer ou modifier des mécanismes fonctionnels vitaux comme l'action des enzymes de détoxification, les défenses immunitaires ou les activités hormonales.

Une typologie caractérisée par une grande instabilité des processus hydrosédimentaires

Les processus hydrosédimentaires estuariens influencent directement l'écosystème. Quatre sources d'instabilité entraînent des modifications régulières des habitats et peuvent être identifiées comme sources de stress :

- dynamique et instabilité générale du milieu ;
- présence du bouchon vaseux* dans l'estuaire aval ;
- hydrodynamisme et transport particulaire ;
- variabilité de la couverture sédimentaire dans l'estuaire aval.

Une description des processus hydrosédimentaires de l'estuaire de la Seine réalisée dans le cadre du programme Seine-Aval permet de dresser une carte illustrant les principaux domaines géographiques et leurs caractéristiques sédimentologiques susceptibles d'influencer le stress des organismes (voir fascicule « Sables, chenaux, vasières... : dynamique des sédiments et évolution morphologique ») (fig. 15).

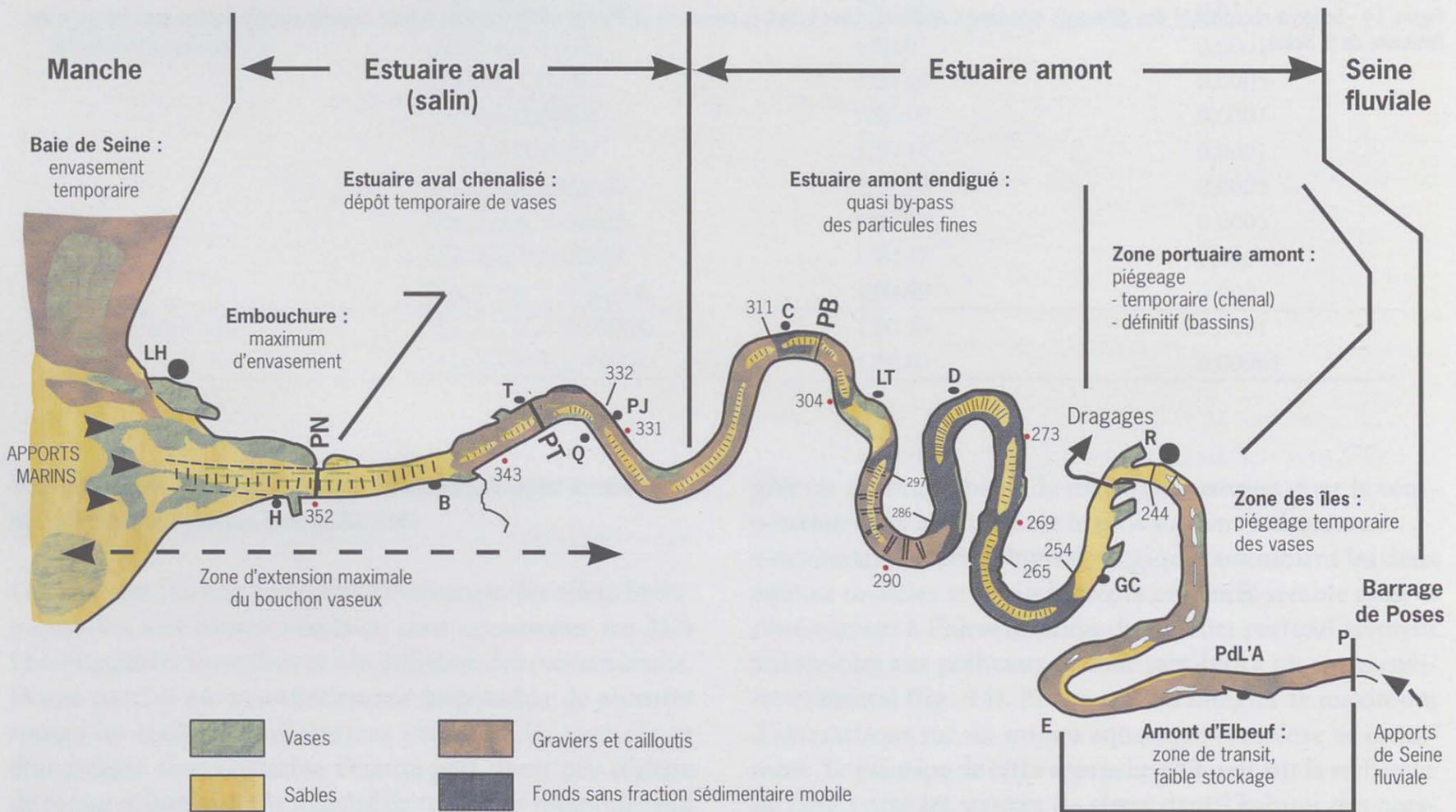


Figure 15 - Carte synthétique de la couverture sédimentaire meuble des fonds de l'estuaire de la Seine. Cette carte comprend trois zones principales : l'estuaire en amont de l'intrusion saline*, l'estuaire aval et l'estuaire externe. Elle illustre des typologies très différentes qui sont décrites dans le fascicule « Sables, chenaux, vasières... : dynamique des sédiments et évolution morphologique ». [LH : Le Havre, H : Honfleur, PN : Pont de Normandie, PT : Pont de Tancarville, PJ : Port-Jérôme, C : Caudebec-en-Caux, PB : Pont de Brotonne, LT : Le Trait, D : Duclair, R : Rouen, GC : Grand-Couronne, E : Elbeuf, PdL'A : Pont de l'Arche, P : Poses].

Sur cette carte apparaît une succession de zones d'habitats très diverses, plus ou moins favorables au développement des organismes. Dans le cas d'une étude d'un stress environnemental intégrant à la fois l'impact des polluants et la nature d'un milieu plus ou moins hostile, la définition d'une typologie des zones géographiques de l'estuaire s'avère très utile car elle interagit directement sur l'état d'exposition et le mode de vie des organismes. Elle peut influencer les déplacements des organismes à la recherche de nourriture et/ou d'un habitat appropriés à leurs besoins. Elle peut également favoriser une assimilation des contaminants par les organismes suivant la nature même du sédiment. Dans un habitat composé de vase, certaines molécules chimiques adsorbées sur des particules fines seront plus facilement ingérées par des organismes vivant sur le sédiment que dans des zones de graviers et cailloutis.

Dans le cas plus concret du programme Seine-aval, le flet qui est une espèce mobile se trouve ainsi soumis pendant les deux premières années de sa vie aux effets variés d'une typologie estuarienne très contrastée. Il est ainsi probablement plus vulnérable à l'assimilation des polluants pendant les séjours dans les secteurs propices au piégeage de sédiment contaminés ou dans les secteurs de forte dynamique hydrosédimentaire comme, par exemple, la zone d'extension du bouchon vaseux.

Toxicité et mutagenèse associées aux contaminants chimiques dans le sédiment

Le sédiment constitue une source de stress et d'effets biologiques pour les organismes car c'est un véritable réservoir de contaminants chimiques. Le risque biologique lié à la présence de contaminants chimiques dans le sédiment de l'estuaire de la Seine a été évalué à partir du test d'Ames (voir p. 11) pour détecter la toxicité des mélanges complexes de contaminants. La toxicité détectée par le test d'Ames met en évidence une forme d'effets biologiques particuliers : les effets mutagènes. Les polluants sont capables de provoquer des modifications de la structure de l'ADN appelées mutations. Ces mutations constituent des dommages biologiques qui fragilisent les organismes et peuvent parfois favoriser le développement de cancers.

Des prélèvements ont été réalisés sur l'ensemble de l'estuaire entre Poses et la baie de la Seine. Compte tenu de la couverture sédimentaire très inégale dans l'estuaire, les sédiments ont été prélevés sur les berges dans la partie amont. Dans la partie aval, des prélèvements de sédiment fins ont été effectués sur la couche de surface, dans le lit du fleuve et dans l'embouchure.

Toxicité potentielle dans l'estuaire amont

Un test d'Ames a été réalisé sur la fraction brute des extraits de sédiment de Oissel, La Bouille et Caudebec. Cette zone en dehors de l'influence de la salinité caractérise la toxicité potentielle des sédiments de la partie amont de l'estuaire. Une toxicité significative est observable à La Bouille et Caudebec malgré des concentrations en HAP très différentes dans le sédiment (tab. 2a). Ce phénomène n'a rien d'anormal lorsqu'il est observé dans une fraction brute composée d'un mélange de substances très différentes. Les HAP n'ont dans ce cas qu'un caractère indicatif du niveau de contamination globale et ne suffisent pas à expliquer la toxicité globale de mélanges complexes. Ce test est avant tout utile à l'estimation de la toxicité de mélanges dont la composition est le plus souvent inconnue dans le milieu naturel.

Tableau 2a - Test d'Ames sur la fraction brute de sédiments provenant de l'estuaire amont.

	ng HAP/g sédiment	Ames fraction brute
Oissel	6 340	Non déterminé
La Bouille	7 140	Positif
Caudebec	1 450	Positif

Toxicité potentielle dans l'estuaire moyen et l'estuaire aval

Il n'est pas possible de mesurer toutes les molécules dans un extrait chimique fait à partir du sédiment. Un fractionnement des contaminants suivant leurs propriétés chimiques a également été réalisé afin de cibler les groupes ou familles responsables. La toxicité des sédiments de trois stations (Tancarville, Honfleur et la rade de La Carosse) situées dans la zone d'influence de la salinité a été mesurée à partir des fractions polaires (composés de type acide), des fractions aromatiques (HAP et pesticides*), des fractions apolaires (PCB) et des fractions brutes (tous les composés) extraites des sédiments prélevés dans le lit du fleuve et dans l'embouchure (tab. 2b).

Le test d'Ames est positif sur les fractions aromatiques (HAP) des trois stations mais il est négatif pour les composés apolaires (PCB). Les HAP sont des composés ayant un pouvoir mutagène direct alors que les PCB sont plutôt considérés comme des promoteurs d'effets mutagènes. La fraction brute est positive sur les sites les plus contaminés à l'intérieur de l'estuaire. La fraction polaire n'est pas toxique sur le site de Tancarville.

Tableau 2b - Test d'Ames sur les fractions aromatique, brute, polaire et apolaire de sédiments provenant de l'estuaire moyen et de l'estuaire aval.

	HAP ng/g sédiment	PCB ng/g sédiment	Ames fraction aromatique	Ames fraction brute	Ames fraction polaire	Ames fraction apolaire
Tancarville	4 200	70	Positif	Positif	Non déterminé	Négatif
Honfleur	2 500	Non déterminé	Positif	Positif	Positif	Négatif
La Carosse	950	30	Positif	Négatif	Positif	Négatif

Contamination chimique de la ressource vivante : étude du régime alimentaire du flet

La contamination chimique de la ressource vivante constitue une source de stress dans le régime alimentaire des organismes. Les concentrations de deux groupes de contaminants, les métaux lourds et les contaminants organiques (PCB et HAP), ont été mesurées dans les différentes espèces qui composent le régime alimentaire du flet (Bessinetton *et al.*, 1997). Les différents niveaux de contamination des maillons de la chaîne trophique ainsi que le comportement des deux familles de contaminants ont ainsi été déterminés.

Le flet : un régime alimentaire très diversifié suivant l'âge et l'habitat qui influence l'assimilation des contaminants

Suivant les proies que le flet ingère au gré de ses déplacements, il assimile une nourriture plus ou moins contaminée. La nourriture représente une source de contamination potentielle pour le flet.

Le régime alimentaire diversifié des flets est principalement lié à des caractéristiques morphologiques différentes entre les juvéniles et les adultes mais également à la nourriture disponible sur le lieu d'habitat. Dans l'estuaire aval, les flets se nourrissent pour les plus jeunes de copépodes, puis de mysidacés dans les zones oligohaline et mésohaline, en amont de l'estuaire et dans le chenal (voir fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »).

Le régime alimentaire des jeunes flets dans la première année est essentiellement constitué de copépodes *Eurytemora affinis*. La quantité de débris végétaux provenant du bouchon vaseux est également à souligner. Les flets dans leur deuxième année (16 à 21 cm) consomment principalement des pectinaires (*Pectinaria koreni*) ainsi que des crevettes (*Crangon crangon*, *Palaemon longirostris*). Leur régime alimentaire peut se diversifier avec d'autres annélides (*Arenicola*, *Hediste*, *Lanice*) et quelques poissons (*Pomatoschistus microps*). Les flets supérieurs à 21 cm (adultes) ont un régime alimentaire moins diversifié, plutôt en relation avec les proies disponibles sur le lieu d'habitat. Dans l'estuaire aval, le régime des adultes est essentiellement composé de bivalves *Abra alba*. Les pectinaires tiennent également une place importante alors que les crevettes sont des proies annexes (voir fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »).

Toutes classes de tailles confondues, les bivalves *Abra alba* et les annélides *Pectinaria koreni* constituent la majorité des proies ingérées par les flets. Il est cependant possible de distinguer des différences alimentaires très marquées au sein d'une même classe de taille et chez des organismes vivant sur des sites voisins dans l'estuaire. Par exemple, dans la fosse sud, les flets se nourrissent de *Pectinaria koreni* et de *Abra alba* alors qu'à Honfleur ils consomment plutôt des crevettes (*Crangon crangon*), des copépodes et des gobies (*Pomatoschistus microps*) (voir fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »). Cette disparité de régime alimentaire suivant l'âge et l'habitat influence directement l'assimilation de proies contaminées par les flets et donc leur état de stress.

Contamination du régime alimentaire du flet par les métaux lourds

Les métaux lourds (cuivre Cu, zinc Zn, cadmium Cd, plomb Pb) sont considérés comme des polluants d'origine naturelle ou anthropique. Leur présence dans l'estuaire de la Seine devient préoccupante. L'estuaire reçoit non seulement les flux de polluants résiduels générés sur l'ensemble du bassin versant de la Seine (74 000 km²) mais aussi les rejets directs industriels et particulièrement ceux des usines localisées dans l'estuaire. Les teneurs en métaux dissous mesurées dans l'estuaire de la Seine sont comparables à celles rencontrées dans les estuaires mondiaux les plus contaminés. L'accumulation des métaux par les organismes marins peut s'effectuer selon deux voies principales, soit à partir de l'eau de mer (par adsorption à la surface du corps des organismes et par absorption au niveau des branchies et du tractus digestif), soit à partir de la nourriture au travers des réseaux trophiques. La recherche des niveaux de contaminants chimiques dans les différents maillons des réseaux trophiques permet ainsi une estimation du niveau de contamination et une évaluation du devenir des contaminants dans les différents organismes qui composent la ration alimentaire du flet.

Pour les quatre métaux étudiés (Cd, Cu, Pb, Zn), les concentrations diminuent de la base du réseau trophique, représentée par les débris organiques et le phytoplancton, jusqu'au flet (fig. 16). Il n'y a pas de phénomène de bioamplification* des concentrations métalliques le long du réseau trophique. Les concentrations diminuent depuis le phytoplancton jusqu'aux carnivores situés au sommet de la pyramide alimentaire.

Les bivalves plus particulièrement consommés par les flets adultes présentent des concentrations métalliques élevées. Par exemple, pour la coque *Cerastoderma edule* et pour *Macoma balthica* (voir fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »), les concentrations mesurées sont de 2 à 3 (Pb, Zn, Cu) voire 7 (Cd) fois plus élevées en baie de Seine qu'en baie de Somme, zone non directement soumise à des apports de polluants métalliques.

Pour les crevettes et les poissons, les concentrations mesurées en cadmium et en cuivre sont comparables à celle des espèces prélevées en divers points des côtes françaises (voir fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires »). Cependant, le zinc et le plomb apparaissent à des concentrations plus importantes chez les crevettes et les poissons de la zone estuarienne.

Contamination du régime alimentaire du flet par les PCB et les HAP

Les fortes contaminations par les PCB et les HAP enregistrées dans l'estuaire ainsi que le caractère persistant des PCB et le potentiel cancérigène des HAP ont motivé l'étude du devenir de ces contaminants dans la chaîne trophique (voir fascicule « Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant ? »).

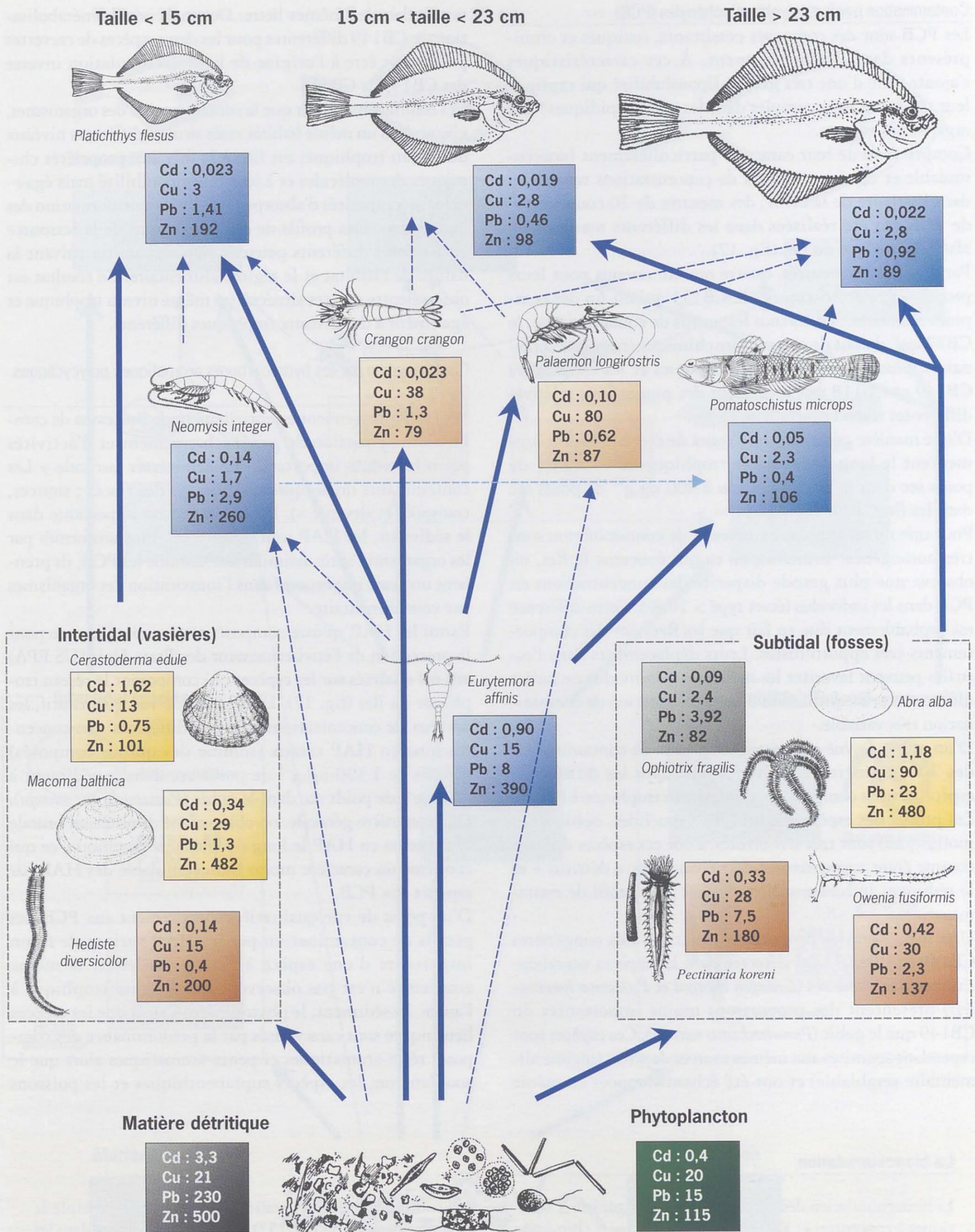


Figure 16 - Concentrations métalliques (Cd : cadmium ; Cu : cuivre ; Pb : plomb ; Zn : zinc en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) mesurées dans le réseau trophique du flet. (Illustrations inspirées de Hayward & Ryland, 1995).

Contamination par les polychlorobiphényles (PCB)

Les PCB sont des composés persistants, toxiques et omniprésents dans l'environnement. À ces caractéristiques s'ajoute celle d'une très grande liposolubilité qui explique leur tendance à s'accumuler dans les tissus lipidiques* des organismes vivants.

Compte tenu de leur caractère particulièrement bioaccumulable et des forts niveaux de concentrations rencontrés dans l'estuaire de la Seine, des mesures de 20 congénères* de PCB ont été réalisées dans les différents maillons du réseau trophique du flet (fig. 17).

Parmi les PCB mesurés, quatre ont été retenus pour leurs propriétés caractéristiques : le CB153 qui est un des composés majoritaires dans tous les profils de contamination, le CB77 qui, du fait de sa structure chimique (composé coplanaire), possède des propriétés toxiques et les congénères CB149 et CB118 qui présentent des proportions relatives différentes selon l'espèce considérée.

D'une manière générale, les niveaux de contamination augmentent le long de la chaîne trophique de 15 ng.g⁻¹ de poids sec dans le phytoplancton à 400 ng.g⁻¹ de poids sec dans les flets, pour le CB153.

Pour une même espèce, les niveaux de contamination sont très homogènes. Toutefois, en ce qui concerne le flet, on observe une plus grande disparité des concentrations en PCB dans les individus (écart type > 10 %). Cette différence est probablement due au fait que les flets ont des comportements très opportunistes. Leurs déplacements dans l'estuaire peuvent favoriser les mélanges d'individus de tailles différentes et l'assimilation d'une alimentation de contamination très variable.

D'un point de vue qualitatif, les profils de contamination des 20 congénères de PCB obtenus dans les différentes espèces restent comparables d'un niveau trophique à l'autre. Les profils des espèces benthiques (annélides, ophiures et mollusques) sont très semblables. Pour ces espèces définies comme étant suspensivores-détritivores, les « détritus » et le sédiment influencent directement leur profil de contamination.

Une inversion des proportions relatives des congénères CB149 et CB118 a été détectée dans les espèces suprabenthiques. Les crevettes (*Crangon crangon* et *Palaemon longirostris*) présentent des proportions moins importantes du CB149 que le gobie (*Pomatoschistus microps*). Ces espèces sont cependant soumises aux mêmes sources de stress (régime alimentaire semblable) et ont été échantillonnées en même

temps dans les mêmes lieux. Des capacités de métabolisation du CB149 différentes pour les deux espèces de crevettes pourraient être à l'origine de la bioaccumulation inverse des CB149 et CB118.

Ces résultats montrent que la contamination des organismes, vivant dans un même habitat mais situés à différents niveaux du réseau trophique, est liée à la fois aux propriétés chimiques des molécules et à leur biodisponibilité mais également aux capacités d'absorption et de biotransformation des organismes. Des profils de contaminations de la ressource vivante très différents peuvent ainsi apparaître suivant la nature de l'habitat et le régime alimentaire. Ce résultat est observé entre espèces situées à un même niveau trophique et également à des niveaux trophiques différents.

Contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP proviennent essentiellement de processus de combustion d'émission de gaz d'échappement et d'activités pétrochimiques importantes en Seine (voir fascicule « Les contaminants organiques qui laissent des traces : sources, transport et devenir »). En concentration importante dans le sédiment, les HAP sont rapidement biotransformés par les organismes après assimilation. Comme les PCB, ils prennent une part importante dans l'intoxication des organismes par voie alimentaire.

Parmi les HAP, quinze composés retenus par l'agence pour la protection de l'environnement des États-Unis (US EPA) ont été analysés sur les espèces qui composent le réseau trophique du flet (fig. 17). D'un point de vue quantitatif, les niveaux de concentrations sont très différents : les concentrations en HAP totaux (somme des quinze composés) varient de 1 300 ng.g⁻¹ de poids sec dans le sédiment à 14 ng.g⁻¹ de poids sec dans le gobie (*Pomatoschistus microps*). D'une manière générale, on observe une diminution brutale des teneurs en HAP le long de la chaîne trophique, ce qui confirme un caractère moins bioaccumulable des HAP par rapport aux PCB.

D'un point de vue qualitatif, contrairement aux PCB, les profils de contamination par les HAP varient de façon importante d'une espèce à l'autre. En effet, la même empreinte n'est pas observée d'un échelon trophique à l'autre. Le sédiment, le phytoplancton ainsi que les espèces benthiques sont caractérisés par la prédominance des composés tétra-aromatiques et penta-aromatiques alors que le zooplancton, les espèces suprabenthiques et les poissons

La bioaccumulation

La bioaccumulation désigne la capacité des organismes aquatiques à concentrer et à accumuler les substances chimiques présentes à des concentrations bien supérieures à celles qui sont mesurées dans l'eau. Ce processus revêt une grande importance dans les études sur le niveau, le devenir et les effets des contaminants. Les processus de bioaccumulation des PCB se traduisent par l'augmentation des concentrations

des composés les plus persistants comme par exemple le chlorobiphényle 153 (CB153), composé majoritaire dans les tissus.

La bioaccumulation regroupe deux termes : la bioconcentration ou accumulation des substances à partir de l'eau et la biomagnification dans laquelle la nourriture est la source de contamination des organismes.

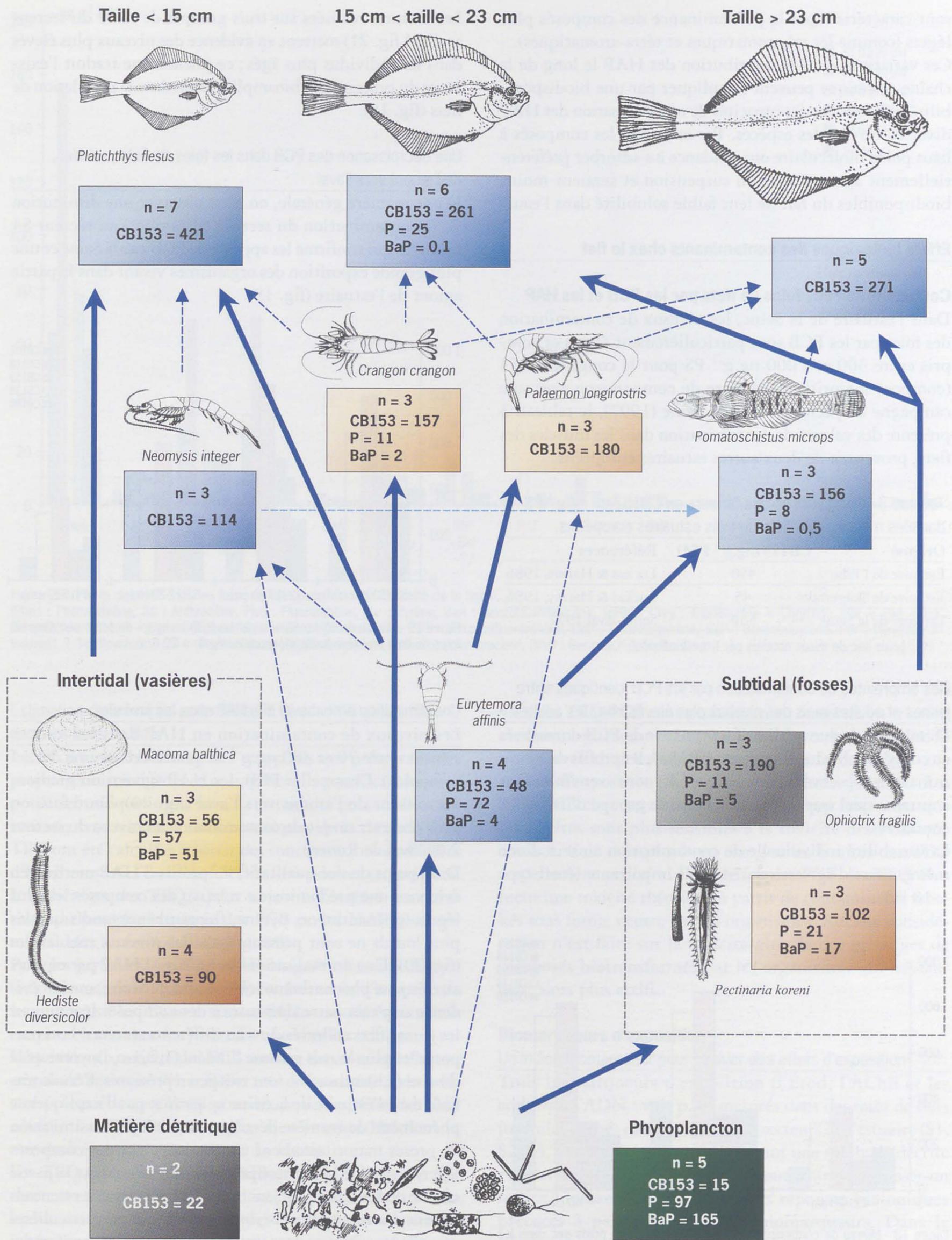


Figure 17 - Bioaccumulation d'un PCB, le CB153; d'un HAP, le benzo(a)pyrène (BaP) de haut poids moléculaire et d'un HAP de faible poids moléculaire, le phénanthrène (P) dans la chaîne trophique du flet (n = nombres d'échantillons). (Illustrations inspirées de Hayward & Ryland, 1995).

sont caractérisés par la prédominance des composés plus légers (comme les tri-aromatiques et tétra-aromatiques). Ces variations dans la distribution des HAP le long de la chaîne trophique peuvent s'expliquer par une biodisponibilité différente et des capacités de métabolisation des HAP diverses suivant les espèces. Par exemple, les composés à haut poids moléculaire ont tendance à s'adsorber préférentiellement aux matières en suspension et seraient moins biodisponibles du fait de leur faible solubilité dans l'eau.

Effets biologiques des contaminants chez le flet

Contamination des foies de flets par les PCB et les HAP

Dans l'estuaire de la Seine, les niveaux de contamination des foies par les PCB sont particulièrement élevés et compris entre 300 et 1 000 ng.g^{-1} PS pour le congénère 153 (composé majoritaire). À titre de comparaison avec une campagne de pêche réalisée en Seine (1997), le tableau 3 présente des valeurs de contamination dans les muscles des flets, provenant de deux autres estuaires européens.

Tableau 3 - Comparaison des teneurs en CB153 en ng.g^{-1} PS dans les muscles des flets de trois estuaires européens.

Origine	CB153 (ng.g^{-1} PS*)	Références
Estuaire de l'Elbe	450	Luckas & Harms, 1986
Estuaire de Skagerrak	45	Luckas & Harms, 1986
Estuaire de la Seine	540	Seine-Aval 1997

* PS : poids sec de tissus obtenus par lyophilisation*.

Des empreintes de contamination par les PCB identiques entre jeunes et adultes mais des niveaux plus élevés chez les adultes. D'un point de vue qualitatif (empreinte de PCB normalisés au congénère le plus abondant : CB153), les profils de contamination observés pour les PCB sont sensiblement constants quel que soit le secteur ou le groupe d'individus considérés.

La variabilité individuelle de contamination au sein d'une même classe d'âge est relativement importante (écart type > 10 %).

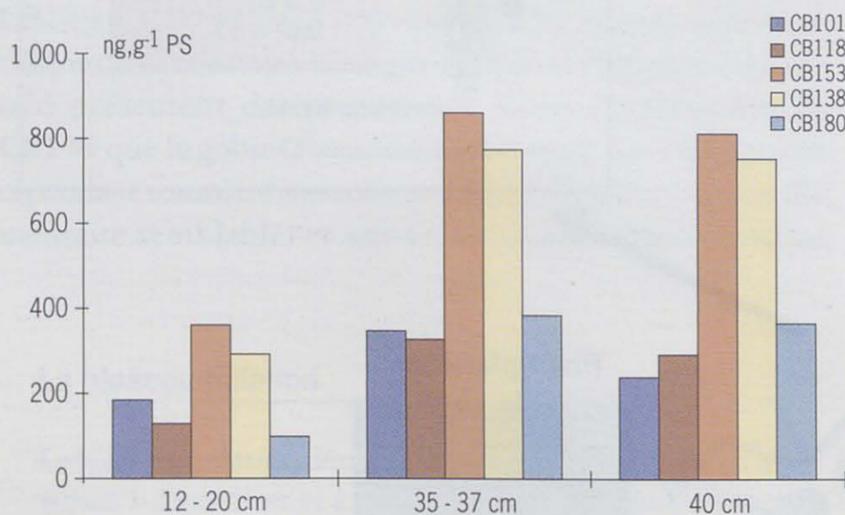


Figure 18 - Niveau de contamination des PCB en ng.g^{-1} de poids sec dans les foies de jeunes flets (12-20 cm) et d'adultes (35 à 37 cm et 40 cm) prélevés dans l'embouchure de la Seine.

Les mesures réalisées sur trois groupes de taille du secteur aval (S4 fig. 21) mettent en évidence des niveaux plus élevés dans les individus plus âgés; ce phénomène traduit l'existence du processus de bioamplification dans la population de flets (fig. 18).

Une décroissance des PCB dans les foies de flets juvéniles, de l'amont vers l'aval

D'une manière générale, on peut observer une diminution de la contamination du secteur S1 (amont) au secteur S4 (aval), ce qui confirme les apports de PCB par la Seine et une plus grande exposition des organismes vivant dans la partie amont de l'estuaire (fig. 19).

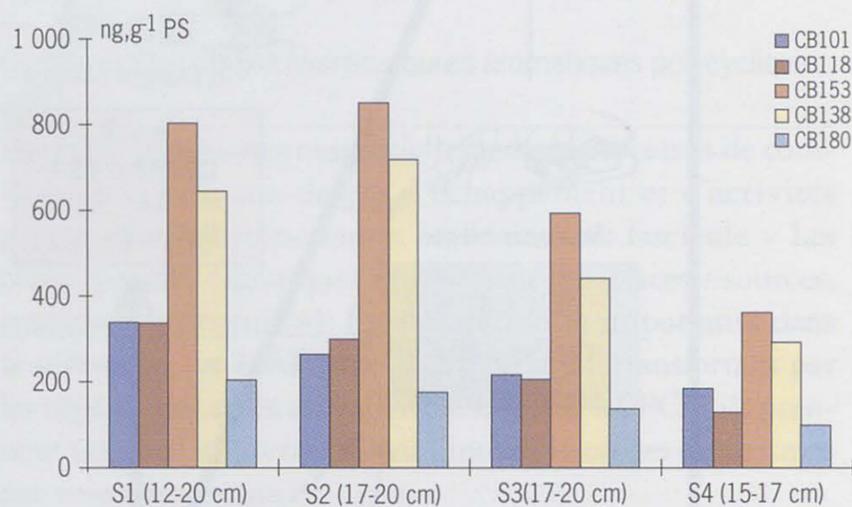


Figure 19 - Niveau de contamination par les PCB en ng.g^{-1} de poids sec dans les foies de flets juvéniles (taille inférieure ou égale à 20 cm).

Une diminution amont-aval des HAP chez les juvéniles

Les niveaux de contamination en HAP dans les foies se situent entre 70 et 380 ng.g^{-1} de poids sec (somme des 14 composés). Comme les PCB, les HAP suivent un gradient décroissant de l'amont vers l'aval (fig. 20). Toutefois, on peut observer un pic de contamination au niveau du secteur 2 (en aval de Rouen).

D'un point de vue qualitatif, les profils d'HAP mettent en évidence une prédominance relative des composés les plus légers (phénanthrène, pyrène, fluoranthène) tandis que les plus lourds ne sont présents qu'à des niveaux très faibles (fig. 20). Une normalisation des valeurs d'HAP par rapport au composé phénanthrène (composé majoritaire) met en évidence une très nette dominance des composés légers pour les jeunes flets collectés dans les différents secteurs. Les composés les plus lourds comme l'indéno(1,2,3-c,d)pyrène et le dibenzo(a,h)anthracène sont très peu représentés. L'étude réalisée dans l'estuaire de la Seine ne permet pas d'expliquer ce phénomène de manière détaillée. Cependant, l'assimilation de proies majoritairement contaminées par des composés légers reste une hypothèse probable. En effet, dans la partie amont de l'estuaire, les jeunes flets se nourrissent essentiellement d'un copépode *Eurytemora affinis* qui est particulièrement contaminé par des composés légers en comparaison des autres espèces qui composent le réseau trophique (fig. 17).

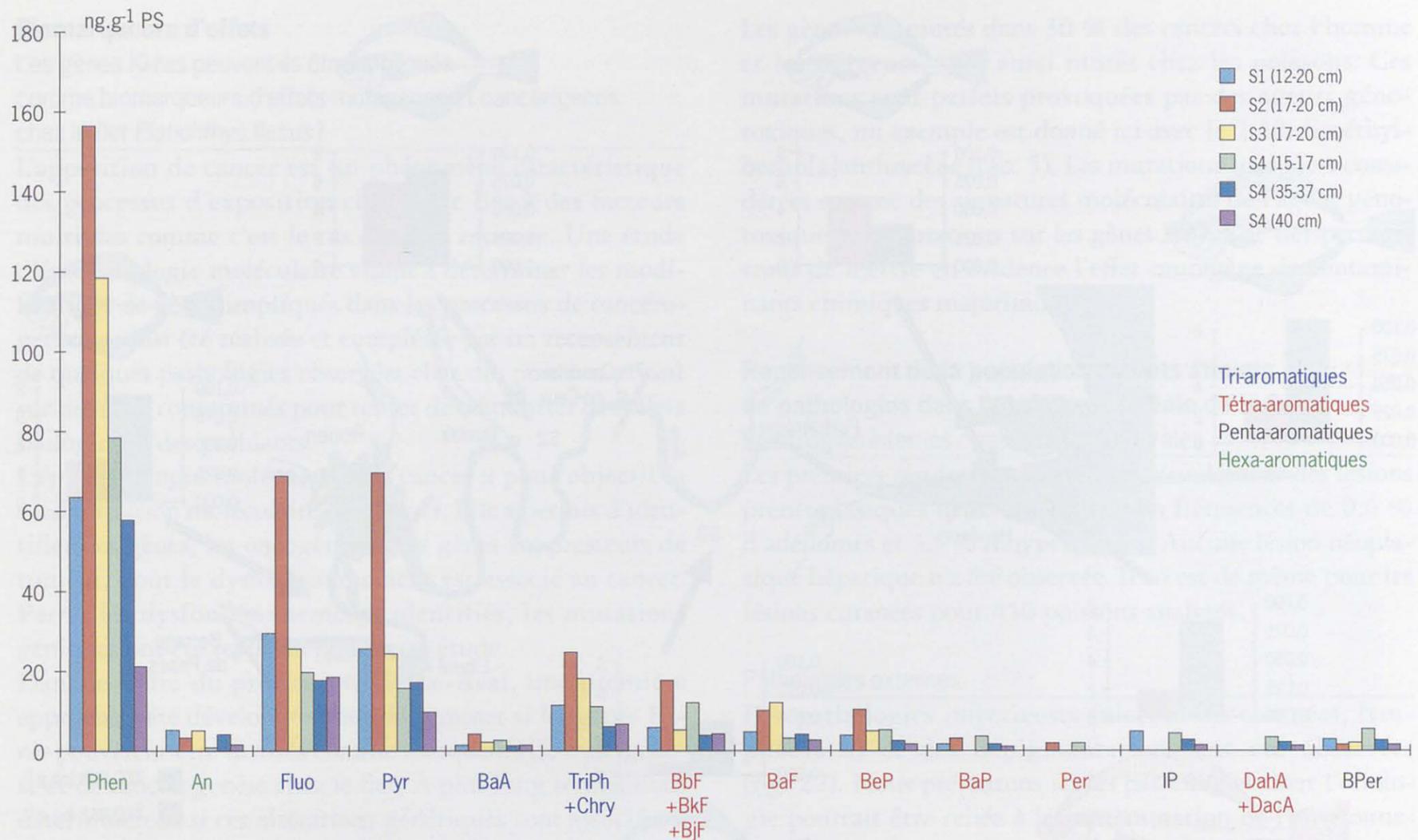


Figure 20 - Profils des HAP dans les foies de flets juvéniles dans l'estuaire de la Seine.

[Phen : Phénanthrène, An : Anthracène, Fluo : Fluoranthène, Pyr : Pyrène, BaA : Benzo(a)anthracène, TriPh + Chry : Triphénylène + Chrysène, BbF + BkF + BjF : Benzo(b)fluoranthène + Benzo(k)fluoranthène + Benzo(j)fluoranthène, BaF : Benzo(a)fluoranthène, BeP : Benzo(e)pyrène, BaP : Benzo(a)pyrène, Per : Pérylène, IP : Indéno(1,2,3-c,d)pyrène, DahA + DacA : Dibenzo(a,h)anthracène + Dibenzo(a,c)anthracène, BPer : Benzo(g,h,i)pérylène].

Estimation de la toxicité potentielle (TEQ) des PCB et des HAP dans les foies de flets

Les PCB et les HAP sont des composés qui présentent des propriétés carcinogènes et mutagènes. Ils possèdent donc un potentiel toxique important. Leur toxicité potentielle a été estimée avec les équivalences toxiques de la dioxine. Des TEQ ont été calculées à partir des concentrations de PCB et d'HAP mesurées dans les foies de flets adultes et juvéniles. L'application des TEQ a pour objectif d'évaluer les variations du potentiel toxique des PCB et des HAP bioaccumulés dans les foies de flets (fig. 21).

Pour les juvéniles, les TEQ HAP désignent l'aval de Rouen (S2) et le secteur d'Honfleur (S4) comme zones d'expositions les plus sensibles. Dans le secteur S4, la toxicité équivalente est plus élevée chez les juvéniles que chez les adultes.

L'équivalence toxicité des PCB montre une zone sensible en amont de l'estuaire (S1 et S2) et une décroissance de la toxicité potentielle vers l'aval pour les juvéniles. Chez les flets adultes, les TEQ PCB sont plus élevées entre Honfleur et une droite verticale passant par Le Havre.

Les TEQ estimées pour les PCB et les HAP chez le flet mettent en évidence des variations qui pourraient être liées à une assimilation différente des contaminants entre les juvéniles et les adultes due entre autres au régime alimentaire. Cependant, l'interprétation de ces résultats doit être nuancée. Pour les adultes par exemple, les valeurs plus éle-

vées des TEQ PCB sont probablement à mettre en relation avec une bioaccumulation des PCB. Cette bioaccumulation plus élevée chez les adultes est en effet favorisée par une période d'exposition plus longue que celle des juvéniles. Les TEQ PCB chez les adultes ne signifient pas forcément que les adultes sont plus sensibles à la toxicité des PCB que ceux-ci. Cela met plutôt en exergue les limites des TEQ actuellement utilisées. Dans le cas des PCB, les TEQ évaluent une toxicité théorique à partir de contaminants stockés sous forme neutre par les organismes. Aucune considération n'est faite sur la toxicité globale des mélanges de composés biotransformés par les organismes qui deviennent alors plus actifs.

Biomarqueurs d'exposition

Un indice biomarqueur pour évaluer des effets d'exposition

Trois biomarqueurs d'exposition (l'Érod, l'ACHé et les adduits à l'ADN : voir p. 8) mesurés dans des foies de flets juvéniles pêchés dans les différents secteurs de l'estuaire (S1, S2, S3, S4) ont été interprétés suivant une méthode décrite par Beliaeff & Burgeot (1999). Le but était de proposer un indice biomarqueur intégrant des réponses biologiques précoces à partir de plusieurs biomarqueurs. Dans le tableau 4, cet indice biomarqueur est comparé avec les concentrations de PCB et d'HAP déterminées dans les foies de flets juvéniles pêchés sur les mêmes stations.

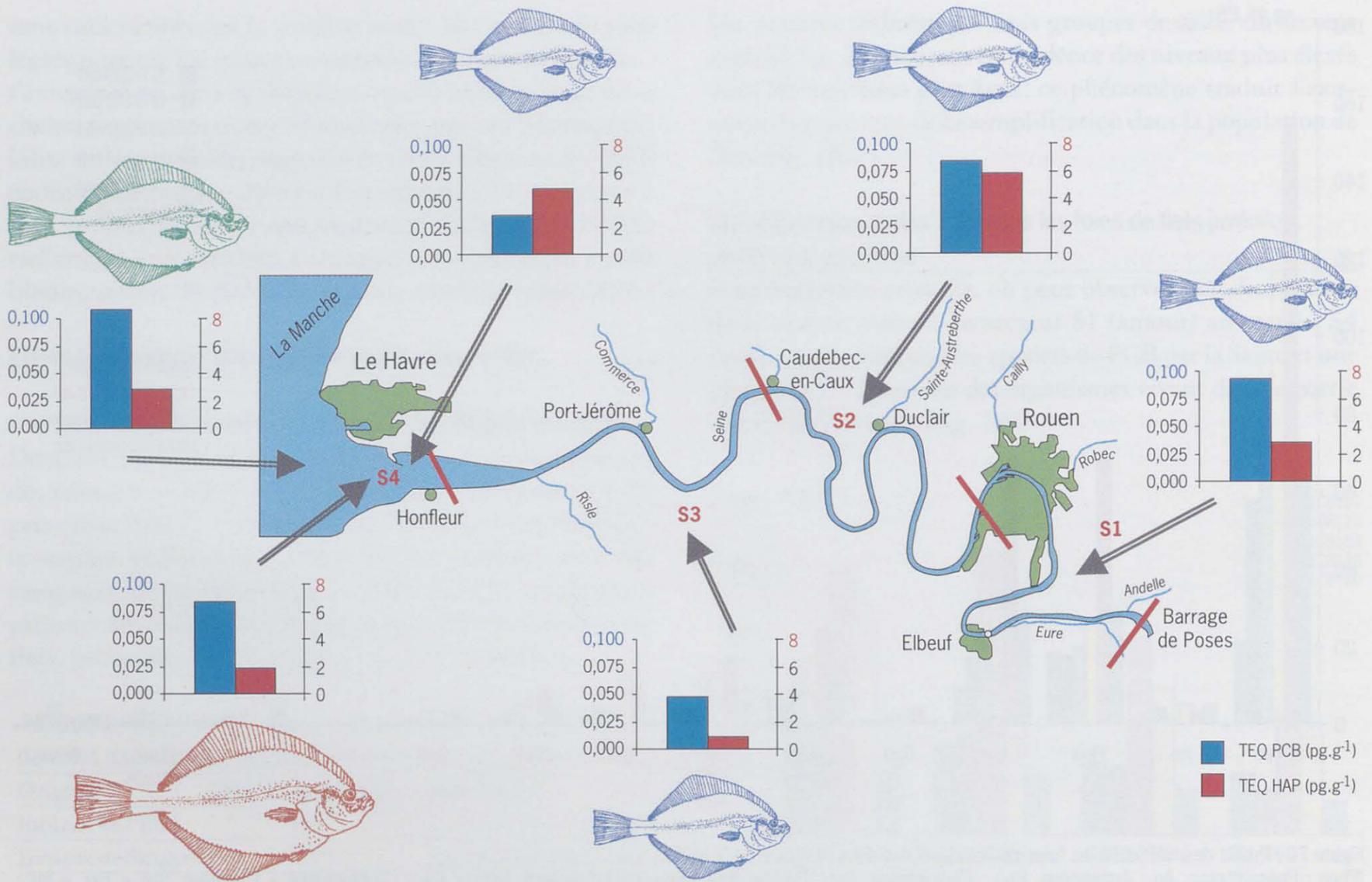


Figure 21 - Toxicité équivalente des PCB et des HAP calculée par rapport à la toxicité de la dioxine sur les quatre secteurs de l'estuaire. Quatre classes de taille ont été retenues chez le flet. Le groupe 0 (juvéniles d'un an) n'a été identifié de manière significative que dans le secteur S1. Pour le groupe 3 (adultes de 3 ans et plus), seul le secteur S4 a pu fournir un échantillonnage représentatif. Ce sont les groupes 1 et 2 (juvéniles de deux ans) qui semblent les mieux représentés tout au long de la Seine. Les TEQ ont été estimées pour les juvéniles (< 25 cm → flet bleu) sur l'ensemble de l'estuaire (secteurs S1, S2, S3, S4) et pour les adultes (25 à 35 cm → flet vert et 40 cm → flet rouge) dans l'embouchure (S4).

Tableau 4 - Indices biomarqueurs et concentrations des PCB et des HAP dans les foies de flets juvéniles mesurés sur quatre secteurs de l'estuaire.

Zones (Amont → Aval)	Indice biomarqueur	PCB dans les foies ng.g ⁻¹ PS**	HAP dans les foies ng.g ⁻¹ PS**
Rouen → La Bouille	6,33	4120	371
Duclair → Caudebec	3,04	2734	217
Honfleur	0,32	1902	166
Embouchure	1,63	5633	78

*L'unité arbitraire attribuée à l'indice biomarqueur correspond à la représentation graphique des surfaces calculées à partir de la somme des trois biomarqueurs (Érod, AChE et Adduits à l'ADN) sur un même cadran (méthode détaillée par Beliaeff & Burgeot, 1999).

**PS : poids sec de tissu après lyophilisation.

Chez les jeunes flets, une décroissance de l'indice biomarqueur est observable de l'amont (secteur Rouen → La Bouille) jusqu'à l'embouchure. Cette tendance est comparable à la décroissance amont-aval des concentrations d'HAP et de PCB mesurées dans les mêmes secteurs. Le secteur d'Honfleur

présente les plus faibles valeurs d'indice biomarqueur et de faibles concentrations en PCB et en HAP.

L'indice biomarqueur dans l'embouchure (secteur S4, fig. 21) est également très inférieur à celui du secteur amont (Rouen → La Bouille) malgré une contamination très élevée en PCB. Dans ce cas, la salinité plus élevée dans l'embouchure pourrait être responsable de la baisse des valeurs de certains biomarqueurs sensibles à l'inhalation de contaminants comme le cadmium. Il existe en particulier une action synergique de la salinité et de certains contaminants chimiques qui pourrait expliquer certaines variations entre eau douce et eau salée. Des travaux récents réalisés chez le flet ont montré par exemple une plus grande sensibilité des flets exposés au cadmium en eau douce (Vonck, 1999).

Néanmoins, les résultats obtenus mettent en évidence l'intérêt d'un indice biomarqueur mesuré directement sur des organismes vivant dans l'estuaire. Contrairement à l'estimation théorique des TEQ, l'indice biomarqueur donne une image ponctuelle mais réelle de l'état d'exposition des organismes à l'ensemble des polluants présents dans l'estuaire.

Biomarqueurs d'effets

Les gènes *Ki-ras* peuvent-ils être appliqués comme biomarqueurs d'effets mutagènes et cancérigènes chez le flet *Platichthys flesus*?

L'apparition de cancer est un phénomène caractéristique des processus d'exposition chronique liés à des facteurs multiples comme c'est le cas dans un estuaire. Une étude d'épidémiologie moléculaire visant à déterminer les modifications de gènes impliqués dans les processus de cancérogenèse a ainsi été réalisée et complétée par un recensement de quelques pathologies observées chez des poissons vivant sur des sites contaminés pour tenter de démontrer des effets biologiques des polluants.

L'épidémiologie moléculaire du cancer a pour objectif la caractérisation moléculaire de celui-ci. Elle a permis d'identifier des gènes, les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeur, dont le dysfonctionnement est associé au cancer. Parmi les dysfonctionnements identifiés, les mutations géniques ont été retenues pour cette étude.

Dans le cadre du programme Seine-Aval, une première approche a été développée pour déterminer si les gènes *Ki-ras* pouvaient être utilisés comme marqueurs de mutagenèse et de cancérogenèse chez le flet. À plus long terme, nous déterminerons si ces altérations génétiques sont associées à un facteur de risque majoritaire dans l'environnement. Il s'agit d'un travail de longue haleine qui nécessite (1) un échantillonnage important de tumeurs chez les flets et (2) le développement d'outils moléculaires pour l'étude des gènes *Ki-ras*. Le recensement des tumeurs a été intégré dans le recensement général des pathologies du flet.

Les gènes *ras*, mutés dans 30 % des cancers chez l'homme et les rongeurs, sont aussi mutés chez les poissons. Ces mutations sont parfois provoquées par des agents génotoxiques, un exemple est donné ici avec le 7,12-diméthylbenzo[a]anthracène (tab. 5). Les mutations sont alors considérées comme des signatures moléculaires de l'agent génotoxique. Les mutations sur les gènes *Ki-ras* de flet permettront de mettre en évidence l'effet mutagène de contaminants chimiques majoritaires.

Recensement de la population de flets atteints de pathologies dans l'estuaire et la baie de la Seine

Pathologies internes : pathologies tumorales

Les premiers résultats montrent essentiellement des lésions préneoplasiques hépatiques avec des fréquences de 0,6 % d'adénomes et 3,5 % d'hyperplasies. Aucune lésion néoplasique hépatique n'a été observée. Il en est de même pour les lésions cutanées pour 450 poissons analysés.

Pathologies externes

Des pathologies infectieuses (ulcérations cutanées, lymphocystis) et des dépigmentations ont été observées (fig. 22). Nous présentons ici les pathologies dont l'étiologie pourrait être reliée à la contamination de l'environnement (virale, bactérienne, chimique). Mille deux cents poissons ont été analysés pour des pathologies non tumorales (fig. 23). Les fréquences de pathologies chez les flets de l'estuaire et de la baie de la Seine sont deux fois plus faibles que celles observées sur les côtes néerlandaises (Vethaak *et al.*, 1996).

Tableau 5 - Exemples de mutations sur les gènes *Ki-ras* dans des tumeurs induites chimiquement ou spontanées.

Cancer	Mutation gènes <i>Ki-ras</i>	Cancérigène	Sites contaminés	Organisme	Auteurs
Foie	*G > A et G > T codon 12	7,12-diméthyl benzo[a]anthracène		embryon truite	Fong <i>et al.</i> , 1993
Foie	G > A et G > T codon 12		Port de Boston	flet américain	Mc Mahon <i>et al.</i> , 1988
Foie	G > A codon 11		Baie de la Seine	dragonnet	Vincent <i>et al.</i> , 1998

* Une mutation G > A signifie que la guanine est remplacée par l'adénine.

Tumeurs chez les poissons marins

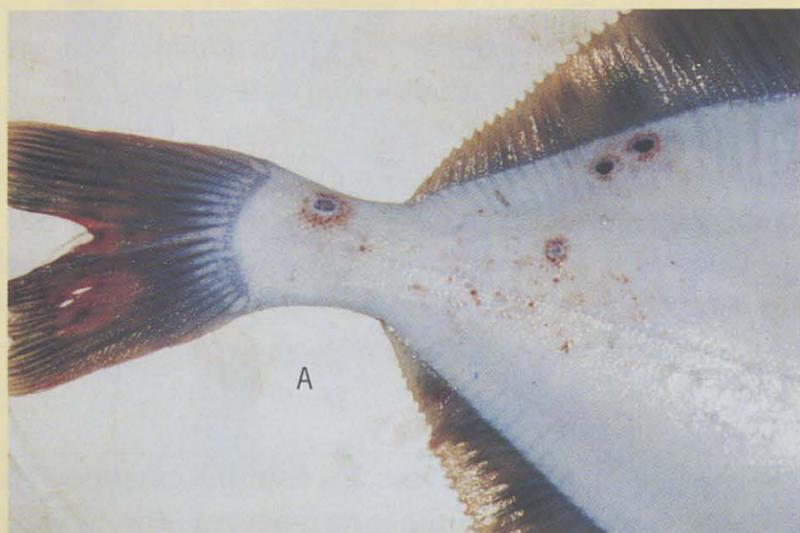
Les tumeurs identifiées chez les poissons en milieu naturel sont essentiellement des tumeurs cutanées et des tumeurs hépatiques. Leurs fréquences varient en fonction de l'espèce et du site géographique. Les fréquences les plus fortes sont observées sur les côtes américaines et japonaises avec, par exemple, des fréquences de tumeurs cutanées chez la sole se situant entre 0,01 à 58 % sur les côtes américaines. Sur les côtes européennes, en mer de Wadden (Vethaak *et al.*, 1996), une fréquence de 2 % de tumeurs hépatiques est rap-

portée pour le flet, *Platichthys flesus*. Les fréquences les plus fortes de tumeurs sont observées au voisinage des zones urbaines et industrialisées : des concentrations élevées en HAP et en PCB dans ces systèmes aquatiques sont souvent corrélées avec l'apparition des tumeurs. Ceci laisse supposer une origine chimique pour la plupart d'entre elles ; cependant, une étiologie virale est reconnue pour la plupart des tumeurs cutanées chez les poissons marins.

Pathologies les plus fréquentes chez le flet

Ulcère cutané

Lésion nécrotique, hémorragique et congestive qui atteint le derme, l'épiderme et parfois les muscles. Les ulcères sont de forme circulaire ouverte lorsqu'il s'agit d'une inflammation aiguë mais, lors de la cicatrisation, la périphérie apparaît pigmentée. L'étiologie est probablement bactérienne (fig. 22A).



Lymphocystis

Pathologie virale externe reconnaissable à la présence de nodules, blanchâtres ou pigmentés, de plusieurs millimètres de diamètre, localisés sur le derme au niveau du corps, des nageoires et de la cavité orale (fig. 22B).

Néoplasie hépatique

Lésion de 2 mm de diamètre visible à la surface du foie, généralement d'une couleur différente du foie. Son étiologie n'est pas clairement déterminée mais elle est probablement associée à la pollution chimique.

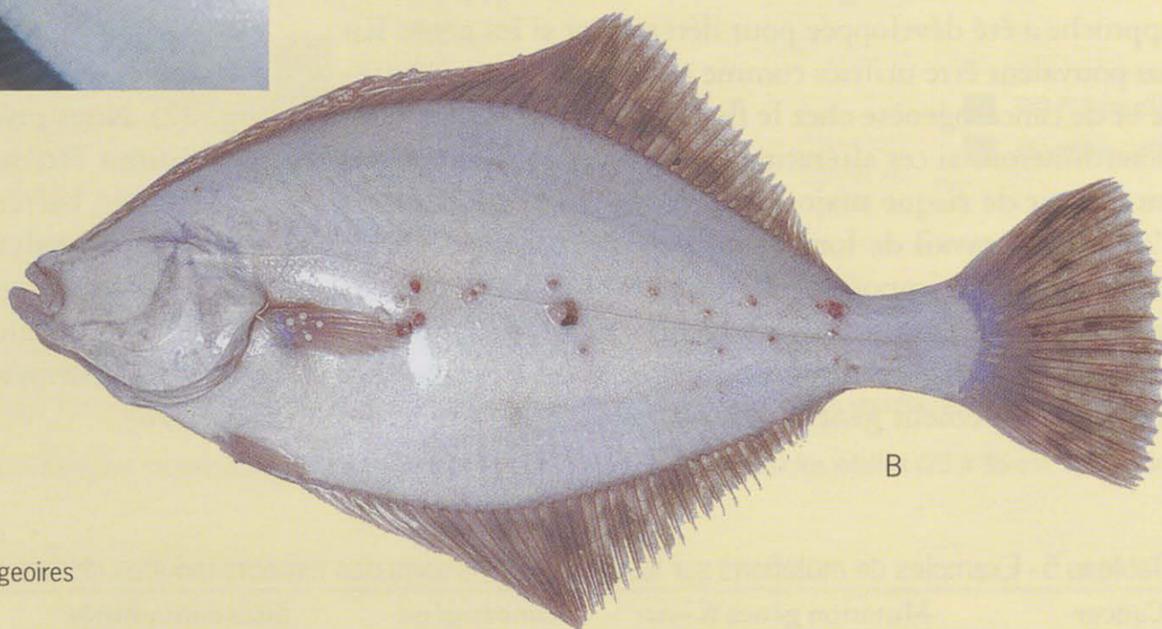


Figure 22 - (A) Ulcère cutané et altérations des nageoires
(B) Lymphocystis chez le flet.

Ulcères cutanés

Pour l'ensemble des sites, seuls les flets des classes 2 (juvéniles dans leur deuxième année) et 3 (adultes de trois ans et plus) sont atteints d'ulcères cutanés (fig. 24A). Les ulcères cutanés affectent davantage les poissons mâles que les poissons femelles. Une analyse de la répartition par site géographique (fig. 23) montre que la fréquence de poissons présentant des ulcères cutanés est plus forte dans l'estuaire aval (S3) et dans l'embouchure (S4) que dans la baie (zone d'Antifer, A).

Lymphocystis

La fréquence de flets atteints de lymphocystis augmente de manière régulière avec l'âge et est très légèrement plus forte chez les femelles (fig. 24B). La zone d'Honfleur (S3) est celle qui présente la plus forte fréquence de flets atteints de lymphocystis (11 %).

Développement d'outils moléculaires pour l'étude des gènes *Ki-ras*

L'identification et la caractérisation de deux gènes *Ki-ras* montrent une forte conservation des gènes au cours de l'évolution (85,5 % et 99 % pour les protéines *Ki-ras* de flet par rapport à la protéine *Ki-ras* humaine). Cependant, aucune mutation n'a été observée sur les gènes *Ki-ras* de flet dans des préneoplasmes hépatiques. Il est prématuré de conclure que *Ki-ras* est un marqueur de mutagenèse et de cancérogenèse pour les raisons suivantes : (1) le nombre de lésions pré-tumorales est très faible et (2) le développement d'un modèle de cancérogenèse et de mutagenèse expérimentales est nécessaire pour compléter notre approche.

L'étude des pathologies des flets de l'estuaire et de la baie de la Seine apporte des informations encore partielles sur l'apparition de lymphocystis, d'ulcères cutanés et de néoplasies hépatiques. D'une manière générale, ces pathologies apparaissent avec l'âge et les fréquences les plus fortes sont

observées dans l'estuaire aval. Les fréquences de lymphocystis sont deux fois plus faibles que celles observées sur les côtes néerlandaises mais celles d'ulcères cutanés sont comparables.

La faible fréquence de préneoplasies (3,5 % d'hyperplasies et 0,6 % d'adénomes) ne permet pas de conclure quant à un

impact des polluants sur les flets exposés. En comparant nos résultats à ceux de la littérature, nous constatons que, toutes espèces confondues, le nombre de tumeurs disponibles et analysées jusqu'à ce jour chez les poissons est limité. Il est donc prématuré de conclure que les mutations sur le gène *Ki-ras* sont dépendantes de l'espèce et des mutagènes.

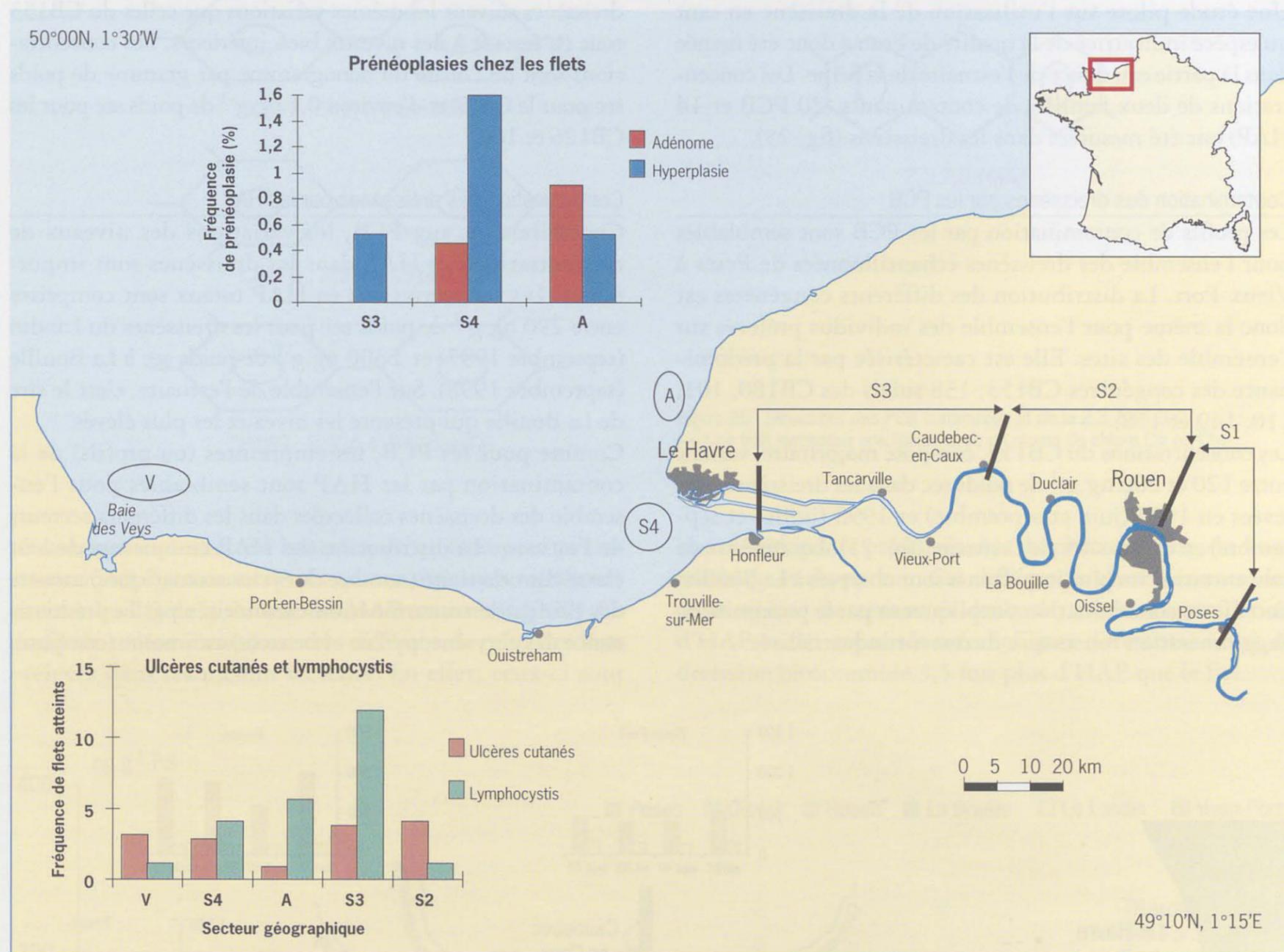


Figure 23 - Répartition géographique des flets juvéniles atteints de lymphocystis, ulcères cutanés et lésions hépatiques préneoplasiques dans l'estuaire et la baie de la Seine.

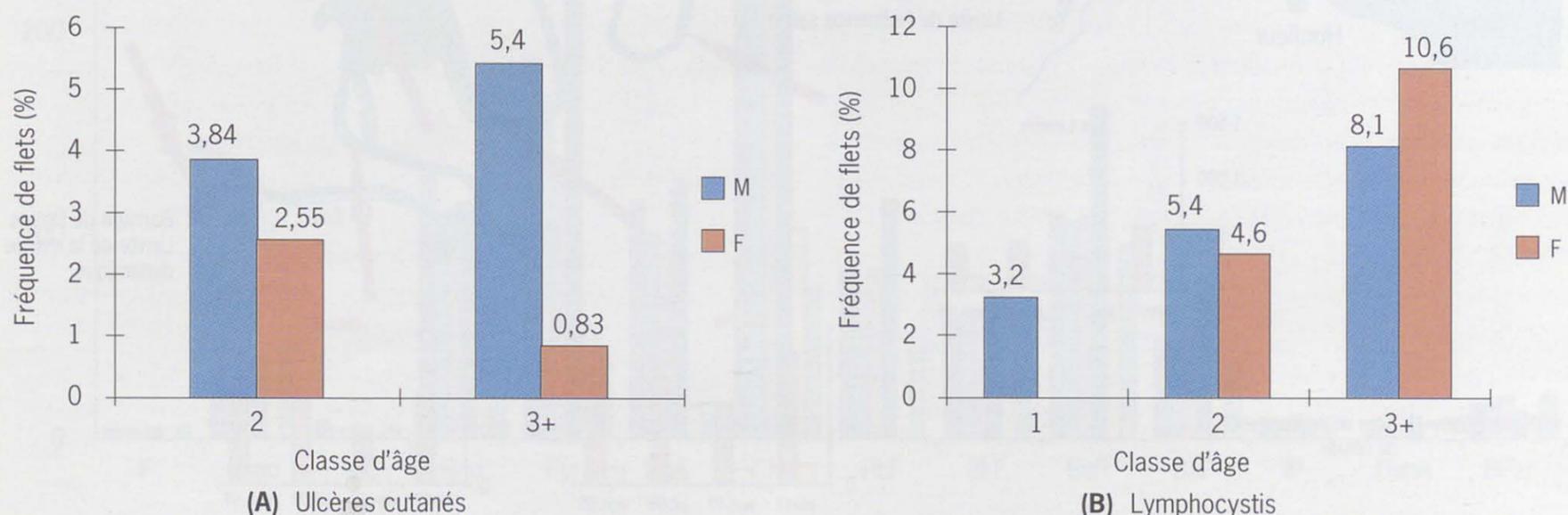


Figure 24 - Fréquence des flets atteints d'ulcères cutanés (A) et de lymphocystis (B) en fonction de leur âge et de leur sexe.

Effets biologiques des contaminants chez la dreissène

Contamination des dreissènes par les PCB et les HAP

La moule zébrée ou dreissène (*Dreissena polymorpha*) possède toutes les caractéristiques d'une espèce dulçaquicole indicatrice de la qualité de l'eau : bioaccumulation des contaminants, mode de vie sédentaire, résistance aux polluants. Une étude pilote sur l'utilisation de la dreissène en tant qu'espèce indicatrice de la qualité de l'eau a donc été menée dans la partie eau douce de l'estuaire de la Seine. Les concentrations de deux familles de contaminants (20 PCB et 14 HAP) ont été mesurées dans les dreissènes (fig. 25).

Contamination des dreissènes par les PCB

Les profils de contamination par les PCB sont semblables pour l'ensemble des dreissènes échantillonnées de Poses à Vieux-Port. La distribution des différents congénères est donc la même pour l'ensemble des individus prélevés sur l'ensemble des sites. Elle est caractérisée par la prédominance des congénères CB153, 138 suivis des CB180, 101, 110, 149 et 118.

Les concentrations du CB153, composé majoritaire, varient entre 120 et 200 ng.g⁻¹ de poids sec dans les dreissènes prélevées en 1997 (juin et septembre) et 1998 (juillet et septembre) en divers sites de l'estuaire (fig. 25). Les niveaux de concentration les plus importants sont observés à La Bouille. Cette forte contamination s'expliquerait par la proximité de l'agglomération rouennaise fortement industrialisée.

Dans le groupe des PCB, les congénères non orthosubstitués sur le cycle biphenyle, ou PCB coplanaires (CB77, 126 et 169), comptent parmi les plus toxiques. Ces composés présentent une configuration plane géométriquement voisine de celle de la 2,3,7,8-TCDD (tétrachlorodibenzodioxine) et des propriétés toxiques similaires (fig. 26).

Les niveaux de concentration de ces composés mesurés dans les dreissènes suivent les mêmes variations que celles du CB153 tout en restant à des niveaux bien inférieurs. Les concentrations sont de l'ordre du nanogramme par gramme de poids sec pour le CB77 et d'environ 0,1 ng.g⁻¹ de poids sec pour les CB126 et 169.

Contamination des dreissènes par les HAP

Contrairement aux PCB, les variations des niveaux de concentration des HAP dans les dreissènes sont importantes. Les concentrations en HAP totaux sont comprises entre 290 ng.g⁻¹ de poids sec pour les dreissènes du Landin (septembre 1997) et 1 300 ng.g⁻¹ de poids sec à La Bouille (septembre 1998). Sur l'ensemble de l'estuaire, c'est le site de La Bouille qui présente les niveaux les plus élevés.

Comme pour les PCB, les empreintes (ou profils) de la contamination par les HAP sont semblables pour l'ensemble des dreissènes collectées dans les différents secteurs de l'estuaire. La distribution des HAP en fonction de leur classe d'aromaticité (nombre de cycles aromatiques) montre des profils de contamination caractérisés par la prédominance des chrysène, pyrène et benzo(a)anthracène (composés

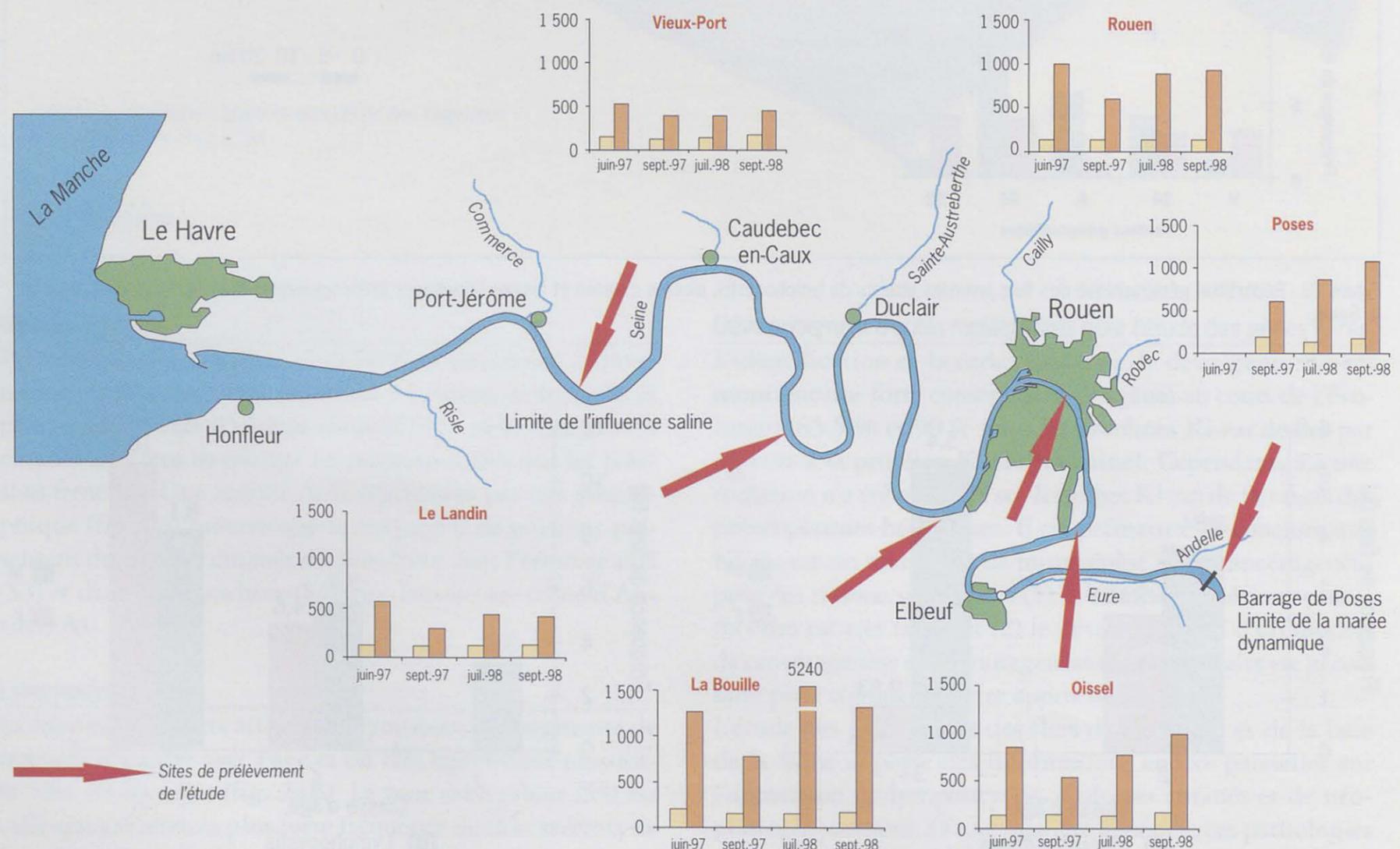


Figure 25 - Présentation des différents sites étudiés et des niveaux de concentration chez la dreissène. Concentrations du CB153 exprimées en ng.g⁻¹ de poids sec (en jaune). Concentrations des HAP totaux (somme de 14 composés) exprimées en ng.g⁻¹ de poids sec (en orange).

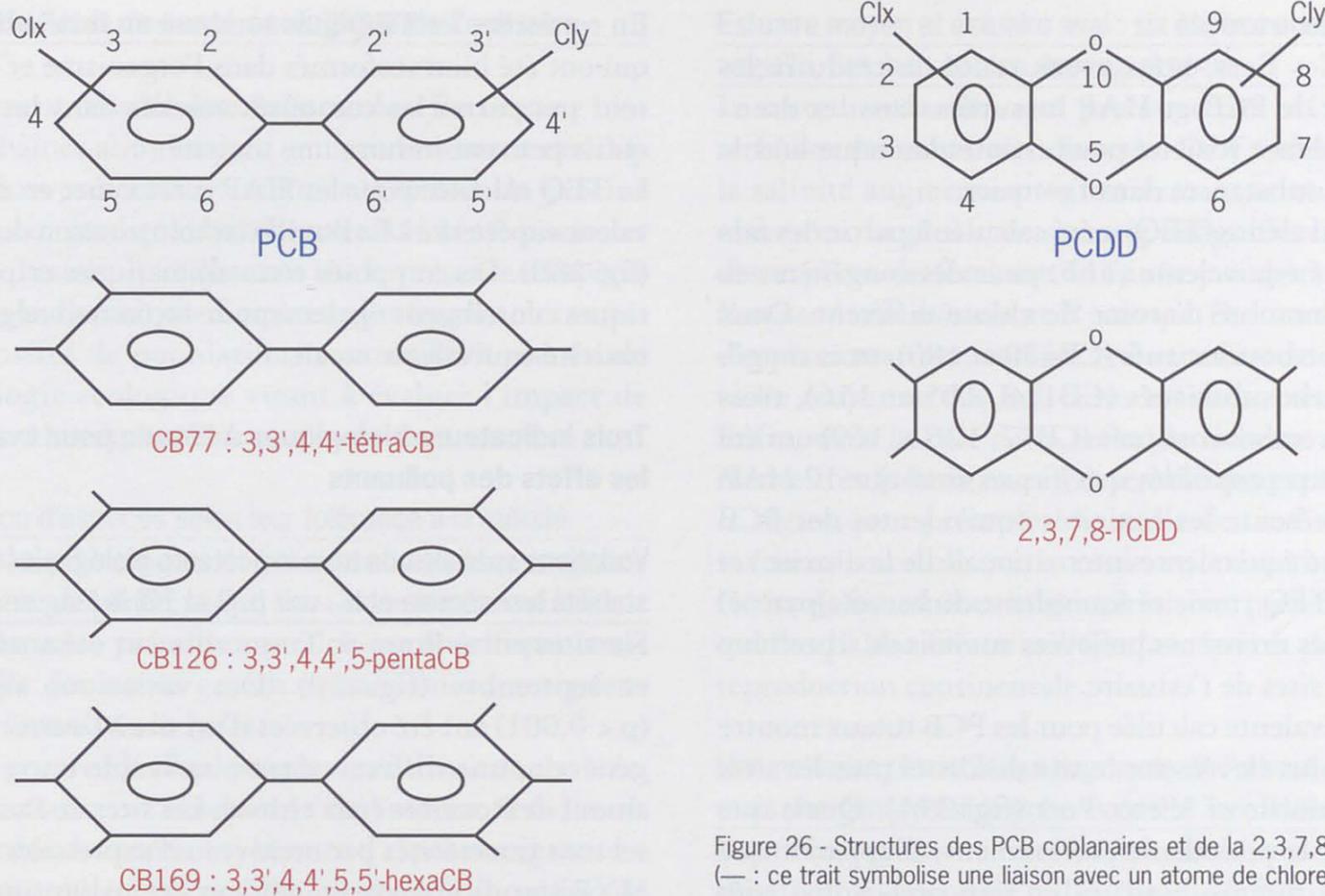


Figure 26 - Structures des PCB coplanaires et de la 2,3,7,8-TCDD
(— : ce trait symbolise une liaison avec un atome de chlore Clx ou Cly).

tétra-aromatiques) et du benzo(e)pyrène (composé penta-aromatique). La somme de ces quatre composés représente environ les 2/3 de la somme des HAP mesurés (fig. 27). Ce profil de contamination est très différent de celui des flets prélevés dans les mêmes secteurs. En effet, ceux-ci sont

caractérisés par la prédominance du phénanthrène, du fluo-ranthène et du pyrène. Ces différences observées entre les deux espèces mettent en évidence des modes d'assimilation d'HAP et des capacités métaboliques différents. Ainsi, la dreissène bioaccumule 3,5 fois plus d'HAP que le flet.

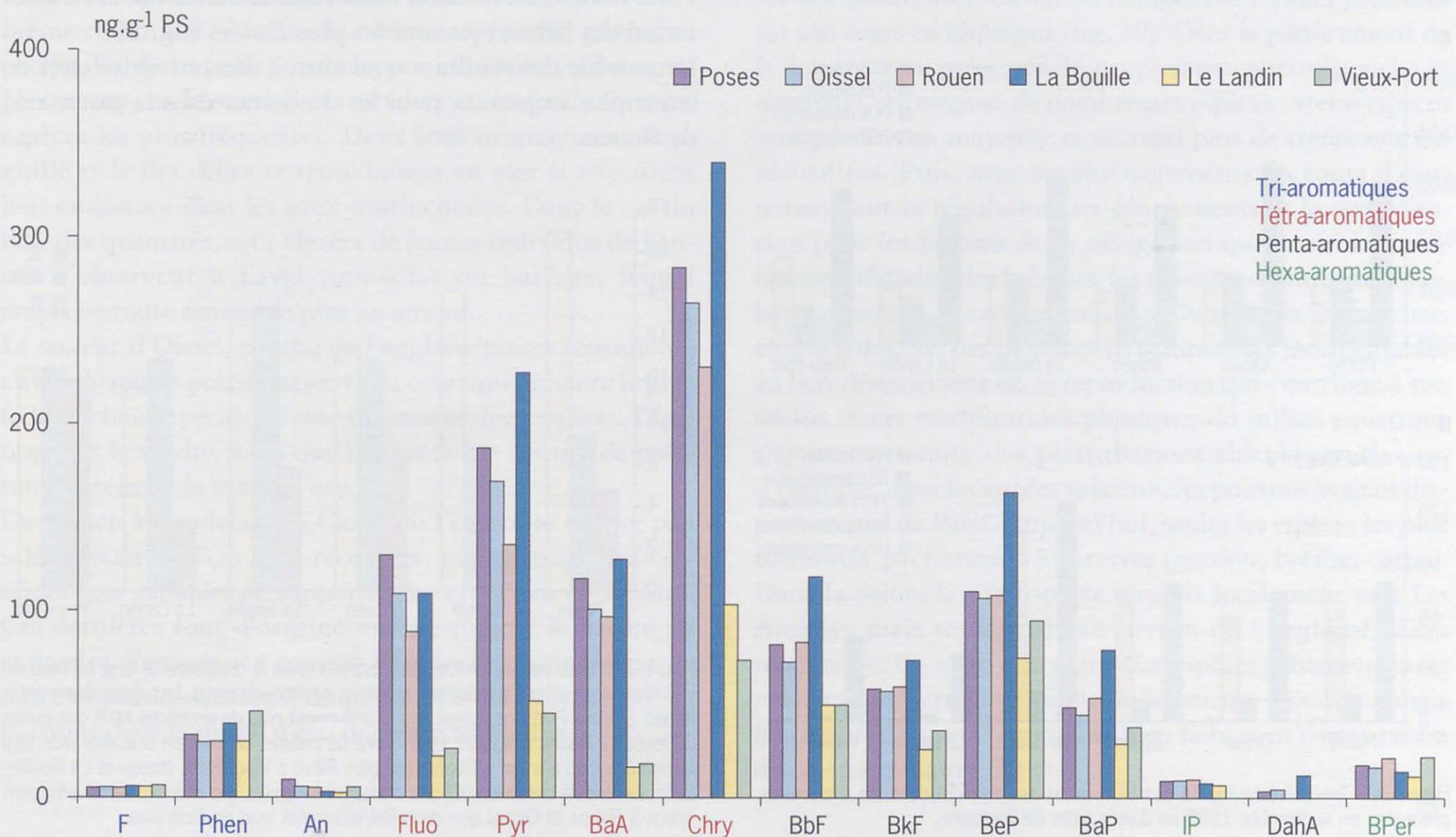


Figure 27 - Empreinte de la contamination par les HAP dans les dreissenae prélevées en septembre 1998 en divers sites de l'estuaire.

[F : Fluorène, Phen : Phénanthrène, An : Anthracène, Fluo : Fluoranthène, Pyr : Pyrène, BaA : Benzo(a)anthracène, TriPh + Chry : Triphénylène + Chrysène, BbF + BkF + BjF : Benzo(b)fluoranthène + Benzo(k)fluoranthène + Benzo(j)fluoranthène, BaF : Benzo(a)fluoranthène, BeP : Benzo(e)pyrène, BaP : Benzo(a)pyrène, Per : Pérylène, IP : Indéno(1,2,3-c,d)pyrène, DahA + DacA : Dibenzo(a,h)anthracène + Dibenzo(a,c)anthracène, BPer : Benzo(g,h,i)pérylène].

Notion d'équivalence toxicité

Comme pour les flets, nous avons tenté de traduire les concentrations de PCB et HAP mesurées dans les dreissènes en équivalence toxicité pour estimer le risque lié à la présence de ces substances dans l'estuaire.

La toxicité équivalente (TEQ) a été calculée à partir des facteurs de toxicité équivalente (TEF) pour des congénères de PCB ayant un nombre d'atome de chlore différent. Deux congénères di-orthosubstitués (CB170 et 180), trois congénères mono-orthosubstitués (CB118, 105 et 156), trois congénères non orthosubstitués (CB77, 126 et 169) ont été retenus pour leurs propriétés spécifiques ainsi que 12 HAP. La figure 28 présente les toxicités équivalentes des PCB (I-TEQ : toxicité équivalente internationale de la dioxine) et des HAP (BaP-TEQ : toxicité équivalente du benzo(a)pyrène) mesurées dans les dreissènes prélevées au mois de septembre 1998 en divers sites de l'estuaire.

La toxicité équivalente calculée pour les PCB totaux montre les valeurs les plus élevées sur le site de Oissel puis les sites de Poses, La Bouille et Vieux-Port (fig. 28A). Quels que soient le site et la période de prélèvement, il apparaît que les congénères monosubstitués et non orthosubstitués contribuent de façon importante à la toxicité équivalente totale des PCB et plus particulièrement les PCB118 et 126 malgré leur faible teneur dans les tissus. L'utilisation d'un facteur d'équivalence toxique théorique permet de faire ressortir quelques composés « actifs » dans un groupe de contaminants. Les TEQ permettent de désigner certains composés comme plus toxiques malgré des concentrations inférieures pour un même profil de contamination.

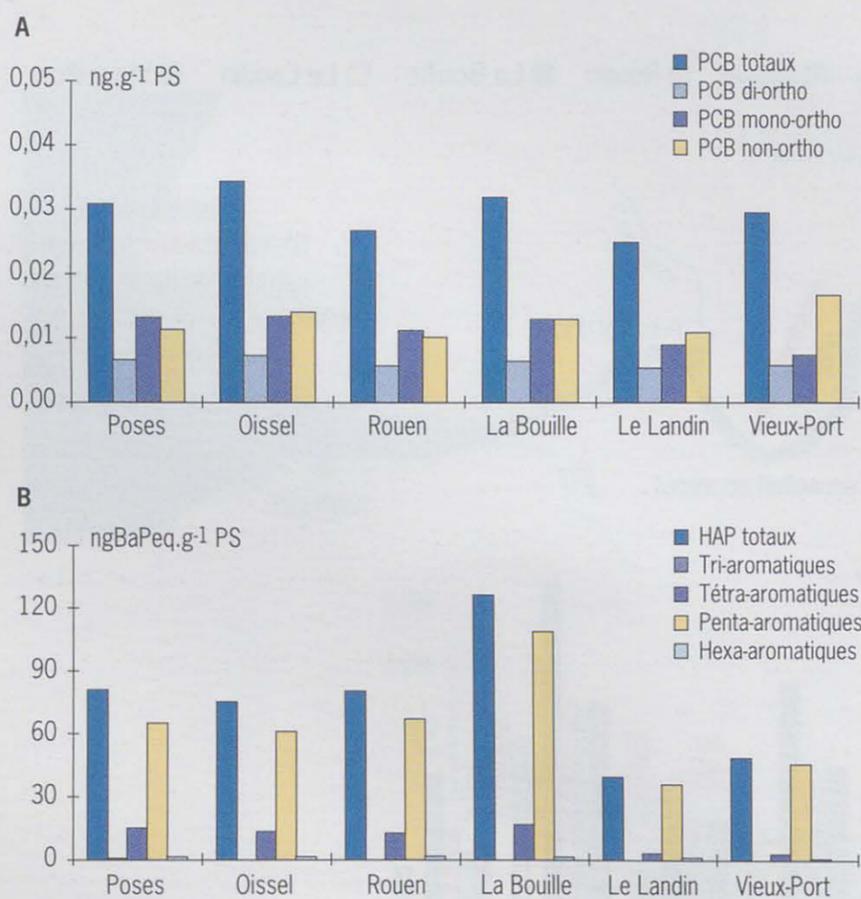


Figure 28 - Toxicité équivalente des PCB (A) et des HAP (B) dans les dreissènes prélevées en septembre 1998 en divers sites de l'estuaire.

En revanche, les TEQ font totalement abstraction des PCB qui ont été biotransformés dans l'organisme et qui ne figurent pas parmi les composés stockés dans les tissus alors qu'ils peuvent induire une toxicité.

La TEQ calculée pour les HAP totaux met en évidence une valeur supérieure à La Bouille en comparaison des autres sites (fig. 28B). Les composés tétra-aromatiques et penta-aromatiques contribuent également de façon non négligeable à la toxicité équivalente totale.

Trois indicateurs biologiques à l'étude pour évaluer les effets des polluants

Variations spatiales de trois indicateurs biologiques (MXR, stabilité lysosomale et IC, voir p. 9 et 10) le long de la Seine

Six sites entre Poses et Tancarville ont été analysés en juin et septembre (fig. 29). Des variations significatives ($p < 0,001$) ont été observées d'un site à l'autre. D'une façon générale, une différence est observable entre les sites en amont de Rouen et ceux en aval. Les sites de Poses et de Oissel sont caractérisés par un niveau d'expression de protéines MXR significativement inférieur à celui des autres sites. Ces variations peuvent ainsi être supérieures à 50 %. Sur ces mêmes sites de Oissel et Poses, l'indice de condition est supérieur à celui des autres stations (indice de condition IC : indicateur physiologique calculé à partir du poids des organismes rapporté à la taille de la coquille). Cet indice montre que la croissance des dreissènes est plus lente dans les sites entre Rouen et Vieux-Port. Les variations de la stabilité lysosomale illustrent un stress plus important à Vieux-Port, Rouen (île Lacroix) et La Bouille où les valeurs d'altération des hémocytes sont les plus élevées (fig. 29).

L'ensemble des résultats tend ainsi à démontrer un effet de stress plus important pour les dreissènes dans la partie aval de Rouen.

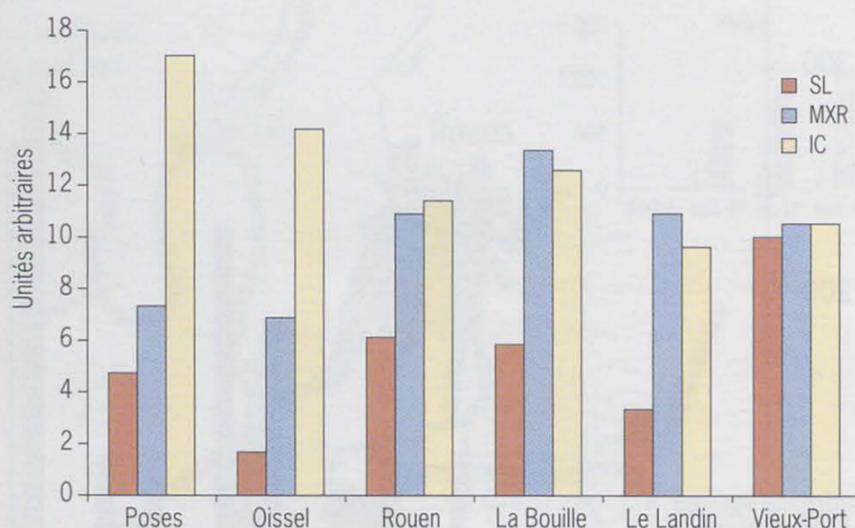


Figure 29 - Trois indices biologiques évalués chez la dreissène le long de l'axe de la Seine pour tenter de détecter un stress environnemental. Les dreissènes entre Rouen et Vieux-Port possèdent significativement plus de protéines MXR que celles prélevées à Poses et Oissel. Le nombre de cellules présentant une altération des lysosomes (SL) par les polluants est plus élevé à Vieux-Port, Rouen et La Bouille. Enfin, l'indice de condition (IC) des dreissènes montre que celles-ci se développent mieux à Poses et Oissel que dans les sites plus aval de l'estuaire.

Indicateurs de l'état de santé écologique de l'estuaire

Plus précisément détaillé dans le fascicule « Patrimoine biologique et chaînes alimentaires », un recensement des différentes espèces présentes entre Poses et la baie de la Seine a été réalisé pour étudier l'abondance et la richesse piscicoles de l'estuaire. Les résultats obtenus sur la présence d'espèces tolérantes ou la disparition d'espèces plus fragiles, les variations de densités de populations sont utiles à une étude d'épidémiologie écologique visant à évaluer l'impact de contaminants chimiques dans un écosystème.

Une succession d'espèces selon leur tolérance à la salinité

Avec un total de 33 espèces de poissons dénombrées en une seule campagne de pêche, ce qui sous-estime nécessairement la réalité, l'estuaire présente une richesse spécifique comparable à celle des autres grands estuaires nord-européens comme la Garonne ou la Loire.

Un passage progressif d'un peuplement d'eau douce à un peuplement marin est observable de l'amont vers l'aval. Dans l'ensemble des zones, la présence d'espèces migratrices (anguille, flet, mulot) est notable ainsi que l'incursion de jeunes bars relativement loin en amont. À partir du barrage de Poses jusqu'à l'embouchure, les différentes espèces se succèdent longitudinalement selon leur degré de tolérance à la salinité de l'eau.

Estuaire amont, deux espèces dominantes : l'ablette et le sandre

En aval du barrage de Poses, neuf espèces ont été identifiées. Elles sont essentiellement d'eau douce (dulçaquicoles) : brème commune et brème bordelière, épinoche, gardon et perche. L'ablette, petit poisson cyprinidé vivant en bancs, en pleine eau, et le sandre, un prédateur de fond, sont les espèces les plus fréquentes. Deux sont migratrices : l'anguille et le flet. Elles se reproduisent en mer et effectuent leur croissance dans les eaux continentales. Dans le cas du flet, des quantités assez élevées de jeunes individus de l'année s'observent à l'aval immédiat du barrage, lequel empêche toute remontée plus en amont.

Le secteur d'Oissel, proche de l'agglomération rouennaise, s'avère le moins poissonneux. C'est celui qui présente la plus faible richesse spécifique avec seulement deux espèces, l'épinoche et le sandre, ainsi que la plus faible densité de poissons au sein de la masse d'eau.

De Rouen à Caudebec-en-Caux, où l'eau reste encore peu salée, douze espèces sont recensées, parmi lesquelles certaines sont capables de supporter des variations de salinité. Ces dernières sont d'origine marine comme le bar ou au contraire d'eau douce comme l'épinoche, laquelle est en outre la plus constante. Comparée à l'amont, la densité de poissons dans la masse d'eau demeure très faible.

Estuaire moyen et estuaire aval : six espèces dominantes, anguille, flet, bar, gobies, hareng et sprat

Le secteur estuarien aval prolongé par la baie de la Seine recouvre des zones très diverses. De Caudebec à Honfleur, la salinité augmente progressivement et onze espèces sont observées. La plus constante est l'anguille. La communauté des espèces de fond est dominée par deux petits gobies, *Pomatoschistus minutus* et *P. microps*. De nombreux juvéniles d'espèces marines, comme le bar, sont aussi rencontrés. La taille moyenne des individus est donc très faible (7 cm). Enfin, dans la baie de la Seine, la richesse spécifique augmente très fortement et l'ensemble des espèces marines de la région sont présentes. La taille des individus est extrêmement variable mais reste en moyenne assez faible (15 cm). Six espèces migratrices sont présentes, parmi lesquelles l'aloise feinte et l'éperlan, toutes deux en zone de reproduction continentale.

Une richesse piscicole qui augmente de l'amont vers l'aval, mais une densité faible entre Poses et Tancarville

Parmi les espèces marines en intrusion estuarienne, l'absence d'individus de grande taille, comme le bar ou le merlan par exemple, est surprenante. Dans de nombreux autres estuaires européens, ces prédateurs pénètrent en effet en grand nombre pour se nourrir de la petite faune présente, gobies ou crevettes.

D'une façon globale, en dépit d'améliorations sensibles ces dernières décennies, la Seine est encore loin d'être un long fleuve tranquille pour les poissons qu'elle abrite, ceci à cause des multiples pressions exercées par les activités humaines sur son bassin. L'évolution du nombre des espèces présentes sur son cours en témoigne (fig. 30). Dans la partie amont de la Seine encore préservée, le peuplement piscicole, riche et diversifié, se compose de nombreuses espèces : treize espèces sont pêchées en moyenne et au total plus de trente ont été identifiées. Puis, avec les aménagements du cours d'eau, notamment la régulation des écoulements et la chenalisation pour les besoins de la navigation qui entraînent une homogénéisation des habitats, les poissons d'eaux vives (barbeau, vandoise, lotte) se raréfient. Dans le cas du brochet, c'est la réduction des inondations printanières indispensables au bon déroulement de sa reproduction qui contribue à son déclin. À ces modifications physiques du milieu aquatique s'ajoutent ensuite des perturbations chimiques. À titre d'exemple, dans les années soixante, les poissons avaient disparu en aval de Paris. Aujourd'hui, seules les espèces les plus tolérantes parviennent à survivre (gardon, brème, carpe). Dans la Seine, la situation se rétablit localement vers Les Andelys mais se dégrade au niveau de l'agglomération rouennaise. Ce n'est que grâce aux espèces estuariennes ou marines que la richesse piscicole augmente à nouveau mais les densités restent néanmoins bien faibles en comparaison des autres estuaires français.

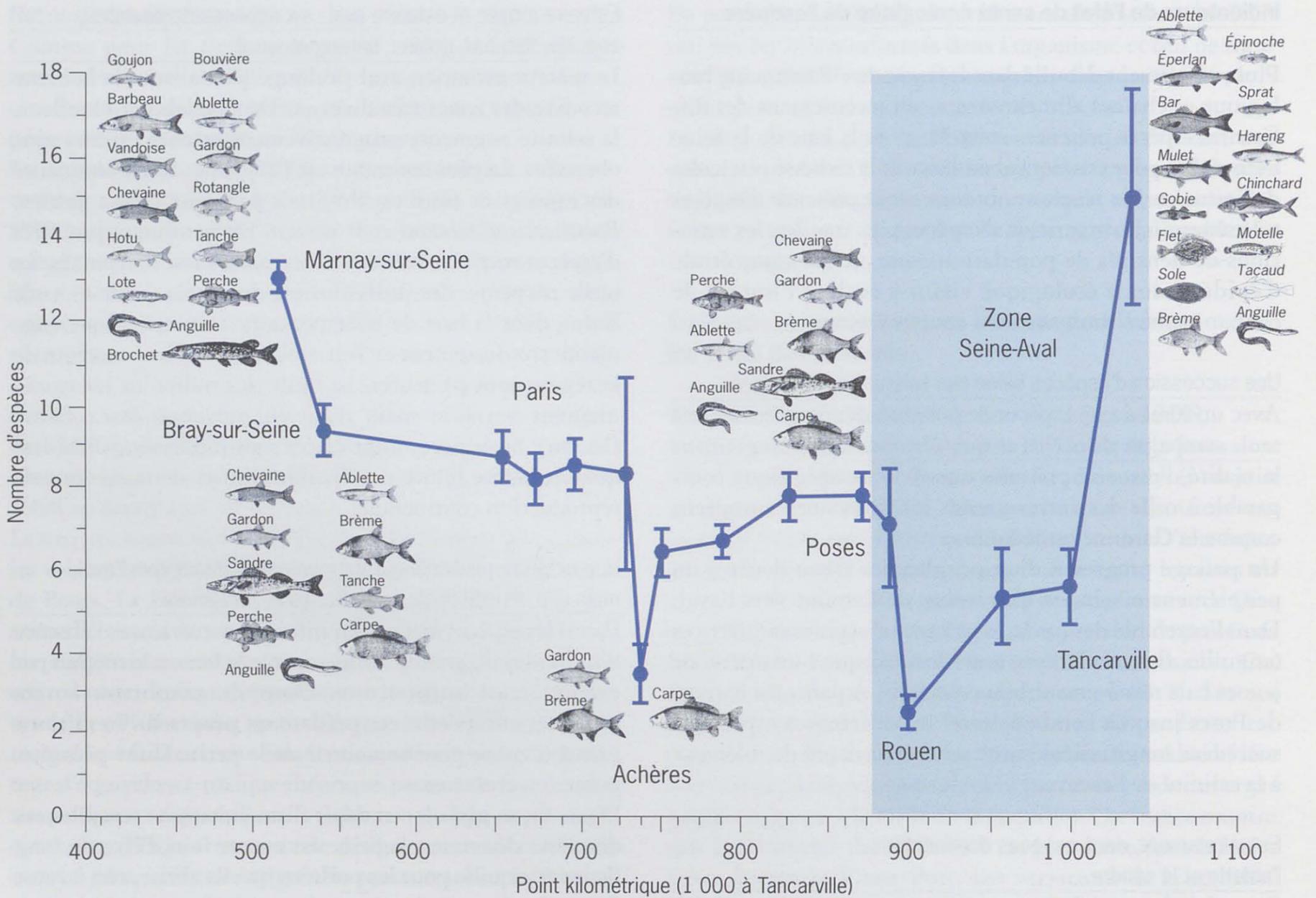


Figure 30 - Évolution amont-aval du nombre moyen des espèces de poissons capturées sur le cours principal de la Seine. Les illustrations représentent les principales espèces rencontrées dans cinq secteurs représentatifs. Une chute du nombre d'espèces est observable à Rouen et comparable à celle de la ville d'Achères.

Cette description de la richesse et de la diversité de l'ichtyofaune permet de dresser un bilan général de la qualité écologique de l'estuaire. Appliquée comme indicateur de qualité dans un estuaire, cette approche restitue une intégration des différents facteurs qui influencent les populations de poissons qui vivent dans l'estuaire. Cette description générale de l'ichtyofaune réalisée dans l'estuaire mériterait dans le futur d'être complétée par une étude plus ciblée sur les zones anoxiques et les sites les plus pollués pour tenter d'expliquer la disparition de certaines espèces et, par exemple, l'absence de grands migrateurs.

Chapitre III

Premier bilan de l'état de stress des organismes dans l'estuaire de la Seine

Un premier bilan de l'état de stress des organismes vivant dans l'estuaire de la Seine est proposé sur la base d'une étude d'épidémiologie écologique. Le stress observé dans les deux organismes sentinelles que sont le flet et la dreissène permet de détecter des symptômes précoces (biomarqueurs) qui peuvent être interprétés comme « un signal d'alarme » lié à une exposition chronique aux polluants. Les biomarqueurs appliqués comme indicateurs biologiques mettent en évidence une activation des mécanismes de régulation chez des flets et dreissènes capables de survivre dans un milieu perturbé. L'absence de pathologies chez les flets juvéniles et le manque d'informations sur des pathologies éventuelles chez la dreissène ne permettent pas de démontrer une relation directe entre des mécanismes de régulation précoces et l'apparition de pathologies à long terme. Cependant, chez les flets adultes, les pathologies observées dans l'embouchure et la baie de la Seine indiquent que ces poissons peuvent être stressés et développer des maladies liées à des expositions chroniques.

Bien que préliminaires, ces résultats permettent ainsi de situer les deux organismes modèles sur une courbe de santé présentée dans la figure 31. Très schématiquement, les flets

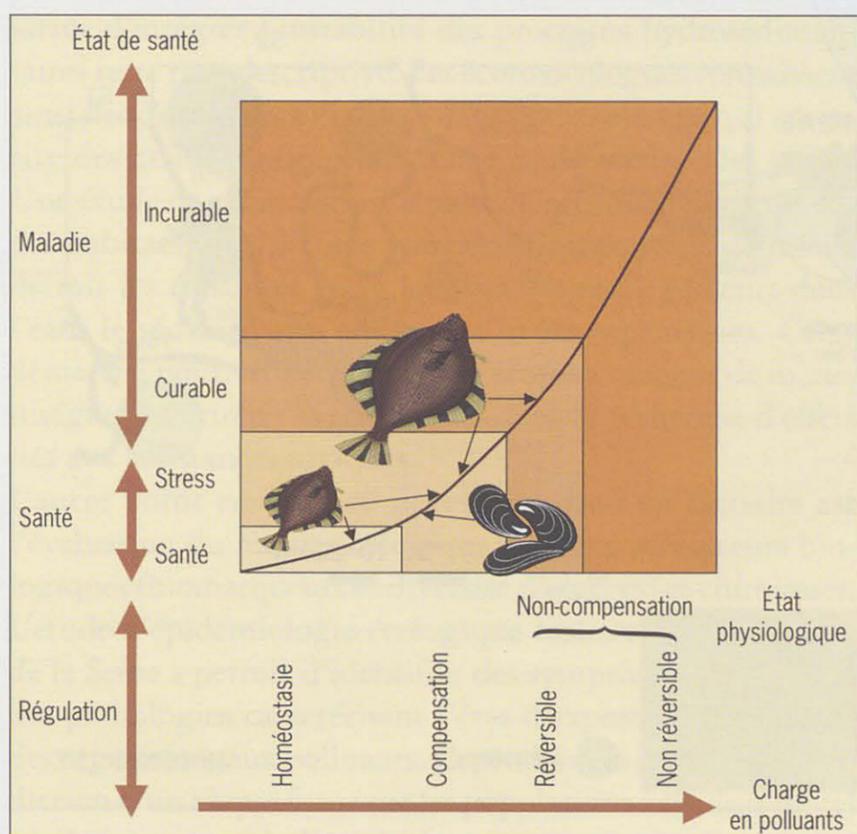


Figure 31 - État des flets (juvéniles et adultes) et des dreissènes (moule zébrée) sur une courbe de santé estimée à partir des indicateurs biologiques et chimiques mesurés dans l'estuaire de la Seine. Les flets juvéniles et les dreissènes présentent des états de stress caractérisés par des perturbations précoces de leurs systèmes de régulation suivant les secteurs étudiés. Les flets adultes vivant dans l'embouchure présentent différents niveaux de stress qui oscillent entre des symptômes précoces et l'apparition de pathologies liées à des expositions chroniques.

juvéniles et les dreissènes présentent un état physiologique oscillant entre mécanismes de compensation et homéostasie. Les pathologies chez les flets adultes laissent supposer la mise en place de phases de compensation et de non-compensation.

Sources de stress et indicateurs d'effets observés dans l'estuaire

Sources de stress

- Le réseau trophique du flet est principalement contaminé par les métaux et les HAP au niveau des filtreurs comme la moule et par les PCB au sommet de la pyramide chez le flet lui-même.
- Une dynamique hydrosédimentaire très variable et une mosaïque d'habitats offrent aux organismes des conditions de stress multiples tout au long de l'estuaire.
- Un potentiel toxique des contaminants organiques associés au sédiment est observable sur la majorité des secteurs étudiés.

Indicateurs d'exposition

- L'indice biomarqueur proposé pour le flet met en évidence des effets biologiques précoces plus importants dans l'estuaire amont chez les juvéniles. Ce phénomène est particulièrement marqué en amont et en aval de Rouen.
- Les protéines de résistance (MXR) et la stabilité lysosomale développées comme biomarqueurs d'exposition chez la dreissène indiquent une perturbation physiologique plus importante en aval de Rouen.
- Les niveaux de contamination en HAP et en PCB mesurés dans les tissus de flets et de dreissènes permettent de confirmer des expositions importantes dans la zone amont de l'estuaire, plus contaminée. L'aval de Rouen (La Bouille) se démarque comme un secteur d'exposition particulièrement sensible.
- L'emploi des TEQ chez la dreissène et le flet met en évidence la toxicité de molécules parfois minoritaires dans les empreintes de PCB (CB118 et 126) et HAP (BaP) mesurées dans les tissus. Néanmoins, les résultats des TEQ ne figurent pas dans le bilan d'évaluation du stress environnemental à cause des incertitudes portant sur les deux espèces modèles étudiées (fig. 32). Les TEQ sont en particulier des outils développés chez les mammifères afin d'évaluer les risques d'exposition pour la santé humaine. Un développement de TEQ spécifiques aux organismes aquatiques comme le poisson et la moule devra notamment être réalisé pour des applications environnementales.

Indicateurs d'effets

Le recensement des pathologies internes et externes chez le flet, en relation avec un stress environnemental, met en évidence des fréquences de pathologies plus élevées chez les flets adultes dans l'estuaire aval et la baie de la Seine. Cependant, les faibles fréquences (3,5 % d'hyperplasies et 0,6 % d'adénomes) obtenues à partir d'un échantillonnage encore limité ne permettent pas de conclure à un impact des polluants sur les flets à long terme.

La recherche de mutation sur le gène *Ki-ras* réalisée sur des flets adultes dans l'estuaire aval n'a pas permis de conclure à un effet de substances chimiques mutagènes dans l'estuaire.

Indicateurs de qualité écologique

Les variations d'abondance et de diversité des poissons permettent de constater une richesse piscicole qui augmente de l'amont vers l'aval. La richesse spécifique de l'estuaire de la Seine est comparable à celle de la Garonne ou de la Loire mais la densité d'espèces est faible. L'estuaire de la Seine est en

particulier caractérisé par le contraste entre des zones d'une grande richesse biologique et des zones pratiquement sans faune comme à Oissel (fig. 30).

Des zones de stress plus ou moins vulnérables

La figure 32 présente de manière synthétique les zones d'exposition sensibles. Inspirés des méthodes cumulant des informations obtenues avec les différents indicateurs (méthode des « scores » utilisée aux États-Unis; Adams, 1999), les effets de stress sont plus particulièrement observés dans l'estuaire amont comme, par exemple, à l'aval de Rouen pour les jeunes flets et la dreissène et dans l'estuaire aval entre Honfleur et l'embouchure pour les jeunes flets et les adultes. Cette approche permet ainsi d'identifier des sites plus ou moins vulnérables au stress environnemental suivant un signal global obtenu à partir d'indicateurs chimiques et biologiques.

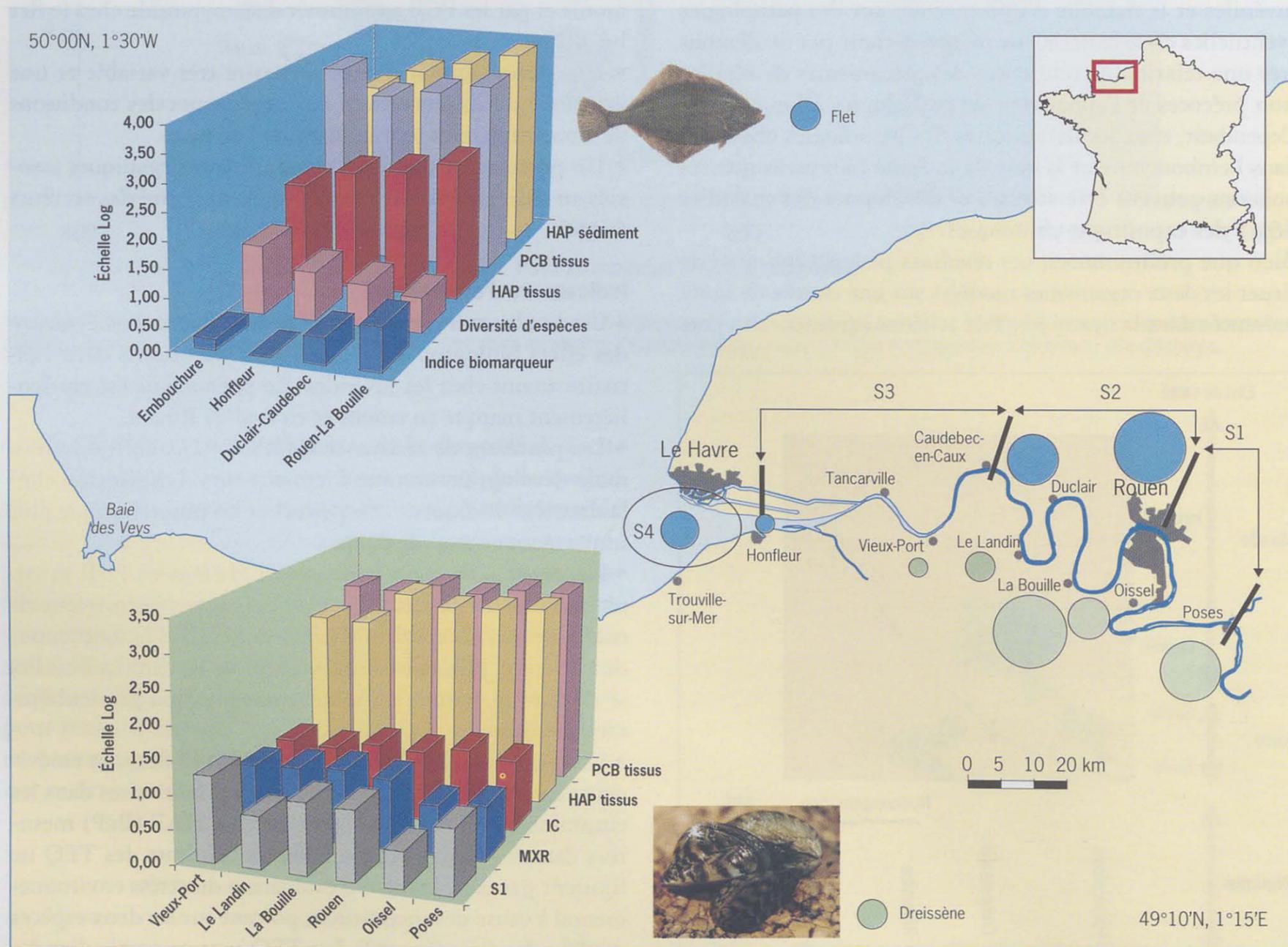


Figure 32 - Bilan des résultats obtenus dans l'estuaire de la Seine pour l'étude du stress environnemental chez deux organismes modèles : le flet et la dreissène. Les histogrammes illustrent les tendances des différents indicateurs (biologiques et chimiques) de stress liés aux polluants sur les différents secteurs étudiés (S1, S2, S3, S4). Les indicateurs de stress retenus sont les biomarqueurs, la diversité d'espèces de poissons, les concentrations de PCB et HAP dans les tissus et des HAP dans le sédiment. Sur ces mêmes secteurs, sont représentés par des cercles de différents diamètres « les scores cumulés » des différents indicateurs de stress (inspiré des méthodes d'Adams et al., 1999). La taille de chaque cercle met en évidence la somme des contributions relatives de chaque indicateur sur chaque secteur. Certaines zones plus ou moins vulnérables sont ainsi identifiées comme l'aval de Rouen et l'amont de Caudebec pour les jeunes flets ou l'aval de Poses et La Bouille pour la dreissène.

Conclusion et perspectives

Le cadre pluridisciplinaire du programme Seine-Aval offre la possibilité de valider et fédérer l'expérience française en matière de développement et d'application d'outils nécessaires à l'évaluation de l'impact écologique des polluants en zone estuarienne. L'estuaire de la Seine constitue un site pilote particulièrement adapté au développement de nouvelles méthodologies en milieu contaminé.

Un ensemble d'indicateurs a été expérimenté dans le cadre d'une étude d'épidémiologie écologique afin d'évaluer un stress environnemental en zone estuarienne. Ce stress a été plus particulièrement étudié chez le flet et la dreissène à partir d'indicateurs biologiques et chimiques. Un premier bilan de la qualité de l'écosystème a permis d'identifier des zones vulnérables aux effets des polluants dans le cas d'expositions chroniques.

Ces méthodologies ont été récemment développées dans les rivières et les estuaires européens, canadiens ou américains. Face à la complexité du milieu naturel, elles mettent en évidence l'intérêt d'appliquer une batterie d'indicateurs chimiques et biologiques pour un même diagnostic de la qualité de l'environnement. Cependant, dans un programme comme Seine-Aval, plusieurs difficultés apparaissent lorsqu'il s'agit d'intégrer les interactions liées à la typologie de l'estuaire et de prédire le risque écologique à long terme. Pour ce qui concerne la typologie d'un site naturel, les critères géographiques et sédimentologiques apportent des informations parfois difficiles à traduire en terme de stress environnemental. Dans le cas de l'estuaire de la Seine, la tentative d'intégrer l'instabilité des processus hydrosédimentaires reste trop descriptive. Les écotoxicologues connaissent ainsi des difficultés à l'inclure dans une démarche qui nécessite des critères mieux adaptés à la définition des effets. Une étude en mésocosme* à partir d'organismes vivant sur des habitats de typologie spécifique permettrait de mieux définir les échanges entre les contaminants présents dans l'eau, le sédiment, la nourriture et les organismes. Cette démarche pourrait permettre aux écotoxicologues de mieux intégrer les critères typologiques dans la recherche d'effets liés aux substances toxiques.

L'autre point encore peu développé dans un estuaire est l'évaluation du risque écologique avec des indicateurs biologiques (biomarqueurs et diversité d'espèces) et chimiques. L'étude d'épidémiologie écologique réalisée dans l'estuaire de la Seine a permis d'identifier des symptômes précoces et des pathologies caractérisant l'état d'exposition chronique des organismes aux polluants. Cependant, la capacité de prédiction d'un risque futur sur les populations à l'aide d'un tel outil est encore très limitée dans un estuaire.

L'optimisation d'un stress environnemental passe donc par un développement de critères typologiques mieux adaptés à l'évaluation des effets et par l'intégration d'indicateurs biologiques et chimiques dans un objectif de prédiction du risque écologique.

Enfin, la contamination microbienne constitue un domaine très peu exploré dans le cadre d'études de stress environnemental comme, par exemple, celle menée en Seine. Elle mériterait d'être étudiée car elle contribue probablement au stress des organismes dans l'estuaire. L'action de virus peut en particulier être incriminée dans les cas d'ulcères cutanés et de lymphocystis observés chez le flet. Une tentative très préliminaire a été initiée (collaboration avec le laboratoire de virologie du CHU de Rouen) dans le but de rechercher la présence de virus spécifiques sur des flets vivant dans des zones sensibles. Les premiers résultats n'ont pas permis de détecter la présence de virus particuliers. Néanmoins, la contamination microbienne ainsi que la présence de parasites demeurent des indicateurs potentiels qui pourraient être développés dans le cadre d'études de stress environnemental.

Références bibliographiques

- Adams S.M., Bevelhimer M.S., Greeley M.S., Levine D.A., Teh S.J., 1999. Ecological risk assessment in a large river-reservoir: 6 bioindicators of fish population health. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 628-640.
- Alcok E.R., Behnisch P.A., Jones K.C., Hagenmaier H., 1998. Dioxin-like PCBs in the environment-human exposure and the significant of sources. *Chemosphere*, 37 (8), 1457-1472.
- Ames B.N., Mc Cann J., Yamasaki E., 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity test. *Mut. Res.*, 31, 347-364.
- Ahlborg U.G., Becking G.C., Birnbaum L.S., Brouwer A., Berks H.J.G.M., Feeley M., Golor G., Hanberg A., Larsen J.C., Liem A.K.D., Safe S.H., Schlatter C., Waern F., Younes M., Yrjänheikki E., 1994. Toxic equivalent factors for dioxin-like PCBs. *Chemosphere*, 28 (6), 1049-1067.
- Beliaeff B., Burgeot T., 1999. A graphical tool as a visual summary of ecotoxicological survey results. Working paper for ICES working group on the statistical aspects of environmental monitoring. Den Haag, 12-16 April 1999.
- Bessineton C., Vedieu C., Simon S., 1997. Réseaux trophiques du bar *Dicentrarchus labrax* et du flet *Platichthys flesus*. Première approche quantitative. Rapport 1997/fin-4. Thème édifices biologiques, vol 2, 154-170.
- Bocquené G., 1996. L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de doctorat de l'école pratique des hautes études, 250 p.
- Burgeot T., 1994. L'éthoxyrésorufine-O-dééthylase, les adduits à l'ADN et les micronucléi dans les organismes marins. Application à la surveillance des effets biologiques sur les côtes françaises. Thèse de doctorat de l'université de Nantes, 267 p.
- Depledge M.H., 1994. The rational basis for the use of biomarkers as ecological tools. In: Non destructive biomarkers in vertebrates. Fossi M.C. & Leonzio C. (eds), Lewis Publishers, Florida, 227-295.
- Fong A.T., Dashwood R.H., Cheng R., Mathews C., Ford B., Hendryck J.D., Bayley G.S., 1993. Carcinogenicity, metabolism and Ki-ras proto-oncogene activation by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in rainbow trout embryos. *Carcinogenesis*, 14, 629-635.
- Goksøyr, 1987. Characterization of the cytochrome P450 monooxygenase system in fish liver. Metabolism and effects of organic xenobiotics. PhD, university of Bergen, Norway, 85 p.
- Hayward P.J., Ryland J.S., 1995. Handbook of the marine fauna of the North-West Europe. Hayward P.J. & Ryland J.S. (eds), Oxford, Oxford University press, X-800p.
- Hylland K., Nissen-Life T., Christensen P.G., Sandvik M., 1998. Natural modulation of hepatic metallothionein and cytochrome P4501A in flounder, *Platichthys flesus* L. *Marine Environmental Research*, 48, 51-55.
- JAMP (Joint Assessment and Monitoring Programme), 1998. JAMP guidelines for general biological effects monitoring. Oslo and Paris Commissions, 5 p.
- Khaled N., 1999. Le flet comme bioindicateur quantitatif de la contamination de l'estuaire de la Seine par le cadmium et le mercure. DEA université de Paris VII, 33 p.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.-C., Ramade F., 1998. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lavoisier (éds), 320 p.
- Luckas B., Harms U., 1986. Characteristics level of chlorinated hydrocarbons and trace metals in fish from coastal waters of North and Baltic seas. *Int. J. Env. Anal. Chem.*
- Maron D.M., Ames B.N., 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173-215.
- Matthiessen P., Allen Y.T., Allchin C.R., Feist S.W., Kirby M.F., Law R.J., Scott A.P., Thain J.E., Thomas K.V., 1998. Oestrogenic endocrine disruption in flounder (*Platichthys flesus* L.) from United Kingdom estuarine and marine waters. Sciences series technical report, n° 107.
- Mc Carthy J.F., 1990. Concluding remarks: Implementation of a biomarker-based environmental monitoring program. Biomarkers of environmental contamination. Mc Carthy J.F., Shugart L.R. (eds), Lewis Publishers, Chapter 23, 429-439.
- Mc Lusky D.S., 1990. The estuarine ecosystem. 2nd edition. Published in the USA by Chapman and Hall, New York.
- Mc Mahon G., Huber L.J., Stegeman J.J., Wogan G.N., 1988. Identification of a c-Ki-ras-oncogene in a neoplasm isolated from winter flounder. *Mar. Environ. Res.*, 24, 345-350.
- Minier C., Akcha F., Galgani F., 1993. P-glycoprotein expression in *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* in polluted seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106 B, 1029-1036.
- Minier C., Eufemia N., Epel D.E., 1999. The multixenobiotic resistance phenotype as a tool to biomonitor the environment. Biomarkers, in press.
- Narbonne J.-F., Garrigues P., Ribera D., Raoux C., Mathieu A., Lemaire P., Salaun J.-P., Lafaurie M., 1991. Mixed function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring: field studies on the French coast of the Mediterranean sea. *Comp. Biochem. Physiol.*, C, 100, 37-42.
- Nisbet C., LaGoy P., 1992. Toxic Equivalency Factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 16, 290-300.

- Rether B., Masfaraud J.-F., Keith G., Devaux A., Monod G., 1997. Biomarqueurs de génotoxicité chez les végétaux et les animaux. Biomarqueurs en écotoxicologie. Masson (éds), chap. 10, 419 p.
- Stegeman J.J., Hahn M.E., 1994. Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: current perspectives on forms, functions, and regulation of cytochrome P450 in aquatic species. *In: Aquatic toxicology. Molecular, biochemical, and cellular perspectives.* Malins D.C. & Ostrander G.K. (eds), Lewis Publishers, Boca Raton, 87-206.
- Vethaak A.D., Jol J.G., Meijboom A., Eggens M., Rheinhalt T., Wester P.W., Van de Zand T., Bergman A., Dankers N., Ariese F., Baan R.A., Everts J.M., Opperrhuizen A., Maquenie J.M., 1996. Skin and liver diseases induced in flounder (*Platichthys flesus*) after long-term exposure to contaminated sediments in large-scale mesocosms. *Environ. Health. Perspect.*, 11, 1218-1229.
- Vincent F., Boer J., Pfohl-Leskowicz, Cherel Y., Galgani F., 1998. Two cases of *ras* mutation are associated with liver hyperplasia in *Callionymus lyra* exposed to polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mol. Carcinog.*, 21, 121-127.
- Vonck W., 1999. Effects of estuarine conditions on cadmium toxicity and osmoregulatory performance in fish. PhD from lanbouw wageningen university, 96 p.

Glossaire

ADN (acide désoxyribonucléique) : prédominant dans le noyau de la cellule, l'ADN est la molécule mémoire responsable de la transmission des caractères héréditaires d'une cellule mère aux cellules filles.

AChE (acétylcholinestérase) : enzyme impliquée dans la transmission de l'influx nerveux, elle est la cible directe de la plupart des insecticides neurotoxiques.

ARNm (acide ribonucléique messenger) : l'ARN messenger se forme au contact de l'ADN et se déplace du noyau jusqu'au cytoplasme dans lequel il dirige la synthèse protéique.

Bactéries révertantes : les bactéries révertantes utilisées pour le test d'Ames sont des souches de salmonelles ayant subi une mutation qui les rend incapables de se développer comme les autres salmonelles. Les bactéries révertantes ont perdu la capacité de fabriquer de l'histidine pour leur besoin. Elles ne peuvent se développer que sous l'effet d'une nouvelle mutation qui leur permet de retrouver leur aptitude naturelle à synthétiser l'histidine. Dans le cas du test d'Ames, c'est la substance chimique activée par métabolisation qui provoque cette mutation.

Bioamplification ou biomagnification : augmentation des concentrations lorsque l'on passe d'un maillon trophique inférieur à un maillon trophique supérieur ou bien au sein d'une même espèce.

Bouchon vaseux : zone de turbidité maximale particulière aux estuaires, comprise entre des eaux douces peu chargées en suspension à l'amont et les eaux salées marines. Sa situation n'est pas stable ; il évolue au gré des conditions hydrologiques (débits, cycles de marée).

Carcinogène : substance chimique qui peut causer un cancer.

Congénères : différentes molécules qui appartiennent à un même groupe chimique comme les polychlorobiphényles.

Écosystème : organisation biologique composée de tous les organismes présents dans une aire donnée et présentant des interactions entre eux.

Espace synaptique : région de contact de deux neurones.

Espèce sentinelle : organisme modèle sélectionné pour étudier l'impact des contaminants dans le milieu naturel.

Hémocytes : cellules sanguines des bivalves comme la dreissène.

Intrusion saline : phénomène dans lequel une masse d'eau salée pénètre à l'intérieur d'une masse d'eau douce.

Lyophilisation : déshydratation à très basse température.

MES (matière en suspension) : ensemble des particules solides de petite taille transportées au sein de la masse d'eau.

Mésocosme : ce terme générique regroupe de nouvelles méthodes d'études basées sur des organismes aquatiques placés dans des conditions naturelles. Plusieurs types d'écosystèmes expérimentaux sont ainsi conçus dans des enceintes naturelles (mares, rivières) ou des enceintes fabriquées (dispositifs de grandes dimensions : bacs, réservoirs) pour isoler une portion de l'écosystème naturel.

Organite : élément présent au sein de la cellule eucaryote, entouré par une membrane (noyau, mitochondrie, lysosome...).

Pesticides (ou phytosanitaires) : ensemble des préparations chimiques commerciales destinées à améliorer ou préserver les productions végétales de l'action d'organismes parasites.

Réseau trophique : ensemble de végétaux et d'animaux qui se nourrissent les uns des autres. À la base se trouvent les végétaux photosynthétiques produisant de la matière organique. Cette matière organique est consommée par les animaux herbivores. Ceux-ci sont à leur tour la proie des carnivores. Les détritivores interviennent à tous les niveaux pour recycler la matière organique.

Substitué : désigne le remplacement d'un atome d'hydrogène par un atome de chlore chez les PCB. Plus le nombre de chlore est important et plus le congénère PCB est substitué.

Tissus lipidiques : également appelés tissus adipeux, ces tissus sont chargés de lipides (corps gras comme le cholestérol) dans certaines régions de l'organisme. Ils sont par exemple localisés sous la peau.

Toxicocinétique : étude de l'apparition d'effets toxiques suivant l'exposition d'organismes à différents polluants.

Typologie : analyse d'un problème complexe permettant de le découper et d'aboutir à une classification. Étude de systèmes types permettant de caractériser l'estuaire de la Seine comme par exemple la dynamique hydrosédimentaire.

Xénobiotiques : composés de synthèse désignant les molécules chimiques étrangères à l'organisme.

Réalisation, mise en page : XLC (02 98 30 50 07)

Achévé d'imprimer sur les presses de Cloître Imprimeurs

ISBN 2-84433-028-2 Programme Seine-Aval
ISBN 2-84433-034-7/Dépôt légal 4^e trimestre 1999

© 1999, Ifremer. Tous droits de reproduction, même partielle, par quelque procédé que ce soit, sont réservés pour tous pays.

Crédits photos : D. Avril, p. 5 - P. Poulier, p. 24 - P. Sabine, couverture.



Laboratoires participants au programme Seine-Aval

Cellule antipollution

- **Service de la navigation de la Seine**

Île Lacroix
71, avenue Chastellain
76100 Rouen

Cellule de suivi du littoral haut normand

16, quai Casimir Delavigne
76600 Le Havre Cedex

Cemagref

- **Division qualité des eaux**

14, avenue de Saint-Mandé
75012 Paris

Cergrene

- **École nationale
des ponts et chaussées**

6-8, avenue Blaise Pascal
Cité Descartes Champs/Marne
77455 Marne-la-Vallée Cedex 2

CHU Rouen

- **Laboratoire de virologie**

1, rue de Germont
76031 Rouen Cedex

CIG - École des Mines de Paris

- **Centre d'informatique géologique**

35, rue Saint-Honoré
77305 Fontainebleau

Ifremer

Direction de l'environnement
et de l'aménagement littoral

- **Département Del/EC**

BP 70
29280 Plouzané

- **Département Del/PC**

BP 21105
44311 Nantes Cedex 3

- **Département Del/PC**

BP 330
83507 La Seyne/Mer Cedex

IPSN

- **Laboratoire d'études
radio-écologiques**

de la façade atlantique
Rue Max-Pol Fouchet - BP 10
50130 Octeville

Muséum national d'histoire naturelle

- **Laboratoire de biologie
des invertébrés marins
et malacologie**

57, rue Cuvier
75231 Paris Cedex 05

Parc naturel régional de Brotonne

- **Mission patrimoine naturel**

Maison du Parc
76940 Notre-Dame-de-Bliquetuit

Université de Caen

- **Laboratoire de morphodynamique
continentale et côtière -**

UPRES - A 6143 CNRS

- **Groupe ornithologique normand
(GONm)**

- **Laboratoire de biologie
et biotechnologies marines**

Esplanade de la Paix
14032 Caen Cedex

Université du Havre

- **Laboratoire d'écotoxicologie**

25 rue Philippe Lebon,
BP 540
76600 Le Havre Cedex

- **Laboratoire de mécanique**

Centre havrais d'études
et de recherche
Quai Frissard - BP 265
76055 Le Havre Cedex

- **Cirtai**

BP 1123
76063 Le Havre Cedex

Université de La Rochelle

- **Laboratoire de biologie
et biochimie**

Pôle sciences et technologie

Avenue Marillac
17042 La Rochelle Cedex 1

Université libre de Bruxelles

- **Groupe de microbiologie
des milieux aquatiques**

Campus de la Plaine
CP 221
B 1050 Bruxelles

Université de Lille

- **Laboratoire de chimie
analytique et marine**

UPRES - A 8013 ELICO

Bâtiment C 8

59655 Villeneuve d'Ascq Cedex

- **Station marine de Wimereux
UPRES - A 8013 ELICO**

28, avenue Foch

BP 80

62930 Wimereux

Université Pierre et Marie Curie

- **Laboratoire d'hydrobiologie**

12, rue Cuvier

75005 Paris

- **Laboratoire CNRS -**

UMR Sisyphe 7619

4, place Jussieu, tour 26, 5^e étage

75005 Paris

- **Institut d'hydrologie**

et de climatologie

Laboratoire de chimie analytique

4, place Jussieu, boîte courrier 122

75252 Paris Cedex 5

Université de Rennes 1

Laboratoire de zoologie

et d'écophysiologie

UA INRA et UMR 1853 du CNRS

Campus Beaulieu

Avenue du Général Leclerc

35042 Rennes Cedex

Université de Rouen

- **Laboratoire de morphodynamique
continentale et côtière -**

UPRES - A 6143 CNRS

- **Laboratoire de microbiologie**

du froid

- **Laboratoire de biologie végétale
et écologie**

76821 Mont-Saint-Aignan Cedex



14 Des organismes sous stress

Une approche d'épidémiologie écologique a été appliquée pour évaluer l'effet de stress des contaminants chimiques dans l'estuaire de la Seine. Cette approche comprend trois étapes clés visant à relier les sources, l'exposition et les effets.

- Des molécules toxiques dans le sédiment ainsi que dans la chaîne alimentaire des organismes ont été estimées comme sources de stress.
- L'état de stress a été évalué par la mesure d'indicateurs d'exposition (MXR et stabilité lysosomale) chez la dreissène *Dreissena polymorpha* et (Erod, AChE, Adduits à l'ADN) chez le flet *Platichthys flesus*.
- La diversité des espèces de poisson et des indicateurs d'effets chez les flets ont été étudiés pour détecter des effets d'expositions chroniques. Cette approche d'épidémiologie écologique, pour la première fois appliquée dans un estuaire français, a permis d'identifier des zones d'expositions sensibles.

An ecologic epidemiological approach, used to assess stress of chemical contaminants in the Seine estuary, concerned three aspects: sources, exposure and effects.

- *The presence of toxic substances in sediment and the diet of organisms was considered to be a source of stress.*
- *The state of stress was assessed by measuring exposure indicators (lysosomal stability and MXR) in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* and (EROD, AChE and DNA adducts) in the flounder *Platichthys flesus*.*
- *Diversity of fish species and effect indicators in flounder was studied in order to detect effects of chronic exposures. This ecologic epidemiological approach, applied for the first time in a french estuary, enabled us to identify sensitive areas of exposure.*

Cette collection présente l'ensemble des résultats du programme Seine-Aval. Chaque fascicule de cette collection a été élaboré de manière à pouvoir être lu indépendamment des autres.

Chaque année, l'essentiel de l'information scientifique produite est consigné dans des rapports thématiques et de synthèse pouvant être consultés auprès de la cellule de coordination du programme :

Programme Seine-Aval

Université de Rouen (Régis Hocdé)
Laboratoire de morphodynamique continentale et côtière
76821 Mont-Saint-Aignan Cedex
e-mail : regis.hocde@univ-rouen.fr
tél. 33 (0)2 35 14 65 27 - fax 33 (0)2 35 14 70 22



programme scientifique
Seine-Aval

- 1 - Seine-Aval : un estuaire et ses problèmes
- 2 - Courants, vagues et marées : les mouvements de l'eau
- 3 - Sables, chenaux, vasières : dynamique des sédiments et évolution morphologique
- 4 - Matériaux fins : le cheminement des particules en suspension
- 5 - L'oxygène : un témoin du fonctionnement microbiologique
- 6 - Contaminations bactérienne et virale
- 7 - Patrimoine biologique et chaînes alimentaires
- 8 - La contamination métallique
- 9 - Fer et manganèse : réactivités et recyclages
- 10 - Le cadmium : comportement d'un contaminant métallique en estuaire
- 11 - La dynamique du mercure
- 12 - Les contaminants organiques qui laissent des traces : sources, transport et devenir
- 13 - Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant?
- 14 - Des organismes sous stress
- 15 - Zones humides de la basse vallée de la Seine
- 16 - Les modèles : outils de connaissance et de gestion
- 17 - La résistible dégradation d'un estuaire

Région Haute-Normandie
25, boulevard Gambetta, BP 1129,
76174 Rouen Cedex, France
tél. 02 35 52 23 31 - fax 02 35 52 22 38

Agence de l'Eau Seine-Normandie
51, rue Salvador-Allende
92027 Nanterre Cedex
tél. 01 41 20 16 00 - fax 01 41 20 16 89

Éditions Ifremer
BP 70, 29280 Plouzané, France
tél. 02 98 22 40 13 - fax 02 98 22 45 86
e-mail : editions@ifremer.fr

Diffusion : ALT Brest
Service Logistique
3, rue Édouard Belin
BP 23 29801 Brest Cedex 9
tél. 02 98 02 42 34 - fax 02 98 02 05 84

ISBN 2-84433-028-2 Programme Seine-Aval
ISBN 2-84433-034-7
45 F - 6,86 €



9 782844 330345