

UNIVERSITE LILLE 2 – DROIT ET SANTE

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

TOXICOLOGIE – SANTE PUBLIQUE - ENVIRONNEMENT

Master 2

***Toxicologie Environnementale et
Industrielle***

**Ressources trophiques
utilisées par deux
espèces de poissons du
Rhône.**

Je tiens, en premier lieu, à remercier Monsieur Marc Babut, responsable de l'unité biologie des écosystèmes aquatiques pour m'avoir accueilli au sein de son équipe et me faire l'honneur d'être mon maître de stage. Merci pour les judicieux conseils et le temps toujours accordé malgré un timing très serré.

Merci à Monsieur Franck Lecurieux, maître de conférence et habilité à diriger des recherches à l'université Lille 2, pour avoir accepté d'être le rapporteur de ce travail.

Merci à toute l'équipe écotox pour votre accueil chaleureux.

Merci beaucoup à Marie-Claude pour la « pêche aux bestioles », les déterminations d'invertébrés, ta patience, ta gentillesse et aussi pour m'avoir tant appris.

Merci Patrice, Virginie, Raph, Pascal, Guillaume et Domitille pour les « sorties terrain ».

Merci Arnaud pour les stats...

Je tiens également, pour finir, à remercier de tout cœur toute l'équipe des dinosaures alias DSA, pour tous les bons moments passés à vos côtés.

Sommaire

Sommaire	4
Introduction générale	7
Partie 1 : Bibliographie	2
1 Les polychlorobiphényles : PCB	3
1.1 Généralités	3
1.1.1 STRUCTURE CHIMIQUE ET SYNTHÈSE	3
1.1.2 PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES	3
1.1.3 UTILISATIONS	5
1.2 Toxicocinétique : ADME	5
1.2.1 ABSORPTION ET DISTRIBUTION	5
1.2.2 BIOTRANSFORMATIONS	5
1.2.3 ÉLIMINATION ET DEMI-VIE	7
1.3 Toxicité.....	7
1.4 Réglementation	9
1.5 Évaluation du risque : L'approche des facteurs d'équivalence toxique (TEF).....	11
2 Les modèles	11
2.1 Modélisation de la bioaccumulation	11
2.1.1 FACTEURS AGISSANT SUR LA BIOACCUMULATION DES CONTAMINANTS ORGANIQUES	11
2.1.2 LES MODÈLES DE BIOACCUMULATION	15
Partie 2 : Matériels et méthodes	15
3 Présentation du milieu et des espèces étudiées	15
3.1 Présentation générale du site d'étude : le canal de Jonage et le Grand Large, figure 5	15
3.2 Description des deux espèces choisies.....	18
3.2.1 LE BARBEAU FLUVIATILE : <i>BARBUS BARBUS</i> (LINNAEUS, 1758), FIGURE 6	18
3.2.2 LA BREME COMMUNE : <i>ABRAMIS BRAMA</i> (LINNAEUS, 1758), FIGURE 7	18
4 Analyses effectuées	20
4.1 Mesure de l'âge des poissons par scalimétrie.....	20
4.2 Mesure de l'activité EROD	20
4.3 Analyses des PCDD et PCDF, des PCB « type dioxine » et des PCB indicateurs	22
4.4 Étude du régime alimentaire des 2 espèces de poissons	22
Partie 3 : Résultats	24

5	Détermination de l'âge des poissons	24
6	Induction d'activité EROD	24
7	Analyses PCB de chair de poissons	24
7.1	Synthèse des résultats obtenus pour les cinq poissons analysés	24
7.2	Impact de la contamination sur l'ensemble des données	25
7.2.1	INFLUENCE DU TYPE DE REGIME ALIMENTAIRE SUR LA CONTAMINATION	27
7.3	Contaminations de la brème et du barbeau	29
7.3.1	COMPARAISON DE LA CONTAMINATION SUR L'ENSEMBLE DES SITES	29
7.3.2	COMPARAISONS APRES NORMALISATION DES CONCENTRATIONS PAR L'AGE	31
7.4	Evolution temporelle de la contamination des poissons	33
7.4.1	COMPARAISON DE L'ENSEMBLE DES POISSONS A JONS ET JONAGE	33
7.4.2	COMPARAISON DES PROFILS DE CONTAMINATION DES BARBEAUX	33
8	Régimes alimentaires et modèles	33
8.1	Activité alimentaire et spectre alimentaire	33
8.2	Composantes du régime alimentaire : tableau IX	35
Partie 4 : Discussion		37
9	Synthèse bibliographique sur les modèles d'accumulation	37
9.1	Modèles cinétiques à compartiments	37
9.2	Modèles cinétiques à base physiologique	42
9.3	Modèles cinétiques de réseaux trophiques	44
9.4	Choix du modèle	46
10	Synthèse des données expérimentales	46
10.1	Activité enzymatique EROD	46
10.2	Chaînes trophiques	48
10.3	Analyses statistiques	48
Conclusion		50
Références bibliographiques		50
Annexe 1 : Examen des écailles par scalimétrie		53
Annexe 2 : Mesure de l'activité EROD		54
Annexe 3 : Analyse des PCB indicateurs		56
Annexe 4 : Tableau de synthèse des brèmes et barbeaux pêchés		59

Annexe 6 : Invertébrés présents dans le benthos.	61
Annexe 7 : paramètres utilisés dans les modèles de bioaccumulation	64

tables des figures

Figure 1 : structure chimique des PCB

Figure 2 : synthèse des PCB par chloration catalysée du biphenyle. Le nombre d'atomes de chlore peut varier de 1 à 10

Figure 3 : les 209 congénères de PCB désignés selon la nomenclature systématique

Figure 4 : les aspects chimiques de la bioconcentration et de la bioaccumulation pour les organismes marins

Figure 5 :

Figure 6 : le barbeau fluviatile

Figure 7 : la brème commune

Figure 8 : photo d'une écaille

Figure 9 : impact de la contamination des poissons sur l'ensemble des sites

Figure 10 : distribution des différentes stations d'échantillonnage

Figure 11 : boîte à moustache de la contamination des carnassiers et omnivores sur l'ensemble des sites

Figure 12 : comparaison des carnassiers de Lyon et Drôme-Ardèche

Figure 13 : contamination des barbeaux en fonction du site

Figure 14 : comparaison de la contamination des brèmes

Figure 15 : contamination des barbeaux après normalisation par l'âge

Figure 16 : contamination des brèmes après normalisation par l'âge

Figure 17 : corrélation âge utilisé-concentrations en PCB_i chez la brème

Figure 18 : corrélation âge utilisé-concentrations en PCB_i chez le barbeau

Figure 19 : contamination en 1999 et 2007 en utilisant les log de PCB_i

Figure 20 : comparaison des profils de contamination entre 1999 et 2007

tables des tableaux

TABLEAU I : NOMBRE D'ISOMERES POSSIBLES DES PCB

TABLEAU II : CLASSEMENT DES UTILISATIONS DES PCB PAR L'OCDE

TABLEAU III : VALEURS DES TEF DES PCB « DIOXINE-LIKE »

TABLEAU IV : CARACTERISTIQUES GENERALES DU GRAND LARGE

TABLEAU V : IMAGE SYNTHETIQUE DU REGIME ALIMENTAIRE DE LA BREME ET DU BARBEAU

TABLEAU VI : INDICES ET COEFFICIENTS UTILISES SUR L'ENSEMBLE DE NOS POISSONS

TABLEAU VII : SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS SUR L'ENSEMBLE DE NOS POISSONS

TABLEAU VIII : CLASSES D'INDUCTION DE L'ACTIVITE EROD

TABLEAU IX : CONTAMINATION DE LA CHAIR DE POISSON

TABLEAU X : DIFFERENCES INTER SITES

*TABLEAU XI : VALEURS DES FREQUENCES D'OCCURRENCE (OC) ET DES INDICES NUMERIQUES (IN) DES DIFFERENTES
PROIES INGEREES PAR LA BREME ET LE BARBEAU*

liste des abbreviations

FBC : Facteur de bioconcentration

HAP : Hydrocarbures polycycliques aromatiques

Kow : Coefficient de partage octanol/eau

PCB : Polychlorobiphényles

PCB-DL : Polychlorobiphényles « dioxin-like »

TCDD : Tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine

TEF : Facteurs d'équivalence toxique ou Toxicity equivalency factors

TEQ : Toxic equivalent quantity

Introduction générale

Des teneurs élevées en polychlorobiphényles (PCB), plus connus en France sous le nom de pyralène, ont été constatées dans des poissons pêchés en différents points du cours du Rhône, depuis le département de l'Ain jusqu'à la Méditerranée.

Les PCB, polluants organiques persistants, s'accumulent dans les organismes vivants. La contamination à l'homme est possible via l'ingestion d'animaux ou de produits d'origine animale contaminés. D'origine exclusivement industrielle et anthropique, les PCB résistent à la dégradation. Une forte consommation (doses élevées ou sur une longue durée) de ces derniers induirait le risque d'une affection cutanée ainsi que des effets chroniques plus lourds, tels que des cancers par exemple.

L'Union Européenne a adopté la norme recommandée par l'OMS fixant à 8 pg/g la concentration admissible en dioxines et PCB dans les poissons destinés à la consommation humaine.

L'origine du problème de pollution du Rhône par les PCB a été la découverte, durant l'été 2005, de poissons contaminés sur le site du Grand Large à l'amont de Lyon. Suite à quoi, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) a recommandé de rechercher l'extension de la contamination. Depuis, des analyses ont été entreprises de plus en plus loin de la première zone de contamination. Ainsi, l'interdiction de consommer les poissons a été étendue du barrage de Sault Brénaz (Ain) à la confluence Rhône - Saône. En février 2007, l'interdiction est élargie jusqu'au barrage de Vaugris par un arrêté inter-préfectoral Isère-Rhône puis en juin aux départements de l'Ardèche et de la Drôme. Enfin, début août 2007, les préfets du Vaucluse, du Gard et des Bouches-du-Rhône ont signé un arrêté d'interdiction de consommation jusqu'à la Méditerranée.

C'est dans ce contexte que j'ai effectué mon stage au Cemagref. Celui-ci fait partie d'un projet plus large visant à relier, par la modélisation, des sources potentielles de PCB aux poissons contaminés. Cette approche consiste à décrire la distribution des PCB dans le compartiment abiotique et au sein de deux chaînes trophiques dans un secteur cible, ceci dans l'optique d'envisager des mesures de gestion appropriées. Les objectifs de mon stage étaient donc de décrire les principaux maillons de la chaîne alimentaire de deux espèces de poissons, de proposer un modèle numérique approprié à la modélisation de l'accumulation des PCB chez ces espèces et de faire un état des données disponibles concernant cette « nouvelle » pollution.

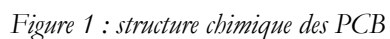


Tableau I : Nombre d'isomères possibles de PCB

Substitutions chlorées	Nombre d'isomères
Mono-	3
Di-	12
Tri-	24
Tetra-	42
Penta-	46
Hexa-	42
Hepta-	24
Octa-	12
Nona-	3
Deca-	1

Figure 3 : Les 209 congénères de PCB désignés selon la nomenclature systématique

Partie 1 : Bibliographie

1 Les polychlorobiphényles : PCB

1.1 Généralités

1.1.1 Structure chimique et synthèse

Le terme PCB désigne une famille de composés organochlorés de haut poids moléculaire de formule chimique $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$, dans laquelle le nombre d'atomes de chlore (n) peut varier entre 1 et 10 (Figure 1, d'après Bernes, 1998 [1]).

Les PCB sont produits par chloration du biphényle (Figure 2).

Au cours du processus de chloration, un à dix atomes de chlore vont pouvoir se substituer aux atomes d'hydrogènes. Dix groupes d'isomères sont ainsi obtenus (Tableau I). Cette réaction peut produire en théorie 209 congénères qui se distinguent par le nombre et la position des atomes de chlore fixés sur la molécule (chloro-homologues ou isomères de composition) (Figure 3, d'après Ballschmiter et Zell, 1980 [2]). Ce sont les caractéristiques structurales qui déterminent les propriétés physico-chimiques de chaque congénère de PCB (solubilité, pression de vapeur, coefficient de partage octanol / eau) ainsi que leur pouvoir toxique.

Les PCB commerciaux sont des mélanges de PCB, ils sont connus sous différents noms selon leur pays d'origine, par exemple Aroclor[®] (Monsanto, Etats-Unis), Phénoclor[®] ou Pyralène[®] (Prodelec, France).

1.1.2 Propriétés physico-chimiques

Selon la position et le nombre de chlore substitué, les propriétés physico-chimiques mais aussi toxicologiques des congénères diffèrent.

Ils ont en commun une grande stabilité chimique et physique, une faible biodégradabilité et ne sont pas hydrolysables. Ils ne réagissent pas avec les bases et les acides et résistent à la chaleur (stabilité thermique jusqu'à 1300°C environ), à l'oxydation. Ils ont de bons pouvoirs adhésifs et plastifiants, et leurs caractéristiques diélectriques sont excellentes.

Ils sont très peu solubles dans l'eau (solubilité de 1 mg/L à 0.0001 mg/L, les molécules les moins chlorées sont les plus solubles) mais ils le sont dans les solvants organiques (hydrocarbures, dérivés halogénés, alcools, esters, éthers) ainsi que dans les huiles végétales. La lipophilie est fonction du coefficient de partage octanol/eau (Log Kow) qui dépend du degré de chloration des PCB mais aussi de la position des Cl. D'après Mackay et al (1980)[3], les valeurs log Kow vont de 4,3 (2-monoCB) à 8,26 (décaCB).

Tableau II : Classement des utilisations des PCB par l'OCDE : Organisation de coopération et de développement économique.

Systèmes	Clos contrôlables	Clos non contrôlables	Ouverts non contrôlables
Récupération des PCB	oui	non	impossible
Fuites	contrôlés, pas de fuites	fuites possibles	introduction directe des PCB dans l'environnement
Exemples	grands équipements : transformateurs condensateurs...	condensateurs de petite taille, fluides hydrauliques, fluides caloporteurs...	additifs stabilisants dans l'encre, peinture, matières plastiques...

1.1.3 Utilisations

Les PCB sont d'origine anthropique uniquement. Ils ont été synthétisés pour la première fois en 1881, leur production industrielle commençant en 1929 par la société Monsanto aux Etats-Unis. La production cumulée est estimée entre 1.2 et 1.5 millions de tonnes depuis cette date (Tanabe et Tatsukawa, 1986) [4].

Leurs propriétés thermiques, d'isolants électriques et d'ininflammabilité ont conduit à leur utilisation notamment comme fluides caloporteurs pour l'isolation électrique et le refroidissement des transformateurs et des condensateurs électriques. Les mélanges techniques de PCB ont été utilisés dans le cadre d'une multitude d'applications, limitées aux systèmes clos (voir ci-contre Tableau II) à partir des années 70.

1.2 Toxicocinétique : ADME

1.2.1 Absorption et distribution

L'absorption des PCB peut se faire par différentes voies : respiratoire, digestive et cutanée.

Pour les risques professionnels, Wolff (1985) [5] considère que la voie respiratoire pourrait être à l'origine de près de 80% des résidus mis en évidence dans le tissu adipeux chez les ouvriers ayant travaillé sur des transformateurs électriques. En revanche, la voie orale n'excéderait pas 20 %. Pour la population générale, c'est majoritairement la voie alimentaire qui est à l'origine des résidus présents dans les tissus.

Bien que les PCB aient été trouvés dans l'ensemble des tissus, c'est dans les tissus adipeux et les matrices riches en lipides que les taux les plus importants ont pu être mesurés. Les métabolites sont pour leur part principalement localisés dans le foie où les PCB peuvent aussi s'accumuler (ATSDR, 2000) [6].

Les PCB sont distribués aux tissus *via* le sang. Les transporteurs sont essentiellement les lipoprotéines.

1.2.2 Biotransformations

Le métabolisme des PCB se réalise au niveau du foie, par l'intermédiaire des cytochromes P450 (1A1, 1A2, 2B1, 2B2, 3A). Il conduit à la formation d'oxydes d'arènes qui sont ensuite principalement transformés en composés aromatiques hydroxylés (phénoliques majoritairement), mais aussi en métabolites soufrés.

Les oxydes d'arène peuvent également produire des dihydrodiols ou des conjugués au glutathion, ou encore réagir avec des macromolécules endogènes tels que les acides nucléiques ou les protéines et former des adduits. Ils sont potentiellement électrophiles et ont été impliqués dans la survenue de nécrose cellulaire, de mutagénicité et de cancérogénicité chez les animaux (Safe, 1989) [7].

Le métabolisme des PCB peut aussi donner naissance à des quinones capables de réagir sur les sites nucléophiles des protéines (Amaro *et al.*, 1996) [8] ou de l'ADN (Oakley *et al.*, 1996b) [9].

Les PCB peu chlorés sont activés métaboliquement en espèces électrophiles qui se lient à l'ADN (McLean *et al.*, 1996 ; Oakley *et al.*, 1996a) [10, 11]. Le métabolisme peut aussi conduire à la formation de PCB méthyl sulfone qui peuvent être responsables de toxicité respiratoire (ATSDR, 2000) [6]. Les métabolites méthyl-sulfonylés ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur caractère lipophile et par conséquent de leur persistance dans les tissus, mais aussi pour leur capacité d'induction du cytochrome 2B. D'une façon générale, plus le degré de chloration des PCB augmente, plus le taux de métabolisation diminue.

1.2.3 Elimination et demi-vie

Les voies majoritaires d'élimination des PCB sont fécales et urinaires (ATSDR, 2000) [6]. Des quantités significatives de PCB peuvent également être éliminées par la lactation (ATSDR, 2000 [6]; Baars *et al.*, 2001 [12]).

Les demi-vies des PCB, mesurées chez l'homme sont par exemple de 3.7 à 5.7 ans pour le PCB 180 et de 1.1 à 1.3 ans pour le PCB 118.

1.3 Toxicité

Toxicité aiguë :

La toxicité aiguë des PCB est faible pour l'homme : une exposition accidentelle de courte durée aux PCB n'a pas de conséquences graves. Les doses létales pour 50% des individus (DL50) sont de l'ordre du gramme par kilogramme (kg) de poids (Millischer, 1987) [13].

Une exposition aiguë à forte dose est associée à des irritations de la peau (chloracné) et plus rarement des infections hépatiques, neurologiques, des bronchites chroniques, des maux de tête, des vertiges, des dépressions, des troubles de la mémoire et du sommeil, de la nervosité et de la fatigue, et de l'impuissance (Environnement Canada, 1985) [14].

Ces troubles sont, pour la plupart réversibles. De tels effets ont notamment été observés lors de l'accident de Yusho (Japon, contamination de riz par les PCB) en 1968.

Toxicité chronique :

Les PCB peuvent être divisés en 4 catégories, qui ont des caractères toxiques différents, en fonction de leur capacité à induire des enzymes qui dépendent des cytochromes P450 (Safe, 1993)[15]. Le profil d'induction n'est pas lié au nombre d'atomes de chlore, mais découle principalement du caractère planaire de la molécule qui est déterminé par la présence d'atomes de chlore en position ortho capables de gêner la rotation de chacun des noyaux phényles.

Un petit nombre de congénères dont les atomes de chlore sont positionnés en para et méta mais pas en ortho tels que les PCB 77, 126 et 169 sont structurellement proches de la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) et sont, de ce fait, des ligands très affines du récepteur Ah. Cette propriété se traduit par une forte capacité d'induction du CYP1A (Safe, 1994)[16]. Ces PCB sont également les congénères les plus toxiques, ils induisent des effets toxiques comparables à ceux de la dioxine. Ils provoquent perte de poids, chloracnée, atrophie du thymus, immuno-déficiência, hépatotoxicité et sont porphyrinogènes.

Une seconde catégorie de PCB comprend les congénères mono-ortho substitués et quelques dérivés di-ortho substitués pour lesquels le caractère planaire est conservé. Ces PCB se lient avec une bonne affinité au récepteur Ah et induit le CYP1A, ainsi que d'autres isozymes. Les principaux représentants de ce groupe sont les PCB 105, 118, 138 et 156.

Dans la troisième catégorie sont classés les congénères di-ortho substitués possédant au moins un atome de chlore en ortho sur chacun des cycles. Ce groupe comprend notamment les congénères 52, 99 et 153. Ces congénères ne sont pas co-planaires et ne se fixent pas ou avec une très faible affinité au récepteur Ah. Ils n'induisent pas le CYP1A mais le CYP2B (Connor *et al*, 1995) [17]. Il a récemment été montré que cette induction impliquait la liaison à un récepteur nommé CAR (pour Constitutive Androstane Receptor) hautement exprimé dans le foie et qui est inactivé par la présence de stéroïdes à noyau androstane (Waxman, 1999) [18]. Ces PCB ont des effets toxiques différents de ceux que provoquent les congénères co-planaires (Giesy et Kannan, 1998) [19]. Ils présentent néanmoins une certaine spécificité d'action, en particulier comme promoteurs de cancérogenèse et comme inducteurs d'effets neurotoxiques et neurocomportementaux (Ahlborg *et al.*, 1994) [20].

Une quatrième catégorie groupant également des PCB non-coplanaires se liant peu ou pas au récepteur Ah concerne les congénères inducteurs du CYP3A et du CYP2B. Ces PCB sont notamment représentés par les congénères 47, 85, 155 et 184 (Schuetz *et al*, 1998) [21].

1.4 Réglementation

La production et l'utilisation de PCB sont interdites en France depuis 1987. L'élimination des déchets contenant des PCB, la substitution, la décontamination et la régénération de tout mélange contenant des PCB ne peuvent être réalisées que par des centres agréés par le Ministère chargé de l'environnement.

Selon un inventaire réalisé par l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) en juin 2002, la France comptait encore 545 610 appareils contenant des PCB (principalement des transformateurs). L'ensemble de ces appareils représente un poids de 33 462 tonnes de PCB à éliminer.

Tableau III : Valeurs des TEF des PCB « dioxine-like »

	OMS, 1993 (Ahlborg <i>et al.</i> , 1994)	OMS, 1997 (Van den Berg <i>et al.</i> , 1998)
PCB-77	0,0005	0,0001
PCB-81	-	0,0001
PCB-105	0,0001	0,0001
PCB-114	0,0005	0,0005
PCB-118	0,0001	0,0001
PCB-123	0,0001	0,0001
PCB-126	0,1	0,1
PCB-156	0,0005	0,0005
PCB-157	0,0005	0,0005
PCB-167	0,00001	0,00001
PCB-169	0,01	0,01
PCB-170	0,0001	-
PCB-180	0,00001	-
PCB-189	0,0001	0,0001

1.5 Evaluation du risque : L'approche des facteurs d'équivalence toxique (TEF)

Les facteurs d'équivalence toxique (TEF) ont été développés pour répondre à la question : comment peut-on rendre compte de la toxicité d'un mélange complexe de molécules ? Les TEF représentent donc une valeur qui est utilisée pour pondérer la masse respective de chacun des constituants d'un mélange de façon à rendre compte de leur "efficacité toxique" relative. Cette valeur est définie par rapport à une molécule de référence (étalon) ; dans le cas des "dioxines, furanes et PCB dioxin-like", il s'agit de la TCDD ou "dioxine" de Seveso qui possède un TEF égal à 1. En 1993, l'OMS attribuait un TEF à 13 congénères, et en 1997, elle réduisait cette liste à 12 congénères (Tableau III).

Le produit "TEF x masse du constituant" permet de calculer pour chaque constituant d'une matrice un équivalent toxique (TEQ). Les équivalents toxiques de tous les constituants du mélange sont ensuite additionnés et définissent en TEQ, la toxicité relative du mélange.

2 Les modèles

2.1 Modélisation de la bioaccumulation

La présence de contaminants dans l'environnement pose la question importante de leur devenir dans les réseaux trophiques et finalement, celle de l'exposition des consommateurs finaux, y compris l'homme, à de telles substances potentiellement toxiques.

La bioaccumulation désigne la capacité des organismes à concentrer et à accumuler les substances chimiques à des concentrations bien supérieures de celles présentes dans leur environnement.

L'étude de la bioaccumulation s'appuie sur la mesure et la modélisation des processus chimiques, biologiques et environnementaux sur le devenir des contaminants dans les réseaux trophiques. Dans notre cas, cette étude sera limitée aux organismes aquatiques.

2.1.1 Facteurs agissant sur la bioaccumulation des contaminants organiques

L'accumulation de contaminants organiques par les organismes aquatiques résulte de processus concomitants et concurrents : d'une part des processus qui font croître les teneurs des contaminants dans les organismes comme la respiration et l'alimentation et d'autre part des processus qui la réduisent comme l'excrétion, la croissance et la ponte.

Ces différents processus qui agissent simultanément dépendent de nombreux facteurs liés à la nature des composés chimiques, à la physiologie des organismes exposés à de telles substances ainsi qu'aux conditions environnementales.

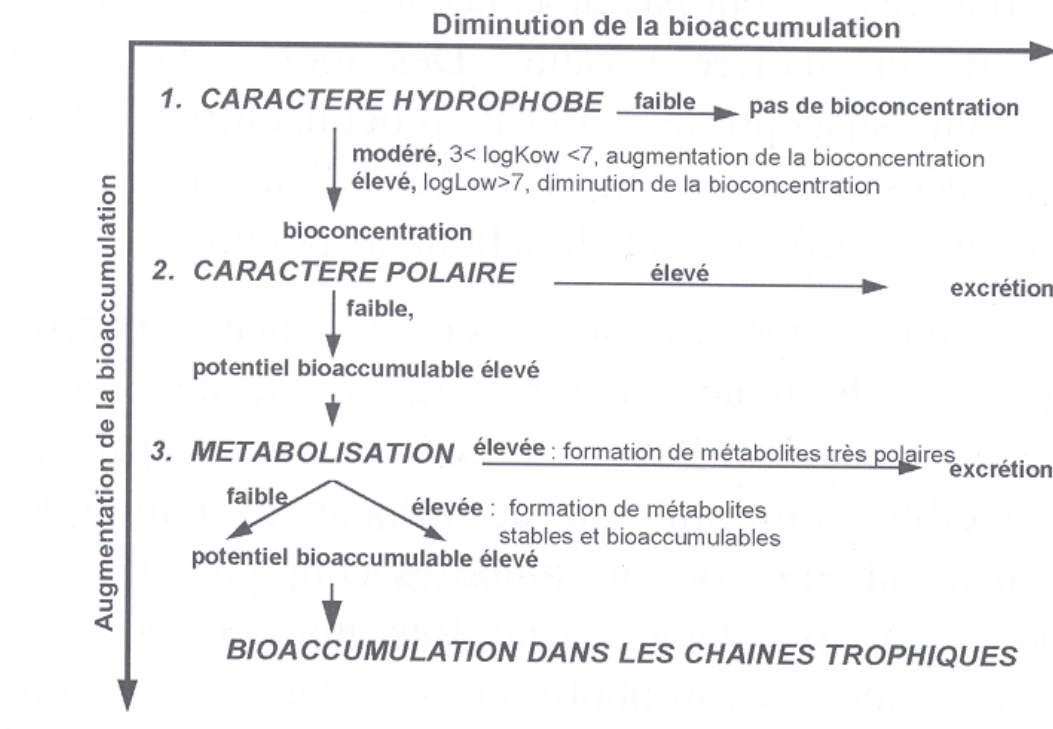


Figure 4: les aspects chimiques de la bioconcentration et de la bioaccumulation pour les organismes marins (d'après Norstrom et Letcher, 1996)

Ce sont essentiellement le caractère hydrophobe et la persistance des composés qui permettent à ces derniers d'entrer dans les organismes pour y être stockés. L'importance de ces caractéristiques est représentée schématiquement sur la figure 4 (d'après Norstrom et Letcher, 1996 [22]).

2.1.1.1 Le coefficient K_{ow}

Le coefficient de partage octanol/eau (K_{ow}) définit le caractère hydrophobe d'une molécule c'est-à-dire son affinité pour la matière organique et notamment les lipides. Cette grandeur varie en relation inverse de la solubilité dans l'eau, dans un très large domaine selon la nature de la molécule, son caractère polaire et sa taille. La bioconcentration est favorisée par des coefficients de partage compris entre 10^3 et 10^7 et diminue au delà en raison de l'affinité de telles substances pour les particules solides et de l'encombrement stérique de ces dernières (passage plus difficile à travers les membranes). La bioconcentration, ou accumulation par les organismes à partir de l'eau uniquement, est l'étape clef dans le processus de bioaccumulation : elle intervient aux premiers niveaux trophiques où se déroulent les échanges de contaminants entre la colonne d'eau et les particules en suspension selon des processus d'adsorption.

La persistance d'un composé exprime sa résistance aux processus de dégradation physico-chimique, microbienne ou métabolique. Une fois introduit dans les cycles biologiques, un composé hydrophobe et persistant y sera stocké, plus particulièrement dans les tissus riches en lipides ; c'est la bioaccumulation. Par les transferts trophiques sa concentration augmentera quand on s'élèvera dans la pyramide alimentaire ; c'est la bioamplification.

2.1.1.2 Facteurs biologiques et environnementaux

La bioaccumulation varie en fonction des espèces, de leur âge, de leur mode d'alimentation, de leur position dans la chaîne trophique et de leur physiologie.

Les facteurs environnementaux agissant sur la bioaccumulation sont quant à eux spécifiques d'un site et varient dans le temps. La proximité des sources de polluants et leur nature déterminent forcément l'exposition des organismes présents dans la zone de dilution de rejets polluants. Les conditions hydrodynamiques locales agissent sur le transport des particules et la circulation des masses d'eau ; elles vont directement affecter le transport des substances et leur biodisponibilité. Les facteurs climatiques vont aussi agir sur des paramètres comme le débit de fleuve (et donc les apports), la température, l'oxygène dissous et la production primaire. Ces conditions de milieu modifient l'efficacité des processus biologiques responsables de la bioaccumulation et en particulier la température qui intervient directement sur les cinétiques des processus.

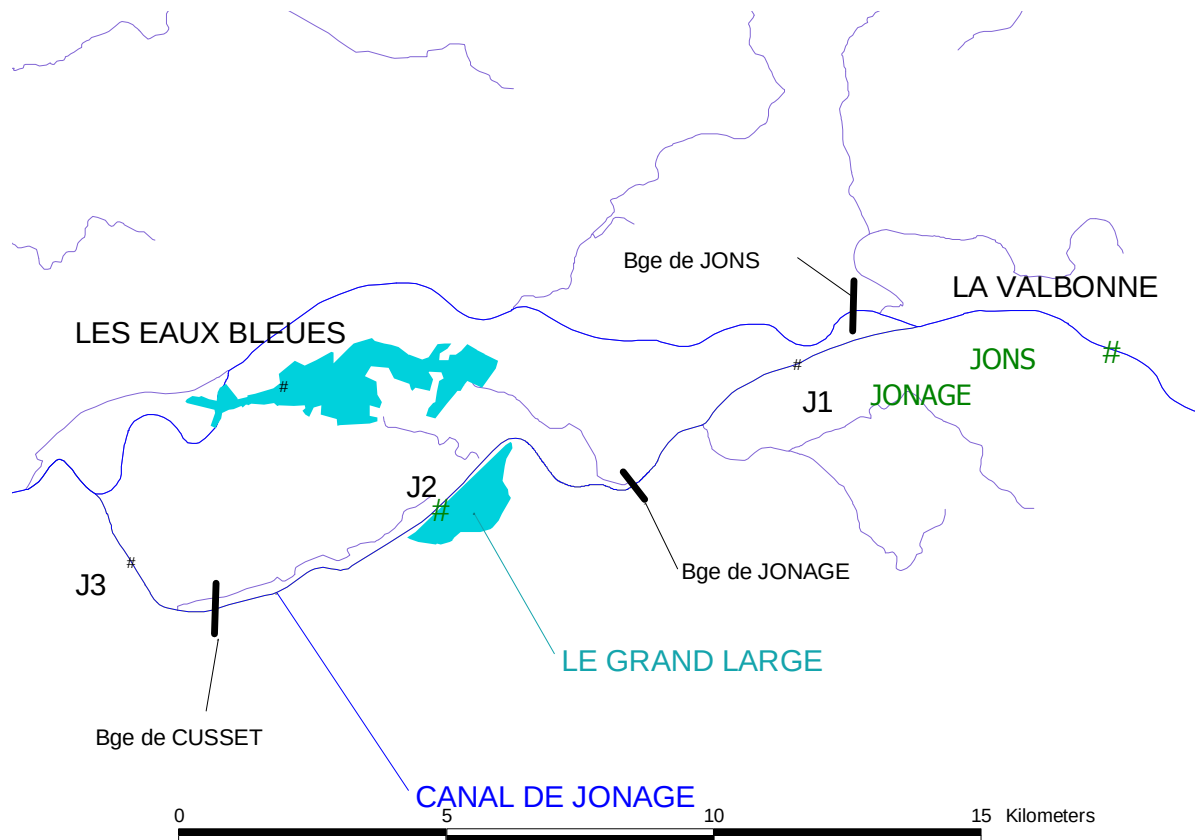


Figure 5 : Carte du site d'étude (A. Chandesris, Cemagref)

Tableau IV : Caractéristiques générales du Grand Large

Superficie (ha)	Profondeur max(m)	Longueur max (km)	Largeur max (km)	Altitude (mNGF)	Date création	Loisirs Nautiques	Communes riveraines
160	3,7 (2)	2,5	1,1	180	1895	baignade ; voile	Décines- Charpieu; Meyzieu

2.1.2 Les modèles de bioaccumulation

L'intérêt des modèles de bioaccumulation réside dans leur capacité à reproduire aussi fidèlement que possible les observations en prenant en compte les différents mécanismes. Une fois calibré, un modèle permet de réaliser des simulations pour reconstituer des séries, prédire des évolutions notamment sous contraintes... Dans une démarche d'évaluation des risques de substances chimiques on peut souhaiter utiliser de tels modèles pour prédire leurs concentrations dans les organismes. De telles estimations sont possibles à partir de simples relations empiriques liant facteurs de concentration ($FBC = \text{concentration mesurée dans l'organisme} / \text{concentration dans l'eau}$) aux coefficients de partage octanol / eau (K_{ow}), relations que l'on peut considérer comme des modèles très simplifiés. Les meilleures corrélations sont obtenues pour les composés persistants tel que les PCB. Dans ces relations, généralement de la forme $\log(FBC) = a \log K_{ow} + b$, a est généralement proche de 1 et b dépend de la teneur en lipides.

D'autres types de modèles de complexité croissante ont été proposés ; ils permettent de suivre les substances chimiques dans les organismes (organotropisme), les réseaux trophiques ou les écosystèmes. Deux grands types de modèles existent (nous les développerons plus longuement dans la partie discussion) :

Ceux dérivant du modèle développé par Gobas (1993) [23] et Campfens (1997) [24] sur la base du concept de fugacité reposent sur un modèle à l'équilibre des différents compartiments.

L'approche bioénergétique qui prend davantage en compte les processus biologiques pour modéliser la bioaccumulation. Ce sont les vitesses de ces mécanismes physiologiques qui déterminent la dynamique de la bioaccumulation.

Partie 2 : Matériels et méthodes

3 Présentation du milieu et des espèces étudiées

3.1 Présentation générale du site d'étude : le canal de Jonage et le Grand Large, figure 5

Le Canal de Jonage est une dérivation du Rhône construite pour alimenter l'usine hydro-électrique de Cusset à Villeurbanne et pour assurer la continuité de la navigation en amont de Lyon. Mis en service en 1897, il est construit grâce à une digue à flanc de collines sur les communes de Jonage, Meyzieu, Décines-Charpieu, Vaulx-en-Velin et Villeurbanne. Sa longueur est de 19 km. Il est ponctué par deux écluses à Cusset et à Jons

(amont). Le barrage de Jonage est le barrage de garde qui permet d'isoler la partie aval du canal et l'usine de tout débit venant du Rhône. Il a été construit



Figure 6 : Le barbeau fluviatile



Figure 7 : La brème commune (photo J-C Poirer)

Tableau V : Image synthétique du régime alimentaire de la brème et du barbeau (les chiffres indiquent les pourcentages d'occurrence)

Etudes sur rivières ou lacs			Brèmes rivières	Brèmes lacs	Barbeaux rivière (rocailleux)	Barbeaux rivière (graveleux)	Barbeaux rivière (sablonneux)
Insectes aquatiques	Diptères	Chironomes	90	34	13,68	11,32	50,26
		Simulies			8,33	12,22	20,23
		Autres		0,3			
	Ephéméroptères		31	7,4	22,61	23,33	38,15
	Trichoptères		16	8	11,9	19,44	28,32
	Odonates adultes		46		2,33	0,55	2,03
	Coléoptères				7,14	1,11	2,02
Insectes aériens	Hétéroptères			0,6	2,38	1,66	0,57
	adultes			0,3			
	Hyménoptères				7,14	3,88	2,31
Crustacés		Gammarus		3,7	16,66	23,33	21,96
		Aselles		9			
Crustacés inférieurs	Cladocères		16	42			
	Copépodes		26	45			
	Ostracodes		11				
	Conchostracés					0,55	0,57
Mollusques	Gastéropodes				7,73	7,22	16,18
	Bivalves				0	0,77	0,57
Vers	Oligochètes			7,5	0,59	0,55	1,73
	Nématodes		20		10,71	10,55	10,98
Arachnides					1,78	1,66	
Végétaux	Diatomées			6,3	60,01	59,88	56,87
	Algues vertes			4,8			
	Macrophytes		31	4,8			
Détritus				4,1			

en même temps que l'usine de Cusset (à la fin du siècle dernier).

A proximité de Décines-Charpieu, la digue s'écarte pour créer le Réservoir du Grand-Large qui est une grande réserve d'eau pour l'usine hydro-électrique de Cusset.

Le Grand-Large est un lac artificiel le long du Canal de Jonage dont les principales caractéristiques sont présentées sur la page précédente (Tableau IV, d'après l'agence de l'eau, page précédente).

3.2 Description des deux espèces choisies

Les espèces étudiées pour ce travail sont la brème et le barbeau. Les raisons d'un tel choix sont d'une part, que le jeu de données à notre disposition est important pour ces deux espèces et, d'autre part, que les régimes alimentaires de ces poissons sont différents (voir ci-dessous). Le barbeau et la brème ont la même position systématique (jusqu'à la Famille) qui est la suivante : classe des Ostéichthyens, sous-classe des Actinoptérygiens, ordre des Cypriniformes et famille des Cyprinidae.

3.2.1 Le Barbeau fluviatile : *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758), figure 6

Le barbeau colonise les eaux courantes et profondes. Ses habitats de prédilection, car ils lui procurent à la fois un abri et un garde-manger sont les fonds garnis de nombreux cailloux, énormes pierres, les déversoirs, pied des chutes, îlots, herbes aquatiques, remous...

Le barbeau est omnivore. Il est intéressé par tout ce qu'il trouve sur le fond de la rivière.

Plusieurs auteurs ont étudié le régime alimentaire de l'espèce (Adamek et al., 1977 [25]; Kraiem, 1980 [26]; Lobon-Cervia et al., 1988 [27]; Cherghou, 2002 [28]) qui est constitué de larves d'insectes (surtout diptères, éphéméroptères et trichoptères), de mollusques, de crustacés et d'éléments d'origine végétale (algues filamenteuses et débris de végétaux macrophytes). (Voir Tableau V, Cherghou, 2002 [28])

La durée de vie moyenne du barbeau est d'environ 12 ans (jusqu'à 20 ans). Sa taille avoisine les 50 centimètres (maximum : 1 mètre) et son poids moyen est de 3 kilos (maximum : 12 kg)

3.2.2 La Brème commune : *Abramis brama* (Linnaeus, 1758), figure 7

Son corps très élevé est aplati latéralement (d'où son surnom de plateau).

La brème vit en petits groupes dans les endroits profonds, calmes et herbeux des étangs, rivières, canaux et lacs de basse altitude.

Elle se nourrit d'animalcules (crustacés, mollusques, larves d'insectes) et de débris de végétaux qu'elle trouve dans la vase du fond. Les brèmes adultes se nourrissent selon deux modes. Sur le fond en utilisant leur bouche protractile pour creuser dans le sol et pour filtrer les aliments. Quand il n'y a pas assez d'invertébrés sur le fond, elles mangent les daphnies entre deux eaux. (Tableau V, d'après Billard, 1997 [29])

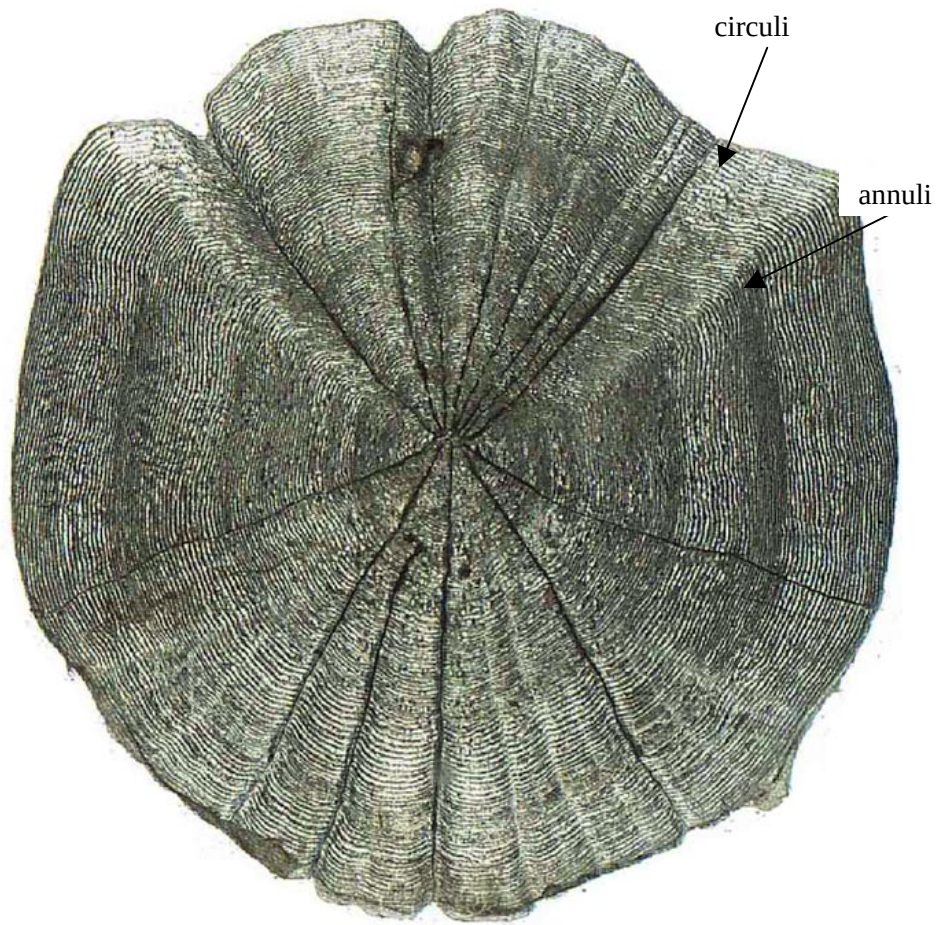


Figure 8 : Photo d'une écaille

La durée de vie varie de 15 à 20 ans. La taille moyenne d'une brème est de quarante centimètres pour un poids moyen de 2.5 kg (maximum : 5 kg).

4 Analyses effectuées

4.1 Mesure de l'âge des poissons par scalimétrie

La scalimétrie est la détermination de l'âge des poissons et l'étude de leur croissance à travers l'observation de leurs écailles. L'historique de la croissance de l'animal s'exprime à partir des cercles concentriques (circuli) se formant à partir du bord de l'écaille. Dans les régions tempérées, les périodes hivernales entraînent des marques saisonnières correspondant aux ralentissements puis aux arrêts de croissance. Le nombre de ces marques, appelées annuli, est ainsi directement lié à l'âge des individus (Figure 8).

Echantillonnage

Sept barbeaux et vingt et une brèmes ont été pêchés en mai 2007 dans le Rhône au niveau du pont de Jons et du Grand Large. Tous les poissons ont fait l'objet d'un examen scalimétrique. Sur chaque poisson, à l'aide d'une pince, plusieurs écailles ont été prélevées dans la zone latérodorsale. Les écailles ont été conservées dans un sachet numéroté (n° du poisson) au sec, à température ambiante. Le reste de la procédure : préparation des échantillons et lecture des écailles fait l'objet de l'annexe 1.

4.2 Mesure de l'activité EROD

Selon la définition, les biomarqueurs sont des indicateurs biochimiques, physiologiques ou histologiques d'exposition d'un organisme à des contaminants (Benson et Di Giulio, 1992 [30]; Huggett *et al.*, 1992 [31]). Une définition plus récente considère un biomarqueur comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, physiologique ou comportemental qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic *et al.*, 1997 [32]). Les biomarqueurs sont donc des variables biologiques qui sont à la fois précoces et sensibles, mais aussi aptes à fonder un diagnostic sur la qualité de l'écosystème et sur la nature et le degré de contamination. La spécificité d'un biomarqueur pour certaines familles de molécules chimiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), PCB, métaux lourds, produits phytosanitaires...) permet d'une part de révéler la présence de ces polluants et d'autre part de renseigner sur la biodisponibilité de ces polluants ainsi que sur les effets biologiques précoces sur les organismes.

Echantillonnage des foies

Les poissons prélevés par pêche au filet sur nos sites d'étude sont maintenus vivants en bourriche oxygénée et à l'ombre. Les poissons, assommés un à un, après pesage et mesurage, sont disséqués au moyen d'instruments adéquats. Le foie est séparé des autres organes (muscle pour les analyses

Tableau VI : Indice et coefficients utilisés dans l'étude du régime alimentaire

Coefficient de vacuité (CV)	Coefficient d'occurrence (CO)	Indice numérique (IN)
$\frac{\text{Nombre d'estomacs vides}}{\text{Nombre total d'estomacs examinés}} \times 100$	$\frac{\text{Nombre d'estomacs contenant une catégorie de proies}}{\text{Nombre total d'estomacs examinés}} \times 100$	$\frac{\text{Nombre d'individus de chaque catégorie de proies}}{\text{Nombre total de proies}} \times 100$

PCB et tube digestif pour les contenus stomacaux) et un petit morceau en est découpé (environ 1g). Après rinçage dans une solution de KCl, l'échantillon est homogénéisé dans un tampon phosphate (+ glycérol) au moyen d'un broyeur de Potter. L'homogénat, conditionné en tube eppendorf, est immédiatement conservé dans l'azote liquide. Les échantillons ont été traités de la même façon, dans la même journée et en parallèle. Tout comme pour la scalimétrie, le reste de la procédure se trouve en annexe (numéro 2).

4.3 Analyses des PCDD et PCDF, des PCB « type dioxine » et des PCB indicateurs

Nous avons prélevé des échantillons de muscle d'environ 200g. Les filets ont été levés dans la partie médiane du poisson, de chaque côté de ce dernier. Immédiatement, ils ont été conservés au frais dans une glacière avant d'être congelés à -20°C de retour au laboratoire. La partie analyse a été sous traitée au laboratoire CARSO (Laboratoire Santé Environnement Hygiène de Lyon) selon la procédure figurant en annexe 3.

Les résultats et les données existantes ont fait l'objet d'analyses statistiques. Nous avons utilisé le logiciel Statistica 7 pour les tests et graphiques réalisés.

4.4 Etude du régime alimentaire des 2 espèces de poissons

Echantillonnage

Les tubes digestifs des poissons ont été fixés dans du formol 30 % afin d'arrêter les processus de digestion post-mortem. Les tractus digestifs sont conservés en flacons individuels étiquetés.

Lecture

De retour au Cemagref, les tractus digestifs fixés sont lavés, ouverts puis le contenu est rincé avant d'être examiné à la loupe binoculaire.

Chez le barbeau et la brème, comme chez de nombreux poissons munis de dents, les proies ingérées sont plus ou moins fortement fragmentées, ce qui rend parfois difficile leur identification précise, et plus encore leur dénombrement : celui-ci s'opère donc à partir des capsules céphaliques ou des fragments thoraciques et abdominaux et par référence à du matériel intact prélevé sur les sites de capture des poissons. Dans cette étude, nous avons centré notre attention sur les groupes d'espèces plutôt que sur les espèces considérées individuellement.

Expression des résultats

Pour déterminer le régime alimentaire de la brème et du barbeau, nous avons calculé des indices et des coefficients utilisés par plusieurs auteurs et notamment en 2002 par Cherghou *et al* [28]. (Tableau VI).

Tableau VII : synthèse des résultats obtenus sur l'ensemble de nos poissons

Espèce	ECH	Protéines (mg/ml) polyn	EROD (pmol/min/mg prot)
Barbeau	BAF1	4,1	1,7
Barbeau	BAF2	6,6	8,9
Barbeau	BAF3	5,2	10,0
Barbeau	BAF4	4,6	98,6
Barbeau	BAF5	6,7	22,7
Barbeau	BAF6	3,1	33,6
Barbeau	BAF7		76,6
Brème	BRE1	10,4	3,6
Brème	BRE10	11,4	2,0
Brème	BRE11	8,0	0,8
Brème	BRE12	10,0	3,3
Brème	BRE13	6,5	3,3
Brème	BRE14	8,9	1,2
Brème	BRE15	9,8	1,3
Brème	BRE16	12,0	2,1
Brème	BRE17	7,8	3,4
Brème	BRE18	9,8	2,1
Brème	BRE19	11,8	0,0
Brème	BRE2	6,5	0,0
Brème	BRE3	7,1	1,1
Brème	BRE4	7,4	2,8
Brème	BRE5	6,0	1,1
Brème	BRE6	7,5	0,9
Brème	BRE7	10,0	0,3
Brème	BRE8	6,6	0,0
Brème	BRE9	9,8	3,1

Tableau VIII : Classes d'induction de l'activité EROD (d'après P. Flammarion)

	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
Qualité	très bon état	bon état	qualité médiocre	qualité mauvaise	qualité très mauvaise
Erod (pmol/min/mg protéines)	< 13	13-30	31-70	71-160	>160

Tableau IX : contamination de la chair des poissons

Site	Espèce	Poids (g)	Taille (mm)	Age (année)	PCBi(µg/kg de produit brut)	TEQ (pg/g de produit brut)	Conformité
Camp de la Valbonne J1	BAF	1110	448	7	216	12	Non
Grand Large J2	BAF	2964	640	8	394	22	Non
Grand Large J2	BRE	2276	530	9	384	19	Non
Grand Large J2	BRE	2696	570	10	504	25	Non
Grand Large J2	BRE	4290	620	10	584	45	Non

Partie 3 : Résultats

5 Détermination de l'âge des poissons

L'annexe 4 répertorie les résultats de la scalimétrie obtenus sur l'ensemble des poissons pêchés.

6 Induction d'activité EROD

Les résultats obtenus (tableau VII) montrent qu'il n'y a pour ainsi dire aucune induction d'activité chez la brème ce qui n'est pas le cas pour les barbeaux.

P. Flammarion [33] a proposé des classes d'induction de qualité EROD. Ci-contre (tableau VIII), on retrouve celles des barbeaux femelles au printemps.

Pour comparer l'induction enzymatique de nos barbeaux à l'aide des classes de qualité, il faut calculer la moyenne népérienne des valeurs EROD. On obtient une moyenne à 18,9 qui correspond à une classe 2 signifiant un bon état du milieu.

Cependant, il faut rester prudent car l'induction de l'activité EROD est la résultante de l'exposition à des inducteurs (PCB mais aussi HAP, perturbateurs endocriniens...) et des inhibiteurs (benzène, métaux lourds...).

Il aurait été intéressant de corrélérer les résultats EROD aux résultats des analyses PCB mais nous n'avons pas pu le faire dans ce rapport. Les résultats négatifs obtenus pour l'induction d'activité enzymatique chez la brème ont réduit nos données pour établir une corrélation à deux points seulement. En effet, seuls les barbeaux 1 et 7 ont fait l'objet d'une analyse PCB.

7 Analyses PCB de chair de poissons

7.1 Synthèse des résultats obtenus pour les cinq poissons analysés

La valeur limite de 8 pg.g^{-1} exprimée en TEQ (équivalent toxique) pour l'ensemble des PCB-DL et dioxines [34] est dépassée pour tous les poissons ayant fait l'objet d'une analyse PCB (Tableau IX).

7.2 Impact de la contamination sur l'ensemble des données

Les poissons que nous avons analysés font partie d'une base de données beaucoup plus large regroupant diverses espèces et divers sites du bassin du Rhône (carte de l'ensemble des stations en annexe 5).

La figure 9 (au dos de cette page), permet d'observer la contamination des poissons secteur par secteur jusqu'aux départements de la Drôme et de l'Ardèche. Les histogrammes font référence aux valeurs moyennes des TEQ (valeur limite de 8 pg/g ; échelle logarithmique). On note un pic important à 207 pg/g pour le secteur à l'aval de l'usine TREDI (nombre de poissons $n = 7$). Sinon,

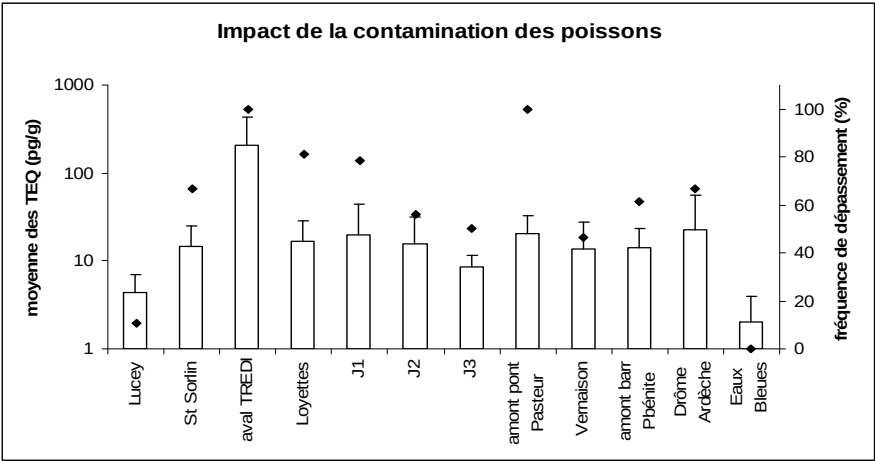


Figure 9 : Impact de la contamination des poissons sur l'ensemble des sites

Tableau X : différences inter-sites ($\alpha = 0.05$)

	Lucey	St Sorlin	aval TREDI	Loyettes	J1	J2	J3	amont pont Pasteur	amont barrage P. Bénite	Vernaison	Drôme-Ardèche	Eaux bleues
Lucey		Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non
St Sorlin	Non		Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
aval TREDI	Oui	Non		Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui
Loyettes	Oui	Non	Non		Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
J1	Non	Non	Non	Non		Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
J2	Non	Non	Oui	Non	Non		Non	Non	Non	Non	Non	Oui
J3	Non	Non	Non	Non	Non	Non		Non	Non	Non	Non	Non
amont pont Pasteur	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non		Non	Non	Non	Oui
amont barrage P. Bénite	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non		Non	Non	Oui
Vernaison	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non		Non	Non
Drôme-Ardèche	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non		Oui
Eaux bleues	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui	

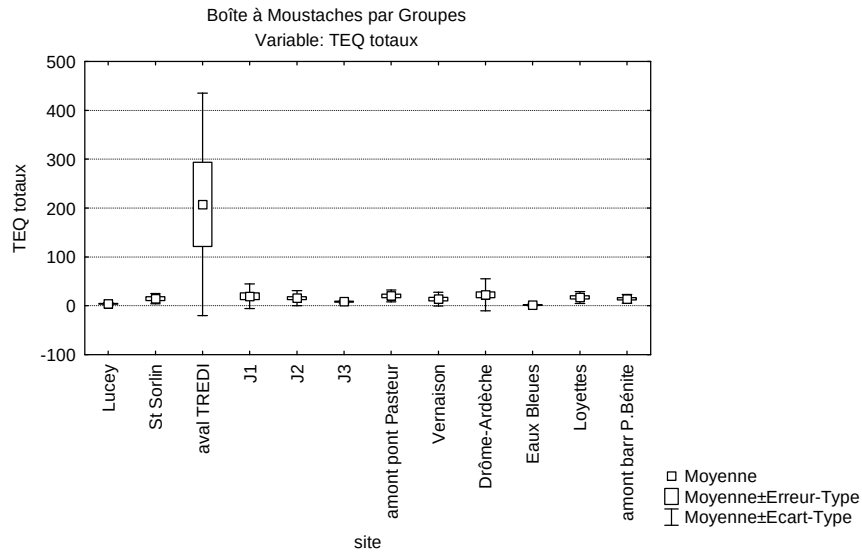


Figure 10 : Distributions des différentes stations d'échantillonnage

seules les moyennes des secteurs de Lucey ($n = 19$) et J3 ($n = 6$) avec respectivement des valeurs de 4 et 8 pg/g sont en dessous des recommandations européennes.

Les losanges quant à eux, représentent les fréquences de dépassement de la valeur limite. Avec 100% des poissons au dessus de cette dernière, l'aval de TREDI et Lyon (amont pont Pasteur, $n = 10$) sont des sites fortement contaminés. Quant à Lucey, là encore, il figure comme le secteur le moins contaminé avec 11% des poissons dépassant la valeur limite. Le site des Eaux Bleues ($n = 7$) est un site de référence et l'on constate bien, en observant le graphique, qu'il n'est pas impacté par la pollution aux PCB (aucun poisson ne dépasse les 8 pg/g).

Nous avons réalisé une ANOVA (test de Kruskal-Wallis) avec la variable de classement site et la variable dépendante : TEQ globaux. Le test est très significatif (avec $p < 0,001$), on conclut donc à une différence des TEQ entre les stations. La comparaison multiple des rangs moyens ($\alpha = 0,05$) de tous les groupes indique des différences significatives récapitulées dans le Tableau X.

La boîte à moustache (figure 10) représente les moyennes, les écarts et erreurs types des stations.

7.2.1 Influence du type de régime alimentaire sur la contamination

Tout d'abord nous avons essayé de comparer les contaminations des poissons carnassiers (perche, sandre, brochet, silure et truite) et omnivores (carpe, brème, barbeau, hotu, chevaine et vandoise) sur l'ensemble des bases de données de Lyon et de Drôme-Ardèche. De façon à normaliser nos distributions, les concentrations en PCB_i totaux ont été transformées en log de PCB_i totaux. Ainsi, d'après le test de Kolmogorov-Smirnov, $p > 0,2$, nos quatre distributions (carnassiers Lyon $n = 47$, carnassiers Drôme-Ardèche $n = 7$, omnivores Lyon $n = 114$ et omnivores Drôme-Ardèche $n = 23$) sont normales.

Avant d'utiliser le test t de Student, il faut tout d'abord réaliser un test F d'homogénéité des variances où H_0 est l'hypothèse nulle d'égalité des variances. Si $p > 0,05$, alors le test t peut être appliqué. $p = 0,47$, le test t est donc réalisé. Pour ce dernier, $p = 4.10^{-6}$ ce qui est hautement significatif. On conclut donc à une différence des moyennes des carnassiers et des omnivores. D'après la figure 11 (page suivante), les omnivores (régime alimentaire plus varié) sont plus contaminés que les carnassiers.

Nous avons ensuite effectué cette comparaison sur nos deux sites d'études : Lyon et Drôme-Ardèche.

Site de Lyon : test F, $p = 0,68$; test t, $p = 4.10^{-6}$

Site Drôme-Ardèche : test F, $p = 0,79$; test t, $p = 0,72$

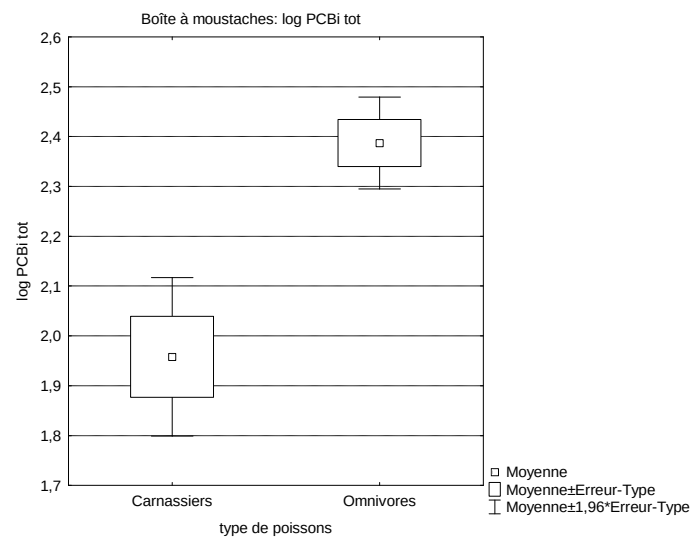


Figure 11 : boîte à moustache de la contamination des carnassiers et omnivores sur l'ensemble des sites.

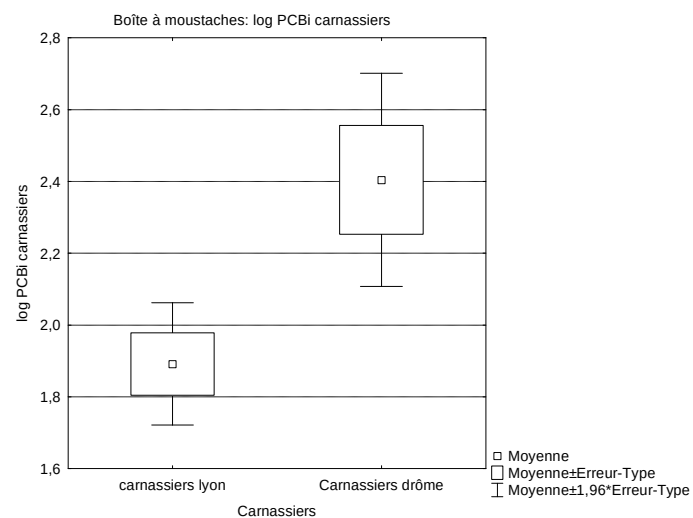


Figure 12 : comparaison des carnassiers de Lyon et de Drôme-Ardèche

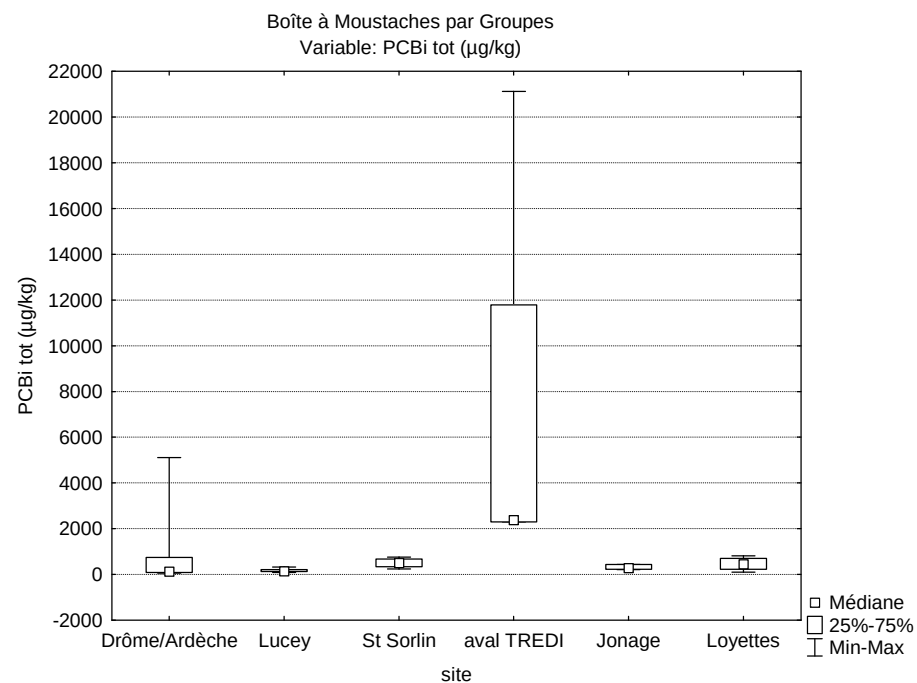


Figure 13 : contamination des barbeaux en fonction du site

La différence mise en évidence sur les deux sites confondus est retrouvée pour le site de Lyon mais pas pour Drôme-Ardèche. Du fait des faibles effectifs de ce dernier site, nous avons, pour confirmer ce résultat, effectué un test supplémentaire non paramétrique U de Mann-Whitney. Là aussi, avec $p = 0,79$, on ne rejette pas H_0 et on ne peut pas conclure à une différence entre carnassiers et omnivores.

Il est maintenant intéressant de comparer si la contamination de ces deux types d'alimentation est semblable ou non au niveau des deux sites.

Carnassiers : test F, $p = 0,32$; test t, $p = 0,03$

Pour la même raison que précédemment ($n_{\text{Drôme-Ardèche}} = 7$), nous avons fait un test de U où p est significatif avec une valeur de 0,03. Il existe donc bien une différence entre les deux groupes (figure 12). Les carnassiers de Drôme-Ardèche subissent une contamination plus importante que ceux de Lyon. Chez les omnivores, par contre, (test F, $p = 0,25$; test t, $p = 0,41$) cette différence inter-site n'est pas mise en évidence. Ceci peut être l'explication de la non différence des omnivores et des carnassiers sur le site Drôme-Ardèche mise en évidence ci-dessus.

Il faut noter que nous ne possédons pour Drôme-Ardèche, aucune information sur les âges des poissons. Pour Lyon, l'âge est renseigné pour 55 individus (total : 161), variant de 1 à 10 ans avec une large majorité de jeunes (< 5 ans).

7.3 Contaminations de la brème et du barbeau

7.3.1 Comparaison de la contamination sur l'ensemble des sites

Nous avons tout d'abord essayé de mettre en évidence une différence de contamination chez les barbeaux. Pour ce faire, nous avons utilisé une ANOVA non paramétrique de Kruskal-Wallis. (Nous avons six échantillons indépendants avec différents effectifs ; de l'amont vers l'aval : $n_{\text{Lucey}} = 13$, $n_{\text{St Sorlin}} = 4$, $n_{\text{aval TREDI}} = 4$, $n_{\text{Loyette}} = 12$, $n_{\text{Jonage}} = 7$ et $n_{\text{Drôme-Ardèche}} = 9$)

On obtient une différence très significative entre les sites ($p = 0,001$) comme on peut le constater ci-contre sur la figure 13.

La comparaison multiple des rangs moyens de tous les groupes (test post-hoc) met en évidence une différence de concentrations en PCB_i entre l'aval de TREDI (contamination plus importante) et Lucey ($p < 0,001$) et entre l'aval de TREDI et Drôme-Ardèche, là encore, en faveur d'une plus grande contamination à l'aval de l'usine ($p = 0,05$).

Ces différences peuvent-être accentuées ou au contraire amoindries par une différence inter-site des poids des poissons. Là encore, nous appliquons un test de Kruskal-Wallis non paramétrique pour lequel on ne conclut pas à une différence significative de poids entre les six sites ($p = 0,1$).

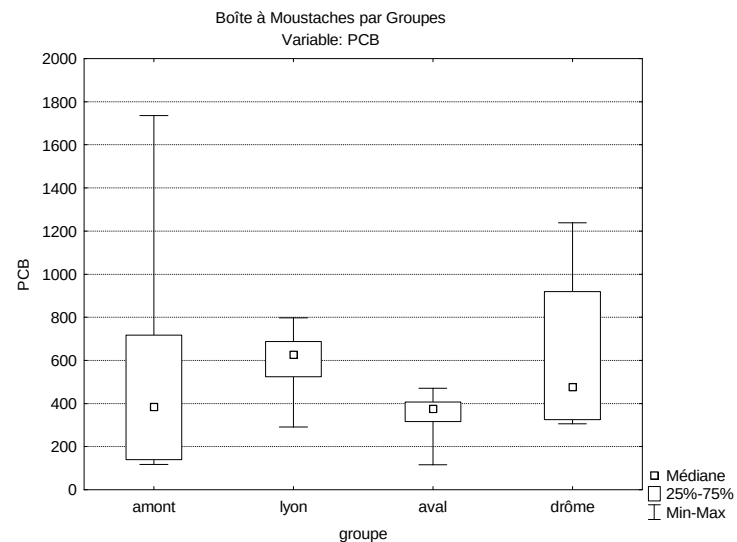


Figure 14 : Comparaison de la contamination des brèmes

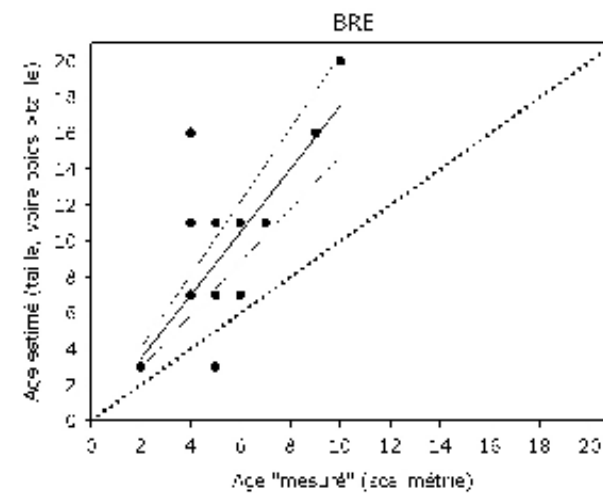


Figure 16 : Relation âge mesuré — âge estimé chez la brème

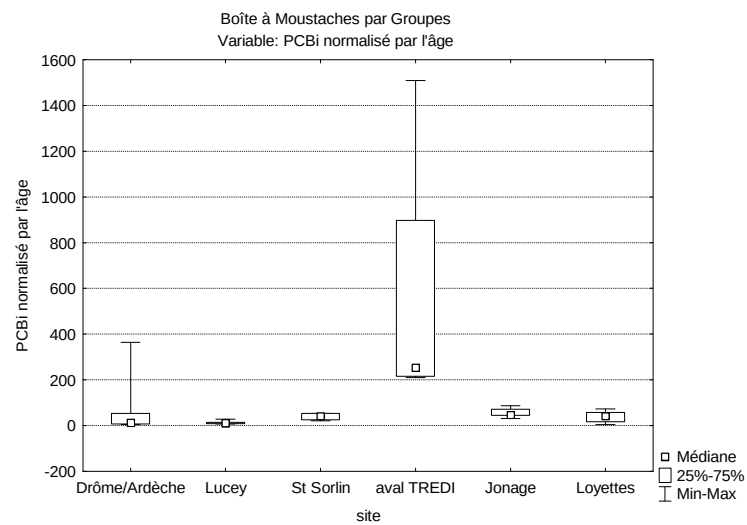


Figure 15 : Contamination des barbeaux après normalisation par l'âge

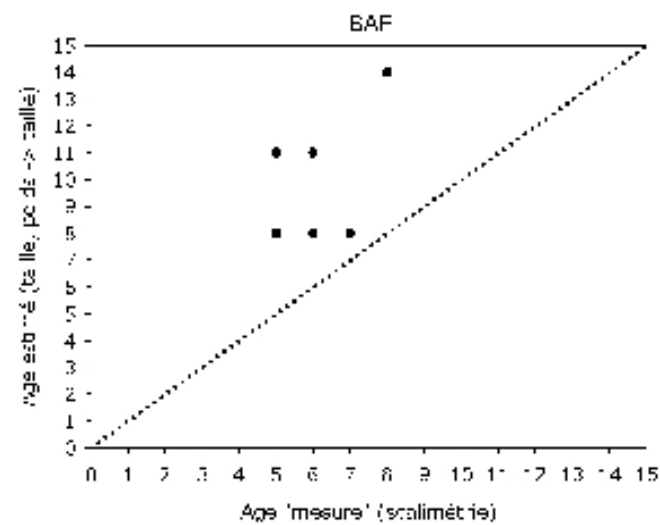


Figure 17 : Relation âge mesuré — âge estimé chez le barbeau

Pour les brèmes, nous avons divisé notre jeu de données en quatre sites : amont Lyon (n = 11), Lyon (n = 5), aval Lyon (n = 5) et Drôme-Ardèche (n = 5).

Le test de Kruskal-Wallis ($p = 0,42$) est non significatif (voir figure 14) mais ce même test sur les poids des brèmes indique une différence significative entre nos sites d'étude ($p = 0,01$).

La comparaison multiple des rangs moyens de tous les groupes (test post-hoc) met en évidence une différence de poids entre l'amont de Lyon (poids plus importants) et Lyon ($p = 0,03$). Ainsi, il est difficile de conclure à un niveau de contamination semblable sur les quatre sites étudiés. Cependant, on peut dire, qu'il n'y a pas de différence entre Lyon, son aval et la Drôme-Ardèche ; par contre, en ce qui concerne l'amont de Lyon, il est possible que les poissons soient « moins » contaminés mais il faudrait pour pouvoir conclure en ce sens, normaliser les données par le poids.

Les poissons des différents lots étudiés ont des âges et des poids différents, ce qui augmente fortement la variabilité et empêche une comparaison directe de ces lots comme nous l'avons constaté ci-dessus. La normalisation par l'âge ou le poids permettrait de réduire cette variabilité et donc d'améliorer les comparaisons des sites ou l'analyse des tendances dans le temps. Nous avons donc choisi d'effectuer une normalisation par l'âge dans un deuxième temps.

7.3.2 Comparaisons après normalisation des concentrations par l'âge

Pour les barbeaux, en utilisant les mêmes données que ci-dessus, cette fois ci normalisées, l'ANOVA de Kruskal-Wallis nous donne une différence inter-sites très significative : $p < 0,001$.

La comparaison des rangs de tous les groupes fait ressortir les mêmes différences que précédemment : aval TREDI-Lucey ($p < 0,001$), aval TREDI-Drôme-Ardèche ($p = 0,04$) et en plus, on met en évidence une différence entre Lucey et Jonage ($p = 0,042$).

Nous avons effectué le même travail avec les brèmes (figure 15) pour lequel on n'obtient aucune différence significative entre nos quatre sites : $p = 0,36$.

Nous avons utilisé pour cette normalisation, lorsque les données étaient disponibles, les âges calculés par scalimétrie. Dans l'autre cas, nous les avons estimés grâce à des régressions reliant la taille à l'âge (barbeau : $\text{taille} = a \cdot (1 + \text{âge})^b$ avec $a = 58.4363$ et $b = 0.856$; brème : $\text{taille} = y_0 + a \cdot \text{âge}^b$ avec $y_0 = 101.6959$, $a = 32.096$ et $b = 0.9146$). Pour le barbeau, à partir de 10 ans, nous avons dû extrapoler les relations taille-âge existantes. Quant à la brème, l'extrapolation taille-âge est encore plus importante : entre 3 et 7 ans (où nous possédons un rapport taille-âge) et après 7 ans.

Pour valider cette méthode de normalisation par l'âge, il faut d'une part vérifier la corrélation âge mesuré et âge estimé (voir figures 16 et 17 ci-contre) et d'autre part, s'assurer que l'âge utilisé est bien corrélé aux concentrations en PCB.

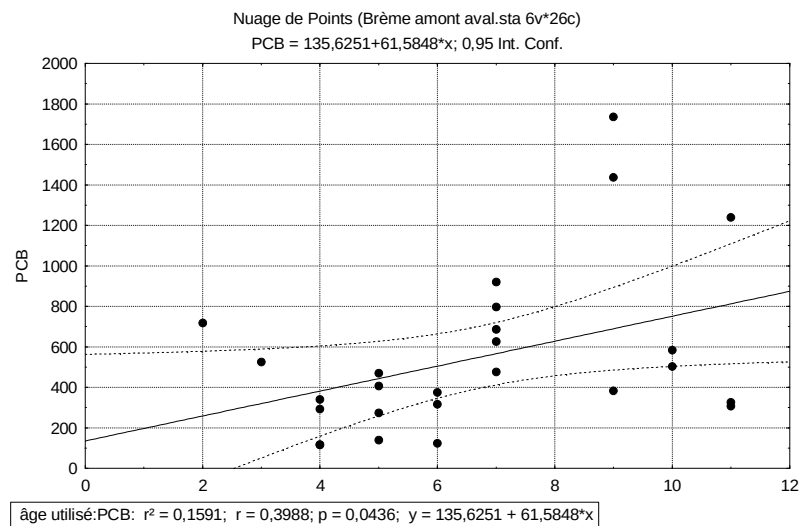


Figure 18 : Corrélation âge utilisé - concentrations en PCBi chez la brème

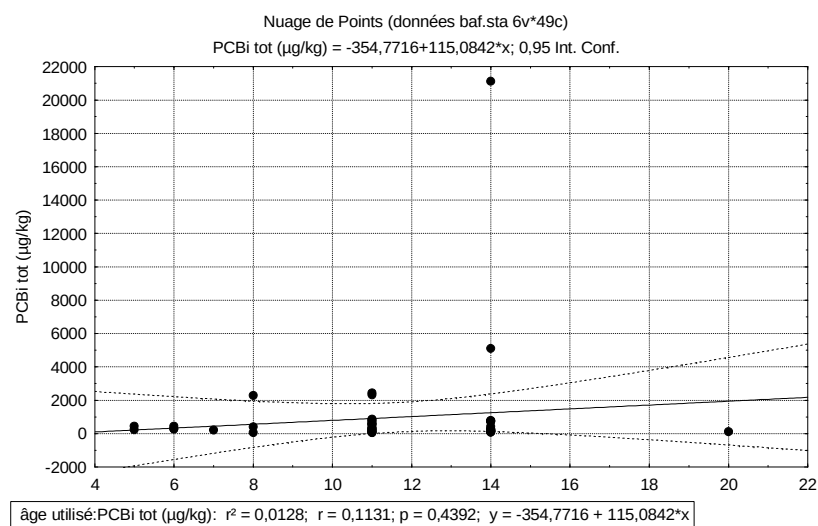


Figure 19 : Corrélation âge utilisé - concentrations en PCBi chez le barbeau

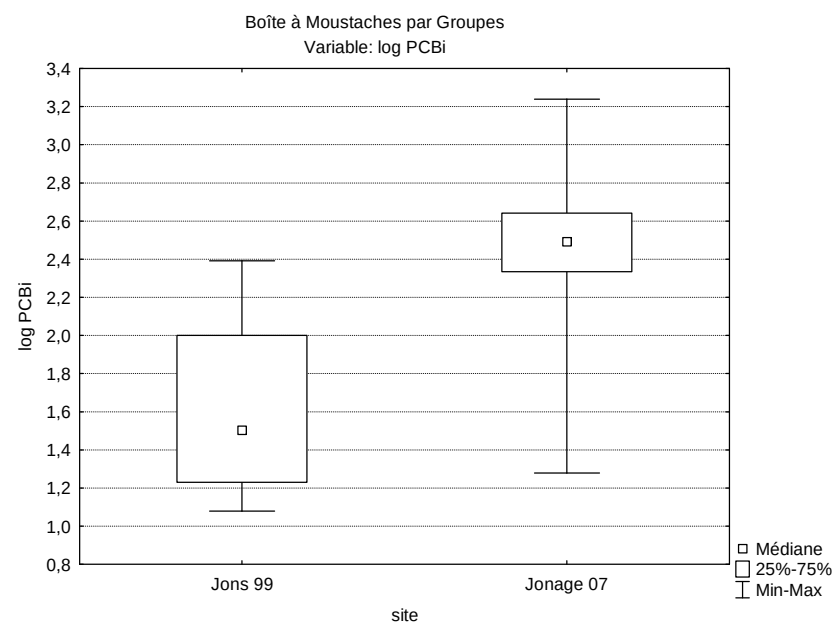


Figure 20 : Contamination en 1999 et 2007 en utilisant les log de PCBi

On trouve, une corrélation significative entre l'âge utilisé et la concentration en PCB (figure 18) pour l'ensemble des brèmes ($p = 0,044$) même si r est faible : 0.399. Toutefois, celle-ci n'est pas significative pour les sites pris un par un (amont $p = 0,172$; Lyon $p = 0,142$; aval $p = 0,361$ et Drôme-Ardèche $p = 0,874$).

Tandis que pour les barbeaux, il n'y a même pas de corrélation sur l'ensemble des sites (figure 19) ($p = 0,439$) ni pour chacun d'entre eux (Lucey $p = 0,524$; St Sorlin - aval TREDI $p = 0,386$; Loyettes $p = 0,225$; Jonage $p = 0,959$ et Drôme-Ardèche $p = 0,244$).

Il paraît donc bien difficile étant donné ces résultats non satisfaisants (graphiques et tests statistiques) de « valider » cette méthode de normalisation par l'âge pour nos deux espèces de poissons et par le fait, les différences mises en évidence dans cette partie, ne peuvent pas être prises en compte.

7.4 Evolution temporelle de la contamination des poissons

7.4.1 Comparaison de l'ensemble des poissons à Jons et Jonage

Nous avons eu la possibilité de comparer les contaminations de 1999 et celle de 2007 au niveau des sites de Jons-1999 ($n = 19$) (espèces : truite, perche, spiralin, blageon, barbeau et chevesne) et Jonage-2007 ($n = 45$) (espèces : silure, brème, hotu, barbeau, perche, brochet, sandre et carpe).

Du fait de la variabilité importante des valeurs des concentrations sur le site de Jonage, nous avons décidé d'utiliser les log de PCB_i. Le test U de Mann-Whitney nous donne une différence très significative : $p < 0,001$ entre les deux dates (figure 20) avec des concentrations plus importantes pour 2007.

Ces résultats doivent faire l'objet d'une grande prudence, étant donné les différences d'espèces inter-sites mais aussi car les points de prélèvements ne sont pas les mêmes.

7.4.2 Comparaison des profils de contamination des barbeaux

A titre indicatif, les profils de contamination de quatre barbeaux pêchés en 1999 et deux en 2007 sont présentés au dos de cette page (figure 21). Les sept congénères représentés sur les axes verticaux sont les PCB_i. On peut voir un profil différent pour le barbeau de 2007 représenté en rouge. Les autres barbeaux ne semblent pas avoir des profils différents les uns des autres.

8 Régimes alimentaires et modèles

8.1 Activité alimentaire et spectre alimentaire

Le nombre de tubes digestifs vides est important notamment en ce qui concerne les brèmes :

- CV (coefficient de vacuité : nombre d'estomacs vides / nombre d'estomacs plein $\times 100$) barbeau = 14,3 %

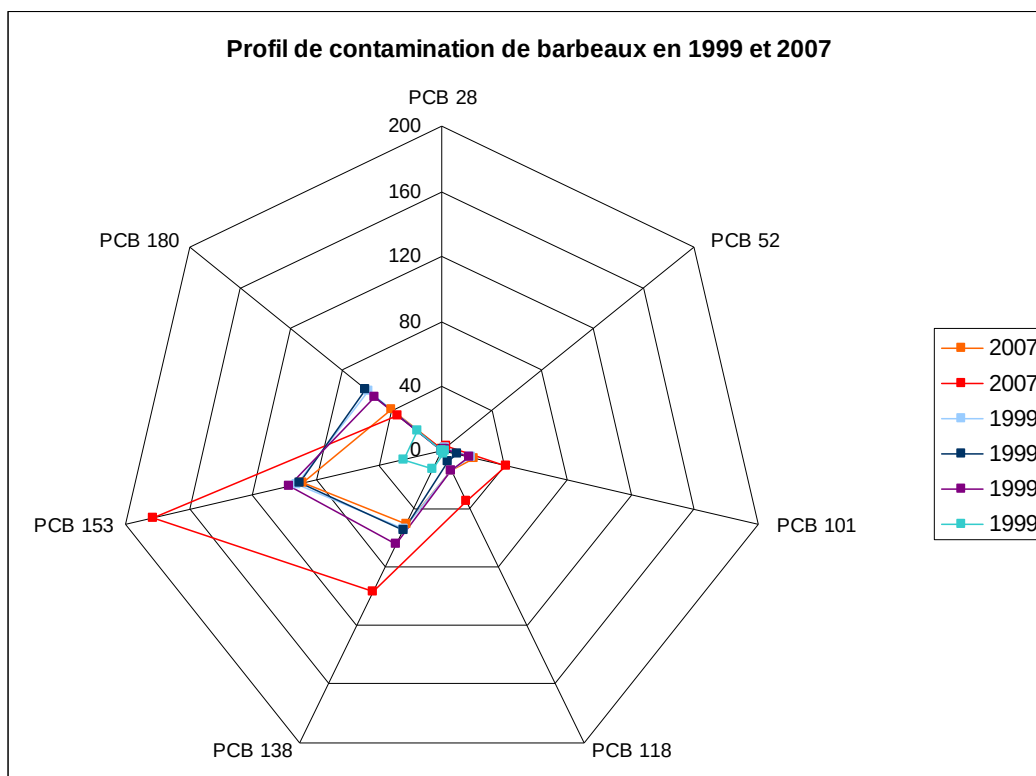


Figure 21 : Comparaison des profils de contaminations entre 1999 et 2007

Tableau XI: Valeurs des fréquences d'occurrence (OC) et des indices numériques (IN) des différentes proies ingérées par la brème et le barbeau.

Taxons	Barbeau		Brèmes	
	% OC	IN %	% OC	IN %
Diptères	71,4	3,6	25	94,4
Ephéméroptères	85,7	15,6	10	0,07
Trichoptères	42,9	6,3	5	0,04
Odonates	28,6	0,8	0	0
Coléoptères	28,6	0,8	0	0
Hétéroptères	14,3	0,1	0	0
Crustacés	71,4	62,9	15	3,9
Mollusques	85,7	9,7	20	0,8
Nématodes	14,3	0,3	40	0,8
Végétaux	28,6	-	15	-

- CV brème = 45 %

De façon à nous aider dans la détermination des espèces d'invertébrés, comme indiqué auparavant dans la partie matériel et méthode, nous avons réalisé des prélèvements de benthos dont les résultats se trouvent en annexe 6.

Signalons d'autre part que du fait des difficultés inhérentes à la détermination et la quantification de la composante végétale des contenus stomacaux, seule la fraction animale est dénombrée dans cette étude.

8.2 Composantes du régime alimentaire : tableau IX

Barbeau

Par leur fréquence numérique (ou abondance relative : c'est la pourcentage d'individus de chaque type d'aliment par rapport au nombre total d'organismes trouvés dans les tubes digestifs) et leur occurrence (ou constance : c'est en pourcentage par rapport à l'échantillon entier, le nombre de poissons dans lesquels un type d'aliment est observé), les larves de Diptères, d'Ephéméroptères, de Trichoptères, les Crustacés et les Mollusques sont les composantes essentielles du régime alimentaire du barbeau. Les Odonates et les Coléoptères sont assez fréquents mais en très petite quantité. Quant aux Hétéroptères et Nématodes, ils ne sont que peu et rarement présents dans le régime alimentaire du barbeau.

Par ailleurs, notons que tous les barbeaux examinés contenaient des Acanthocéphales en quantité variable.

Brème

Seuls les larves de Diptères et les Crustacés (même si ces derniers ne sont pas retrouvés de façon très fréquente), sont les composantes permanentes du régime alimentaire de la brème. Par leur occurrence, les Nématodes sont fréquents dans les tractus digestifs mais pas en quantité d'individus. Mollusques, Trichoptères et Ephéméroptères font partie des composantes occasionnelles du régime alimentaire de la brème.

Partie 4 : Discussion

9 Synthèse bibliographique sur les modèles d'accumulation

L'analyse bibliographique des modèles de bioaccumulation a permis de réaliser une synthèse des différents paramètres utilisés pour la mise en route des modèles. Cette dernière est présente en annexe 7 de ce rapport. Deux grands types de modèles de bioaccumulation dans les réseaux trophiques existent : les modèles cinétiques à compartiments (modèles basés sur la fugacité) et ceux à base physiologiques.

9.1 Modèles cinétiques à compartiments :

L'approche dominante de modélisation en du devenir d'une substance dans un réseau trophique se fait via les modèles à compartiments. Ils peuvent-être une part de l'environnement (lac par exemple), un organisme (poisson dans notre cas) ou une partie spécifique d'un organisme (exemple : estomac). L'entité transportée est le contaminant : les PCB.

Ce type de modèle repose sur l'hypothèse que le/les compartiments tendent vers un état d'équilibre.

Etat d'équilibre

L'approche traditionnelle de partage à l'équilibre évalue la concentration dans le poisson sur la base de celle dans son environnement, utilisant le ratio de la concentration PCB dans l'animal sur celle dans l'eau et/ou la nourriture. Cette méthode suppose un équilibre dans le partitionnement des PCB au sein des compartiments variés (eau et nourriture). Elle fournit des informations sur l'enrichissement des PCB dans l'organisme avec le respect de l'environnement ambiant mais ne permet pas de prendre en compte les conditions physiologiques (Reinfelder *et al*, 1998). Sous ces conditions simplifiées, l'état d'équilibre a été décrit par un facteur de bioconcentration FBC pour des expositions aqueuses :

$$\boxed{\text{FBC} = C_{\text{poisson}} / C_{\text{eau}}}$$

Le FBC représente l'équilibre dynamique entre l'organisme et les sources. Le formalisme du FBC est impraticable quand les concentrations des sources sont inconnues et variables ou encore quand les phases solides, les sédiments et la nourriture contribuent significativement à la capture. Dans tous ces cas, l'accumulation à l'état d'équilibre est référencée à la source nourriture ou sédimentaire, plus qu'à la source aquatique :

$$\boxed{\text{FB (facteur de bioaccumulation)} = C_{\text{poisson}} / C_{\text{nourriture}}}$$

Concernant l'accumulation des PCB par les poissons, c'est cette dernière équation qu'il convient de prendre en compte.

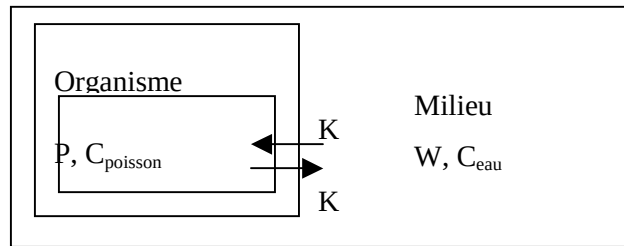


Figure 22 : Schéma conceptuel type d'un modèle de bioaccumulation d'un organisme représenté par un seul compartiment

Modèle à un compartiment

Les modèles cinétiques compartimentaux décrivent les flux des contaminants entre les compartiments. Un compartiment est considéré comme un milieu homogène contenant un composé qui transite à travers ses limites avec un taux d'entrée k_u et un taux d'élimination k_e (Landrum *et al.*, 1992).

Le poisson est le plus souvent représenté par un unique compartiment où l'accumulation et les pertes sont liées à la concentration en contaminant présent dans le milieu, indépendamment de l'état physiologique du poisson. (figure 22). Ainsi, l'équation d'évolution temporelle de la concentration en contaminant est :

$$\frac{dC_{\text{poisson}}}{dt} = k_u C_{\text{eau}} - k_e C_{\text{poisson}}$$

avec : C_{poisson} = concentration en PCB dans l'organisme ($\mu\text{g/g}$), C_{eau} = concentration en PCB dans l'eau ($\mu\text{g/ml}$), k_u = taux d'entrée des PCB via l'eau (h^{-1}), k_e = taux de sortie des PCB via l'eau (h^{-1})

La concentration en contaminant dans l'organisme (C_{poisson}) résulte de la balance nette de la capture de contaminant via l'eau ($k_u C_{\text{eau}}$) et de l'élimination à partir de l'organisme ($k_e C_{\text{poisson}}$). A l'entrée sous forme dissoute peut être ajoutée une entrée du contaminant sous forme particulaire ($k_p C_{\text{nourriture}}$) (avec k_p = taux d'entrée des PCB via les particules, et $C_{\text{nourriture}}$ = concentration en contaminant sur les particules). L'équation temporelle devient donc :

$$\frac{dC_{\text{poisson}}}{dt} = k_u C_{\text{eau}} + k_p C_{\text{nourriture}} - k_e C_{\text{poisson}}$$

Hypothèses d'application :

- La résolution de cette équation différentielle implique un certain nombre d'hypothèses pour être appliquée :
- Le compartiment est supposé homogène au vu de la concentration en PCB et la répartition au sein de l'organisme est instantanée.
- La capture et l'élimination sont le résultat d'un processus passif ; les flux sont proportionnels à la concentration en PCB du milieu environnant.
- La concentration d'exposition est constante et non influencée par la capture au sein de l'organisme.
- Le compartiment récepteur a un volume constant, donc l'organisme ne maigrit pas et ne grandit pas.
- Les taux sont constants par rapport au temps et aux concentrations.

Extension du concept : les modèles cinétiques à plusieurs compartiments

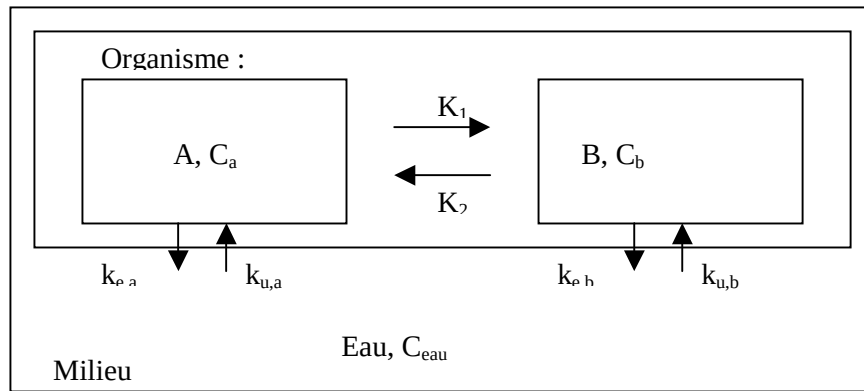


Figure 23: Schéma conceptuel d'un modèle de croissance du poisson à deux compartiments

L'interprétation de l'accumulation de contaminants dans les organismes peut être améliorée en utilisant des modèles à plusieurs compartiments. En effet, les contaminants, sous forme libre ou complexée, accèdent à différents compartiments internes de l'organisme.

Les contaminants dispersés dans l'environnement pénètrent dans un compartiment récepteur au sein duquel ils vont rentrer en contact avec des interphases (liquides biologiques) et membranes de sous-compartiments (organes). Dans le cas hypothétique d'un modèle où le poisson est représenté par deux compartiments, la répartition des PCB dans les différents organes A et B, de poids respectifs α_1 et α_2 peut être simulée. Certains paramètres pourront être négligés, simplifiant ainsi le modèle (figure 23).

$$\begin{aligned} \frac{dC_a}{dt} &= k_{u,a} C_{eau} / \alpha_1 + k_2 C_b / \alpha_1 - (k_1 + k_{e,a}) \cdot C_a \\ \frac{dC_b}{dt} &= k_{u,b} C_{eau} / \alpha_2 + k_1 C_a / \alpha_2 - (k_2 + k_{e,b}) \cdot C_b \end{aligned}$$

avec : $k_{u,a}$ et $k_{u,b}$: taux d'entrée pour chaque compartiment (A et B), $k_{e,a}$ et $k_{e,b}$: taux de sortie pour chaque compartiment, k_1 et k_2 : taux d'échange entre les deux compartiments.

Le degré de complexité peut devenir très important pour suivre et expliquer, par exemple, la dynamique des contaminants au sein de plusieurs organes d'un individu.

9.2 Modèles cinétiques à base physiologique

Les valeurs des paramètres entrant ($\alpha_i + k_i$) dans les modèles à compartiments sont souvent mal connus et la détermination *in situ* est quasi impossible. C'est pourquoi, parallèlement aux modèles à compartiments, une autre stratégie à base physiologique s'est développée. Des expériences menées en laboratoire permettent de donner des représentations approchées des lois biologiques et une évaluation des paramètres nécessaires, permettant ensuite leurs utilisations dans les modèles. Cependant, ces lois sont déterminées pour des temps caractéristiques (jours, mois, saisons) souvent inférieurs à celui du modèle (années) et dans des conditions particulières. La transposition des résultats d'une expérience menée en laboratoire dans des modèles « de terrain » doit donc se faire avec une extrême prudence.

La bioaccumulation est fonction des flux entrants et sortants contenus dans les phases dissoutes et particulaires (Wang *et al*, 1995 et 2000 [35, 36] ; Roditi et Fisher, 1999 [37]; Wang et Fisher, 1999 [38]). Les paramètres cinétiques d'accumulation ont un rôle prédominant dans le processus de bioaccumulation. C'est sur ceux-ci qu'il faut se pencher afin de définir exactement leur signification tant biologique que chimique.

Les modèles cinétiques à base physiologique ont été développés pour évaluer la bioaccumulation des contaminants. En plus de traiter les transferts, ils tiennent compte de la physiologie de l'individu. Ils nécessitent des connaissances sur les efficacités de capture à partir de l'eau et de la

nourriture (efficacité d'absorption et d'assimilation) ainsi que sur les taux de filtration, d'ingestion, de croissance et d'élimination.

Ces modèles sont très flexibles et applicables à des environnements variés. Ils peuvent être utilisés dans l'interprétation de données de surveillance et pour prédire les niveaux de contamination des individus (Roditi et Fisher, 1999[37]). Ce sont les vitesses de ces mécanismes physiologiques qui déterminent la dynamique de la bioaccumulation dans le cas de réseaux trophiques lacustres ou marins (Thomann et Connolly, 1984 [39]; Thomann, 1989 [40]; Connolly, 1991 [41]; Loizeau et Ménesguen, 1993 [42]).

Concept et formulation du modèle

La bioaccumulation des PCB via plusieurs voies (eau et nourriture) indépendantes peut être décrite avec un premier modèle simple (Landrum et al, 1992 [43]; Thomann et al, 1995 [44]; Wang et Fisher, 1999[38]).

$$\frac{dC_p}{dt} = ((\alpha_w FR.C_w) + (EA.IR.C_n)) - ((k_e + g)C_p)$$

Avec : C_p = concentration en PCB dans l'organisme ($\mu\text{g/g}$), C_w = concentration en PCB dans l'eau ($\mu\text{g/ml}$), C_p = concentration en PCB dans la nourriture ($\mu\text{g/g}$), α_w = efficacité d'assimilation via l'eau (u.i), FR = taux de filtration (h^{-1}), EA = efficacité d'assimilation via la nourriture, IR = taux d'ingestion (h^{-1}), k_e = taux d'élimination (h^{-1}) et g = taux de croissance de l'organisme (h^{-1})

Extension possible à différents types de nourriture

Ce modèle peut être complexifié pour prendre en compte différents types de nourriture (k_i) (Norstrom et al, 1976 [45]; Thomann et al, 1995 [44]).

$$\frac{dC_p}{dt} = ((\alpha_w FR.C_w) + (\sum_{j=1}^k EA_j IR_j C_{fj})) - ((k_e + g)C_{ap})$$

Limites d'application

Un inconvénient du modèle cinétique à base physiologique est qu'il exige une évaluation de nombreux paramètres qui sont hautement dépendants des conditions physiologiques des animaux et des conditions environnementales.

De plus, lorsque l'organisme change de volume, par exemple pendant la croissance, sa surface change aussi. Par conséquent, les taux d'entrée et sortie évoluent avec la taille de l'organisme. Le changement de volume a un autre effet sur la concentration dans l'organisme : le contaminant est « dilué » quand l'organisme croît et « concentré » quand il maigrit.

9.3 Modèles cinétiques de réseaux trophiques

L'objectif est d'estimer les concentrations en PCB dans des organismes variés le long de la chaîne trophique à partir des concentrations dans l'eau, la nourriture et/ou les sédiments. Ainsi, une

combinaison entre un modèle cinétique de bioaccumulation (vu ci dessus) et un modèle dynamique trophique (**exemple ci-contre**) est nécessaire (Gobas, 1993 [23]).

La seule différence avec les modèles présentés ci-dessus est le nombre de niveaux trophiques. Ainsi, pour chaque niveau trophique, une équation différentielle est créée, celle-ci dépendant des niveaux trophiques inférieurs et supérieurs.

9.4 Choix du modèle

Dans notre cas, il est important d'apporter une grande prudence au choix du modèle à appliquer à notre site un peu particulier : Le Rhône. En effet, peu d'études concernent la bioaccumulation en rivière. Le plus souvent, les modèles sont mis en place sur des plans d'eau ou des estuaires qui ont une plus grande stabilité dans le temps. C'est pourquoi, les modèles basés sur la fugacité (modèle à compartiments) sont le plus souvent utilisés pour ce type de milieu stagnant.

Cependant, pour notre étude je propose de choisir un modèle de bioaccumulation existant, basé à la fois sur les équilibres chimiques et tenant compte aussi de la physiologie des acteurs de la chaîne alimentaire. Il s'inspirerait de celui développé par General Electric en 1999 pour modéliser l'accumulation des PCB dans les chaînes trophiques du fleuve Hudson [46]. Ce modèle pourra être par la suite appliqué au Rhône.

10 Synthèse des données expérimentales

10.1 Activité enzymatique EROD

L'analyse EROD que nous aurions aimé corrélérer aux résultats d'analyses PCB (ces dernières étant longues et coûteuses) n'a pas « bien » fonctionné sur notre échantillon de poissons (aucune induction d'activité chez les brèmes). Il était donc impossible de mettre en relation les résultats de l'activité EROD chez le barbeau avec seulement les deux concentrations en PCB issues de l'analyse PCB chez deux barbeaux.

Il est difficile de donner une explication à l'absence d'induction de la brème. Quant aux barbeaux, les classes de qualité EROD établies par P. Flammarion [33] nous donnent un indice de bon état du milieu. Ces classes EROD ne sont pas un indicateur spécifique des valeurs de PCB et on ne peut en aucun cas relier cet indice aux valeurs de TEQ toutes supérieures à 8 pg/g (norme européenne) chez nos poissons analysés. L'activité EROD est fonction, non seulement, d'activateurs tels que les PCB mais aussi d'inhibiteurs type métaux lourds. Ce qui correspond donc à une activité globale d'induction.

Il aurait été intéressant de réaliser des analyses PCB sur nos cinq barbeaux restant de façon à essayer de mettre en évidence une corrélation EROD-PCB qui permettrait peut-être, dans un deuxième temps, de ne pas effectuer les analyses PCB (délai d'un mois pour avoir les résultats et

analyses coûteuses) systématiquement. En effet, si une telle corrélation existait, les valeurs de l'activité enzymatique nous permettrait de déduire des concentrations en PCB.

10.2 Chaînes trophiques

Pour établir les régimes alimentaires de nos deux espèces de poissons nous avons rencontré quelques problèmes. Notamment, après récolte des poissons et observation des contenus digestifs, il s'est avéré que neuf brèmes et un barbeau étaient entièrement vides. Cinq autres brèmes avaient le tube digestif presque vide. Ceci peut venir du fait que les pêches ont eu lieu au mois de mai, au moment de la reproduction. Or l'activité reproductrice est liée à une baisse d'activité alimentaire chez les poissons et nous avons constaté que toutes les femelles (vingt six femelles sur vingt sept poissons au total !) portaient de nombreux œufs.

Une autre explication possible est que les contenus digestifs étaient déjà digérés au moment de la dissection. Pour pallier à ce problème il paraît important pour les études à venir d'effectuer les pêches en dehors de la période de reproduction et de ne pas laisser plus de quelques heures les poissons dans les filets.

D'autre part, les oligochètes, étant constitués essentiellement de tissus mous, tout comme une partie de la matière végétale n'ont pas pu être mis en évidence par ce type d'analyse du fait de leur haute digestibilité. C'est pourquoi, les résultats des contenus stomacaux seront complétés par des analyses isotopiques ultérieurement.

10.3 Analyses statistiques

Ce travail a permis une comparaison de la contamination des poissons sur divers sites, dans le temps et en fonction du régime alimentaire. Ceci de façon à mieux appréhender et comprendre la pollution actuelle aux PCB.

Les résultats obtenus indiquent une contamination plus importante pour les omnivores. De plus, on note un problème à l'aval de l'usine TREDI avec une pollution importante sur ce site. Par ailleurs, les profils de contamination ne semblent pas être différents des profils antérieurs (1999) mais présentent des concentrations beaucoup plus élevées en PCB. Cela suppose des rejets « sauvages » et/ou des rejets bien au delà des normes (cette hypothèse semble peu probable étant donné les contrôles effectués tous les jours sur les rejets des usines habilités à retraiter les PCB) ou encore une forte re-suspension récente (< à 10 ans) des sédiments contenant les PCB.

La normalisation des données par l'âge n'est pas applicable en l'état à nos deux espèces et cette méthode doit être abandonnée. Il faut donc, pour pallier au problème des différences de contamination en fonction des âges des poissons, réaliser des examens scalimétriques systématiques. D'autre part, il paraît intéressant dans un travail futur de réaliser le même type de

normalisation mais cette fois-ci par le poids (ce qui n'a pas pu être fait dans ce rapport par manque de temps).

Conclusion

L'étude générale de la pollution par les PCB suppose une compréhension des mécanismes de transfert des PCB dans les chaînes alimentaires. Pour cela les modes alimentaires de la brème et du barbeau ont pu être décrits, même si l'analyse des contenus stomacaux s'est révélée un peu décevante. Ces résultats vont être complétés par des analyses isotopiques ce qui devrait permettre d'établir les chaînes trophiques de nos deux espèces cibles.

L'étude de la pollution du Rhône, par l'intermédiaire de la modélisation aiderait à mieux comprendre le processus général de contamination par les PCB qui requiert une connaissance la plus exhaustive possible du milieu, des flux, de la transmission sédiment-invertébrés... Cela représente un travail de plusieurs années toutefois indispensable pour apporter des réponses concernant cette « nouvelle » pollution. J'ai proposé, pour initier ce travail, un modèle numérique de bioaccumulation déjà existant et appliqué au fleuve Hudson (Etats-Unis), dont certains paramètres sont présents dans la bibliographie réalisée pour ce rapport et dans les résultats d'analyses PCB. Il reste cependant de nombreux paramètres notamment physiologiques (renseignés par la littérature le plus souvent) et physiques (exemple : température du Rhône) à se procurer avant de mettre en place la modélisation de la bioaccumulation.

Ce travail a aussi permis d'apporter des éléments de réponses quant à l'importance de la contamination du Rhône par les PCB et la localisation de sites « sensibles », comme par exemple l'aval de l'usine TREDI.

Mon stage s'est donc inscrit dans un cadre beaucoup plus large et apporte quelques éléments de réponse sur la contamination et des connaissances supplémentaires (régimes alimentaires et modèle) pour mettre en place ce grand projet de modélisation générale de la pollution du Rhône par les PCB.

Références bibliographiques

1. Bernes, C., *Persistent organic pollutants*. 1998: Monitor 16. Swedish Environmental Protection Agency.
2. Ballschmiter, K. and M. Zell, *Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography - Composition of technical aroclor- and Clophen-PCB mixtures*. Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie, 1980. **302**(1): p. 20.
3. Mackay, D., *Solubility, partition coefficients, volatility and evaporation rates*. The handbook of environmental chemistry. Volume 2, part A. Reactions and processes, 1980: p. 31.
4. Tanabe, S. and R. Tatsukawa, *Distribution, behavior and load of PCBs in the ocean*, in *PCBs and the Environment*, J.S. Waid, Editor. 1986, CRC Press: Boca Raton, Florida. p. 143-161.
5. Wolff, M.S., *Occupational exposure to polychlorinated biphenyls (PCB)*. Environmental Health Perspectives, 1985. **60**: p. 133-138.
6. ATSDR. *Toxicological Profiles for PCB*. department of health and human services 2000 [cited.
7. Safe, S., *Polychlorinated biphenyls (PCBs): Mutagenicity and carcinogenicity*. Mutation Research, 1989. **220**(1): p. 31.
8. Amaro, A.R., et al., *Metabolic activation of PCBs to quinones: Reactivity toward nitrogen and sulfur nucleophiles and influence of superoxide dismutase*. Chemical Research in Toxicology, 1996. **9**(3): p. 623.
9. Oakley, G.G., L.W. Robertson, and R.C. Gupta, *Analysis of polychlorinated biphenyl-DNA adducts by 32P-postlabeling*. Carcinogenesis, 1996. **17**(1): p. 109.

10. McLean, M.R., L.W. Robertson, and R.C. Gupta, *Detection of PCB adducts by the 32P-postlabeling technique*. Chemical Research in Toxicology, 1996. **9**(1): p. 165.
11. Oakley, G.G., et al., *Oxidative dna damage induced by activation of polychlorinated biphenyls (pcbs): Implications for pcb-induced oxidative stress in breast cancer*. Chemical Research in Toxicology, 1996. **9**(8): p. 1285.
12. Baars, A.J., et al., *re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels*. RIVM, Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu. report 711701 025. 2001.
13. Millischer, R.-J., *Les PCB et leurs produits de décomposition thermique: peut-on évaluer un seuil de toxicité?* Revue generale de l'electricite, 1987(8): p. 23-37.
14. Canada, *Environnement Canada. Loi sur les contaminants de l'environnement*. 1985.
15. Safe, S., *Toxicology, structure-function relationship, and human and environmental health impacts of polychlorinated biphenyls: Progress and problems*. Environmental Health Perspectives, 1993. **100**: p. 259.
16. Safe, S.H., *Polychlorinated biphenyls (PCBs): Environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment*. Critical Reviews in Toxicology, 1994. **24**(2): p. 87.
17. Connor, K., et al., *Structure-dependent induction of CYB2b by polychlorinated biphenyl congeners in female Sprague-Dawley rats*. Biochemical Pharmacology, 1995. **50**(11): p. 1913-1920.
18. Waxman, D.J., *P450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: Central role of nuclear receptors CAR, PXR, and PPAR*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1999. **369**(1): p. 11.
19. Giesy, J.P. and K. Kannan, *Dioxin-like and non-dioxin-like toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs): Implications for risk assessment*. Critical Reviews in Toxicology, 1998. **28**(6): p. 511.
20. Ahlborg, U.G., et al., *Toxic Equivalency Factors For Dioxin-Like Pcb's - Report On A Who-Eceh And Ips Consultation, December 1993*. Chemosphere, 1994. **28**(6): p. 1049-1067.
21. Schuetz, E.G., C. Brimer, and J.D. Schuetz, *Environmental xenobiotics and the antihormones cyproterone acetate and spironolactone use the nuclear hormone pregnenolone X receptor to activate the CYP3A23 hormone response element*. Molecular Pharmacology, 1998. **54**(6): p. 1113.
22. Norstrom, R. and R. Letcher. *Role of biotransformation in bioconcentration and bioaccumulation*. in *Biotransformation in environmental risk assessment*. 1996. Leeuwenhorst Conference Center, Noordwijkerhout, Netherlands.
23. Gobas, F., *A Model For Predicting The Bioaccumulation Of Hydrophobic Organic-Chemicals In Aquatic Food-Webs - Application To Lake-Ontario*. Ecological Modelling, 1993. **69**(1-2): p. 1-17.
24. Campfens, J. and D. MacKay, *Fugacity-based model of PCB bioaccumulation in complex aquatic food webs*. Environmental Science & Technology, 1997. **31**(2): p. 577-583.
25. Adamek, Z. and P. Obrdlík, *Food of important cyprinid species in the warmed barb-zone of the oslava river*. folia zoologica, 1977. **26**(2): p. 171-182.
26. Kraiem, M.M., *Structure et fonctionnement des écosystèmes du Haut-Rhône Français. Contribution à l'étude du régime alimentaire de Barbus barbus (L. 1758) (Poissons, Cyprinidae)*. Bulletin Français de Pisciculture, 1980. **278**: p. 1-10.
27. Lobon-Cervia, J. and Alejandro., *Feeding strategy of the barbel (Barbus bocagei Steind.) with relation to benthos composition*. Archiv fur Hydrobiologie, 1988. **114**(1): p. 83-95.
28. Cherghou, S., et al., *Contribution to study a barbel (Barbus barbus callensis Valenciennes, 1842) diet in Morroccain Medium-Atlas stream: Oued Boufekrane*. Contribution a? l'e?tude du re?gime alimentaire du barbeau (Barbus barbus callensis Valenciennes, 1842) d'un cours d'eau du Moyen-Atlas (Maroc): Oued Boufekrane, 2002. **15**(1): p. 153.
29. Billard, R., *Les poissons d'eau douce des rivières de France. Identification, inventaire et répartition des 83 espèces*, ed. d.e. niestlé. 1997. 192.
30. Benson, W.H. and R.T. Di Giulio, *biomarkers in hazard assessment of contaminated sediments*, in *sediment toxicity assessment*, G.A. Burton, Editor. 1992, Lewis: Boca Raton. p. 241-265.
31. Huggett, R.J., et al., *biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. 1992, Boca Raton: Lewis.
32. Lagadic, L., T. Caquet, and J.C. Amiard, *biomarqueurs en écotoxicologie: principes et définitions*, in *biomarqueurs en écotoxicologie, aspects fondamentaux*, L. Lagadic, et al., Editors. 1997, Masson: Paris. p. 1-9.
33. Flammarion, P., *Mesure in situ de l'induction du cytochrome P450 1A chez les cyprinidés d'eau douce. Optimisation de l'interprétation*. Th Doctorat, in UFR Sciences Fondamentales et Appliquées. 1997, Université de Metz. p. 107.

34. CE, *Règlement (CE) n° 199/2006 modifiant le règlement (CE) n° 466/2001 portant fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, en ce qui concerne les dioxines et les PCB de type dioxine*. 2006, Journal officiel de l'Union européenne. p. 32/34 - 32/38.
35. Wang, W.X., N.S. Fisher, and S.N. Luoma, *Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of algal food abundance*. Marine Ecology-Progress Series, 1995. **129**(1-3): p. 165-176.
36. Wang, W.X., et al., *Modeling radiocesium bioaccumulation in a marine food chain*. Marine Ecology-Progress Series, 2000. **208**: p. 41-50.
37. Roditi, H.A. and N.S. Fisher, *Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels*. Limnology And Oceanography, 1999. **44**(7): p. 1730-1749.
38. Wang, W.X. and N.S. Fisher, *Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates*. Science Of The Total Environment, 1999. **238**: p. 459-472.
39. Thomann, R.V. and J.P. Connolly, *Model of PCB in the Lake Michigan Lake Trout food chain*. Environmental Science and Technology, 1984. **18**(2): p. 65.
40. Thomann, R.V., *Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains*. ESandT Contents, 1989. **23**(6): p. 699.
41. Connolly, J.P., *Application Of A Food-Chain Model To Polychlorinated Biphenyl Contamination Of The Lobster And Winter Flounder Food-Chains In New-Bedford Harbor*. Environmental Science & Technology, 1991. **25**(4): p. 760-770.
42. Loizeau, V. and A. Menesguen, *A Steady-State Model Of Pcb Accumulation In Dab Food-Web*. Oceanologica Acta, 1993. **16**(5-6): p. 633-640.
43. Landrum, P.F., H. Lee, and M.J. Lydy, *Toxicokinetics In Aquatic Systems - Model Comparisons And Use In Hazard Assessment*. Environmental Toxicology And Chemistry, 1992. **11**(12): p. 1709-1725.
44. Thomann, R.V., J.D. Mahony, and R. Mueller, *Steady-State Model Of Biota Sediment Accumulation Factor For Metals In 2 Marine Bivalves*. Environmental Toxicology And Chemistry, 1995. **14**(11): p. 1989-1998.
45. Norstrom, R.J., A.E. McKinnon, and A.S.W. DeFreitas, *A bioenergetics based model for pollutant accumulation by fish. Simulation of PCB and methylmercury residue levels in Ottawa River yellow perch (*Perca flavescens*)*. J.FISH.RES.BOARD CANADA, 1976. **33**(2): p. 248.
46. *PCBs in the Upper Hudson River - Volume 2: A Model of PCB Fate, Transport, and Bioaccumulation*, General Electric: Albany, NY. p. 285.
47. Machala, M., et al., *Monooxygenase activities in carp as biochemical markers of pollution by polycyclic and polyhalogenated aromatic hydrocarbons: Choice of substrates and effects of temperature, gender and capture stress*. Aquatic Toxicology, 1997. **37**(2-3): p. 113.
48. Monod, G., A. Devaux, and J.L. Riviere, *Effects of chemical pollution on the activities of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in fish from the River Rhone*. Science of the Total Environment, 1988. **73**(3): p. 189.
49. Stegeman, J.J., F.Y. Teng, and E.A. Snowberger, *Induced cytochrome P450 in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) from coastal Massachusetts evaluated by catalytic assay and monoclonal antibody probes*. Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences, 1987. **44**: p. 1270-1277.
50. Goksoyr, A. and L. Forlin, *The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring*. Aquatic Toxicology, 1992. **22**(4): p. 287.
51. Lowry, O.H., et al., *Protein measurement with the Folin phenolreagent*. Journal of Biological Chemistry, 1951. **193**.

Annexe 1 : Examen des écailles par scalimétrie

Préparation des échantillons

Avant lecture, un nettoyage des écailles est nécessaire pour les débarrasser du mucus et de l'épiderme pigmenté qui les recouvrent en partie.

Pour la présente étude, l'adaptation de ces différentes méthodes a abouti au protocole suivant :

- bain de potasse 10 % pendant 30 min sous légère agitation
- rinçage à l'eau courante froide
- séchage à température ambiante

Lecture

Les écailles des poissons ont été examinées au moyen d'un lecteur de microfiche.

Notons que lorsque nous étions en présence d'écailles de remplacement nous les avons automatiquement mis de côté et remplacées. En effet, ces écailles sont difficilement exploitables car remplaçant celles perdues au cours de la vie du poisson, elles ne portent pas tout l'historique de croissance de l'animal.

De manière caractéristique un annulus hivernal se présente comme une zone sombre de resserrement des circuli accompagnée sur le bord externe, d'un anneau irrégulier où se recoupent des circuli (cutting over). L'annulus est suivi de circuli largement espacés illustrant la soudaine reprise de la croissance au printemps. Les poissons ne présentent cependant pas tous des écailles facilement interprétables car d'une part les annuli hivernaux peuvent être peu marqués (cas particulier du 1^{er} annulus) et d'autre part la présence de faux annuli peut biaiser la lecture

La prise en compte ou non d'un annulus douteux entraîne un risque de sur- ou sous-estimation de l'âge du poisson. Il est donc important que le résultat soit accompagné par le sens d'une éventuelle incertitude de lecture. Le moindre doute sur l'estimation de l'âge a donc été codé pour chaque poisson par le signe “ + ” en cas de risque de surestimation par le signe “ - ” pour une sous estimation possible. Si l'écaille ne pose pas de problème particulier l'incertitude a été codée 0. Le signe “ + - ” signifie un doute sur un annulus pris en compte et un autre doute sur un autre non pris en compte. A noter que la littérature ne présente pas d'exemple de résultat accompagné de l'incertitude.

Annexe 2 : Mesure de l'activité EROD

Principe de l'induction de l'activité EROD

Suite à une contamination du milieu aquatique, les polluants peuvent pénétrer à l'intérieur des poissons et y être distribués avant de s'accumuler au niveau de différents tissus et/ou exercer leur toxicité sur l'organe cible (par exemple le foie). Ensuite, des systèmes biochimiques de défense peuvent transformer ces polluants. Les enzymes clefs dans cette biotransformation sont des enzymes monooxygénases à cytochromes P450, capables d'augmenter la solubilité des polluants qui sont ensuite excrétés dans l'urine, la bile ou les fèces. On désigne par « induction » cette synthèse de protéines P450 par le foie. Or ces protéines sont des enzymes dont on peut suivre l'activité enzymatique par la méthode EROD qui est la plus sensible (Machala *et al.*, 1997 [47]; Monod *et al.*, 1988 [48]; Stegeman *et al.*, 1987[49]).

Facteurs de variabilité

L'activité des cytochromes P450 dépend de l'exposition aux polluants mais est aussi soumise à l'influence de nombreux autres facteurs (espèce, âge, sexe, maturation sexuelle, régime alimentaire, agents antagonistes, température) (Goksoyr *et al.*, 1992 [50]) dont il faut connaître avec précision les influences afin d'interpréter correctement les niveaux du biomarqueur EROD mesuré sur des poissons prélevés dans le milieu.

Les effets de l'espèce et de la maturité sexuelle des femelles apparaissent prépondérants par rapport aux effets de la température et de l'alimentation.

Méthode d'analyse enzymatique et traitement des résultats

- Principe et méthode de dosage

Le dosage de l'activité EROD et un dosage de protéines sont effectués sur le surnageant de l'homogénat de foie après centrifugation à 9000g.

Ce dosage repose sur la détection de la fluorescence de la résorufine, produit de transformation de la 7-éthoxyrésorufine par activité enzymatique d'un CYP 450 (figure ci contre). L'activité EROD est donc la quantité de résorufine formée par unité de temps, rapportée à la quantité de protéines de l'échantillon. Elle est exprimée généralement en pmol/min/mg de protéines.

Préalablement aux analyses, la série d'échantillons est décongelée en bain de glace puis centrifugée. Les S9 (surnageants) sont ensuite prélevés et maintenus au frais dans des tubes eppendorf jusqu'aux dosages qui doivent être effectués dans l'heure pour l'activité EROD et dans la journée pour les protéines.

Comme expliqué ci-dessus, le dosage de l'activité EROD met en présence le S9 de l'échantillon et le substrat : éthoxyrésorufine. La réaction est ensuite déclenchée par l'ajout d'un catalyseur : le co-enzyme NADPH.

L'émission de fluorescence est mesurée à 590 nm au moyen d'un fluorimètre, on utilise pour une lecture plus rapide, des microplaques.

Le protocole est normalisé à l'AFNOR (NF T 90-385) depuis 2001.

Le dosage des protéines s'effectue au moyen d'une méthode colorimétrique, dans notre cas nous avons utilisé la méthode de Lowry (Lowry *et al.*, 1951 [51]).

- Interprétation des résultats

Avant de conclure à l'induction ou non d'activité enzymatique par les PCB, il faut garder à l'esprit que les phénomènes d'induction et/ou d'inhibition se cumulent. Ainsi, en cas, par exemple, de forte activation enzymatique, on peut penser que d'autres molécules (type HAP, pesticides...) s'ajoutent à l'induction par les PCB. De même, en cas de non activation, on peut imaginer que des inhibiteurs, type métaux lourds, peuvent être présents dans le milieu et ainsi « fausser » nos conclusions d'absence de PCB dans nos poissons.

Les résultats obtenus sont donc à analyser avec beaucoup de précautions. Ils permettent d'orienter nos conclusions mais il faut cependant vérifier ces dernières par d'autres méthodes de mesures. Dans notre cas, nous avons procédé à des analyses PCB chez 5 poissons.

Annexe 3 : Analyse des PCB indicateurs

La norme EN 15028-1 à 4 sur la base de laquelle le laboratoire CARSO est accrédité permet l'analyse de tous ces contaminants. Cependant, ce dernier, a pris l'option d'analyser séparément les PCB "indicateurs" sur une aliquote de la matière grasse ou de l'extrait.

Ainsi les PCB "indicateurs" peuvent être analysés sur le même extrait que les pesticides comme il est décrit dans la norme soit séparément.

L'analyse séparée des PCB "indicateurs" comme pour les PCB "type-dioxine" est considérablement améliorée par l'utilisation de la spectrométrie de masse haute résolution couplée à la chromatographie gazeuse haute résolution (HRGC/HRMS). Les bénéfices sont une meilleure sélectivité, une meilleure quantification grâce à l'utilisation de l'étalonnage interne par la méthode de dilution isotopique et une meilleure sensibilité.

En outre les pesticides et les PCB ont des propriétés physico-chimiques différentes pour beaucoup de paramètres et notamment la stabilité en milieu très acide. En conséquence les lipides peuvent être facilement oxydés par une sulfonation pour leur élimination de l'extrait dans la procédure analytique des PCB alors que pour les pesticides il faut avoir recours à d'autres méthodes dont une des caractéristiques est l'obligation de limiter la masse de lipides. Avec une prise d'essai plus importante de lipides et la mesure par HRGC/HRMS une meilleure sensibilité est atteinte et le nombre d'interférences est minimisé.

Il est aussi notable que le CB 118 est commun aux deux listes PCB "type-dioxine" et PCB "indicateurs". Il est donc logique de quantifier le CB 118 avec la même méthode que les PCB "type-dioxine" à savoir la fraction des mono ortho PCB. Il est donc clair que l'analyse des PCB indicateurs du lot 4 et des PCB "type-dioxine" du lot 5 est préférable.

En conséquence les PCB "indicateurs" sont analysés séparément des pesticides sur une aliquote de la matière grasse ou de l'extrait.

Le laboratoire CARSO est accrédité pour l'analyse des pesticides et des PCB sur la base de la norme EN 15028-1 à 4 mais il est également accrédité pour l'analyse des PCB "indicateurs" et des PCB "type-dioxine" sur la base de la méthode interne MET-038 dont l'origine est la méthode US.EPA 1668.

Résumé de la méthode pour les PCB "indicateurs" dans les poissons et autres tissus

- Analyse Qualitative

Après homogénéisation de l'échantillon par lyophilisation et mélange, une prise d'essai d'environ 20 à 50 grammes du lyophilisat est prélevée puis mélangée avec du sulfate de sodium anhydre et extrait pendant au moins 12 heures avec un mélange de toluène : cyclohexane dans un extracteur de Soxhlet.

Le choix du mélange des 2 solvants a été validé. Il permet d'obtenir l'ensemble des contaminants pesticides, PCB, dioxines et PBDE (Polybromodiphenyl ethers) et des lipides.

L'extrait est alors concentré et le résidu mis à l'étuve pour obtenir la quantité de lipides par pesage.

A ce stade une partie aliquote des lipides ou de l'extrait est prélevée, dissoute dans l'hexane et sulfonée.

A ce stade de l'analyse deux options sont possibles.

- o Dans le cas où seuls les PCB « indicateurs » sont analysés, une purification sur silice et alumine est suffisante pour obtenir un extrait concentré à 50-100µL qui est ensuite analysé par HRGC/HRMS.
- o Dans le cas où les PCB "type-dioxine" et les PCB "indicateurs" sont analysés l'extrait est purifié sur silice et sur Florisil. Ce réactif permet la séparation des PCB et des dioxines notamment. La fraction contenant tous les PCB est fractionnée sur charbon actif en PCB di-ortho, mono-ortho et non-ortho.

Chaque fraction de PCB est ensuite mesurée par HRGC/HRMS en mode impact d'électrons – scrutation d'ions spécifiques.

- Analyse Quantitative

- o Pour obtenir la quantification le système HRGC/HRMS est étalonné avec un minimum de 4 solutions (en général 5) et les concentrations de tous les congénères sont déterminées par la méthode de dilution isotopique.
- o Les taux de récupération sont déterminés par la méthode d'étalon interne.
- o L'échantillon ou la prise d'essai de matière grasse est dopé avec une solution d'étalons internes de quantifications contenant tous les homologues $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB de tous les PCB "indicateurs".
- o Avant injection dans le système HRGC/HRMS l'extrait purifié est repris avec une solution d'étalons internes $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB. Ces étalons au nombre de 3 permettent de calculer les taux de réapparition des étalons internes de quantification.
- o La qualité de l'analyse est assurée au travers de la reproductibilité de l'étalonnage et des essais de contrôle des différentes étapes : extraction, purification et mesure par HRGC/HRMS

- Détermination des LoD et LoQ

Les limites de détection et les limites de quantification ont été mesurées sur la base de blancs de procédure d'après l'article paru en 1980 pour le compte de l'American Chemical Society. ("Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry" Anal.Chem.,1980,52,2242-2249).

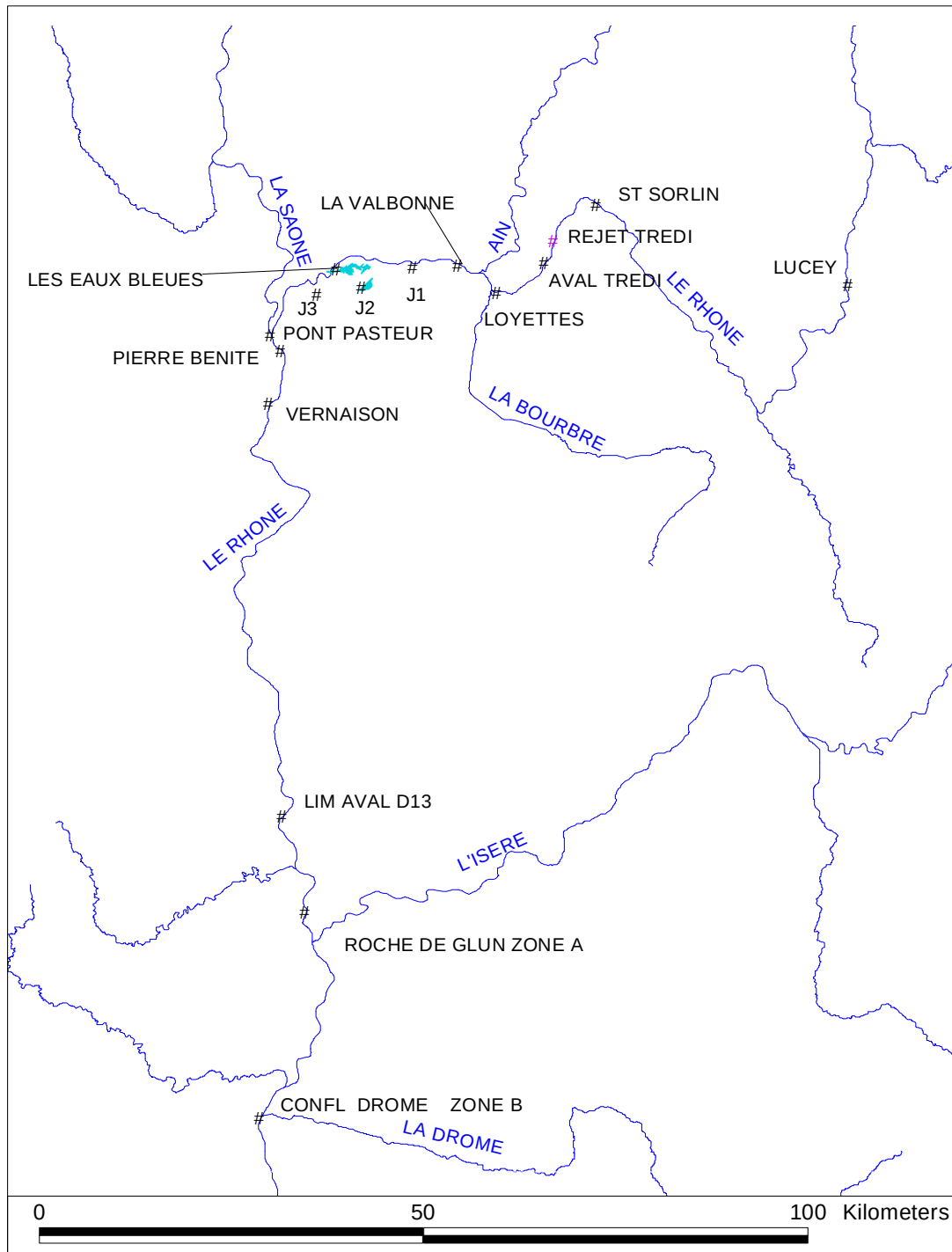
Résultats en pg/g par g de produit frais				
			LOD	LOQ
	moyenne (*)	EC (*)	moyenne + 3*EC	moyenne + 10*EC
PCB-28	2,6	0,7	4,8	9,8
PCB-52	3,1	1,2	6,9	15,6
PCB-101	2	1,4	6,2	16
PCB-138	1,3	1	4,4	11,6
PCB-153	1,9	1,7	7,1	19,3
PCB-180	1,1	1,3	5,1	14,5
Somme des PCB ind	13,2	5	28,2	63,2

(*) : la moyenne et l'écart-type ont été calculés à partir de blancs de procédure réalisés en 2004 et 2005 selon le protocole des poissons et en parallèle de poissons.

Annexe 4 : Tableau de synthèse des brèmes et barbeaux pêchés

espèce	n°	station	date pêche	longueur fourche (mm)	poids (g)	sexe	âge (scalimétrie objectif : 25 mm)	observations
barbeau fluviatile	1	camp De La Valbonne	16/05/2007	448	1110	F	7+ (1-)	
barbeau fluviatile	2	camp De La Valbonne	16/05/2007	440	950	F	5+ (1-)	
barbeau fluviatile	3	Grand Large	24/05/2007	560	2324	F	8+ (1+ 1-)	mort depuis moins de 15 min
barbeau fluviatile	4	Grand Large	24/05/2007	570	2320	F	8+ (1+)	
barbeau fluviatile	5	Grand Large	24/05/2007	540	1998	F	7+ (1+ 1-)	écailles pas nettes
barbeau fluviatile	6	Grand Large	24/05/2007	575	2206	F	8+ (0)	
barbeau fluviatile	7	Grand Large	24/05/2007	640	2964	F	8+ (0)	
brème commune	1	Grand Large	24/05/2007	530	2276	F	9+ (1+)	
brème commune	2	Grand Large	24/05/2007	560	2858	F	11+ (1+)	
brème commune	3	Grand Large	24/05/2007	540	2554	F	9+ (0)	
brème commune	4	Grand Large	24/05/2007	540	2482	F	12+ (1+)	
brème commune	5	Grand Large	24/05/2007	530	2514	F	7+ (1-)	
brème commune	6	Grand Large	24/05/2007	560	2436	F	11+ (1+ 1-)	petites hemorrhagies cutanées
brème commune	7	Grand Large	24/05/2007	610	3920	F	9+ (0)	
brème commune	8	Grand Large	24/05/2007	570	3600	F	10+ (1+)	
brème commune	9	Grand Large	24/05/2007	570	2696	F	10+ (0)	
brème commune	10	Grand Large	24/05/2007	600	3910	F	10+ (1-)	
brème commune	11	Grand Large	24/05/2007	540	2812	F	11+ (1+)	
brème commune	12	Grand Large	24/05/2007	620	4290	F	10+ (1-)	
brème commune	13	Grand Large	24/05/2007	530	2398	F	11+ (1+)	
brème commune	14	Grand Large	24/05/2007	560	2848	M	10+ (1+)	boutons de noce
brème commune	15	Grand Large	24/05/2007	620	3738	F	8+ (0)	blessé à la queue
brème commune	16	Grand Large	24/05/2007	620	3442	F	13+ (1+)	
brème commune	17	Grand Large	24/05/2007	590	3350	F	10+ (1+ 1-)	écailles pas nettes
brème commune	18	Grand Large	24/05/2007	600	3472	F	10+ (1-)	
brème commune	19	Grand Large	24/05/2007	600	3488	F	10+ (1+)	
brème commune	20	Grand Large	24/05/2007	610	3498	F	9+ (1-)	mort (pas d'analyse EROD)

ANNEXE 5 : CARTE GENERALE DES SITES ETUDIES (A. CHANDESRIIS, CEMAGREF)



Annexe 6 : Invertébrés présents dans le benthos.

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre / espèce	Sites de prélèvements						
					Pont Jons	Canal SA amont	Pont Jonage	Canal SA aval STEP	Canal GL rive dte	GL Plage	GL aval plage
Arthropode	Insectes	Plécoptères	Leuctridae	Leuctra		2		1			
		Trichoptères	Hydropsycidae	Hydropsyche		24	9				
				Cheumatopsyche lepida			2				
			Polycentropodidae	Cyrnus trimaculatus					8		
			Psychomyiidae	Tinodes					8		
				Lype					6		
			Hydroptilidae	Hydroptilidae				2	9		
			Limnephilidae	Limnephilidae				1	17		
			Leptoceridae	Ceraclea		2	1				
				Mystacides					61		
		Ephéméroptères	Beatidae	Beatidae nd	8				1	3	5
				Baetis		3					
				Baetis fuscatus		1	5		9		
				Proclonia bifidum					1		
				Centroptilum luteolum	3						
			Heptageneidae	Heptageneidae nd	1						
				Electrogena		1					
				Heptagenia	1						
			Ephemerellidae	Serratella	1	7	15	1	3		
			Caenidae	Caenis			1	1	2	16	10
			Ephemeridae	Ephemera danica	2				1		
			Potamanthidae	Potamanthus luteus	13				13		
		Coléoptères	Haliplidae	Halipilus					2		
			Dytiscidae	Dytiscidae	5				6		1
			Elmidae	Elmidae nd	1						
				Elmis			2		1		
				Esolus	13	12	2	1	10		
				Limnius	1						
				Macronychus quadrituberculatus	1						
				Oulimnius	6		1	1			
				Riolus	1		1		2		
				Stenelmis	1		1				

Arthropode	Insectes	Odonates	Calopterygidae	Calopteryx	1		9	2	1		
			Platycnemidae	Platycnemis			2		17		
			Coenagrionidae	Coenagrionidae	2		5	4	7		5
		Hétéroptères	Corixidae		1					1040	
			Micronectinae	Micronecta	61				11	27	28
		Mégaloptères	Sialidae	Sialis					8		
		Lépidoptères									5
		Diptères	Chironomidae	Tanypodinae	28		5	3	96	88	82
				Diamesinae	7		4	1			
				Orthocladinae	18	35	91	4	242	271	369
				Chironomini	89	15	182	36	291	705	317
				Tanytarsini	56	37	40	4	70	48	84
			Simuliidae			3					
			Ceratopogonidae		6					2	
	Arachnides	Hydracariens			1	1				14	
	Crustacés	Décapodes		Orconectes limosus	5				8	2	3
		Crustacés	Asellidae	Asellus aquaticus		1			11		8
			Gammaridae	Gammaridae	1096	4315	5825	8683	1485	9	44
			Argulus	Argulus							1
		Microcrustacés	Daphnie	Daphnie	+				+		+
Mollusque	Gastéropodes	Prosobranches	Viviparidae	Viviparus viviparus							6
			Neritidae	Theodoxus fluviatilis	2	4	1		6		
			Valvatidae	Valvata piscinalis	1				6		2
			Hydrobiidae	Potamopyrgus antipodarum	1831		24	6	146	4	33
				Bithynia tentaculata			1		5		8
		Pulmonés	Physidae	Physella acuta	86		5		965	5	115
			Lymnaeidae	Galba truncatula	22						
				Radix auricularia	43				39	2	8
			Planorbidae	Gyraulus albus			1				
				Gyraulus laevis					1	7	52
				Hippeutis complanatus					1		1
				Menetus dilatatus	5				7		4
				Ancylus fluviatilis					9		
			Ancylidae	Ferrissia clessiniana	2				4	5	23
			Acroloxidae	Acroloxus lacustris					13		

Annexe 7 : paramètres utilisés dans les modèles de bioaccumulation

Types de paramètres	Paramètres	Nfon, 2006	Loizeau, 2001	Thomann, 1984	Arnot et Gobas, 2004	Gobas, 1992	Morrison, 1997	Connolly, 1991	Morrison, 2001
Propriétés physico-chimiques des PCB utilisées dans les modèles	Poids moléculaire	x							
	Kow: coef de partition octanol-eau	x	x		x	x		x	x
	Koa : coef de partition octanol-air	x							
	Kbw : coef de partition biote-eau				x				
	Kpw : coef de partition phytol-eau				x				
	Kgb : coef de partition intestin-biote				x				
	Koc : coef de partition carbone organique-eau				x				
	Proportionalité matière organique non lipidique-octanol				x				
	H : constante de Henry	x							
	Energie interne de transfert octanol-eau	x							
	Energie interne de transfert octanol-air	x							
	Energie interne de transfert air-eau	x							
Paramètres environnementaux	Température moyenne annuelle de l'eau	x	x	x	x	x	x		x
	Oxygène dissous				x		x	x	x
	Concentration de matière particulaire en suspension	x			x		x		x
	Carbone organique contenu dans la matière en suspension	x			x		x		x
	Carbone organique contenu dans le sédiment	x			x	x			x
	Concentration de carbone organique dissous				x	x	x		x
	Fraction volumétrique des particules sédimentaires	x							
	Densité de "biote aquatique"						x		
	Densité de plancton						x		
	Densité de sédiment						x		
	Densité de lipides dans le sédiment					x	x		
	Densité de carbone organique					x			
	Densité particulaire dans la colonne d'eau	x							
	Concentrations des PCB dans l'eau	x			x	x			x
	Concentrations des PCB dissous dans l'eau			x	x			x	
	Concentrations des PCB dans le sédiment	x			x	x			x

Paramètres biologiques	Masse des organismes	x	x	x	x	x	x	x	x
	Fraction lipidique	x	x		x	x	x		x
	Teneurs en matière organique		x		x				
	Taux d'alimentation en pourcent de corps par jour	x							
	Taux de croissance en pourcent de volume par jour	x	x	x			x	x	
	Taux de respiration		x	x			x	x	
	Fraction de la peau en contact avec l'eau	x							
	Fraction de la peau en contact avec le sédiment (invertébrés benthiques)	x			x				
	Taux de prise via l'alimentation		x	x	x		x	x	
	Taux d'excrétion		x	x					
	Facteur de biomagnification maximum	x							
	Taux de prise via les ouies	x		x	x			x	
	Taux de ventilation par les ouies			x	x		x	x	
	Efficience du transfert chimique via le tractus intestinal		x	x	x		x	x	x
	Efficience de l'absorption des lipides/carbone organique				x		x		
	Efficience de l'absorption d'eau				x				
	Efficience de l'absorption de matière organique non lipidique				x				
	Efficience "particule scavenging"				x		x		
	Efficience de la prise par les ouies	x	x		x		x		x
	Efficience de prise d'oxygène						x		
	Vitesse de respiration : fontion de la température, oxygène dissous et taille des individus		x		x				
	Vitesse d'alimentation : fonction de la taille des individus et de la température		x						
	Vitesse d'élimination : fontion de la taille/âge		x		x		x	x	
	Vitesse de croissance : fontion de la taille/âge		x		x			x	
	Vitesse de perte par la ponte : fontion de la taille/âge		x						
	Vitesse de métabolisation		x	x	x				
	Carbone organique des détritrus		x						
	Contribution de chacune des espèces proies j à l'alimentation de i		x	x		x	x	x	x
	Concentration de PCB dans le prédateur i		x	x	x			x	
	Concentration de PCB dans les proies j		x	x	x				

Marie Vieille-Blanchard

Maître de stage : D. Marc Babut

Département Gestion des milieux aquatiques
Unité de Recherche Biologie des Ecosystèmes aquatiques
Laboratoire d'écotoxicologie

CEMAGREF - Groupement de Lyon
3 bis quai Chauveau – CP 220
69336 Lyon cedex 09
Tél. 04 72 20 87 87 - Fax 04 78 47 78 75

Avril - Sept 2007

Le fleuve Rhône subit actuellement une forte pollution aux PCB, composés d'origine anthropique interdits en France depuis 1987. Les études mises en place de façon à mieux comprendre et appréhender cette nouvelle pollution passent par l'étude du milieu, des organismes présents, des PCB, de leurs transferts via l'eau et les sédiments aux premiers maillons de la chaîne alimentaire...

Nous avons décrit les modes alimentaires de deux espèces de poissons très présents dans le Rhône: la brème et le barbeau. Cela représente une étape dans la réalisation d'un modèle de bioaccumulation des PCB à travers les réseaux trophiques impliquant ces espèces. Ainsi, on pourrait améliorer la compréhension des processus de distribution des PCB dans le Rhône et prévoir l'évolution de la contamination. La modélisation de la pollution aux PCB implique de réaliser un état de connaissance de la contamination des poissons dans le temps et l'espace mais aussi par rapport à leurs régimes alimentaires (omnivores et carnassiers). Il s'avère que les profils de contamination sont peu différents de ceux observés il y a une dizaine d'années mais en concentrations plus importantes. Le site à l'aval d'une usine paraît être le plus impacté et se serait les omnivores qui subiraient la plus forte contamination.

Mots Clefs : Bioaccumulation, PCB, Poissons, Modèle, Rhône.



Direction générale

Parc de Tourvoile

BP 44 - 92163 Antony cedex

Tél. 01 40 96 61 21 - Fax 01 40 96 62 85

Web : <http://www.cemagref.fr>