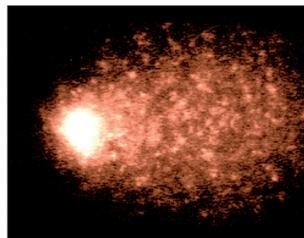
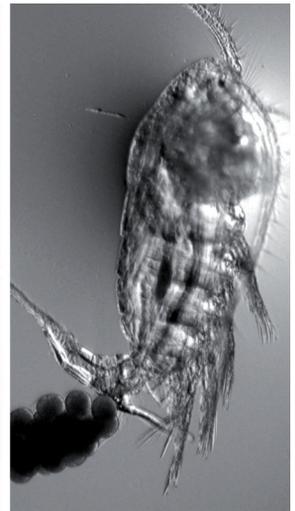


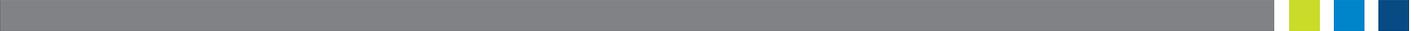
# La Génotoxicité

Quel risque pour les espèces aquatiques ?

Coordinateur  
Jérôme Cachot



**Seine-Aval**  
GROUPEMENT D'INTÉRÊT PUBLIC



# La Génotoxicité

Quel risque pour les espèces aquatiques ?

**Coordinateur : Jérôme Cachot <sup>1</sup>**

**Auteurs : Céline Dégremont <sup>2</sup> et Jérôme Cachot <sup>1</sup>**

**Contributions :**

Véronique André <sup>3</sup>  
Kévin Cailleaud <sup>4</sup>  
Alain Abarnou <sup>5</sup>  
Anne Motelay-Massei <sup>6</sup>  
Farida Akcha <sup>7</sup>  
Thierry Burgeot <sup>7</sup>  
Jean Laroche <sup>8</sup>  
Hélène Budzinski <sup>1</sup>

- (1) Université de Bordeaux, ISM-LPTC, UMR CNRS 5255
- (2) GIP Seine-Aval
- (3) Université de Caen Basse-Normandie, GRECAN, EA 1772
- (4) Total Petrochemicals, Service Environnement
- (5) Ifremer de Brest, Département Biogéochimie et Ecotoxicologie, Cellule ARC
- (6) Université de Rouen, M2C UMR CNRS 6143
- (7) Ifremer de Nantes, Département Biogéochimie et Ecotoxicologie
- (8) Université de Bretagne Occidentale, LEMAR UMR CNRS 6539

*A la mémoire d'Anne Motelay-Massei qui a apporté une contribution essentielle à ce fascicule ainsi qu'à l'avancée des travaux de recherche sur l'estuaire au sein du Programme scientifique Seine-Aval.*

# Sommaire

<b>INTRODUCTION</b>	3	Le flet	23
<b>CHAPITRE 1</b>		Teneurs en HAP dans le foie	23
<b>QU'EST CE QUE LA GENOTOXICITE ?</b>	4	Teneurs en métabolites de HAP dans la bile	23
Mode d'action et effets des génotoxiques	4	Taux d'adduits à l'ADN dans le foie	24
Les génotoxiques environnementaux	5	Fréquence de tumeurs et de lésions pré-tumorales	24
Les hydrocarbures aromatiques polycycliques	6	Couplages génotypes-phénotypes	25
Les nitrosamines	7	La limande	25
Les amines aromatiques	8	Concentrations tissulaires en HAP	25
Les pesticides	10	Taux de dommages à l'ADN	25
Les solvants organiques	10	Fréquence des lésions hépatiques	26
Les métaux lourds	10	Accumulation des HAP dans le réseau trophique	26
Les médicaments anticancéreux	11	Etudes expérimentales	26
La réglementation en vigueur	11	<b>CHAPITRE 4</b>	
Convention de Stockholm et le Protocole de la CEENU	11	<b>COMPARAISON INTER-ESTUAIRES</b>	30
Convention OSPAR	11	Les HAP dans la colonne d'eau	30
Directive Cadre européenne sur l'Eau (DCE)	12	Les HAP dans les sédiments	30
Réglementation REACH	13	Les HAP dans les organismes vivants	30
<b>CHAPITRE 2</b>		La génotoxicité des sédiments	30
<b>ETAT DE LA CONTAMINATION EN ESTUAIRE DE SEINE</b>	14	Les dommages de l'ADN	31
Contamination des compartiments abiotiques	14	Les tumeurs hépatiques sporadiques	31
La colonne d'eau	14	<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	32
Variabilité temporelle	14	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	33
Distribution spatiale	14	<b>GLOSSAIRE</b>	35
Le compartiment sédimentaire	15		
Variabilité temporelle	16		
Distribution spatiale	16		
Sources et flux	16		
Les rapports moléculaires	16		
Le rôle du compartiment atmosphérique	17		
Estimation des flux de HAP à Poses	17		
Bilan des flux	18		
<b>CHAPITRE 3</b>			
<b>EVALUATION DU RISQUE GENOTOXIQUE EN ESTUAIRE DE SEINE</b>	19		
Le potentiel génotoxique des sédiments	19		
Evaluation du risque génotoxique pour les mollusques bivalves	19		
Contamination des bivalves par les HAP	19		
Intégrité de l'ADN des mollusques bivalves	20		
Les cassures de l'ADN	20		
Les adduits à l'ADN	20		
Diversité génétique des populations de bivalves	22		
Evaluation de l'exposition du microcrustacé <i>Eurytemora affinis</i> aux HAP	22		
Evaluation du risque génotoxique pour les poissons	23		



## Introduction

---

L'Union Européenne s'est dotée le 23 octobre 2000 d'une nouvelle réglementation dite Directive cadre sur l'eau (DCE 2000/60/CE) dont l'objectif principal est la protection et la gestion des milieux aquatiques sur l'ensemble du territoire européen. Cette directive dresse notamment une liste de 41 substances polluantes prioritaires dont les rejets en milieu aquatique doivent être réduits voire supprimés. Dans cette liste figurent un tiers de substances cancérigènes parmi lesquelles deux tiers sont génotoxiques. Ces substances en raison de leurs effets potentiels à moyen et long terme sur les organismes vivants en général et les espèces aquatiques en particulier représentent un risque majeur pour la survie des espèces et le fonctionnement des écosystèmes.

La génotoxicité se définit comme la capacité de certains agents dits « génotoxiques » à induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques. Ces dommages, une fois fixés dans le génome, peuvent avoir des conséquences délétères sur la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance : mortalité embryonnaire, malformations congénitales, infertilité, cancers, etc. En raison de la grande variété des substances impliquées, de leur omniprésence dans l'environnement et des conséquences démo-écologiques possibles notamment sur la survie ou le renouvellement de certaines populations sauvages, l'étude de ces substances génotoxiques représente un enjeu majeur pour la préservation de l'environnement.

Les études conduites dans le cadre du Programme Seine Aval ont permis, entre autre, d'approfondir les connaissances dans le domaine de la contamination chimique et des effets biologiques des substances génotoxiques en estuaire de Seine. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), dont un grand nombre de congénères sont des mutagènes et/ou des cancérigènes bien connus, ont été largement étudiés et les résultats obtenus concernant leurs sources, leurs concentrations dans le milieu et leurs effets sont présentés dans ce fascicule.

Dans la première partie de ce document sont explicitées les bases fondamentales de la génotoxicité ainsi que la réglementation internationale concernant les substances génotoxiques dans les milieux aquatiques. La deuxième partie dresse l'état actuel de la contamination en estuaire de Seine au travers d'un bilan des teneurs, des sources et des flux en HAP dans les différents compartiments (colonne d'eau et sédiment) de l'estuaire de Seine. Dans la troisième partie, une analyse du risque génotoxique en estuaire de Seine est réalisée. Celle-ci repose sur la mesure de la contamination et du potentiel génotoxique des sédiments et sur l'évaluation de l'exposition et des effets génotoxiques in situ sur différentes espèces bioindicatrices. La dernière partie vise à comparer l'état de la contamination et des effets génotoxiques en estuaire de Seine par rapport à d'autres estuaires nationaux et internationaux en se focalisant là encore sur la famille des HAP.

## Chapitre 1 : Qu'est-ce que la Génotoxicité ?

### Mode d'action et effets des génotoxiques

La génotoxicité, appelée également toxicité génétique, représente la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques à provoquer l'apparition de dommages à l'ADN\* qui peuvent conduire à des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Ces agents sont qualifiés de mutagènes.

On considère deux classes d'agents génotoxiques, les génotoxiques directs qui sont capables de modifier directement la structure de l'ADN, et ceux que l'on appelle des progénotoxiques qui nécessitent une activation métabolique\* préalable avant de pouvoir exercer leurs effets génotoxiques. On parle dans ce cas de processus de bioactivation\*.

En raison de la grande variété de structures et de modes d'action des substances génotoxiques, il existe un grand nombre de dommages à l'ADN possibles. Ces altérations structurales de l'ADN appelées lésions primaires concernent principalement des modifications des bases constitutives de l'ADN ou des cassures affectant un seul ou les deux brins de l'ADN.

Il y a tout d'abord les adduits encombrants qui correspondent à l'entité chimique résultant de l'établissement d'une liaison covalente entre une molécule chimique électrophile et un site nucléophile d'une base de l'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases constitutives de l'ADN sont les cibles privilégiées des génotoxiques. Certains agents mutagènes tels que les HAP et les amines aromatiques sont capables de réaliser ce type de liaison entraînant la formation d'un complexe appelé adduit (pour produit d'addition). Cette lésion entraîne une modification de la structure spatiale de l'ADN au voisinage de l'adduit qui va perturber sa reconnaissance par l'ADN polymérase au cours du processus de réplication. La formation et la persistance de telles lésions de l'ADN sont des étapes clés vers la mutagenèse et le développement tumoral.

Il y a ensuite les micro-adduits formés par l'alkylation d'une base azotée de l'ADN. Ces modifications bien que minimes perturbent la reconnaissance de la base par l'ADN polymérase lors de la duplication de l'ADN. Les nitrosurées, les alkylsulfonates et les cyclophosphamides qui sont largement utilisés comme agents chimiothérapeutiques pour le traitement du cancer sont pour la plupart des agents alkylants.

Il y a par ailleurs les lésions oxydatives de l'ADN qui sont générées lors de l'attaque des bases de l'ADN par les espèces réactives de l'oxygène. Ces lésions concernent notamment la guanine dont le produit d'oxydation majeur est la 8-oxo-7,8-dihydro-2'-desoxyguanosine (8-oxodGuo).

Il y a enfin les pertes, les insertions ou les modifications d'une ou plusieurs bases de l'ADN. Les agents génotoxiques impliqués sont pour la plupart des analogues de

bases azotées, tels que le 5-bromo uracile ou la 2-amino purine, présentant des similitudes structurales avec les bases normales de l'ADN. Elles seront incorporées à l'ADN où elles provoquent des mutations en générant des appariements incorrects de bases. Ces analogues provoquent principalement des mutations de type A:T vers G:C ou G:C vers A:T (transitions\*). L'acide nitreux peut, quant à lui, provoquer la désamination de la cytosine ou de l'adénine pour produire respectivement de l'uracile ou de l'hypoxanthine qui présentent une forte homologie structurale avec la guanine. Ces lésions provoquent là encore majoritairement des transitions de type A:T vers G:C ou G:C vers A:T. Les agents intercalants tels que le bromure d'éthidium ou la proflavine sont des molécules à géométrie plane qui peuvent s'insérer entre les paires de bases entraînant l'étirement de l'ADN et l'insertion d'une base supplémentaire.

D'autres types de lésions sont possibles mais apparaissent moins fréquemment lors de l'exposition à des génotoxiques chimiques. Il s'agit des pontages intra ou inter-brins qui correspondent à des liaisons covalentes anormales établies entre bases de l'ADN et aux cassures simples et doubles brins générées essentiellement par les rayonnements ionisants.

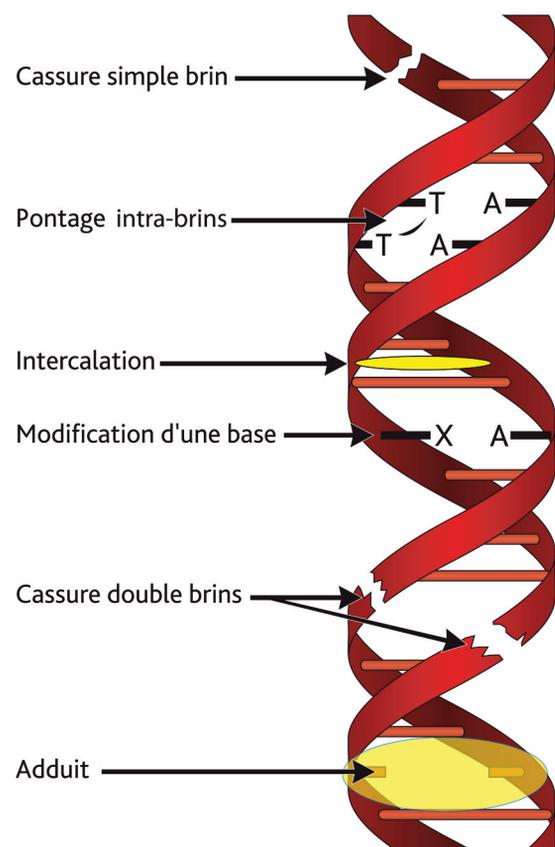


Figure 1 : les différents types de lésions primaires de l'ADN

En raison de l'existence de mécanismes de réparation, la majorité de ces lésions peut être réparée. Il existe deux types de systèmes de réparation. Les mécanismes conservatifs, tel que le processus d'excision-resynthèse qui garantissent une réparation fidèle et les systèmes dits fautifs qui interviennent dans un second temps lorsque les mécanismes conservatifs sont dépassés par l'abondance des lésions de l'ADN. Ces systèmes fautifs permettent une réparation d'urgence qui autorise alors la reprise de la répllication de l'ADN mais ne garantit pas le maintien de l'intégrité de cet ADN.

Lorsque les lésions primaires ne sont pas ou mal réparées, elles vont être fixées définitivement sous forme de mutations dans le génome de la cellule après répllication de l'ADN. Ces mutations seront transmises aux cellules filles lors de la division cellulaire.

Ces mutations n'entraînent d'effets biologiques que si elles modifient la séquence ou le niveau d'expression de la protéine codée par le gène muté. Dans le cas contraire, les mutations sont dites silencieuses. Les conséquences biologiques au niveau cellulaire diffèrent selon la localisation et le type de mutations induites : de l'absence d'effets visibles à la mort cellulaire en passant par des modifications structurales et fonctionnelles de la cellule mutée. Cette cytotoxicité peut à son tour avoir des répercussions négatives sur la structure et le fonctionnement d'un tissu et éventuellement sur la survie et les performances bi-

ologiques de l'individu. Il a été démontré que l'exposition à certains génotoxiques comme les HAP peut réduire la survie, la croissance et la reproduction des poissons exposés ainsi que celles de leur progéniture (White et al, 1999). De tels effets à une large échelle peuvent conduire à une réduction d'abondance ou à des extinctions localisées ou encore à une modification de la fréquence allélique de certains gènes et donc à une réduction de la diversité génétique de certaines populations sauvages particulièrement sensibles aux polluants (Bickman et Smolen, 1994).

## Les génotoxiques environnementaux

Les agents génotoxiques peuvent être de nature physique, chimique ou biologique. Les mutagènes physiques sont principalement les radiations ionisantes hautement énergétiques telles que les rayons X ou gamma et les radiations non ionisantes comme la lumière ultraviolette. Les mutagènes biologiques sont notamment des virus tels que les rétrovirus. Dans ce fascicule, nous nous intéresserons uniquement aux agents chimiques et plus particulièrement aux polluants organiques. La génotoxicité directe des métaux lourds à l'exception de celle du chrome n'est pas clairement démontrée à ce jour.

Pour évaluer le potentiel génotoxique d'une molécule ou d'une famille de molécules, des tests *in vitro* ont été

### Les tests *in vitro* de génotoxicité et de mutagénicité

Le test d'Ames (Maron et Ames, 1983) consiste à évaluer si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Ces souches sont porteuses d'une mutation préalablement induite dans un des gènes de la chaîne de biosynthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine, elles sont dites auxotrophes vis-à-vis de l'histidine (His-). Le test évalue alors la capacité de la substance toxique à induire une nouvelle mutation dans cette même région de l'ADN qui se traduira par la réversion de l'auxotrophie de la souche bactérienne vis-à-vis de l'histidine. Le nombre de clones bactériens His+, dits révertants, ayant poussé au bout de 48h sur le milieu de culture dépourvu d'histidine, est proportionnel au pouvoir mutagène de la substance testée.

Les bactéries utilisées sont, contrairement aux cellules eucaryotes, dépourvues de système d'activation métabolique. Afin de pouvoir détecter les génotoxiques indirects dits progénotoxiques, un système d'activation métabolique, la fraction S9, est ajouté au milieu de culture. Cette fraction apporte les enzymes nécessaires (cytochromes P450) à l'activation métabolique des progénotoxiques.

Ce test est simple d'exécution, sensible, de coût modique, permet l'analyse d'échantillons variés et a été standardisé (OCDE n°471). Il donne une réponse semi-quantitative permettant des études comparatives mais aussi des indications mécanistiques en fonction des souches de *S. typhimurium* utilisées. Ce test de mutagénicité *in vitro* est le plus communément utilisé dans le monde.

Le SOS Chromotest est un test *in vitro* qui permet d'évaluer l'activité génotoxique d'une substance pure ou d'un échantillon biologique ou environnemental. Ce test est effectué sur une souche bactérienne, *Escherichia coli* PQ37 (Quillardet et al, 1982). Il consiste à déterminer *in vitro* la capacité d'une substance chimique à induire des dommages à l'ADN qui seront quantifiés indirectement par la mesure de l'expression d'un des composants du système de réparation SOS, le gène *sfIA*. Dans cette souche bactérienne, le gène *lacZ*, responsable de la synthèse de la  $\beta$ -galactosidase a été placé sous le contrôle du promoteur *sfIA*. Ainsi, lorsque l'ADN bactérien est endommagé par un génotoxique, le système de réparation SOS est activé, ce qui conduit à l'induction du gène *lacZ* et à la synthèse de l'enzyme  $\beta$ -gal dont l'activité est quantifiée par dosage colorimétrique (apparition d'une couleur jaune) à 405 nm. L'activité de la  $\beta$ -gal est comparée à l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) mesurée en parallèle, qui constitue à ce titre un standard interne puisque non inductible par des agents génotoxiques.

Comme dans le cas du test d'Ames une fraction S9 est ajoutée au milieu réactionnel afin de permettre l'activation métabolique des progénotoxiques.

L'activité génotoxique, pour une concentration  $c$  d'échantillon, est exprimée par le ratio  $Rc = \beta\text{-gal}/\text{PAL}$ . Le facteur d'induction, IF, est défini par le rapport  $Rc/Ro$  ou  $Ro$  est le ratio mesuré pour un témoin négatif (solvant seul). Un échantillon est généralement considéré comme génotoxique si  $IF > 2$ , modérément génotoxique si  $1,5 \leq IF < 2$  et non génotoxique si  $IF < 1,5$ .

développés tels que le test d'Ames (Maron et Ames, 1983) ou le SOS Chromotest (Quillardet et al, 1982). Ces tests ont permis de démontrer le caractère génotoxique ou pro-génotoxique d'un grand nombre de polluants chimiques principalement de nature organique incluant notamment les HAP, les nitrosamines, les amines aromatiques, quelques pesticides, quelques solvants organiques et des molécules utilisées en chimiothérapie anticancéreuse.

### Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure comprend au moins deux cycles benzéniques qui peuvent être substitués. Le nombre de composés de cette famille est ainsi quasiment illimité étant donné la multiplicité des combinaisons structurales possibles. Les HAP sont principalement d'origine pyrogénique, c'est-à-dire qu'ils proviennent essentiellement de la combustion incomplète à haute température de la matière organique.

Les sources principales sont anthropiques et concernent les systèmes de chauffage, les gaz d'échappement automobile, la production d'énergie (centrales thermiques), la production industrielle (aciérie, bois...) et l'incinération de déchets. Une seconde source de HAP dite pétrogénique concerne le déversement direct de produits pétroliers dans l'environnement. Les émissions naturelles, proportionnellement plus réduites, interviennent lors des feux de forêt ou durant les éruptions volcaniques. Les propriétés physico-chimiques des HAP varient selon leur structure et leur poids moléculaire. Les HAP sont des composés organiques hydrophobes\*, leur solubilité dans l'eau est donc faible. Ils ont tendance à s'adsorber\* sur les particules en suspension qu'elles soient dans l'air ou dans l'eau. Selon les organismes concernés, ces composés peuvent être bioaccumulés\*. Ceci est vrai pour les organismes n'ayant pas de système de biotransformation efficace tels que les bactéries, les protozoaires, le phytoplancton ou certains invertébrés. La plupart des HAP environnementaux à quatre cycles et plus ainsi que le phénanthrène sont géno-

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
2-Méthylanthracène	+	+	o	-
2-Méthylphénanthrène	?	+	o	-
3-Méthylcholanthrène	+	+	n	-
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	+	+	o	-
9-Méthylanthracène	+	+	o	-
Anthanthrène	+	+	o	-
Benzo(a)anthracène	+	+	o	OSPAR, USEPA
Benzo(a)pyrène	+	+	o	OSPAR, DCE, USEPA
Benzo(b)fluoranthène	+	+	o	DCE, USEPA
Benzo(b)fluorène	?	+	o	-
Benzo(e)pyrène	+	+	o	OSPAR
Benzo(g,h,i)fluoranthène	+	+	o	USEPA
Benzo(g,h,i)pérylène	+	+	o	OSPAR, DCE, USEPA
Benzo(j)fluoranthène	+	+	o	-
Benzo(k)fluoranthène	+	?	o	OSPAR, DCE, USEPA
Chrysène	+	+	o	OSPAR, USEPA
Coronène	+	-	o	OSPAR
Dibenzo(a,c)anthracène	+	+	o	-
Dibenzo(a,h)anthracène	+	+	o	OSPAR, USEPA
Dibenzo(a,h)pyrène	+	+	o	-
Dibenzo(a,i)pyrène	+	+	o	-
Fluoranthène	+	+	o	OSPAR, DCE, USEPA
Indeno(1,2,3-cd)pyrène	+	+	o	OSPAR, DCE, USEPA
Pérylène	+	-	o	OSPAR
Phénanthrène	-	+	o	USEPA
Pyrène	+	-	n	OSPAR, USEPA
Triphénylène	+	+	o	-

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 1 : Liste des principaux HAP à activité génotoxique

toxiques (Tableau 1).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques nitrés (nitro-HAP ou nitroarènes) sont des dérivés d'hydrocarbures aromatiques polycycliques à noyaux condensés, c'est à dire qu'ils contiennent au moins deux cycles aromatiques accolés et un groupement NO<sub>2</sub> majoritairement responsable de la mutagénicité observée après transformation métabolique de ce groupement en un composé fortement

électrophile. Les nitroarènes sont présents dans l'environnement sous forme de mélanges, à côté des HAP dont ils dérivent. Les HAP nitrés sont également pour une partie génotoxiques et répondent positivement au test d'Ames et/ou au SOS Chromotest. Il s'agit par exemple du 2-nitrofluorène, du 3-nitrofluoranthène, du dinitropyrene ou encore du 4-nitroquinoline-1-oxide (NQO). Un grand nombre de HAP nitrés sont génotoxiques (Tableau 2).

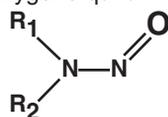
Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
1,3-dinitropyrene	+	+	n	-
1,5-dinitronaphthalène	+	+	o	-
1,6-dinitropyrene	+	+	n	-
1,8-dinitropyrene	+	+	n	-
1-nitropyrene	+	+	n	-
2,4,5,7-tetranitro-9-fluorénone	+	+	n	-
2,4,7-trinitro-9-fluorénone	+	+	n	-
2,7-dinitro-9-fluorénone	+	+	n	-
2,7-dinitrofluorène	+	+	n	-
2,7-dinitronaphthalène	?	+	n	-
2-nitro-9-fluorénone	?	+	n	-
2-nitrofluorène	+	+	n	-
3-nitro-9-fluorénone	+	+	n	-
3-nitrofluoranthène	+	+	n	-
4-nitroquinoline-1-oxide (NQO)	+	+	n	-

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 2 : Liste des principaux HAP nitrés à activité génotoxique

### Les nitrosamines

Les nitrosamines sont des produits essentiellement composés d'azote et d'oxygène qui ont une structure du type :



Elles sont issues de la réduction des nitrates et des nitrites. Elles peuvent être produites naturellement par fermentation bactérienne mais également au cours de procédés industriels tels que la production de caoutchouc, la transformation et la conservation du poisson, la transformation du cuir... Ces composés peuvent être présents dans les conserves alimentaires, les boissons fermentées, le tabac et les fumiers. Trois nitrosamines apparaissent

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
N-nitrosodibutylamine	+	+	o	-
N-nitrosodiéthylamine	+	+	o	-
N-nitrosodiméthylamine	+	+	o	USEPA
N-nitrosodiphénylamine	+	-	n	USEPA
N-nitrosodipropylamine	+	+	o	USEPA
N-nitrosoéthylurea	+	+	n	-
N-nitrosométhylurea	+	+	n	-
N-nitrosomorpholine	+	+	o	-
N-nitrosopipéridine	+	+	o	-

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 3 : Liste des principales nitrosamines à activité génotoxique

sur la liste des polluants prioritaires de l'US EPA : le n-nitrosodiphenylamine, le n-nitrosodiméthylamine et le n-nitrosodipropylamine. De nombreuses nitrosamines sont génotoxiques (Tableau 3).

### Les amines aromatiques

Les composés aromatiques aminés sont des hydrocarbures aromatiques dans lesquels au moins un hydrogène du cycle a été remplacé par un groupement aminé (Figure 2). Les amines aromatiques sont utilisées dans de nombreuses industries. On les trouve principalement dans l'industrie du caoutchouc, la synthèse des colorants, la fabrication des durcisseurs, ou encore dans le secteur de la recherche. La population générale peut être également exposée à ces amines via la fumée de cigarette et l'alimentation. Une centaine d'amines aromatiques a été recensée. L'US EPA s'est prononcée en faveur de la surveillance de la benzidine et du 3,3-dichlorobenzidine. D'autres amines aromatiques sont également génotoxiques et l'on peut citer entre autres l'o-toluidine, l'o-tolidine, le 2-naphtylamine. Quelques amines aromatiques sont connues pour être mutagènes (Tableau 4).

trosodipropylamine. De nombreuses nitrosamines sont génotoxiques (Tableau 3).

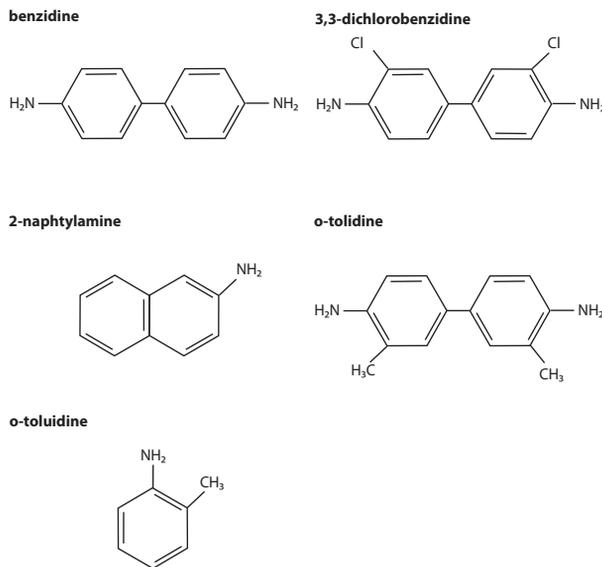


Figure 2 : Structure de quelques amines aromatiques

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
2-Naphtylamine	+	+	o	-
3,3-dichlorobenzidine	+	?	n	USEPA
Benzidine	+	-	o	USEPA
o-tolidine	+	?	o	-
o-toluidine	+	-	o	-

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 4 : Liste des principales amines aromatiques à activité génotoxique

## HAP les plus fréquents en estuaire de Seine

**Phénanthrène (PHE)**

Le phénanthrène est utilisé dans les industries des colorants, des explosifs, des produits pharmaceutiques. Il sert de base pour la production d'autres substances chimiques et entre dans la composition des électrolytes utilisées dans les batteries et les cellules solaires. La présence de phénanthrène dans l'environnement provient le plus souvent de la combustion incomplète de certains composés organiques tels que le bois et les combustibles fossiles. Il est détecté dans la fumée de cigarette, les échappements de moteur Diesel ou essence, dans les viandes grillées au charbon de bois, dans les huiles de moteur usagées, etc... Sa constante de Henry est de 3,98 à 25°C et son Koc est compris entre  $2,3 \cdot 10^3$  et  $12 \cdot 10^3$  selon les publications. Sa demi-vie en milieu aqueux est estimée entre 64 et 800 jours.

**Fluoranthène (FTH)**

La présence du fluoranthène dans l'environnement résulte principalement de la combustion incomplète de produits tels que la cigarette ou les gaz d'échappement. Naturellement présent dans le pétrole, il est émis dans l'atmosphère lors de la combustion du pétrole, du charbon et des déchets ménagers. Émis dans l'atmosphère, il est présent sous forme particulaire ou à l'état gazeux et sa demi-vie\* est estimée entre 2 et 20 heures. Dans les milieux aquatiques, compte tenu de la valeur de sa constante de Henry ( $650 \text{ mPa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ), la volatilisation n'est pas considérée comme un processus d'élimination important. Le fluoranthène peut être fortement adsorbé sur les matières en suspension et le sédiment (Koc de  $140 \cdot 10^3$ ). La photolyse\* est possible mais lente. La demi-vie du fluoranthène en milieu aquatique a été estimée entre 143 et 182 jours en aérobie et entre 560 et 1760 en anaérobie.

**Pyrène (PYR)**

Le pyrène est principalement utilisé pour la fabrication de teintures, dans la synthèse de substances utilisées en optique pour leur brillance, et comme additif dans les huiles d'isolation électrique. Le pyrène est présent dans les combustibles fossiles. Il est libéré dans l'atmosphère lors de la combustion incomplète de charbon et de produits pétroliers : huile, essence, fioul. Le pyrène est également présent dans le goudron des revêtements routiers. La production d'aluminium, de fer et d'acier, les fonderies, la combustion de déchets et la fumée de tabac constituent également des sources d'exposition de l'environnement au pyrène.

Le pyrène est présent sous forme gazeuse et particulaire dans l'atmosphère et sa demi-vie est d'environ 8 heures. La volatilisation n'est pas un phénomène important d'élimination (constante de Henry de  $11 \text{ mPa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Le

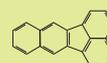
pyrène est facilement adsorbé sur les sédiments et les matières en suspension (Koc de  $68 \cdot 10^3$ ) et se dégrade difficilement dans les eaux (demi-vie de 1 à 10 ans).

**Benzo(a)pyrène (BaP)**

La présence du benzo(a)pyrène dans l'environnement résulte de la combustion incomplète des combustibles fossiles dans lesquels il est également présent naturellement. Dans l'atmosphère, le benzo(a)pyrène existe uniquement à l'état particulaire et sa demi-vie a été estimée entre 0,4 et 4,3 heures. Dans les milieux aquatiques, la volatilisation n'est pas un phénomène d'élimination important. Le benzo(a)pyrène est fortement adsorbé sur les matières en suspension et le sédiment (Koc de  $5500 \cdot 10^3$ ). Les données de biodégradation sont peu nombreuses. La demi-vie de biodégradation a été estimée à plus de 300 semaines dans un système eau/sédiment.

**Benzo(b)fluoranthène (BbF)**

La présence du benzo(b)fluoranthène dans l'environnement est une conséquence de la combustion incomplète d'hydrocarbures, de charbon, de biomasse\* et des émissions de véhicules. Ce composé a également été identifié dans la fumée de cigarettes. Dans l'atmosphère, le benzo(b)fluoranthène existe à l'état de vapeur et sous forme particulaire et sa demi-vie a été estimée à 21 heures. Dans les milieux aquatiques, la volatilisation est lente, compte tenu de la valeur de sa constante de Henry ( $1230 \text{ mPa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Le benzo(b)fluoranthène est fortement adsorbé sur les matières en suspension et le sédiment (Koc de  $550 \cdot 10^3$ ). Son temps de demi-vie dans l'eau et les sédiments en aérobie est de 360 à 610 jours et en milieu anaérobie, de 1440 à 2440 jours.

**Benzo(k)fluoranthène (BkF)**

Le benzo(k)fluoranthène est un des constituants des combustibles fossiles (pétrole, houille). Sa présence dans l'environnement résulte de la combustion incomplète de ceux-ci. Il est également présent dans la fumée de cigarettes. Dans l'atmosphère, le benzo(k)fluoranthène existe uniquement à l'état particulaire et sa demi-vie a été estimée entre 1,1 et 11 heures. Dans les milieux aquatiques, la volatilisation n'est pas un phénomène important d'élimination de cette substance, compte tenu de la valeur de sa constante de Henry ( $44 \text{ mPa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Le benzo(k)fluoranthène est fortement adsorbé sur les matières en suspension et le sédiment (Koc de  $550 \cdot 10^3$ ). Par photolyse, sa demi-vie en milieu aquatique a été évaluée entre 3,8 et 499 heures. Par biodégradation, sa demi-vie dans l'eau et les sédiments en condition aérobie a été estimée entre 910 et 2140 jours ce qui indique que cette substance est persistante.

Sources : Ifremer, Ineris

### Les pesticides

Les pesticides désignent les substances ou les préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables, qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, de champignons ou de bactéries. Il en existe principalement trois catégories : les herbicides, les fongicides et les insecticides. Leur utilisation dans l'agriculture est ancestrale mais à partir des années 50 leur usage a connu une très forte croissance et des pesticides synthétiques ont fait leur apparition sur le marché. Ces composés sont dispersés principalement par voie atmosphérique. Une fois dans le compartiment atmosphérique, les pesticides peuvent être dégradés sous l'effet des ray-

onnements solaires ou dans le cas contraire être transportés par les courants atmosphériques parfois sur de longues distances. Les retombées s'opèrent majoritairement sous forme de dépôts humides. Certains composés peu biodégradables peuvent ensuite s'accumuler dans les sédiments aquatiques et les sols. Les impacts des pesticides sur l'environnement sont très variables selon la substance mise en jeu. Ils dépendent de la toxicité effective de la matière active et de ses sous-produits de dégradation qui sont parfois plus toxiques que la molécule initiale. Certains pesticides sont connus pour être génotoxiques (Tableau 5).

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
Alachlore	-	+	n	DCE
Captafol	+	+	n	-
Captane	+	+	n	-
Ferbame	+	+	n	-
Heptachlore	+	-	o	USEPA, OSPAR
Nitrofène	+	-	?	OSPAR
Toxaphène	+	+	n	USEPA

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 5 : Liste des principaux pesticides à activité génotoxique

### Les solvants organiques

Les solvants sont des substances inertes ayant la propriété de dissoudre ou de diluer d'autres substances sans les modifier chimiquement. Ils sont fréquemment utilisés dans l'industrie car ils permettent la dispersion des sub-

stances non hydrosolubles. On en trouve dans les peintures, vernis, laques, colles, encres, colorants, matières plastiques, pesticides, carburants, mais aussi dans les produits cosmétiques et dans les médicaments. Plusieurs molécules ont donné des résultats positifs avec le test d'Ames (Tableau 6).

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
1,2-dichloroéthane	+	?	n	USEPA, DCE
Diméthyle sulfate	+	+	n	-
1,3-Dichloropropane	+	-	n	USEPA
1,2-Dichloropropane	+	-	n	USEPA
Dichlorométhane	+	?	n	DCE

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 6 : Liste des principaux solvants organiques à activité génotoxique

### Les métaux lourds

De nombreux métaux lourds dont le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel et le zinc sont connus pour être potentiellement génotoxiques (Tableau 7). Cependant seule la mutagénicité du chrome VI a clairement été démontrée (Itoh et Shimada, 1997). Ce composé induit des

cassures simples brins et des pontages protéine-ADN (Witmer et al, 1989). Les autres espèces métalliques pourraient agir par des mécanismes indirects tels que la production d'espèces réactives de l'oxygène ou encore l'inhibition des systèmes de réparation de l'ADN.

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
Chrome	+	+	n	US-EPA
Cadmium	-	+	n	DCE, OSPAR, US-EPA
Cuivre	-	+	n	US-EPA
Mercure	-	+	n	DCE, OSPAR, US-EPA
Nickel	-	+	n	DCE, US-EPA
Zinc	-	+	n	US-EPA

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 7 : Liste des principaux métaux à activité génotoxique

### Les médicaments anticancéreux

Les anticancéreux prescrits dans les chimiothérapies ont pour but de détruire les cellules tumorales ou de stopper leur croissance. Paradoxalement un grand nombre de ces substances sont elles-mêmes génotoxiques (Tableau 8). Les cytostatiques alkylants tels que le cisplatine forment des ponts stables par liaison covalente entre bases des deux brins ou d'un même brin d'ADN. Lors de la mitose, l'ADN ne peut plus se dédoubler empêchant ainsi sa ré-

plication. Les cytostatiques intercalants, comme la bléomycine, s'insèrent entre deux paires de bases consécutives de l'ADN entraînant une déformation de la double hélice voire une cassure de l'un ou des deux brins d'ADN empêchant alors sa transcription. Enfin, les inhibiteurs de topoisomérase tels que l'étoposide, stoppent l'entrée en mitose des cellules tumorales en se fixant sur la topoisomérase II inhibant de ce fait le déroulement de la molécule d'ADN nécessaire au processus de la réplication.

Nom	Test d'Ames	SOS Chromotest	Activation (S9)	Réglementation
Bléomycine	+	+	n	-
Carboplatine	+	+	n	-
Cisplatine	+	+	n	-
Dacarbazine	+	+	n	-
Daunomycine	+	+	n	-

(+) positif au test (-) négatif au test (?) pas d'information disponible (o) +S9 (n) -S9

Tableau 8 : Liste de quelques anticancéreux à activité génotoxique

### Réglementation en vigueur pour la protection des milieux aquatiques

En 1976, l'US EPA a publié une liste de 129 substances polluantes prioritaires. Parmi ces substances on compte des HAP, des nitrosamines, des PCB, des phénols, des pesticides ou encore des métaux, etc. Cette liste a été le point de départ d'une série de réglementations internationales.

#### Convention de Stockholm et le Protocole de la CEENU

Ces deux conventions visent à réduire la présence des POP (polluants organiques persistants) dans notre environnement.

La convention de Stockholm, signée par 151 pays en 2001, vise à garantir que les substances qui y figurent ne soient plus produites, utilisées, importées ou exportées. Elle vise également à arrêter ou ralentir les rejets de POP dont la production n'est pas intentionnelle. Cette liste comprend 12 substances. Mise à part les dioxines et les furannes qui sont des sous-produits, la majorité des substances visées sont des pesticides et/ou des produits

industriels. On y retrouve l'heptachlore et le toxaphène. Le protocole de la CEENU (Commission Economique pour l'Europe des Nations Unies), signé en 1998, a pour objectif d'éliminer tous les rejets, émissions et pertes de POP. Seize substances sont concernées incluant les 12 prévues par la convention de Stockholm plus des HAP.

#### Convention OSPAR

La convention OSPAR (Oslo-Paris) entrée en vigueur en 1988 après son adoption par 15 pays et par la Commission Européenne a pour objectif de prévenir les pollutions et protéger les écosystèmes dans l'Atlantique Nord-Est. C'est également un forum d'échanges entre experts européens pour la mise en œuvre de programmes de surveillance.

Les travaux de cette convention ont permis de définir deux listes de substances chimiques d'intérêt. Ces listes sont régulièrement remises à jour. La première concerne les substances potentiellement préoccupantes susceptibles de porter atteinte aux écosystèmes marins par leur persistance ou leur capacité de bioaccumulation ou encore leur toxicité (critères PBT). En 2006, 311 substances

étaient concernées et plusieurs familles de composés y étaient représentées : des pesticides, des HAP, des médicaments, des aliphatiques, des organohalogénés, des esters, des organométalliques, des phénols... La seconde liste regroupe des substances dites prioritaires en raison de leur persistance ou de leur toxicité en milieu marin. Une quarantaine de substances et/ou groupe de substances y sont représentés dont certains tels que les HAP et l'heptachlore sont génotoxiques.

Le programme de surveillance OSPAR intitulé JAMP (Joint assessment monitoring programme) a édité des lignes directrices pour évaluer les effets biologiques des substances prioritaires et autres substances chimiques émergentes. A partir de ces lignes directrices, un programme de surveillance intégrant chimie-biologie, le CEMP (Coordinated Environmental Monitoring Programme), a été lancé en 2003 en mer du Nord. Le CEMP est actuellement fondé sur la collecte de données chimiques spécifiques dans le sédiment, l'eau et les organismes. Seuls les effets spécifiques du TBT chez les gastéropodes sont évalués de manière systématique pour le moment. L'objectif du CEMP est d'élargir la surveillance des effets biologiques pour réaliser une évaluation du stress des organismes exposés aux contaminations chimiques dans leur habitat naturel. Un volet génotoxicité des HAP sur les poissons de l'Atlantique Nord sera ainsi initié après validation des biomarqueurs de détoxication et de génotoxicité. Sur la base d'une activation des HAP et des dommages à l'ADN produits en cascade pendant le métabolisme cellulaire. Des biomarqueurs seront analysés dans la bile et les cellules hépatiques de poissons (limande, morue et flet). L'activité enzymatique EROD (éthoxyrésorufine-O-dééthylase) sera utilisée comme marqueurs de détoxication, les métabolites de HAP seront mesurés pour confirmer la biodisponibilité des HAP parents et la dose effective dans l'organisme. La mesure des adduits à l'ADN, le test comète et les micronoyaux devrait permettre d'évaluer les dommages à l'ADN. La fréquence des pathologies (lésions pré-tumorales et tumorales hépatiques) associées à la présence de contaminants chimiques devrait également être estimée. Le document guide du JAMP prévoit une validation par étapes des différents paramètres biologiques et chimiques sur les espèces poissons, mollusques bivalves et gastéropodes d'ici 2010.

Les travaux menés en écotoxicologie sur les côtes françaises depuis une quinzaine d'années au sein du RNO (Réseau National d'Observation) et dans divers programmes de recherche, font de la France un pays expérimenté en la matière. Une proposition a ainsi été rédigée

par le GDR IMOPHYS afin de participer à la validation des biomarqueurs et bioessais dans le programme CEMP. Cette proposition s'articule autour de trois axes :

- une démarche visant à étudier les effets génotoxiques à court terme des HAP
- une étude des perturbations endocriniennes en relation avec les effets à long terme sur les performances reproductives des poissons benthiques et des mollusques gastéropodes
- l'évaluation de la contamination globale dans le sédiment à l'aide de bioessais\*

Le site atelier qui a été choisi pour ces travaux est l'estuaire de Seine qui fait l'objet d'études scientifiques pluridisciplinaires depuis 1995 dans le cadre du programme Seine-Aval. Trois espèces modèles ont été choisies pour ces études : un poisson benthique (flet ou limande), le mollusque gastéropode *Nucella lapilus*, l'amphipode *Corophium volutator*. (Burgeot et al, 2006)

### Directive Cadre européenne sur l'Eau

La directive cadre sur l'eau 2000/60/CE (DCE), adoptée le 23 octobre 2000 par le Parlement Européen, est entrée en vigueur en France en 2004. Elle concerne aussi bien les eaux intérieures de surface, les eaux de transition, les eaux côtières que les eaux souterraines. L'objectif de cette directive est d'élaborer une politique durable et intégrée, tant pour la protection et l'amélioration de la qualité de l'environnement que pour l'utilisation prudente et rationnelle de la ressource (eau potable et autres usages). Un programme de gestion et de surveillance doit être établi afin de suivre la qualité des milieux et de parvenir progressivement au bon état chimique et écologique des masses d'eau d'ici 2015. La définition de l'état écologique se base sur une série de paramètres biologiques et physico-chimiques. Le bon état chimique est basé sur le respect des normes de qualité environnementales (NQE) pour 41 substances chimiques dites prioritaires. Ces substances ont été choisies en raison de leur risque significatif pour ou via l'environnement aquatique. Parmi celles-ci, la Commission a identifié 13 substances prioritaires dangereuses dont les rejets devront être supprimés d'ici 2020. On compte parmi ces substances prioritaires dangereuses de nombreux génotoxiques : 7 HAP, le 1,2-dichlorométhane, le dichlorométhane, l'alachlore et l'hexachlorobutadiène (Tableau 9).

### Proposition Française pour la biosurveillance du milieu marin

Les travaux menés en écotoxicologie sur les côtes françaises depuis une quinzaine d'années au sein du RNO (Réseau National d'Observation) et dans divers programmes de recherche, font de la France un pays expérimenté en la matière. Une proposition a ainsi été rédigée par le GDR IMOPHYS afin de participer à la validation des biomarqueurs et bioessais dans le programme CEMP. Cette proposition s'articule autour de trois axes :

- une démarche visant à étudier les effets génotoxiques à court terme des HAP
- une étude des perturbations endocriniennes en relation avec les effets à long terme sur les performances repro-

ductives des poissons benthiques et des mollusques gastéropodes

- l'évaluation de la contamination globale dans le sédiment à l'aide de bioessais\*

Le site atelier qui a été choisi pour ces travaux est l'estuaire de Seine qui fait l'objet d'études scientifiques pluridisciplinaires depuis 1995 dans le cadre du programme Seine-Aval. Trois espèces modèles ont été choisies pour ces études : un poisson benthique (flet ou limande), le mollusque gastéropode *Nucella lapilus*, l'amphipode *Corophium volutator*.

(Burgeot et al, 2006)

Nom de la substance	NQE-MA ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	NQE-CMA ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
Alachlore	0,3	0,7
Anthracène	0,1	0,4
Benzo(a)pyrène	0,05	0,1
Benzo(b)fluoranthène + Benzo(k)fluoranthène	0,03	sans objet
Benzo(g,h,i)pérylène + Indéno(1,2,3-cd)pyrène	0,002	sans objet
1,2-dichloroéthane	10	sans objet
Dichlorométhane	20	sans objet
Fluoranthène	0,1	1
Hexachlorobutadiène	0,1	0,6
Naphtalène	2,4	Sans objet

Tableau 9 : Normes de qualité environnementales (moyenne annuelle et concentration maximale admissible) établies pour dix substances ou groupe de substances génotoxiques.

### Réglementation REACH

Cette réglementation européenne REACH (CE n°1097/2006) a pour objet d'améliorer la protection de la santé humaine et de l'environnement tout en préservant la compétitivité et la capacité à innover de l'industrie chimique européenne. Toutes les substances fabriquées dans l'UE ou importées à plus d'une tonne par an doivent faire l'objet d'une procédure d'enregistrement. Pour les sub-

stances dites extrêmement préoccupantes (substances cancérigènes, mutagènes, reprotoxiques, tératogènes, persistantes ou bioaccumulables) une demande d'autorisation préalable est nécessaire avant leur mise sur le marché européen. Les HAP et autres substances génotoxiques font partie des substances extrêmement préoccupantes au regard de la directive REACH.

### Les Normes de Qualité Environnementales (NQE)

Les NQE sont des concentrations limites admissibles dans l'environnement. Elles ont été définies pour les eaux de surface intérieures (cours d'eau, lacs) et pour les autres eaux de surface extérieures (eaux de transition, eaux côtières et eaux territoriales). Deux types de NQE ont été établies : des concentrations moyennes annuelles (NQE-MA) et des concentrations maximales admissibles (NQE-CMA). Ces NQE peuvent être révisées en fonction des données nouvelles sur les risques des substances. En effet, les NQE sont établies à partir de l'exposition mesurée sur la base d'une concentration chimique et de critères d'effets fondés sur les niveaux seuils induisant des effets délétères relevés dans la littérature scientifique. Les données génotoxiques issues de la littérature sont ainsi directement utilisées pour établir les NQE. La détermination des critères d'effets uniquement à partir des données de la littérature constitue un point critique. Cette approche présente la lacune d'une faible représentativité écologique. La révision des NQE passera probablement à l'avenir par la mise en œuvre d'une mesure des effets biologiques sur des organismes modèles exposés dans leur habitat naturel.

## Chapitre 2 : Etat de la contamination en estuaire de Seine

Parmi les substances génotoxiques connues, seuls les HAP ont fait l'objet d'une étude approfondie en estuaire de Seine mais il est vraisemblable que beaucoup d'autres molécules génotoxiques et/ou cancérigènes soient présentes dans la colonne d'eau ou les sédiments de l'estuaire de Seine.

### Contamination des compartiments abiotiques

#### La colonne d'eau

##### ➤ Variabilité temporelle

Les HAP ont été quantifiés lors de campagnes réalisées au Pont de Tancarville en 2002-2003. La technique de dosage des HAP classiquement utilisée pour déterminer les concentrations en HAP dans les échantillons est la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Deux phases ont donc été analysées : la phase dissoute et la phase particulaire (Cailleaud et al., 2007).

Les concentrations en HAP dans la colonne d'eau varient entre 150 et 400 ng.L<sup>-1</sup> (figure 3). Les MES (matières en suspension) représentent 95% du contenu en HAP dans la colonne d'eau. La concentration en HAP dans la colonne d'eau est corrélée à la teneur en particules de l'eau (facteur de corrélation de 0.94). Ces données prouvent l'influence des MES dans la contamination de la colonne d'eau par les HAP. Par ailleurs, il a été observé que le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène sont les principaux HAP représentés dans la phase dissoute. Les composés adsorbés aux particules concernent principalement le pyrène et les composés penta-aromatiques tels que le benzo(k)fluoranthène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(e)pyrène, le benzo(a)pyrène et l'indénopyrène (Cailleaud et al., 2007).

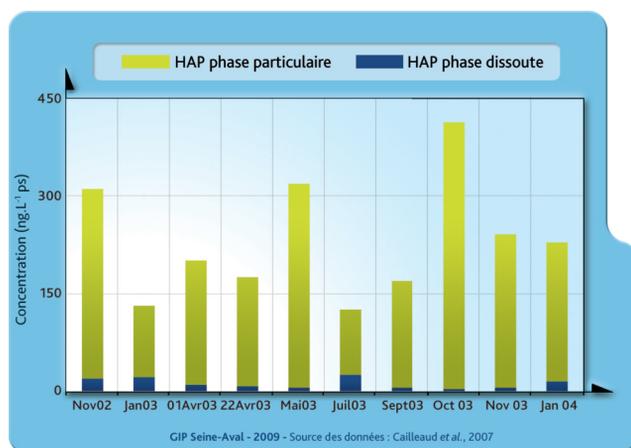


Figure 3 : Evolution des concentrations en HAP dans la phase dissoute et la phase particulaire de l'estuaire de Seine au niveau du pont de Tancarville. HAP dosés : PHE, ANT, FTH, PYR, BaA, BaP, 3-méthylphénanthrène, 2-méthylphénanthrène, 2-méthylanthracène, 9-méthylphénanthrène, 1-méthylphénanthrène, CHR+TRI, BkF+BbF, BeP, Pérylène, IcdP, DahA, BghiP.

En 2004, une étude plus fine sur un cycle de marée au niveau d'un point fixe situé également au niveau du Pont de Tancarville a été réalisée. Des prélèvements d'eau ont été effectués en surface et à proximité du fond pour différentes salinités. Les résultats sont présentés dans la figure 4. Au cours d'un cycle de marée, les concentrations en HAP dans la phase particulaire varient du simple au double de 2000 ng.g<sup>-1</sup> à 4000 ng.g<sup>-1</sup> (figure 4A). Les concentrations en HAP totaux, phase particulaire et phase dissoute combinée, varient encore plus largement de 100 à 1800 ng.L<sup>-1</sup> au cours du cycle de marée (figure 4B). Ces variations sont à mettre en relation avec les fluctuations de la vitesse du courant au cours du cycle de marée qui conditionnent les fluctuations du débit et du flux particulaire.

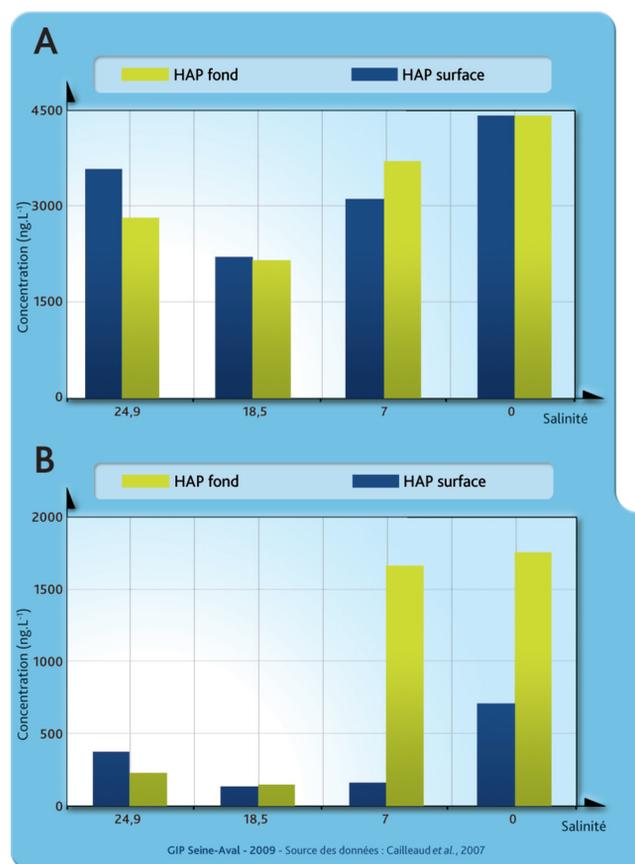


Figure 4 : Evolution de la concentration en HAP particulières (A) et HAP totaux (particulières + dissous) (B) au cours d'un cycle de marée en point fixe au Pont de Tancarville HAP dosés : NAPH, Acénaphthylène, ACE, FLU, PHE, ANT, FTH, PYR, BaA, CHR+TRI, BbF+BjF+BkF, BaP, BeP, Pérylène, IcdP, DahA, DacA, BghiP.

##### ➤ Distribution spatiale

Des prélèvements ont été effectués en octobre 1993 sur l'ensemble du cours de l'estuaire pour quantifier les HAP

dans la phase dissoute et dans la phase particulaire (Fernandes et al, 1997). Les concentrations en HAP dans le matériel particulaire sont comprises entre 2 et 687 ng.L<sup>-1</sup> avec une moyenne de 204 ng.L<sup>-1</sup> (figure 5). Elles sont significativement corrélées à la concentration en MES dans le milieu ( $r^2=0,91$ ). Elles sont maximales à Vieux-Port au niveau du bouchon vaseux. Les HAP majoritaires dans cette phase sont les benzofluoranthènes, le fluoranthène et le pyrène.

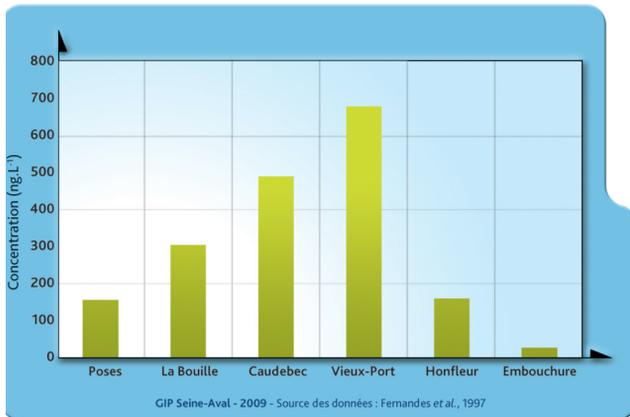


Figure 5 : Concentrations en HAP dans la phase particulaire au niveau de différents points de prélèvement de l'estuaire de Seine. HAP dosés : PHE, FTH, PYR, CHR+TRI, BaA, BbF+BkF+BjF, BaP, BeP, IcdP, BghiP, méthyl-phénanthrènes.

Les concentrations en HAP dans la phase dissoute sont beaucoup plus faibles que dans la phase particulaire et décroissent très nettement avec la salinité. Elles varient de 33 ng.L<sup>-1</sup> au niveau du barrage de Poses à 4 ng.L<sup>-1</sup> au niveau d'Antifer avec une moyenne de 20 ng.L<sup>-1</sup> (figure 6). Ces concentrations sont significativement corrélées à la salinité ( $r^2=0,88$ ). Le phénanthrène, le pyrène et le fluoranthène sont les HAP prédominants.

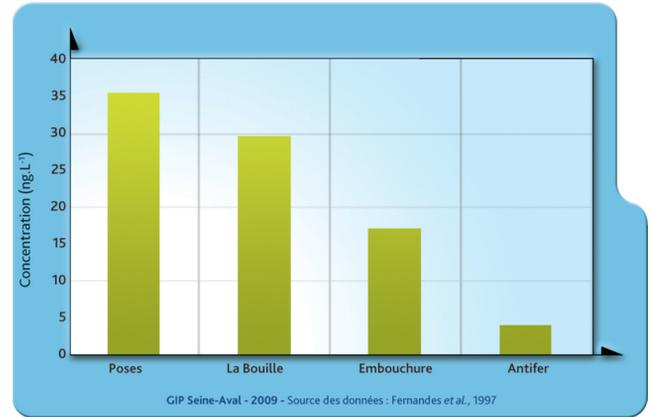


Figure 6 : Concentrations en HAP dans la phase dissoute sur différents points de prélèvement de l'estuaire de Seine. HAP dosés : PHE, FTH, PYR, CHR+TRI, BaA, BbF+BkF+BjF, BaP, BeP, IcdP, BghiP, méthyl-phénanthrènes.

### Le compartiment sédimentaire

Les distributions spatiales et temporelles des HAP dans les sédiments ont fait l'objet de plusieurs études couvrant l'ensemble de l'estuaire de Seine (figure 7). Le site d'Yville-sur-Seine correspond à des gravières sans connection directe avec la Seine, il représente à ce titre un site de référence peu contaminé.

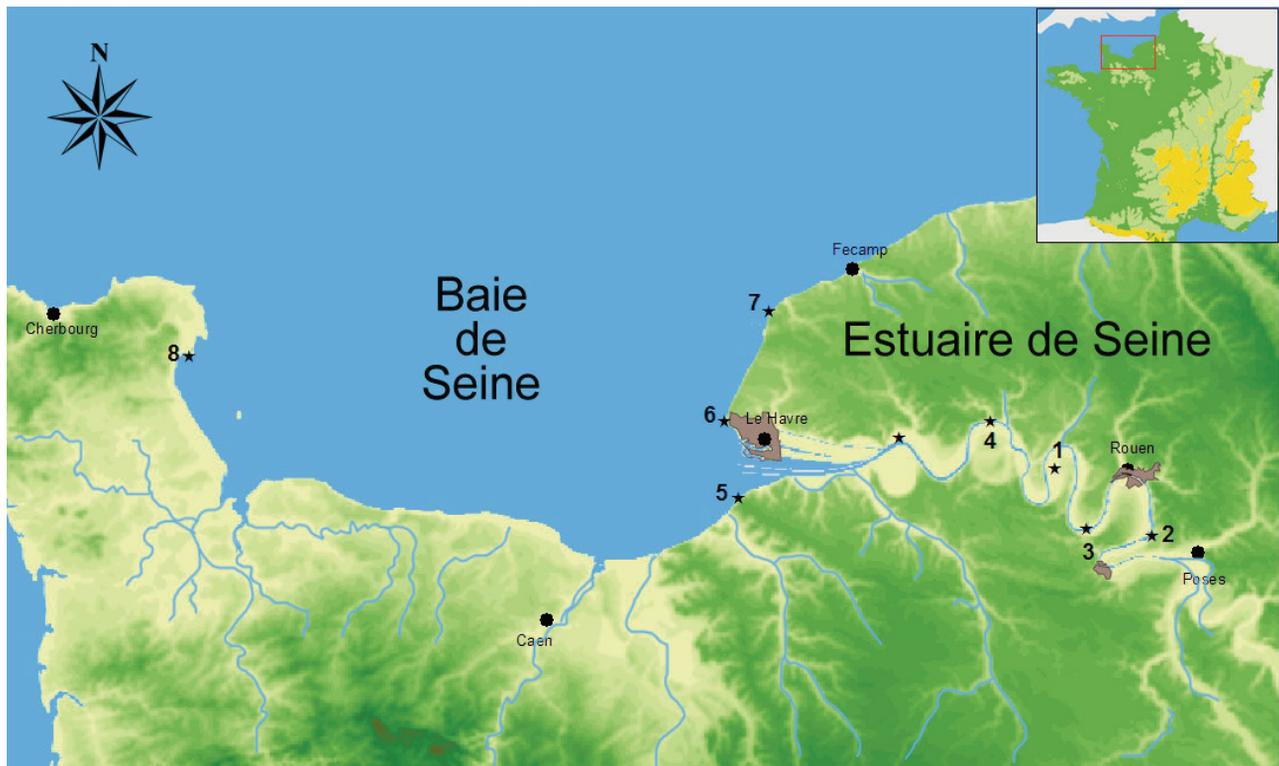


Figure 7 : Localisation des points de prélèvement de sédiments et de bivalves en estuaire de Seine et baie de Seine au cours des campagnes de juin 2001 et juin 2003. (1) Gravière d'Yville-sur-Seine (site de référence), (2) Oissel, (3) La Bouille, (4) Caudebec, (5) Villerville, (6) Le Havre, (7) Antifer, (8) Le Moulard (site de référence).

➤ Variabilité temporelle

Des prélèvements de sédiments ont été effectués à cinq reprises de 2001 à 2003 au niveau de cinq sites de la partie amont de l'estuaire de Seine : Poses, Oissel, l'Île Lacroix (Rouen) et La Bouille. Les teneurs en HAP totaux dans les sédiments de la partie amont de l'estuaire varient de 2 000 à 37 000 ng.g<sup>-1</sup> en poids sec (figure 8). La variabilité est très importante d'une saison à l'autre et d'une année à l'autre mais on peut néanmoins qualifier la contamination par les HAP d'élévée. Les HAP prédominants sont le fluoranthène, le pyrène, et les benzofluoranthènes. A contrario, au niveau du site d'Yville-sur-Seine des concentrations beaucoup plus faibles (<100 ng.g<sup>-1</sup> ps) ont été relevées (Narbonne et al, 2004).

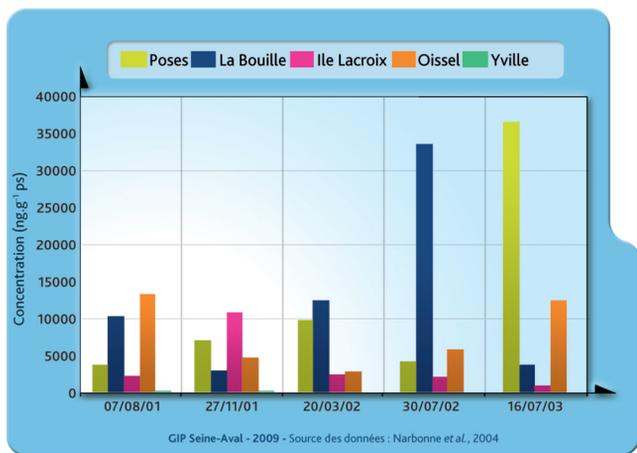


Figure 8 : Variations temporelles de la concentration en HAP dans les sédiments de l'estuaire de Seine. HAP dosés : PHE, ANT, FTH, PYR, BaA, CHR+triphénylène, BbF+BkF+BjF, Benzo(e)pyrène, BaP, Pérylène, IcdP, BghiP, DahA+DacA.

➤ Distribution spatiale

Afin de dresser une cartographie du risque génotoxique, des prélèvements de sédiments ont été réalisés en juin 2001 et juin 2003 au niveau de dix points (figure 7) dans l'estuaire et la baie de Seine.

Des teneurs élevées en HAP ont été relevées dans les sédiments de Oissel et dans une moindre mesure dans ceux de la Bouille (figure 9). On remarque également une décroissance amont-aval marquée. Les sédiments des sites qui ne sont pas sous l'emprise directe du panache de Seine, tel que le site d'Antifer et le site de référence d'Yville-sur-Seine, renferment peu ou pas de HAP. Les HAP prédominants sont le fluoranthène, le benzo(a)pyrène et les benzofluoranthènes. On note quel que soit le sédiment considéré, des proportions élevées et relativement constantes de HAP mutagènes (68 à 79%) et de HAP cancérogènes (35,3 à 41,6%) (Cachot et al, 2006).

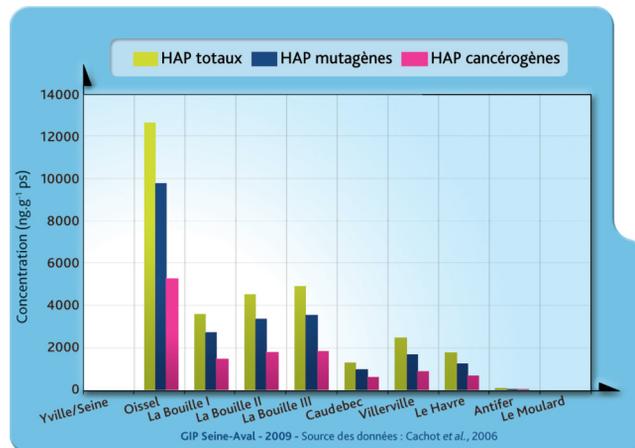


Figure 9 : Concentrations en HAP totaux, en HAP mutagènes et en HAP cancérogènes dans les sédiments de l'estuaire et de l'embouchure de Seine en juin 2003. HAP totaux : Acénaphthylène, ACE, FLU, FTH, ANT, PHE, PYR, BaA, CHR+TRI, BaP, BeP, BbF+BkF+BjF, BghiP, IcdP, DahA +DacA, BghiP. HAP mutagènes : PHE, FTH, BaA, CHR+TRI, BbF+BjF+BkF, BaP, IcdP, DahA+DacA, BghiP. HAP cancérogènes : BaA, BbF+BjF+BkF, BaP, IcdP, DahA+DacA.

Sources et flux

Les rapports moléculaires

Comme nous l'avons vu précédemment (chapitre 1), les HAP ont deux origines principales, pyrogénique ou pétrogénique qui se caractérisent par des signatures chimiques spécifiques.

Afin de tenter d'identifier la source de la contamination, des auteurs ont proposé de calculer les rapports caractéristiques entre isomères\* structuraux. Selon les valeurs de ces rapports de concentrations, il devient possible d'identifier la source majoritaire de HAP (Tableau 10).

Dans les matières en suspension, les HAP sont majoritairement d'origine pyrogénique avec des composés de haut poids moléculaire alors que dans la phase dissoute, les HAP auraient une double origine : pyrogénique et pétrogénique. (Cailleaud et al, 2004).

Dans les sédiments, les profils des composés aromatiques montrent globalement un profil d'origine pyrogénique avec une légère prédominance des composés à quatre cycles aromatiques et plus (Cachot et al, 2006).

	PHE/ANT	FTH/PYR	CHR/BaA	BeP/BaP
Source pyrogénique	1-10	>1	<1	<2
Source pétrogénique	>25	<1	>1	>5
Référence	Carrigues et al, 1995	Soclo, 1986	Sicre et al, 1987 Raoux, 1991	Broyelle, 1997

Tableau 10 : Rapports moléculaires caractéristiques permettant l'identification des sources majoritaires de HAP

### Le rôle du compartiment atmosphérique

Les dépôts atmosphériques s'opèrent selon deux types de processus : les dépôts secs et les dépôts humides. Dans le cas des précipitations, les composés se trouvent dissous dans les précipitations ou associés aux aérosols\* atmosphériques qui sont lessivés par les pluies. En cas de dépôt sec, le composé est déposé au sol par turbulence atmosphérique ou par gravitation s'il se trouve associé à des particules.

Motelay-Massei et ses collaborateurs (2003) ont mené des études pour déterminer les concentrations en HAP dans les retombées atmosphériques. Les dépôts atmosphériques totaux, c'est-à-dire la somme des retombées humides et sèches, ont été suivis entre mars 2001 et mars 2002 au niveau de quatre sites : la zone industrielle du Havre, Notre-Dame de Gravenchon et Rouen, des zones urbaines avec une importante pression industrielle et enfin, une zone rurale en périphérie de ville à Evreux.

La somme des concentrations des 14 HAP mesurés montre une grande variabilité spatiale avec des flux annuels de 31, 53, 58, et 104 µg.m<sup>-2</sup> respectivement à Notre-Dame de Gravenchon, Evreux, Rouen et Le Havre. Les HAP prédominants sont néanmoins dans tous les cas le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène.

Par ailleurs ces concentrations en HAP présentent une variabilité saisonnière importante (figure 10). Durant les périodes froides, les concentrations sont plus de deux fois supérieures à celles mesurées lors des périodes plus chaudes. Ceci peut s'expliquer par la contribution importante du chauffage domestique, l'augmentation des émissions automobiles, la baisse de l'intensité lumineuse qui entraîne une diminution de la dégradation photolytique ou encore l'augmentation du coefficient de lessivage atmosphérique (Motelay-Massei et al, 2003).

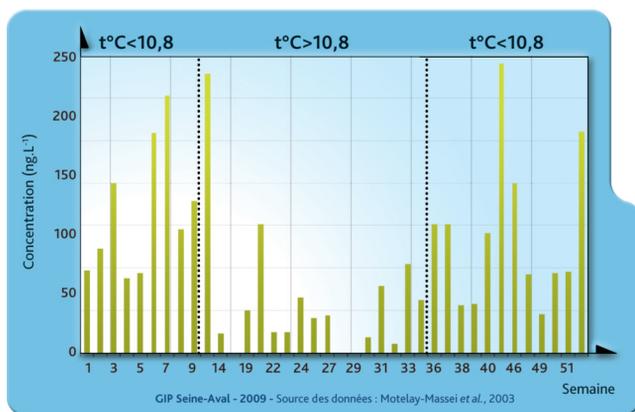


Figure 10 : Evolution temporelle de la concentration en HAP dans les dépôts atmosphériques à Evreux de mars 2001 à mars 2002. HAP dosés : PYR, FTH, ANT, PHE, FLU, ACE, IcdP, BghiP, DahA, BaP, BkF, BbF, CHR, BaA

L'influence des paramètres météorologiques est importante dans l'apport en HAP par le compartiment atmosphérique. Les concentrations en HAP légers sont positivement corrélées aux précipitations, c'est-à-dire que

lorsque les précipitations augmentent, la proportion en composés les plus légers devient plus importante (Motelay-Massei, 2003). Ainsi, sur deux semaines présentant des conditions climatiques proches (température et vent), on constate que les composés les plus légers représentent 52% de la concentration totale en HAP durant la semaine la plus sèche (10,6 mm de précipitations) contre 70 % pour la semaine la plus humide (23,4 mm de précipitations). Les HAP les plus lourds sont donc lessivés en premier, puis, lorsque les précipitations augmentent, le lessivage des HAP les plus légers est plus efficace (figure 11).

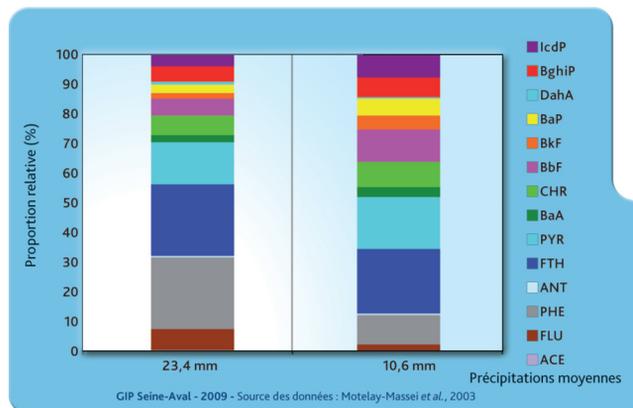


Figure 11 : Distribution relative des HAP en fonction des précipitations moyennes à Evreux entre mars 2001 et mars 2002.

### Estimation des flux de HAP à Poses

Des dosages de HAP particuliers ont été effectués à Poses durant six mois en 2005 pour quantifier les flux de HAP associés aux MES. Une relation linéaire a été observée entre les concentrations en MES et la somme de six HAP (Benzo(a)pyrène, Benzo(b)fluoranthène, Benzo(ghi)pérylène, Benzo(k)fluoranthène, Fluoranthène, Indéno(1,2,3-cd)pyrène). Cette relation a été appliquée pour déterminer à partir des valeurs de MES les flux de HAP à Poses entre 1999 et 2004 (Tableau 11). Ce flux apparaît deux à trois fois plus faible en 2003 et 2004 par rapport aux années précédentes ce qui est probablement lié à des débits anormalement faibles de la Seine durant le printemps et l'été 2003 et le printemps 2004.

Année	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Flux Σ6 HAP en kg	1683	1397	1385	1551	567	699

Tableau 11 : Flux de Σ6 HAP à Poses de 1999 à 2004 (Olivon et al, 2005)

La distribution relative des HAP dans la phase particulaire au barrage de Poses fait apparaître la présence majoritaire du fluoranthène (Figure 12).

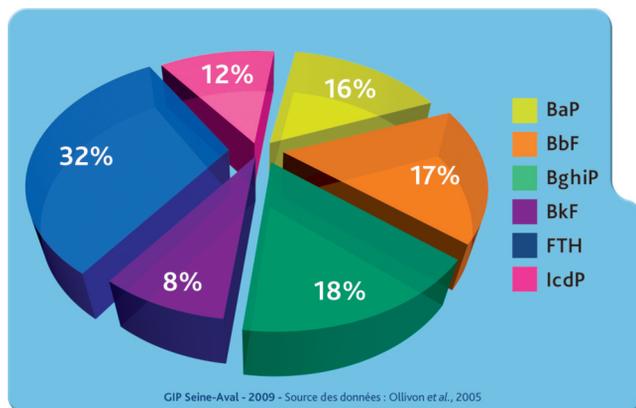


Figure 12 : Distributions relatives de six HAP dans la phase particulaire à Poses en 2005

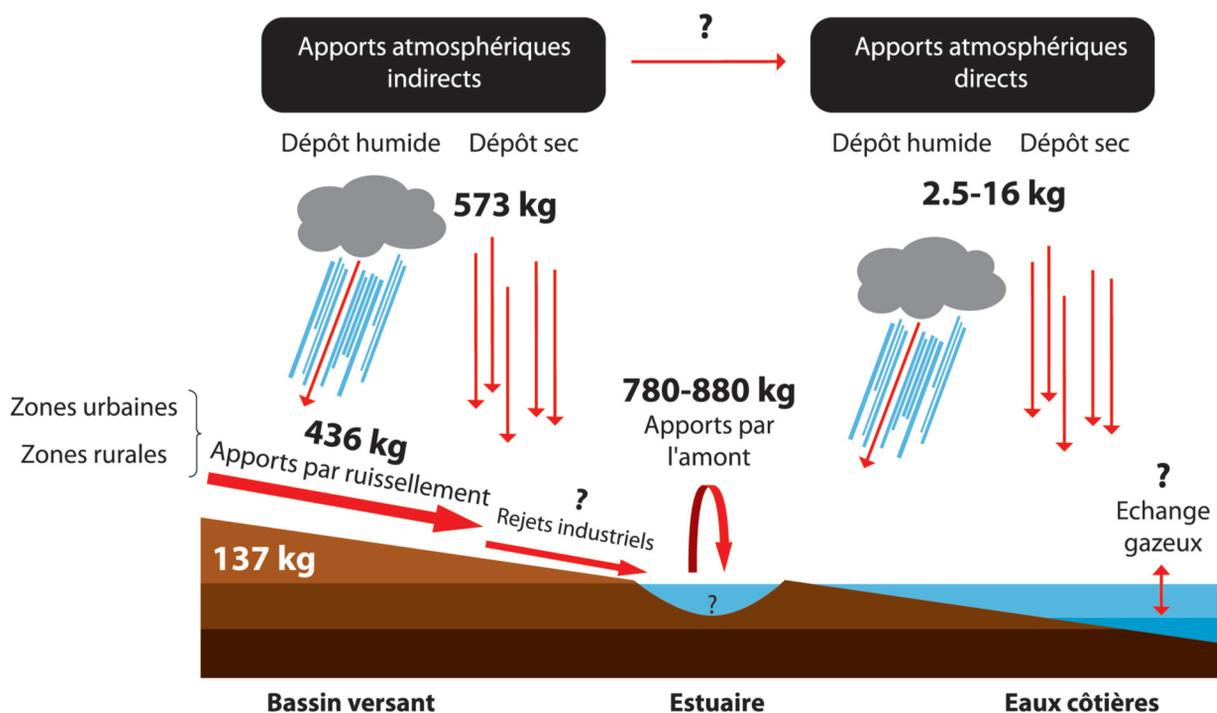
### Bilan des flux

Deux sites ateliers ont été choisis afin d'établir les flux de HAP dans l'air, dans les dépôts atmosphériques et dans les eaux de rivière ou dans les collecteurs d'eaux pluviales. Les deux sites étudiés sont d'une part, un site urbain (centre ville du Havre) et d'autre part, un site rural sous l'influence des retombées atmosphériques de Port Jérôme (Norville). Un suivi bimensuel des concentrations en HAP dans les quatre compartiments étudiés a été réal-

isé entre avril 2002 et avril 2003 (Motelay-Massei et al, 2007).

Il ressort de cette étude que l'atmosphère est bien sûr plus contaminée en HAP en zone urbaine qu'en zone rurale. Cependant, la présence de teneurs relativement élevées de HAP dans les eaux de surface de la zone rurale confirme l'existence d'un transport de moyenne portée entre les sites urbains et industriels et les sites plus éloignés.

En sommant les dépôts au Havre et à Norville, les apports atmosphériques indirects de HAP au bassin versant de l'estuaire de Seine ont été estimés à 573 kg.an<sup>-1</sup>. On estime que 90% de la masse exportée de HAP est traitée dans les stations d'épuration. Dans ce cas, les apports en HAP par ruissellement ont été estimés à 436 kg.an<sup>-1</sup>. Ainsi, si 573 kg de HAP sont apportés par voie atmosphérique et 436 kg, par ruissellement, chaque année, 137 kg de HAP sont stockés dans les sols. Pour estimer les apports provenant de l'amont, les flux ont été calculés à partir des concentrations moyennes établies à Poses dans les eaux brutes et les matières en suspension. Il en résulte un apport amont compris entre 780 et 880 kg.an<sup>-1</sup> pour la période 2002-2003 (figure 13). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par Ollivon et ses collaborateurs (2005).



GIP Seine-Aval - 2009 - Source des données : Motelay-Massei et al., 2007

Figure 13 : Bilan des apports en HAP dans l'estuaire de Seine en 2002-2003



## Chapitre 3 : Evaluation du risque génotoxique en estuaire de Seine

### Potentiel génotoxique des sédiments

Le potentiel génotoxique a été mesuré par le SOS Chromotest à partir d'extraits organiques de sédiments collectés en juin 2001 et juin 2003 au niveau de sept sites de l'estuaire et de l'embouchure de la Seine : Oissel, La Bouille, Caudebec ou Quillebeuf, Villerville, Le Havre, Antifer et Yville-sur-Seine en guise de site de référence. Tous les sédiments collectés dans l'estuaire et à l'embouchure de Seine apparaissent clairement génotoxiques alors que ceux prélevés en baie de Seine et sur le site d'Yville-sur-Seine ne le sont pas (figure 14). Cette génotoxicité a été révélée uniquement après ajout d'une fraction microsomaire enrichie en cytochromes P450 ce qui suppose qu'elle résultait de l'activité de composés organiques pro-génotoxiques (Cachot et al, 2006).

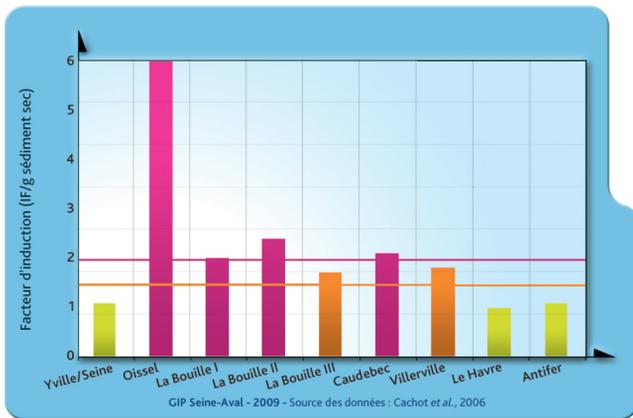


Figure 14 : Potentiel génotoxique d'extraits organiques de sédiments prélevés dans l'estuaire de Seine en juin 2003. Ces mesures ont été réalisées au moyen du SOS Chromotest après bioactivation des pro-génotoxiques avec une fraction hépatique S9. En rose, orange et vert, échantillons génotoxiques, moyennement génotoxiques et non génotoxiques respectivement.

Afin d'évaluer les niveaux de danger associés aux composés génotoxiques, une grille de cotation de danger a été établie. Le niveau de contamination est déterminé par les concentrations cumulées en HAP génotoxiques dans les sédiments (BaP+BaA+BbF+BjF+BkF+DahA+DacA+IP). Le potentiel génotoxique est qualifié de « faible » si le facteur d'induction obtenu avec le SOS Chromotest est inférieur à 1,5, « modéré » si le facteur d'induction est compris entre 1,5 et 2 et « élevé » si le facteur d'induction est supérieur à 2. Une grille de cotation comprenant quatre niveaux de danger, a ainsi été construite (Tableau 12).

		Niveau de contamination		
		Faible	Moyen	Elevé
Potentiel génotoxique	Faible	1	1	2
	Modéré	1	2	3
	Elevé	2	3	4

Tableau 12 : Grille des niveaux de danger en fonction du niveau de contamination et du potentiel génotoxique du sédiment étudié.

Cette grille a été utilisée pour évaluer le danger génotoxique en estuaire et baie de Seine. Il apparaît clairement que les sédiments des trois sites de l'estuaire et dans une moindre mesure, ceux de Villerville, représentent un niveau de danger élevé (Tableau 13).

Sites	Somme des HAP génotoxiques (ng.g <sup>-1</sup> p.s.)	IF SOS Chromotest	Niveau de danger
Yville-sur-Seine	5	1,1	1
Oissel	5201	6	4
La Bouille	1676	2,1	3
Caudebec	579	2,1	3
Villerville	867	1,8	2
Le Havre	664	1	1
Antifer	30	1,1	1

Tableau 13 : Cotation du danger génotoxique au niveau de différents sites de l'estuaire et de la baie de Seine.

### Evaluation du risque génotoxique pour les mollusques bivalves

#### Contamination des bivalves par les HAP

Des prélèvements de dreissènes et de moules bleues ont été réalisés en juin 2003 et 2004 sur huit sites : trois sites de l'estuaire de Seine (Oissel, La Bouille, Caudebec), trois sites au niveau de l'embouchure (Villerville, Le Havre, Antifer), un site de référence situé à Yville-sur-Seine pour les dreissènes et un site de référence pour les moules bleues à la pointe du Moulard. (figure 16)

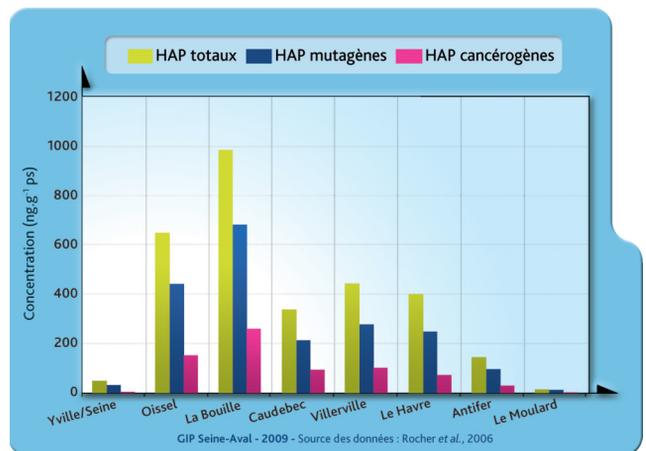


Figure 16 : Teneurs moyennes en HAP dans les tissus de moules bleues et de dreissènes prélevées en estuaire et baie de Seine en juin 2003 et juin 2004. HAP dosés : NAPH, ACE, Acénaphthylène, FLU, PHE, FTH, ANT, PYR, BaA, CHR+triphénylène, BbF+BkF+BjF, BaP, BeP, Pérylène, BghiP, IcdP, DahA+DacA

Les dreissènes de la partie amont sont deux à trois fois plus chargées en HAP que ne le sont les dreissènes de la partie aval de l'estuaire (figure 16). Les teneurs en HAP (somme de 21 HAP) atteignent 1000 ng.g<sup>-1</sup> de poids sec

à La Bouille. Ces mêmes dreissènes sont en moyenne 3 à 17 fois plus contaminées que les moules bleues de l'embouchure de Seine (Rocher et al, 2006).

Quatre campagnes de prélèvements de dreissènes réalisées entre juin 1997 et septembre 1998 sur cinq sites de l'estuaire (Poses, Oissel, Rouen, La Bouille, Le Landin, et Vieux port) ont révélé des teneurs tissulaires en HAP (somme de 14 HAP) du même ordre de grandeur comprises entre 290 et 1300 ng.g<sup>-1</sup> ps (Jaouen-Madoulet, 2000, Minier et al, 2006).

### Intégrité de l'ADN des mollusques bivalves

#### ➤ Les cassures de l'ADN

Afin d'évaluer l'ampleur du stress génotoxique subi par les bivalves de l'estuaire et de l'embouchure de Seine, le test des comètes a été pratiqué sur les hémocytes\* de bivalves collectés au niveau de 8 sites répartis sur l'ensemble de la zone d'étude (figure 7). Une trentaine d'individus a été analysée individuellement pour chaque site.

Quel que soit le site considéré, des taux très élevés de comètes ont été mesurés chez les dreissènes et dans une moindre proportion chez les moules bleues (figure 18). Aucune différence significative ne se dégage d'un site à l'autre. La forte proportion de noyaux atypiques qui dépasse les 70 % est associée à un nombre élevé de cellules nécrotiques\* ou apoptotiques\*. Ces dommages ne sont probablement pas la conséquence d'effets génotoxiques attribuables à la pollution mais traduisent plus vraisemblablement un stress physiologique global qui pourrait être associé à des températures anormalement élevées et à des débits particulièrement faibles des eaux de la Seine durant le printemps et l'été 2003 (Rocher et al, 2006). Il est à noter que des mortalités massives de dreissènes et de moules bleues ont été observées dans l'estuaire et l'embouchure de Seine au cours de l'été 2003.

#### ➤ Les adduits à l'ADN

Le dosage des adduits à l'ADN a été réalisé par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P sur des glandes digestives de dreissènes et de moules bleues prélevées sur les 8 sites de l'estuaire et de l'embouchure de Seine décrits précédemment (figure 7).



Figure 19 : Taux moyen d'adduits à l'ADN dans la glande digestive de bivalves collectés dans l'estuaire et l'embouchure de Seine en juin 2002 et juin 2003. Les dosages ont été réalisés par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P à partir de trois pools de tissu par site.

En juin 2002, des taux significativement plus importants d'adduits ainsi qu'une plus grande diversité d'adduits ont été mesurés dans les dreissènes collectées à Oissel et La Bouille par rapport à Yville-sur-Seine. Un net déclin du taux d'adduits a été observé en juin 2003 et plus aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les sites estuariens (figure 19).

Les moules bleues présentent un taux moyen d'adduits significativement plus important que les dreissènes. Néan-

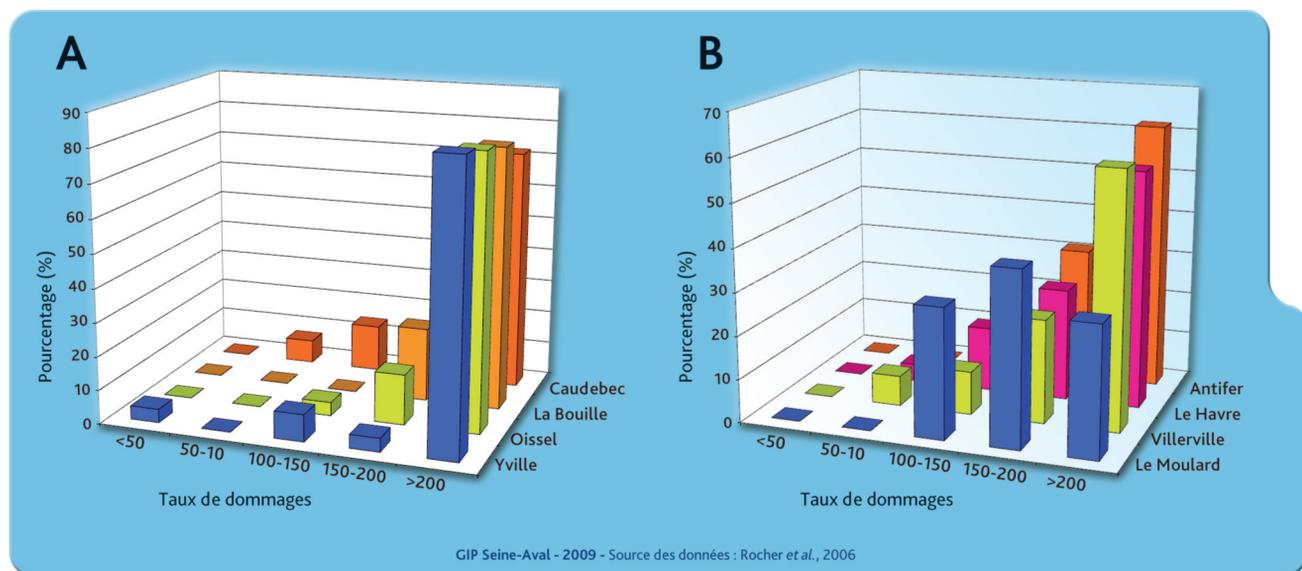


Figure 18 : Taux de noyaux endommagés parmi les hémocytes de dreissènes (A) ou de moules bleues (B) collectées en juin 2003 dans l'estuaire et la baie de Seine.

## Mollusques bivalves

Les moules sont des mollusques bivalves filtreurs qui se nourrissent de plancton et de matières organiques. Ils ont tendance à accumuler les contaminants issus de la colonne d'eau et du matériel particulaire. Leur mode de nutrition par filtration, leur large répartition et leur abondance, leur relative tolérance aux fluctuations du milieu et à la pollution et enfin leur faible capacité de métabolisation des polluants font des bivalves des espèces sentinelles de choix pour la surveillance biologique de la contamination des milieux aquatiques. Les moules peuvent intégrer les fluctuations des niveaux de contamination sur le court terme et les concentrations dans les tissus reflètent les phases de contamination qui ne peuvent être détectées par l'analyse en routine de la qualité de l'eau.

La moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* communément appelée dreissène ou moule zébrée est originaire de la mer Noire et de la mer Caspienne, elle a été disséminée par les ballasts des bateaux dans un grand nombre d'écosystèmes d'eau douce d'Europe et d'Amérique du nord. *Mytilus edulis*, appelée également moule bleue, est un bivalve marin qui vit en zone intertidale\* et dans les eaux peu profondes où elle se fixe sur divers substrats durs.

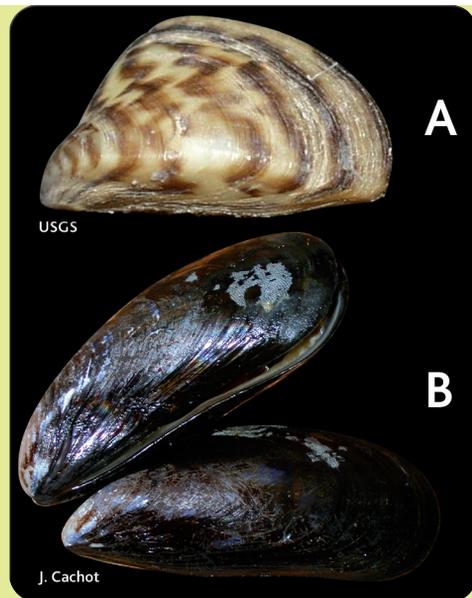


Figure 15 : Mollusques bivalves d'eau douce, *Dreissena polymorpha* (A) ou marin, *Mytilus edulis* (B)

## Le test des comètes

Le test des comètes est une technique simple, rapide, et sensible permettant de quantifier les cassures simple- et double-brins de l'ADN et les sites alcali-labiles au niveau de cellules individualisées (Ostling et Johanson, 1984).

Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique ou lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou encore lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN intervenant par exemple au cours de la mort cellulaire programmée.

Ce test consiste à séparer les noyaux de cellules isolées dans un champ électrophorétique, en milieu fortement alcalin. Les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent alors une forme de comète (les fragments d'ADN les plus petits migrant le plus loin) tandis que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé apparaissent sous forme d'un disque régulier. Une évaluation semi-quantitative (classement en quatre catégories) ou quantitative (évaluation du tail-moment) des taux de dommages peut ensuite être réalisée.

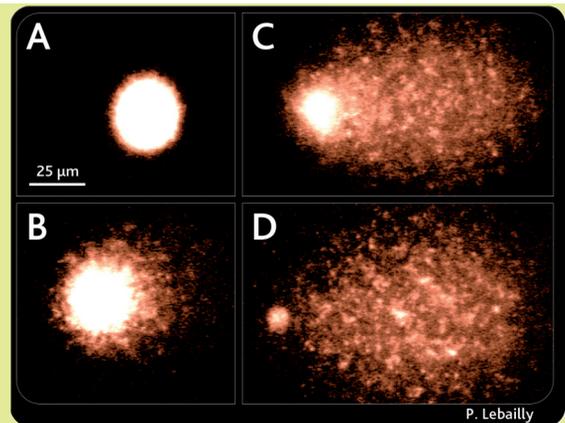


Figure 17 : Photographie de (A) noyau intact, (B) légère comète, (C) comète, (D) noyau atypique

## Dosage des adduits à l'ADN par la méthode du post-marquage au $^{32}\text{P}$

Ce test permet le dosage des adduits encombrants à l'ADN résultant de la fixation covalente d'un génotoxique électrophile sur un site nucléophile d'une base de l'ADN. L'ADN est extrait puis purifié avant d'être totalement hydrolysé en nucléotides simples par l'action de deux enzymes, une endonucléase et une exonucléase. Le milieu réactionnel contient alors un mélange de nucléotides normaux (en très grand nombre) et modifiés (les adduits, peu abondants). L'étape d'enrichissement réalisée par action de la nucléase P1 va permettre de cibler le marquage radioactif sur les adduits en empêchant ce marquage radioactif sur les nucléotides normaux. En effet, la nucléase P1 va induire la déphosphorylation en 3' des nucléotides normaux, tandis que les adduits ne sont plus reconnus comme substrat de cette enzyme en raison de leurs mod-

ifications structurales. Dans l'étape suivante de marquage au  $^{32}\text{P}$ , catalysée par la T4 polynucléotide kinase, seuls les adduits encore porteurs d'un phosphate coté 3' pourront alors être marqués côté 5'. Les adduits de structures différentes éventuellement présents dans un même échantillon sont ensuite séparés par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince.

La visualisation des adduits se fait par autoradiographie et la quantification est réalisée après repérage des zones d'intérêt soit à l'aide d'un bioimager, soit à l'aide d'un compteur à scintillation. Les résultats s'expriment en général en taux relatifs d'adduits (ou RAL, exprimé pour  $10^8$  ou  $10^9$  nucléotides normaux), c'est-à-dire en nombre d'adduits dans l'échantillon rapporté au nombre de nucléotides normaux dans une quantité équivalente d'ADN.

moins, aucune différence significative n'est apparue entre les sites de Villerville, Le Havre et Antifer. Un taux particulièrement élevé d'adduit (x40) a été mesuré dans les moules de la pointe du Moulard. Ce résultat inattendu pourrait résulter de l'exposition à des génotoxiques qui n'auraient pas été pris en compte dans l'étude (pesticides organochlorés) et/ou à la présence avérée de teneurs tissulaires importantes en arsénic, un métal qui est connu pour inhiber les enzymes de réparation de l'ADN (Rocher et al, 2006).

### Diversité génétique des populations de bivalves

Dans le but de déterminer si les atteintes décrites précédemment au niveau individuel peuvent avoir des répercussions au niveau populationnel, la diversité génétique des colonies de moules bleues et de dreissènes a été évaluée sur chacun des sites décrits précédemment. Cette diversité a été étudiée au travers de l'étude du polymorphisme\* génétique au niveau de plusieurs allozymes\* ; ces marqueurs génétiques étant considérés comme pertinents pour détecter des modifications possibles de la diversité génétique au sein des populations naturelles de mollusques et poissons soumises aux stress chimiques (Marchand et al, 2003). Des extraits protéiques ont été préparés à partir des muscles adducteurs et des glandes digestives des bivalves.

Il semblerait que l'hétérozygotie\* la plus forte soit associée aux sites les plus contaminés (moules bleues) ou aux sites les plus en aval de l'estuaire (dreissènes) (Minier et al, 2005). Une hypothèse a été développée sur la pression de sélection possible exercée par le cocktail polluant sur les bivalves qui aboutirait au maintien préférentiel des individus les plus hétérozygotes, dans ces systèmes très contaminés. La fitness supérieure des hétérozygotes pourrait être notamment liée à leur plus forte capacité à conserver l'intégrité de leur ADN, conduisant à une génotoxicité réduite au niveau des cellules circulantes ; ce phénomène a déjà été observé sur un poisson plat, le flet, dans le système Seine (Marchand et al, 2003). La différenciation génétique des populations de dreissènes apparaît peu marquée. Ce phénomène pourrait être la conséquence d'une recolonisation progressive de l'estu-

### *Eurytemora affinis*

*Eurytemora affinis* compte parmi les espèces de copépode les plus abondantes en milieu estuarien. Ce copépode planctonique est l'espèce dominante du méso-zooplancton de la plupart des estuaires européens et nord-américains. En effet, cette espèce est présente dans plusieurs régions tempérées froides d'Europe, des côtes atlantiques françaises jusqu'en mer de Barents, au niveau des côtes du continent nord-américain ainsi que dans certaines régions asiatiques. Cette espèce, qui possède un cycle biologique court, est distribuée dans tout l'estuaire de Seine, mais est quasiment monospécifique (pour le maillon zooplanctonique) dans la zone oligohaline\*. Elle est essentiellement consommée par la crevette *Palaemon longiristris* et les poissons gobiidés du genre *Pomatoschistus* qui sont, à leur tour, consommés par des espèces commerciales telles que le bar. *Eurytemora affinis* offre la possibilité d'être élevé en laboratoire pour ainsi, réaliser des expériences dans des conditions contrôlées. De part sa très large répartition géographique, des comparaisons inter-estuariennes sont possibles.

aire par un nombre réduit de géniteurs après les mortalités massives de l'été 2003. Chez les moules bleues, en revanche, on observe une structuration Nord/Sud marquée. Elle serait associée à un flux larvaire entre Le Moulard et Villerville d'une part et Le Havre et Antifer d'autre part. Par ailleurs, une baisse convergente dans les fréquences de certains allèles au niveau de trois locus\* a été mise en évidence chez les moules de Villerville et du Havre c'est-à-dire sur les sites les plus contaminés. Cette baisse pourrait être liée à une pression de contre-sélection exercée par les contaminants sur certains allèles dits « de sensibilité » à la contamination chimique (Cachot et al, 2004).

### Evaluation de l'exposition du micro-crustacé *Eurytemora affinis* aux HAP

Des prélèvements mensuels d'*Eurytemora affinis* ont été réalisés de novembre 2002 à février 2005 dans la zone géographique de Tancarville.

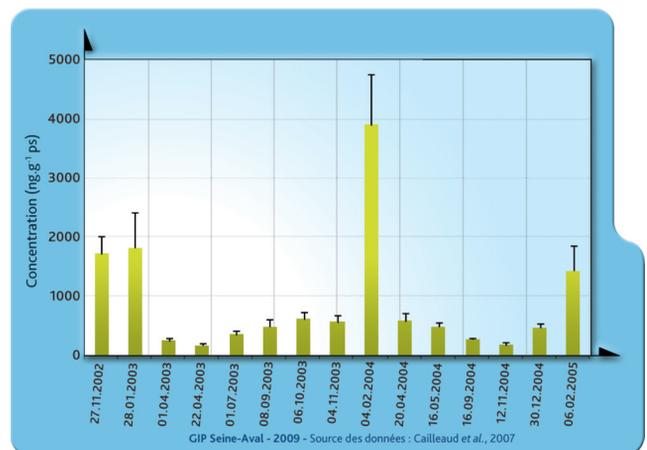


Figure 20 : Evolution des concentrations tissulaires de la somme de 21 HAP dans les copépodes *E. affinis* pêchés au pont de Tancarville. Les résultats correspondent à la moyenne ± écart-type. HAP dosés : PHE, ANT, FTH, PYR, BaA, BaP, 3-méthylphénanthrène, 2-méthylphénanthrène, 2-méthylantracène, 9-méthylphénanthrène, 1-méthylphénanthrène, TRI+CHR, BkF+BbF, BeP, Pérylène, IcdP, DahA, BghiP.



Figure 21 : femelle ovigère du copépode *Eurytemora affinis*.

Les concentrations tissulaires en HAP apparaissent très variables d'une saison à l'autre (figure 20). Elles sont bien corrélées aux concentrations en HAP dans les matières en suspension. Le fluoranthène, le pyrène, le benzo(e)pyrène, le benzo(a)pyrène et le benzo(g,h,i)peryène sont les HAP majoritaires dans les tissus des copépodes (Cailleaud et al, 2007).

## Evaluation du risque génotoxique pour les poissons

### Le flet, *Platichthys flesus*

#### ➤ Teneurs en HAP dans le foie

Seize HAP ont été dosés dans le foie des flets échantillonnés en 1996 et en 1997 au niveau de six sites : Fosse Sud, Honfleur, Tancarville, Antifer, La Carosse, Baie des Veys.

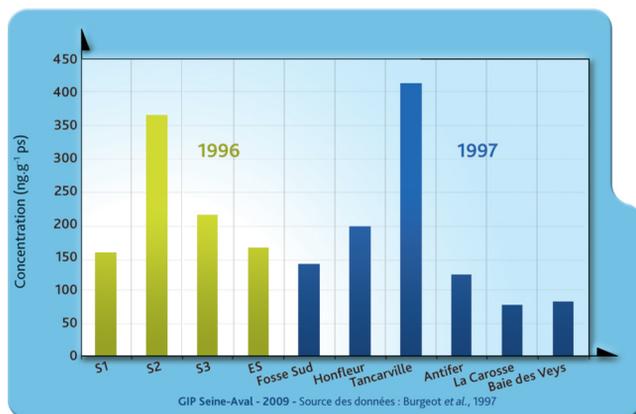


Figure 22 : Concentrations en HAP dans le foie de flets collectés en 1996 et 1997. S1 zone estuarienne amont comprise entre Poses et Rouen, S2 zone estuarienne intermédiaire comprise entre Rouen et Caudebec, S3 zone estuarienne aval comprise entre Caudebec et Honfleur et ES correspond à l'embouchure de la Seine. HAP totaux = PHE, ANT, FTH, PYR, BaA, CHR+TRI, BbF+BkF+BjF, BaF, BeP, BaP, Pérylène, IcdP, DahA+DacA, BghiP.

Les résultats obtenus en 1996 et 1997 montrent une décroissance des teneurs en HAP de l'amont vers l'aval, de Tancarville à La Carosse (figure 22). Les concentrations mesurées dans les tissus de poissons sont très inférieures à celles mesurées dans les tissus de bivalves et très largement inférieures aux concentrations mesurées dans le sédiment. Ceci est vraisemblablement la con-

séquence des capacités de biotransformation de ces contaminants par les flets. Le phénanthrène et dans une moindre mesure le fluoranthène et le pyrène sont les trois composés les plus représentés. On peut également constater que malgré la mobilité naturelle des flets, les concentrations les plus élevées de HAP ont été mesurées dans les poissons pêchés sur les sites de l'estuaire les plus contaminés (Burgeot et al, 1997).

#### ➤ Teneurs en métabolites de HAP dans la bile

Budzinski et ses collaborateurs (2003) ont dosé à titre exploratoire les métabolites de HAP dans la bile de flets pêchés dans la Fosse Nord et à Antifer en septembre 2002 et janvier 2003. Onze métabolites de HAP ont été recherchés (figure 24). Le profil observé est un profil classique avec une prédominance du 1-pyrénol ce qui est plus ou moins caractéristique d'une contamination majoritairement d'origine pyrolytique. La faible proportion des métabolites di- et tri-aromatiques renforce l'absence d'un marquage pétrogénique net y compris à Antifer. Les concentrations en métabolites biliaires se sont avérées importantes avec des valeurs globales allant de quelques centaines de ng.g<sup>-1</sup> pour le site Antifer (qui est moins contaminé en HAP) à plusieurs milliers de ng.g<sup>-1</sup> pour le site de La Fosse (Mazéas, 2004).

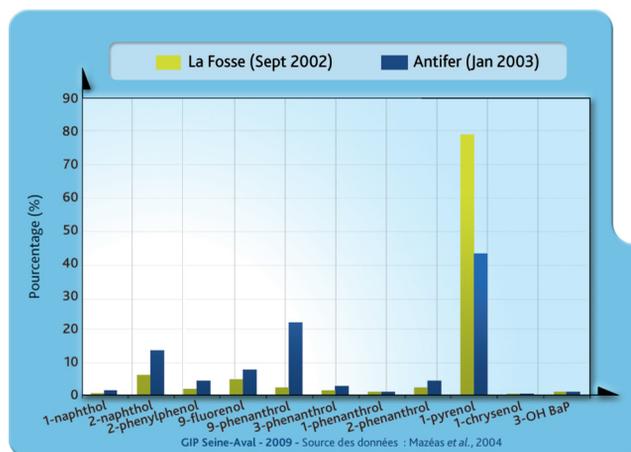


Figure 24 : Distribution relative des métabolites de HAP dans la bile des flets pêchés dans la Fosse Nord et à Antifer.

## La Biotransformation

La biotransformation est une succession de réactions enzymatiques qui permettent de convertir une molécule toxique hydrophobe en produits généralement moins toxiques et plus hydrosolubles qui seront plus facilement éliminés par l'organisme. Cette biotransformation se déroule principalement dans le foie et n'est réellement efficace que chez les organismes métazoaires supérieurs tels que les vertébrés et les arthropodes.

Paradoxalement, ce processus de biotransformation peut aboutir à la formation de métabolites intermédiaires ou de

produits plus toxiques que la molécule mère, on parle dans ce cas de bioactivation. Ce processus intervient notamment lors de l'activation métabolique des pro-génotoxiques qui représentent la très grande majorité des génotoxiques environnementaux.

En raison des capacités de métabolisation des poissons, on ne peut pas évaluer l'exposition des organismes aquatiques aux HAP en prenant en compte uniquement les teneurs tissulaires des composés parents. Une alternative est le dosage des métabolites de HAP dans la bile.

➤ Taux d'adduits à l'ADN dans le foie

Une campagne de pêche réalisée durant l'automne 1996 a permis de collecter des flets sur différents sites de l'estuaire et de l'embouchure de Seine. Les d'adduits à l'ADN ont été dosés par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P après enrichissement à la nucléase P1 sur un pool de foies provenant d'une dizaine d'individus par site.

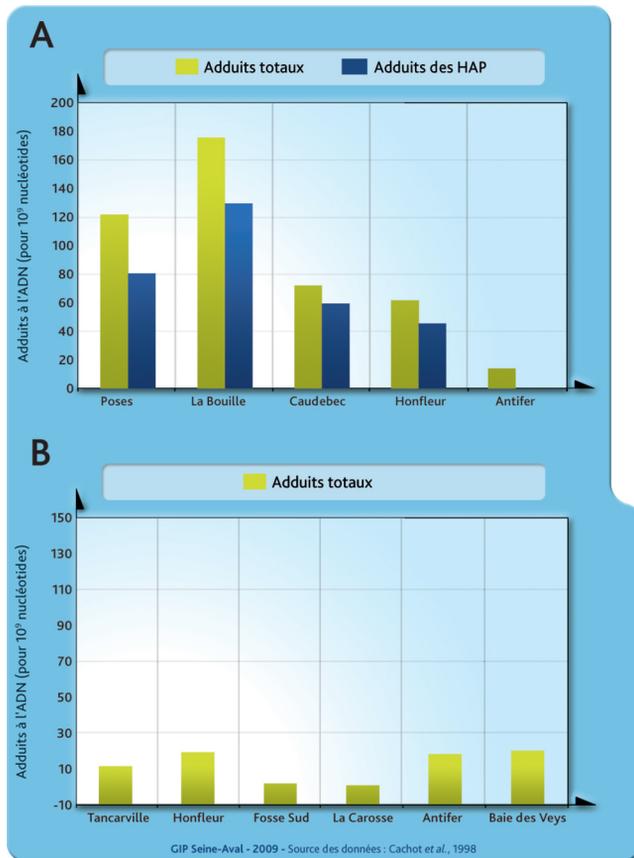


Figure 25 : Taux d'adduits à l'ADN dans le foie de flets collectés dans l'estuaire et dans l'embouchure de Seine en septembre et octobre 1996 (A) et dans l'embouchure et la baie de Seine en avril et octobre 1997 (B). Ces adduits ont été dosés par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P après enrichissement à la nucléase P1.

Le Flet, *Platichthys flesus* (L.)

Le flet européen est un poisson plat qui vit sur les fonds sableux, sablo-vaseux et vaseux des eaux estuariennes et littorales peu profondes des côtes européennes. Le flet appartient aux espèces migratrices qui se reproduisent en mer mais dont la croissance s'effectue dans les eaux continentales. Les flets à l'état juvénile séjournent en estuaire. Ils rejoignent ensuite les aires de ponte situées en mer où ils se regroupent pour la fraie. Après éclosion, les larves rejoignent les estuaires où elles passent leurs deux premières années de vie.

Les jeunes se nourrissent de copépodes, diatomées, larves de chironomes, puis de crustacés amphipodes et de jeunes crabes. Les adultes se nourrissent quant à eux de mollusques bivalves, de poissons, de vers polychètes et de crustacés. Le flet est recommandé par l'OSPAR comme espèce sentinelle pour la surveillance de la pollution dans l'Atlantique Nord-Est.

Les taux d'adduits dans le foie des flets collectés dans la partie amont de l'estuaire de Seine sont particulièrement élevés 120 à 180 adduits pour 10<sup>9</sup> nucléotides (Figure 25 A). Ces valeurs sont deux à trois fois supérieures à celles relevées dans les poissons collectés à l'embouchure de Seine (figure 25A) et de l'ordre de 10 fois supérieures à celles relevées dans le foie des flets de la baie de Seine (figure 25B). On note également pour les sites de l'estuaire une forte proportion (66 à 82%) d'adduits localisés le long de la diagonale radioactive qui sont généralement considérés comme étant des adduits des HAP. Ces adduits des HAP sont totalement absents du foie des poissons pêchés dans la baie de Seine. Ces résultats suggèrent que les flets vivant dans la partie amont de l'estuaire, c'est-à-dire essentiellement des juvéniles de moins de 2 ans, sont exposés durant leur premiers mois de vie à des génotoxiques tels que des HAP apportés de l'amont par la Seine (Cachot, 1998).

➤ Fréquence de tumeurs et lésions pré-tumorales hépatiques

Cinq campagnes de pêche ont été réalisées dans l'estuaire et la Baie de Seine entre 1996 et 1997 sur six secteurs géographiques (Cachot, 1998). Trois ont concerné l'estuaire de Seine : estuaire amont (S1), estuaire intermédiaire (S2), estuaire aval (S3). Trois autres ont concerné la Baie de Seine : embouchure de la Seine (ES), Antifer (A) et Baie des Veys (V). Au total 815 flets ont été pêchés et 245 ont été soumis à un examen histopathologique du foie (Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes). Cette étude s'est focalisée sur les foyers de cellules altérées (FCA) et sur les adénomes hépatocellulaires (figure 26). Les FCA sont des amas d'hépatocytes hyperplasiques qui sont susceptibles d'évoluer vers un état tumoral et qui à ce titre sont considérés comme des lésions pré-tumorales. Les adénomes hépatocellulaires sont des tumeurs bénignes constituées d'hépatocytes hyperplasiques mais agencés en nodule. Ce nodule se caractérise par des limites bien marquées et par la compression du tissu adjacent. Les adénomes peuvent évoluer en tumeurs malignes.



Figure 23 : flet européen, *Platichthys flesus* L.

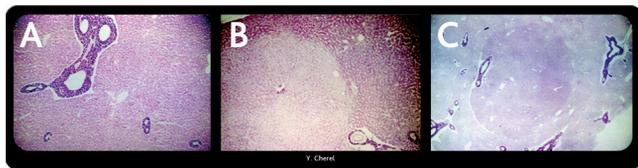


Figure 26 : Tissu hépatique sain (A), foyer de cellules altérées (B) et adénome hépatocellulaire (C) observés chez des flets de l'estuaire de Seine (Clichés Y. Cherel)

Au total 11 des 215 flets adultes analysés (5,1%) présentaient des lésions hépatiques tumorales ou pré-tumorales tandis qu'aucun des 33 juvéniles (moins de 2 ans) analysés ne présentait ce type de lésion. La distribution spatiale des poissons atteints de tumeur n'était pas uniforme sur l'ensemble de la zone d'étude (figure 27). Ainsi, aucun flet de l'estuaire amont, ou de l'estuaire intermédiaire ne présentait de lésion hépatique. En revanche, 12% des flets capturés à Antifer et 4% des flets pêchés à l'embouchure et dans l'estuaire aval étaient porteurs de tumeurs ou de FCA. Ce résultat s'explique selon toute vraisemblance par la disparité de répartition des différentes classes d'âge de flet sur le site d'étude. En effet les poissons de un an sont localisés majoritairement dans la partie haute et intermédiaire de l'estuaire, les poissons de deux ans dans la partie intermédiaire et basse de l'estuaire et enfin les poissons adultes de plus de deux ans dans l'embouchure et dans la Baie de Seine. Il a par ailleurs été montré que les femelles étaient 3,5 fois plus atteintes que les mâles. Il faut préciser qu'aucun carcinome hépatocellulaire n'a été observé au cours de cette étude. Des résultats sensiblement identiques ont été obtenus sur les côtes néerlandaises (Vethaak et Wester, 1996). Dans cette dernière étude sur un total de 14526 poissons adultes analysés, 0,1% présentaient un carcinome hépatocellulaire, 1,2 % un adénome hépatocellulaire et 11,4 % un FCA.

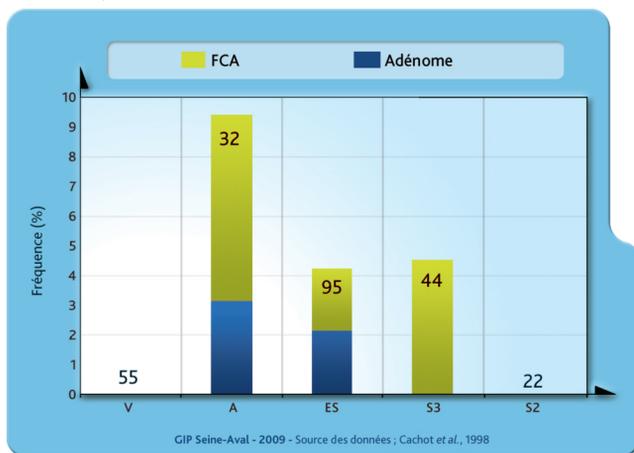


Figure 27 : Distribution spatiale des flets atteints de lésions hépatiques tumorales (adénome) ou pré-tumorales (FCA) en estuaire et baie de Seine à l'automne 1996. S2 : estuaire moyen, S3 estuaire aval, ES embouchure, A Antifer, V, baie des Veys. Le nombre total de flets analysés par site est mentionné pour chaque station.

### > Couplages génotypes-phénotypes

Les réponses génétiques (marqueurs de type allozymes) et physiologiques de populations de flets ont été déterminées dans l'estuaire de la Seine, et dans un estuaire peu contaminé, le Ster de Lesconil. Les réponses des poissons ont été analysées individuellement au sein de chaque population en recherchant par des analyses multivariées, des liaisons possibles entre la présence de certains allèles ou génotypes et des paramètres considérés comme des composantes potentielles de la « fitness » d'un organisme (niveau d'intégrité de l'ADN des hématies, taux de croissance, indice de condition, etc.).

Ce travail a permis de formuler l'hypothèse d'une pression sélective exercée par les contaminants en Seine sur les locus PGM (phosphoglucomutase) et AAT (aspartate aminotransférase) et plus particulièrement sur les variants alléliques PGM-85 et AAT1-95 (Marchand et al, 2003 et 2004). Les individus porteurs de ces allèles présentent (i) des performances physiologiques notablement supérieures par rapport aux autres variants génétiques qui se traduisent par une génotoxicité réduite et (ii) une allocation d'énergie orientée vers la résistance et la survie, impliquant une perte de croissance et de fécondité probablement liée au coût de la résistance au stress chimique.

### La limande, *Limanda limanda* (L.)

#### > Concentrations tissulaires en HAP

De manière similaire à ce qui a été observé chez le flet, les teneurs en HAP dans les tissus de limande sont faibles (Tableau 14). Les HAP sont en effet bien métabolisés chez les poissons, leur dégradation et leur élimination par l'organisme limitent donc considérablement leur bioaccumulation.

Lors de deux campagnes effectuées en Baie de Seine en 2001, seuls les HAP de faible poids moléculaires ont été détectés et le fluoranthène apparaît comme le HAP majoritaire avec des concentrations comprises entre 0,3 ng.g<sup>-1</sup> p.s. et 0,8 ng.g<sup>-1</sup> p.s. dans le muscle, et entre 1,1 ng.g<sup>-1</sup> p.s. et 6,2 ng.g<sup>-1</sup> p.s. dans le foie. Le foie est le tissu où les concentrations sont les plus élevées ce qui peut s'expliquer par les teneurs importantes en lipides et par le rôle de cet organe dans la détoxification (Akcha et al, soumis).

	Mars 2001			Septembre 2001	
	Muscle	Foie	Gonade	Muscle	Foie
Fluoranthène (ng.g <sup>-1</sup> ps)	0,4-0,5	2,6-4,5	0,7-1,0	0,3-0,8	1,1-6,2

Tableau 14 : Teneurs en fluoranthène dans différents tissus de limande

#### > Dommages à l'ADN

Des analyses effectuées sur le foie et les cellules sanguines de ces poissons ont révélé la présence d'adduits ou de cassures de l'ADN (Akcha et al, 2003 et 2004). Ces lésions à l'ADN témoignent de l'exposition des organismes

à des substances génotoxiques présentes dans le milieu naturel. L'absorption de ces substances et leur biotransformation chez la limande a conduit à la formation d'intermédiaires génotoxiques.

Il a ainsi été démontré que le niveau de fragmentation de l'ADN dépendait non seulement de l'âge et du sexe de la limande mais qu'il existait également une interaction significative entre ces deux facteurs (Akcha et al, 2004). Alors que chez les adultes, les individus mâles présentent des niveaux de cassures de brins de l'ADN supérieurs à ceux des femelles, l'inverse est observé chez les juvéniles. Quel que soit le sexe, les niveaux mesurés sont plus élevés chez les adultes que chez les juvéniles. Ces différences de niveaux de dommage à l'ADN avec l'âge et le sexe sont en partie expliquées par les effets de chacun de ces deux paramètres sur le niveau des activités de biotransformation chez les poissons. Ces activités augmentent en effet avec l'âge et sont généralement supérieures chez les femelles que chez les mâles. L'interaction observée entre le facteur âge et le facteur sexe semble quant à elle indiquer l'influence complexe d'autres facteurs physiologiques dont vraisemblablement le cycle de la reproduction. Le taux lipidique qui varie avec le cycle sexuel est en effet un facteur déterminant pour la bioconcentration des contaminants chimiques hydrophobes. Chez la limande adulte, l'expulsion des produits de la ponte riche en lipides pourrait donc constituer un moyen indirect de détoxification.

Au mois de septembre, aucune différence entre stations dans le nombre de cassures de brins de l'ADN de limande n'a pu être mise en évidence, alors qu'au mois de mars l'application du test des comètes a permis de discriminer les stations d'échantillonnage en bon accord avec le degré de contamination chimique. Cette différence de résultat pourrait s'expliquer par l'existence de variations saisonnières dans la formation de ces lésions à l'ADN.

Malgré l'observation de différences qualitatives dans les profils d'adduits à l'ADN, aucun effet sur les niveaux d'adduits totaux à l'ADN n'a pu être mis en évidence par la technique utilisée (post-marquage au phosphore 32) pour les facteurs biotiques (âge, sexe) et abiotiques (site et période d'échantillonnage) testés au cours de notre étude. Pour autant, une corrélation linéaire positive et significative a été démontrée entre les niveaux d'adduits à l'ADN et la concentration en fluoranthène dans le foie (Akcha et al, soumis).

#### ➤ Fréquence des lésions hépatiques

239 limandes ont fait l'objet d'un examen histopathologique pour rechercher d'éventuelles patholo-

gies tumorales hépatiques. Il est apparu que la plupart des limandes (90%) présentait une stéatose hépatique, c'est-à-dire un désordre mineur du foie caractérisé par l'accumulation de triglycérides dans les cellules hépatiques. Des lésions inflammatoires du foie ont également été observées, dans une proportion de 15% pour les femelles et de 2% pour les mâles. Par ailleurs, 3 lésions pré-cancéreuses (FCA) ont été observées ce qui représente une fréquence globale de 1,2% pour l'ensemble des poissons pêchés.

### Accumulation des HAP dans le réseau trophique

Loizeau et ses collaborateurs (1999) ont démontré que de manière générale, les teneurs en HAP diminuaient brutalement au fur et à mesure que l'on s'élève dans la chaîne trophique. Les empreintes observées varient également d'une espèce à l'autre. Le sédiment, le phytoplancton ainsi que les espèces benthiques sont caractérisés par la prédominance des composés tétra et penta aromatiques, les espèces suprabenthiques et les poissons par la présence majoritaire de composés plus légers. L'explication de ces variations tient probablement à des capacités de métabolisation sensiblement différentes selon les espèces et qui globalement augmentent lorsque l'on monte dans le réseau trophique. Le tableau 15 présente l'évolution des teneurs de trois HAP, le phénanthrène, le benzo(a)pyrène et le benzo(a)anthracène dans le réseau trophique de l'estuaire de Seine. Une description plus précise du comportement du benzo(a)pyrène dans la chaîne trophique est disponible dans le fascicule 14 « Des organismes sous stress ».

### Etudes expérimentales

Une première série d'expériences a été conduite sur des embryons de la lignée transgénique Lambda cII du médaka japonais, *Oryzias latipes*. Cette étude avait pour buts de simuler les conditions d'exposition des embryons de poissons se développant au contact direct du sédiment dans l'estuaire de Seine puis de caractériser les effets induits à différents niveaux d'organisation biologique (Cachot et al, 2007).

Des embryons de médaka (90 par condition) ont été exposés pendant toute la durée de leur développement embryonnaire c'est-à-dire 10 jours à 25°C, à un sédiment de

	Sédiment	Phytoplancton	Zooplancton	Crevette	Gobie	Bar	Flet
PHE (ng.g <sup>-1</sup> ps)	16-180	60-120	20-40	8,7-12,7	6,8-9,9	19,9-26,4	18,4-29,8
BaA (ng.g <sup>-1</sup> ps)	21-210	40-220	40-220	3,2-3,6	0,35-0,45	0,15-0,65	0,24-0,30
BaP (ng.g <sup>-1</sup> ps)	24-200	2-5	2-5	1,7-1,9	0,4-0,55	<0,1-0,2	<0,1-0,2

Tableau 15 : Teneurs en phénanthrène, benzo(a)anthracène et benzo(a)pyrène dans différents maillons du réseau trophique en estuaire de Seine (Loizeau et al, 1999).

référence dopé avec trois concentrations d'extrait organique brut de sédiment, du B(a)P à 30 µg.g<sup>-1</sup> ou le solvant DMSO (diméthyle sufoxyde) seul. L'extrait organique a été préparé à partir d'un sédiment prélevé à Oissel en juin 2004. Les concentrations finales ont été calculées de façon à obtenir une fois (1X), 0,3 fois (0,3X) ou 2 fois (2X) les concentrations environnementales en HAP. Après éclosion, les poissons ont été placés en eau propre puis ont été suivis quotidiennement pendant huit mois. La fréquence de mutations et le taux de malformations squelettiques ont été déterminés chez des poissons âgés de 10 semaines. Un examen histopathologique complet a été réalisé à 8 mois afin de repérer la présence de lésions tumorales et pré-tumorales et d'autres lésions tissulaires. A la fin des 10 jours d'exposition, les sédiments ont été récupérés et les HAP résiduels ont été dosés. 53% à 84% des HAP initialement présents ont été retrouvés dans les sédiments en fin d'expérience ce qui signifie que 16 à 47 % de ces HAP se sont évaporés, ont été dégradés ou encore se sont accumulés dans les réserves vitellines de l'embryons.

Un accroissement significatif de la mortalité embryonnaire ainsi qu'un allongement de la durée moyenne du développement embryonnaire (+1,5 j) ont été observés pour le sédiment amendé avec l'extrait organique 2X (figure 28).

Pendant les 10 semaines qui ont suivi l'exposition, une augmentation significative et dose-dépendante de la mortalité des juvéniles pour les poissons traités avec les trois doses d'extrait organique de sédiment a été observée. 80% des poissons exposés à la dose la plus forte n'ont pas survécu au delà de trois mois (figure 29).

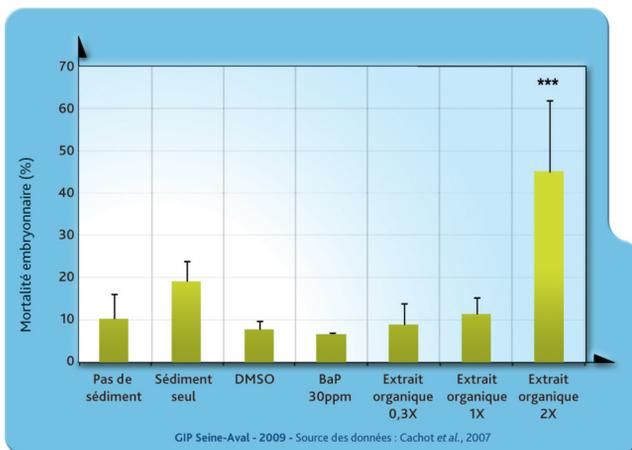


Figure 28 : Mortalité embryonnaire cumulée des médakas au cours des 17 premiers jours d'expérimentation consécutivement à l'exposition à des sédiments contaminés. Les valeurs correspondent aux moyennes ± écarts-types calculées à partir de trois réplicats. Trois astérisques indiquent une différence significative par rapport au témoin DMSO pour  $p < 0,001$ .

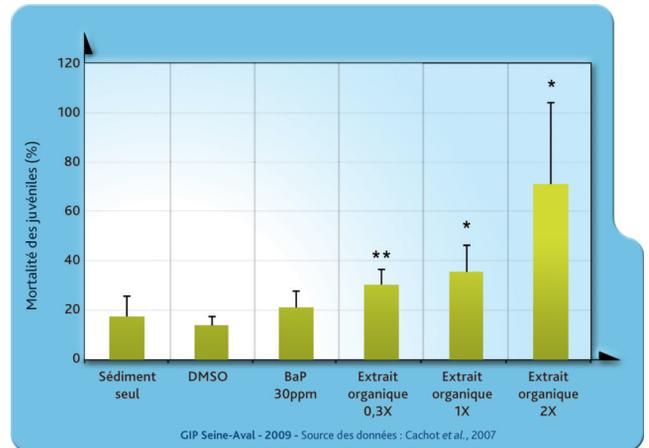


Figure 29 : Mortalité cumulée à 3 mois de médakas exposés pendant leur développement embryonnaire à des sédiments contaminés. Les valeurs indiquées correspondent aux moyennes ± écarts-types calculées pour 3 réplicats. 1 ou 2 astérisques indiquent des différences significatives par rapport au témoin DMSO pour  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$  respectivement.

Une augmentation significative et dose-dépendante des déformations de la colonne vertébrale a également été observée chez les poissons âgés de 10 semaines exposés aux trois doses d'extrait organique de sédiment (figure 30).

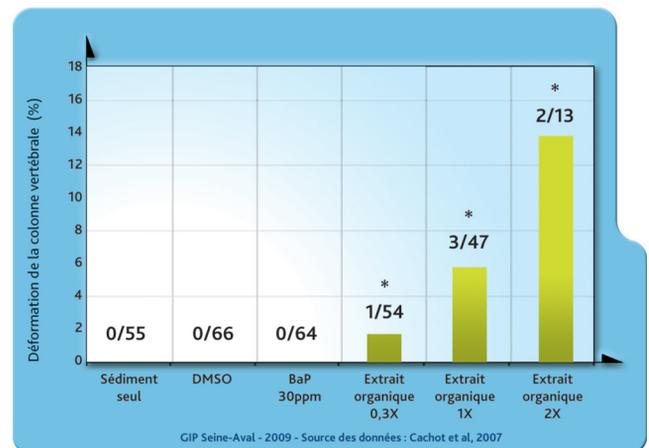


Figure 30 : Fréquence des déformations de la colonne vertébrale de médakas âgés de 3 mois exposés pendant leur développement embryonnaire à des sédiments contaminés.

Les taux de mutations au locus cII ont été mesurés sur de l'ADN extrait du foie de médakas âgés de dix semaines (figure 31). L'exposition des embryons de medaka au B(a)P ainsi qu'aux trois doses d'extrait organique de sédiment a conduit à une augmentation significative d'un facteur 2 du taux de mutations. Les spectres de mutations obtenus pour le B(a)P ou l'extrait organique de sédiment sont proches sans être complètement superposables. Dans les deux cas on observe essentiellement des mutations sur des résidus guanine (88% versus 74%) et principalement des transversions sur ces mêmes résidus (81% versus 45%). Cette similitude des empreintes mutationnelles conforte l'hypothèse de l'implication des HAP dans la mutagénicité des sédiments de l'estuaire de Seine (Cachot et al, 2007).

L'analyse histopathologique des poissons 8 mois après l'exposition a révélé chez certains d'entre eux le développement de lésions tumorales et pré-tumorales. Un poisson exposé au B(a)P a développé un carcinome hépatique tandis que deux poissons exposés à l'extrait organique 1X présentaient un dysgerminome (tumeur des cellules germinales de l'ovaire) ou un foyer précancéreux hépatique confirmant le potentiel cancérigène du B(a)P et des polluants organiques présents dans les sédiments de l'estuaire de Seine (Cachot et al, 2007).

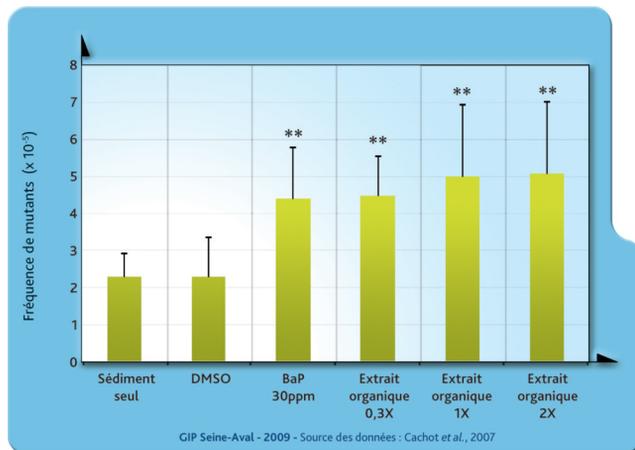


Figure 31 : Fréquence des mutations du gène cII dans le foie de médakas âgés de 10 semaines qui ont été exposés au stade embryonnaire à des sédiments contaminés. Les valeurs indiquées correspondent aux moyennes  $\pm$  écarts-types obtenues pour 10 individus. 2 astérisques indiquent des différences significatives par rapport au témoin DMSO pour  $p < 0,01$ .

Une deuxième série d'expériences a été conduite afin d'étudier le transfert trophique des HAP et leurs effets biologiques induits à différents niveaux d'organisation biologique.

Dans ce but une chaîne trophique simplifiée comprenant un microcrustacé, *Artémia salina* (artémies) et un poisson modèle, le médaka japonais *Oryzias latipes* a été reconstituée en laboratoire. Les juvéniles de médaka ont été nourris pendant un mois avec des nauplii d'*A. salina* ex-

posés à différentes doses de benzo[a]pyrène (0,005 à 5 mg.L<sup>-1</sup>) ou à un extrait organique (0,005 à 0,5%) préparé à partir d'un sédiment prélevé à Oissel en juin 2004. A la suite de cette exposition, les poissons ont été placés en eau propre, nourris à base de nauplii non contaminés et examinés quotidiennement pendant huit mois. Des prélèvements biologiques ont été réalisés au bout d'un mois (T0+1 mois), 3 mois (T0+3 mois) et en fin d'expérimentation (T0+9 mois). Les HAP et PCB ont été dosés dans l'eau, les tissus des artémies et des médakas. Les adduits à l'ADN, les adduits d'oxydation (8-oxodG) et les mutations induites au locus cII ont été quantifiés dans le foie des médakas à T0+1 mois et/ou T0+3 mois. Enfin, un examen histopathologique approfondi des médakas a été réalisé à T0+9 mois afin de déterminer la localisation tissulaire, le stade et la fréquence des tumeurs induites.

Les premières données obtenues font apparaître que les nauplii d'*A. salina* exposés au BaP accumulent des quantités très élevées de ce composé qui peuvent aller jusqu'à plusieurs centaines de milliers de ng.g<sup>-1</sup> (plus de 250 000 ng.g<sup>-1</sup> ps). Ces mêmes nauplii exposés à l'extrait organique de sédiment de Seine accumulent des quantités très élevées de HAP (jusqu'à 140 000 ng.g<sup>-1</sup> ps) et dans une moindre mesure des PCB (jusqu'à 890 ng.g<sup>-1</sup> ps). Malgré ces très forts niveaux de HAP, aucun accroissement de mortalité n'a été observé parmi les artémies exposées au BaP ou à l'extrait organique de sédiment. L'alimentation des juvéniles de médaka à base de nauplii d'artémies contaminées en HAP ne conduit pas à un accroissement de la mortalité des poissons. Par ailleurs, il apparaît clairement que seule une concentration très élevée de BaP (5 mg.L<sup>-1</sup>) conduit à une augmentation significative du taux d'adduits à l'ADN et de la fréquence de mutations cII dans le foie des poissons exposés par rapport aux poissons contrôle (figure 33A). Le taux de 8-oxodG dans ce même tissu augmente significativement avec la dose de BaP. L'accroissement est significatif dès la plus faible concentration en BaP testée (0,005 mg.L<sup>-1</sup>). Les deux doses les plus fortes d'extrait organique de sédiment (0,05 et 0,5%) conduisent à un accroissement mais non significatif du taux d'adduits et à une augmentation faible mais significative de la fréquence de mutations dans le foie des poissons (figure 33B).

### Le médaka japonais

Le médaka japonais, *Oryzias latipes*, est un poisson d'eau douce endémique du Japon, de Taïwan et de l'Asie du sud-est. C'est une espèce que l'on trouve généralement dans les rizières d'où son nom de « ricefish » et qui se nourrit principalement de larves de moustiques. Ce poisson a un développement et une croissance très rapides et commence à se reproduire dès l'âge de trois mois. C'est l'une des espèces les plus utilisées pour l'étude de la cancérogénèse chimique (Hawkins et al, 2003).

Le médaka Lambda est une souche transgénique (Winn et al, 2000) qui a été spécifiquement développée pour l'étude de la mutagenèse chimique. Cette souche contient dans son génome environ 150 copies du bactériophage\*  $\lambda$ . Le gène cII du bactériophage sert de gène cible pour l'évaluation et la caractérisation des mutations induites par

les composés étudiés. Cette souche est très stable d'un point de vue génétique, présente un taux faible de mutations spontanées et est particulièrement sensible à une large gamme de mutagènes environnementaux.



Figure 32 : Médaka japonais *Oryzias latipes* adultes

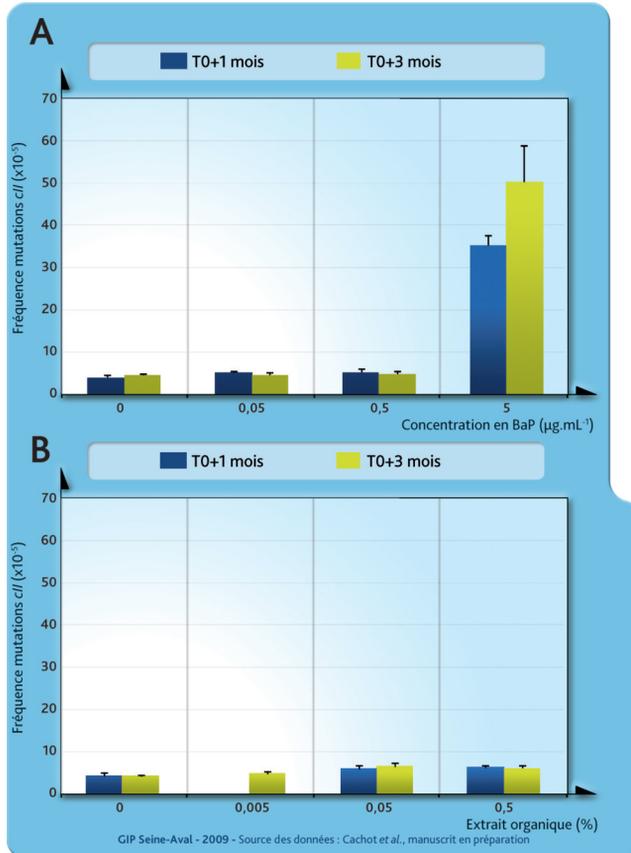


Figure 33 : Fréquence des mutations cII dans le foie de juvéniles de médaka nourris pendant 1 mois à base d'artémies contaminées au BaP (A) ou avec un extrait organique de sédiment de Seine (B). Les analyses ont été effectuées immédiatement après la fin de l'exposition (T0+1 mois) ou 2 mois après la fin de cette exposition (T0+3 mois). Chaque valeur est la moyenne  $\pm$  erreur standard de 8 à 11 analyses individuelles. Un astérisque indique une différence significative par rapport aux poissons exposés au seul DMSO ( $p \leq 0,05$ ).

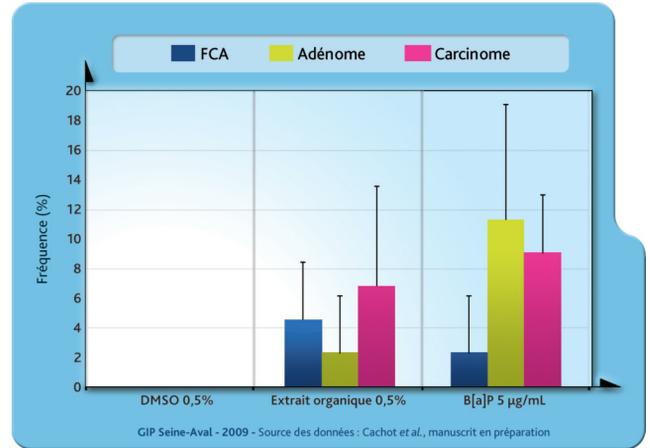


Figure 34 : Fréquence des lésions tumorales malignes (carcinome) ou bénignes (adénome) et des lésions pré-néoplasiques (FCA = foyers de cellules altérées) en fonction du type de traitement subi par les médakas. L'examen histopathologique a été réalisé huit mois après la fin de l'exposition sur quarante cinq poissons âgés de 10 mois pris aléatoirement dans chaque traitement (moyenne  $\pm$  écart-type).

Il apparaît clairement que le BaP et l'extrait organique de sédiment sont tout deux cancérigènes pour les poissons. Ces deux traitements aux doses les plus élevées conduisent au développement de tumeurs bénignes et malignes à des fréquences élevées (jusqu'à 22% des poissons atteints) principalement au niveau d'organes impliqués dans la filtration et la détoxification du sang, le foie et les reins (figure 34). Les femelles apparaissent deux fois plus atteintes que les mâles. L'ensemble de ces données expérimentales conforte l'implication des HAP dans l'étiologie des tumeurs hépatiques sporadiques dans la population de flet de baie de Seine et confirment l'existence d'un risque génotoxique en estuaire de Seine.

## Chapitre 4: Comparaison inter-estuaires

Dans ce chapitre, nous tenterons de comparer les données obtenues en termes de concentration en HAP, potentiel génotoxique des sédiments et effets biologiques induits en estuaire et baie de Seine par rapport aux données disponibles sur d'autres estuaires et zones marines côtières. Cette comparaison doit nous permettre de dresser un bilan du risque génotoxique en estuaire et baie de Seine.

### Les HAP dans la colonne d'eau

Bien que les données disponibles soient très parcellaires, il semble que la concentration moyenne en HAP dans la colonne d'eau en estuaire de Seine soit plus importante que celles mesurées dans d'autres systèmes équivalents à travers le monde (Tableau 16). Plusieurs raisons peuvent expliquer ces teneurs élevées en HAP dans les eaux de l'estuaire de Seine : (i) des apports amonts élevés, (ii) des débits relativement faibles et (iii) une grande richesse des eaux en matières en suspension ainsi qu'en matière organique. Au niveau du delta du Rhône, les concentrations en HAP sont plus faibles dans les particules en suspension mais plus fortes (d'un facteur 2) dans la phase dissoute.

	Saison	ΣHAP en µg.g <sup>-1</sup> ps	MES en mg.L <sup>-1</sup>	Carbone organique (%)	Auteurs
Estuaire de Seine	automne	1-14 (4,8)	4 - 312	2,6 - 14,8	Fernandes et al, 1997
Delta du Rhône	hiver	3,5	2 - 6	3,2 - 7,4	Bouloubassi et Saliot, 1991
	été	1,1	3 - 6	8,8-16	Bouloubassi et Saliot, 1991
Rivière Tamar	printemps	8,9	10 - 70	4,0	Readman al, 1982
Baie de San Francisco	hiver	0,9	15 - 37	2,2	Domagalski et Kuivila, 1993
	printemps	0,1	35 - 104	2,0	Domagalski et Kuivila, 1993
Estuaire du Yangtze	été	0,3	105 - 1911	0,7-0,9	Sicre et al,1993

Tableau 16 : Concentrations moyennes en HAP totaux particulaire dans la colonne d'eau de divers rivières et estuaires mondiaux.

### Les HAP dans les sédiments

Les concentrations en HAP dans les sédiments de l'estuaire de Seine sont globalement plus élevées que celles mesurées dans d'autres estuaires mondiaux (Tableau 17). Les HAP de haut poids moléculaire, et plus particulièrement le fluoranthène, sont prépondérants dans les sédiments de l'estuaire de Seine comme dans la majorité des milieux où la source de pollution est une source pyrolytique. L'estuaire de Seine peut être considéré comme un milieu modérément à fortement pollué par les HAP et plus particulièrement par les HAP de haut poids moléculaire.

	ΣHAP en µg.g <sup>-1</sup> ps	Auteurs
Estuaire de Seine	1,3 -12,5	Cachot et al, 2006
Baie de Seine	0,025 - 2,5	Cachot et al, 2006
Delta du Rhône	0,4 - 6,4	Lipiatou et al, 1997
Estuaire de la Gironde	0,02 - 4,9	Budzinski et al, 1997
Estuaire Scheldt	6	OSPAR, 1997
Estuaire de l'Oder	5	Kowalewska et al, 2003
Delta de la baie de Tampa	1,3	Grabe et Barron, 2004
Baie de San Francisco	0,02 - 5,2	Oros et al, 2007
Delta de la rivière Pearl	0,2 -1,85	Fu et al, 2003
Rivière Chao Phraya (Thailand)	0,03 - 0,59	Boonyatumanond et al, 2006
Estuaire de la rivière Chao Phraya (Thailand)	0,03 - 0,72	Boonyatumanond et al, 2006

Tableau 17 : Concentrations moyennes en HAP totaux dans les sédiments de divers écosystèmes fluviaux et estuariens mondiaux.

### Les HAP dans les organismes vivants

Les concentrations tissulaires en HAP dans les moules bleues de l'embouchure et de la baie de Seine sont comparables à celles retrouvées dans des zones modérément contaminées (Tableau 18). Elles sont cependant inférieures d'un ordre de grandeur aux teneurs rapportées pour des zones portuaires telles que le port de Reykjavik en Islande ou celui de Fiskaatangen en Norvège (Skarphédinsdóttir et al, 2007).

	Espèce	ΣHAP tissus µg.g <sup>-1</sup> ps	Auteurs
Estuaire de Seine	<i>Dreissena polymorpha</i>	0,05 - 1,6	Rocher et al, 2006 Le Goff et al, 2006
Estuaire de Seine	<i>Dreissena polymorpha</i>	0,29 - 1,3	Minier et al, 2006
Baie de Seine	<i>Mytilus edulis</i>	0,015 - 0,450	Rocher et al, 2006
Bassin d'Arcachon	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,28 - 2,42	Baumard et al, 1999
Mer Baltique	<i>Mytilus edulis</i>	0,09 - 0,361	Baumard et al, 1999
Côtes méditerranéennes (SE, Corse, Sardaigne)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,026 - 0,390	Baumard et al, 1999
Côtes méditerranéennes (SW, Espagne)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,025 - 0,337	Baumard et al, 1999
Baie de San Francisco	<i>Mytilus californianus</i>	0,021 - 1,093	Oros et al, 2005
Côtes islandaises	<i>Mytilus spp</i>	0,24 - 11,67	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Côtes norvégiennes	<i>Mytilus spp</i>	0,72 - 5,12	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Côtes suédoises	<i>Mytilus spp</i>	0,12 - 0,925	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Golf du Maine	<i>Mytilus edulis</i>	0.092 ± 0,321*	Chase et al, 2001

\* médiane ± 1 écart-type

Tableau 18 : Teneurs moyennes en HAP totaux dans les tissus de bivalves collectés dans différents estuaires et zones marines côtières autour du globe.

### La génotoxicité des sédiments

Il apparaît clairement que les sédiments de l'estuaire de Seine comme ceux d'autres fleuves et estuaires d'Europe et d'Amérique du Nord renferment des composés organiques génotoxiques (Tableau 19). Dans la plupart des cas la nature exacte de ces composés n'est pas connue. L'activité génotoxique de ces composés n'est révélée dans la plupart des cas qu'après addition d'une fraction S9 enrichie en cytochrome P450 ce qui indique que ces composés sont présents à l'état de pro-génotoxiques.

	Test	Σ HAP sédiment µg.g <sup>-1</sup> ps	S9	Réponses positives*	Auteurs
Estuaire de Seine	SOS Chromotest	1,3 - 12,5	+	8/8	Cachot et al, 2006
Baie de Seine	SOS Chromotest	0,025 - 2,5	+	1/5	Cachot et al, 2006
Estuaire de la Tyne	Mutatox	10,8 - 43,5 **	+	3/5	Thomas et al, 2002
Estuaire de la Tees	Mutatox	0,65 - 26,5 **	+	1/7	Thomas et al, 2002
Estuaire de la Mersey	Mutatox	1,8 - 5,74 **	+	1/5	Thomas et al, 2002
Estuaire de la Tamise	Mutatox	0,6 - 5,35 **	+	1/5	Thomas et al, 2002
Estuaire de Southampton	Mutatox	0,75 **	+	1/6	Thomas et al, 2002
Po (hiver)	Ames	nd	+	8/10	Vigano et al, 2002
St Laurent et affluents	SOS Chromotest	0,06-23,7	+/-	18/21	White et al, 1998

\* nombre de réponses positives parmi les échantillons testés  
 \*\* Woodhead et al, 1999  
 nd : non déterminé

Tableau 19 : Concentrations en HAP et potentiel génotoxique d'extraits organiques de sédiments collectés dans différents estuaires et rivières à travers le monde.

### Les dommages à l'ADN

Faute de données disponibles, il n'est actuellement pas possible de comparer les taux d'adduits chez des dreissenés de différentes provenances géographiques. Les taux d'adduits relevés dans les moules bleues de la baie de Seine sont équivalents à ceux généralement mesurés sur des sites pollués des côtes du nord de l'Europe ou d'Italie (Tableau 20). Il faut néanmoins noter que des taux d'adduits notablement plus élevés ont été mesurés dans les moules prélevées dans une lagune très anthropisée près de Tarente (Pisoni et al, 2004).

	Espèce	Adduits (pour 10 <sup>9</sup> nucléotides)	Auteurs
Estuaire de Seine	<i>Dreissena polymorpha</i>	2,2 - 40,1 <sup>a</sup>	Rocher et al, 2006 Le Goff et al, 2006
Baie de Seine	<i>Mytilus edulis</i>	3,7 - 6,8 <sup>a</sup>	Rocher et al, 2006
Côtes islandaises	<i>Mytilus spp</i>	0,5 - 10 <sup>b</sup>	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Côtes norvégiennes	<i>Mytilus spp</i>	0,9 - 10,1 <sup>b</sup>	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Côtes suédoises	<i>Mytilus spp</i>	0,58 - 2,8 <sup>b</sup>	Skarphédinsdóttir et al, 2007
Côte de Tarente (Italie)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,1 - 45 <sup>a</sup>	Pisoni et al, 2004
Côte de Tarente (Italie)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	3 - 66 <sup>b</sup>	Pisoni et al, 2004
Lagune de Venice	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,33 - 3,96 <sup>b</sup>	Venier et Zampieron, 2005

(a) glande digestive (b) branchies

Tableau 20 : Taux d'adduits à l'ADN dans la glande digestive ou les branchies de bivalves collectés dans différents estuaires et zones marines côtières autour du globe. Dosages réalisés par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P après enrichissement à la nucléase P1.

Les taux d'adduits dans le foie des juvéniles de flet de l'estuaire de Seine sont comparables à ceux mesurés dans les estuaires anglais et nord américains modérément à fortement pollués (Tableau 21). Des niveaux sensiblement plus élevés ont néanmoins été relevés dans l'estuaire de la Tamise et l'estuaire de Southampton. Les taux d'adduits dans le foie des flets et des limandes adultes de la baie de Seine sont comparativement plus faibles. Il est à noter que dans la plupart des estuaires (Tamise, Southampton, Clyde, Tyne, Mersey) on retrouve comme en Seine un profil d'adduits caractéristique des HAP avec une diagonale radioactive très marquée.

	Espèce	Adduits (pour 10 <sup>9</sup> nucléotides)	Auteurs
Estuaire de Seine	<i>Platichthys flesus</i> (juvéniles)	72,2 - 176,3	Cachot et al, non publié
Baie de Seine	<i>Flet (adultes)</i>	0,95 - 62,2	Cachot et al, 1998
Baie de Seine	<i>Limanda limanda</i> (juvéniles)	4,9 - 9,4	Akcha et al, 2004
Baie de Seine	<i>Limanda limanda</i> (adultes)	2,2 - 21,8	Akcha et al, 2004
Estuaire du Tyne	<i>Platichthys flesus</i>	137 ± 49	Lyons et al, 2004
Estuaire du Mersey	<i>Platichthys flesus</i>	174 ± 59	Lyons et al, 2004
Estuaire de la Tamise	<i>Platichthys flesus</i>	511 ± 192	Lyons et al, 2004
Estuaire de Forth	<i>Platichthys flesus</i>	93 ± 27	Lyons et al, 2004
Estuaire de Clyde	<i>Platichthys flesus</i>	362 ± 158	Lyons et al, 2004
Estuaire de Southampton	<i>Platichthys flesus</i>	939 ± 370	Lyons et al, 2004
Puget Sound (Washington)	<i>Parophrys vetulus</i>	140 ± 27	Stein et al, 1992
Puget Sound (Washington)	<i>Lepidopsetta bilineata</i>	100 ± 43	Stein et al, 1992
Puget Sound (Washington)	<i>Platichthys stellatus</i>	180 ± 57	Stein et al, 1992

Tableau 21 : Taux d'adduits à l'ADN dans le foie de poissons plats collectés dans différents estuaires et zones marines côtières autour du globe. Dosages réalisés par la méthode de post-marquage au <sup>32</sup>P après enrichissement à la nucléase P1.

### Les tumeurs hépatiques sporadiques

Les fréquences de tumeurs et de lésions pré-tumorales (FCA) hépatiques dans la population de flets de baie de Seine sont proches des valeurs obtenues pour la même espèce dans d'autres estuaires et zones marines côtières d'Europe (Tableau 22). Il est important de noter que les fréquences de lésions tumorales sur les côtes européennes sont généralement sensiblement inférieures aux valeurs obtenues sur les côtes nord-américaines. Dans toutes ces études les lésions majoritaires sont les FCA qui peuvent dans certains cas évoluer vers un cancer. Les tumeurs malignes de type carcinome hépatocellulaire sont quasiment inexistantes (Vethaak et Wester, 1996). L'âge et le sexe de l'animal ainsi que la pollution du milieu sont les facteurs de risque les plus souvent incriminés dans le développement des tumeurs hépatiques sporadiques chez les poissons (Myers et al, 1991, Vethaak et Wester, 1996).

Espèces	Sites échantillonnés	Nombre de poissons analysés	FCA (%)	Tumeurs (%)	Auteurs
<i>Parophrys vetulus</i>	Baie de Puget Sound (USA)	3180	9,2	4,2	Landahl et al, 1990
<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	Côtes de Nouvelle Angleterre (USA)	317	-	0 - 26	Gardner et al, 1989
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaires et côtes Néerlandaises	14526	11,4	1,2	Vethaak et Wester, 1996
<i>Platichthys flesus</i>	Rivières Elbe	200	0	0	Peters et al, 1987
<i>Platichthys flesus</i>	Rivière Eider	100	0	0	Peters et al, 1987
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaire du Mersey	60	35	5	Stentiford et al, 2003
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaire de l'Alde	60	6,7	0	Stentiford et al, 2003
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaire du Tyne	60	20	0	Stentiford et al, 2003
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaire de la Tees	30	10	0	Stentiford et al, 2003
<i>Platichthys flesus</i>	Estuaire et baie de Seine	215	3,7	1,4	Cachot, 1998

Tableau 22 : Tumeurs et lésions pré-tumorales (FCA : foyers d'altérations cellulaires) dans le foie de différentes espèces de poissons plats adultes des côtes européennes et nord-américaines.

## Conclusions et perspectives

Les travaux conduits depuis 1995 en estuaire de Seine dans le cadre du programme Seine-Aval font clairement apparaître une contamination modérée à forte des sédiments de la partie amont de l'estuaire par des HAP de haut poids moléculaire. Ces mêmes composés sont connus pour être potentiellement mutagènes et cancérogènes. Parallèlement, il a été démontré que les extraits organiques obtenus à partir des sédiments de la partie amont et médiane de l'estuaire sont génotoxiques. L'essentiel de cette génotoxicité est « cachée » puisqu'elle nécessite une bioactivation préalable pour pouvoir s'exprimer. Il a été montré enfin que les HAP sont les principaux acteurs de cette génotoxicité en association avec d'autres composés organiques plus polaires et de nature encore inconnue.

Il a par ailleurs été montré que les deux tiers des HAP qui transitent dans l'estuaire proviennent des apports fluviaux amont. Le tiers restant correspond à des apports locaux émanant de rejets industriels et urbains directs ou provenant du lessivage des sols.

Ces HAP sont directement biodisponibles pour l'ensemble du réseau trophique estuarien. Le phytoplancton, le zooplancton et les mollusques bivalves bioaccumulent efficacement les HAP. Des concentrations tissulaires élevées en HAP ont notamment été relevées dans les moules zébrées de la partie amont de l'estuaire de Seine et dans le copépode *E. affinis* au niveau de l'embouchure de Seine en hiver. Ces organismes constituent des sources potentielles de contamination en HAP pour les échelons trophiques supérieurs.

Les bivalves même très exposés aux HAP ne présentent que peu de dommages à l'ADN. Cette grande tolérance des bivalves à l'état adulte vis-à-vis des HAP peut s'expliquer par les faibles capacités de biotransformation de ces organismes et la nécessité pour les HAP de subir une bioactivation préalable pour exprimer leur génotoxicité. Ces composés pourraient néanmoins être à l'origine d'une toxicité directe vis-à-vis des premiers stades de développement des mollusques et des autres organismes aquatiques.

Les poissons (et probablement les crustacés décapodes) disposent de l'équipement enzymatique leur permettant de biotransformer efficacement les HAP. Ceci explique pourquoi des teneurs très faibles de HAP ont été mesurées dans les tissus de flet résidant dans la partie amont de l'estuaire de Seine. A l'inverse des taux élevés d'adduits à l'ADN et plus particulièrement d'adduits des HAP ont été détectés dans ces mêmes poissons. Ces résultats indiquent clairement que les flets sont exposés à des polluants génotoxiques durant leurs premiers mois de vie dans l'estuaire. Cette exposition précoce à des génotoxiques a probablement pour conséquences l'induction de mutations géniques et le développement de cancers. Ainsi, les flets adultes résidant dans la partie basse de l'estuaire et la baie de Seine présentent, dans une proportion non négligeable, des lésions hépatiques pré-tumorales (3,7%) et tumorales (1,4%). Il a été montré que ces lésions sont plus fréquentes et plus graves chez les poissons âgés et les individus femelles.

La comparaison inter-estuariennes des teneurs en HAP dans les sédiments et le réseau trophique et les effets génotoxiques mesurés sur les poissons permettent de classer l'estuaire de Seine parmi les estuaires mondiaux les plus impactés par ce type de polluants. Des études conduites en laboratoire sur le médaka japonais ont montré que les poissons pouvaient se contaminer par la voie trophique mais également par passage direct des polluants hydrophobes à travers les enveloppes de l'œuf. Ces travaux ont également clairement démontré le caractère mutagène et cancérogène in vivo des polluants organiques contenus dans les sédiments de Seine mais également leur potentiel embryotoxique et tératogène. Ils ont permis de démontrer de façon indubitable l'implication des HAP dans la génotoxicité et la cancérogénicité observée chez les flets de l'estuaire et de la baie de Seine.

L'ensemble de ces travaux suggère donc qu'il existe un risque génotoxique réel en estuaire de Seine associé à la présence de HAP et d'autres molécules organiques génotoxiques adsorbés aux particules en suspension ou accumulés dans les sédiments. Cette génotoxicité concerne particulièrement (mais pas uniquement) les espèces piscicoles qui se développent ou se nourrissent dans le compartiment sédimentaire. Elle se traduit par une diminution de l'intégrité de l'ADN, une augmentation de la fréquence de tumeurs hépatiques et vraisemblablement par d'autres pathologies organiques qui peuvent diminuer la survie et/ou les capacités biotiques des individus exposés. Ces polluants génotoxiques pourraient également exercer une pression sélective au profit des individus les plus résistants avec à terme une sélection des génotypes résistants et une diminution de la diversité génétique. En effet, la protection et la réparation de l'ADN, quand elle est possible, se traduit inévitablement pour les organismes exposés par un coût énergétique préjudiciable à d'autres traits biologiques comme la croissance, la fécondité voire la fertilité.

Ce tableau de bord de la génotoxicité en estuaire de Seine n'est malheureusement que partiel. Outre les HAP, de nombreux autres polluants environnementaux tels que des HAP nitrés ou alkylés, des amines aromatiques, des solvants organiques, des médicaments anticancéreux et certains pesticides etc. pourraient être impliqués dans la génotoxicité des sédiments de Seine. Ces composés n'ont fait l'objet d'aucune étude systématique à ce jour en estuaire de Seine. L'impact génotoxique des polluants a jusqu'à présent été étudié sur un nombre très restreint d'espèces de poissons et de bivalves. On ne sait rien des conséquences sur les autres organismes aquatiques. Par ailleurs les études ont ciblé principalement l'individu ; les conséquences à l'échelle des populations et a fortiori de l'ensemble de l'écosystème n'ont été que très peu abordées. Enfin, on ne sait rien ou presque des conséquences trans-générationnelles de ces expositions. Il reste donc un long chemin à parcourir avant de pouvoir dresser un tableau clair et précis de la contamination et de l'impact environnemental des polluants génotoxiques en estuaire de Seine et de façon plus globale dans l'ensemble des écosystèmes aquatiques.

## Références bibliographiques

- Akcha F., Vincent-Hubert F., Leszkowicz A.**, 2003. Potential value of the Comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for the assessment of in situ exposure to genotoxic compounds. *Mutation Research, Fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534, 21-32.
- Akcha F., Leday G., Pfohl-Leszkowicz A.**, 2004. Measurement of DNA adducts and strand breaks in dab (*Limanda limanda*) collected in the field : effects of biotic (age, sex) and abiotic (sampling site and period) factors on the extent of DNA damage. *Mutation Research*, 552, 197-207.
- Akcha F., Munschy C., Tronczynski J., Héas-Moisan K., Menard D.**, 2008. Relationship between chemical organic contamination and genotoxic and carcinogenic effects in dab (*Limanda limanda*) from the Eastern English Channel, France. *Environmental Pollution*, soumis.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., Narbonne J.F., Burgeot T., Michel X., Bellocq J.**, 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination and bioavailability. *Marine Environmental Research*, 47, 415-439.
- Bickman, J.W.; Smolen, M.J.**, 1994. Somatic and heritable effects of environmental genotoxins and the emergence of evolutionary toxicology. *Environmental Health Perspectives*, 102, 25-28.
- Boonyatumanond R., Wattayakorn G., Togo A., Takada H.**, 2006. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine and marine sediments in Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, 52, 942-956.
- Bouloubassi I. and Saliot A.**, 1991. Compositions and sources of dissolved and particulate PAH in surface waters from the Rhone delta (NW Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, 22, 588-594.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Piérard C., Garrigues P.**, 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58, 85-97.
- Budzinski H., Garrigues P., Le Menach K., Bellocq J., Augagneur S., Devier M-H., Mazéas O., Labadie P.**, 2003. Etude des métabolites des composés aromatiques et de la testostérone chez divers organismes biologiques de l'estuaire de la Seine. *Rapport Seine Aval*.
- Burgeot T., Vincent F., Bocquené G., Cachot J., Godefroy D.**, 1997. Effets biologiques des contaminants chez le flet en estuaire de Seine. *Rapport Seine Aval*.
- Burgeot T., Bocquené G., Cachot J., Vincent F., Godefroy D.**, 1996. Effets biologiques des contaminants dans l'estuaire et la baie de Seine. *Rapport Seine Aval*.
- Burgeot T., Akcha F., Cachot J., Minier C., Budzinski H.**, 2006. Proposition française au MEEDDAT pour la biosurveillance des contaminants chimiques dans le cadre de la convention OSPAR. *Rapport Interne Ifremer/2006-076, évalué par le CSTS et transmis au MEEDDAT* 8p.
- Cachot J.**, 1998. Caractérisation et analyse de la mutagenèse du gène suppresseur de tumeur P53 chez le flet, *Platichthys flesus* (L.). Mémoire de thèse Université d'Aix-Marseille II, 196 p.
- Cachot J., André V., Prévost V., Sichel F., Le Goff J., Daon S., Budzinski H., Augagneur S., LeMenach K., Peluhet L., Laroche J., Quiniou L., Moraga M., Le Pennec M., Martinez J.-C., David E., Marchand J., Rocher B., Minier C., Manduzio H.**, 2004. Evaluation intégrée des effets des contaminants à l'échelle individuelle et populationnelle sur deux espèces de bivalves, *Dreissena polymorpha* et *Mytilus edulis*, dans l'estuaire et l'embouchure de Seine. *Rapport Seine Aval*, 33 p.
- Cachot J., Geffard O., Augagneur S., Lacroix S., Le Menach K., Peluhet L., Couteau J., Denier X., Devier M.H., Pottier D., Budzinski H.**, 2006. Evidence of genotoxicity related to high PAH content of sediments in the upper part of the Seine estuary (Normandy, France). *Aquatic Toxicology*, 79, 257-267.
- Cachot J., Law M., Pottier D., Peluhet L., Norris M., Budzinski H., Winn R.**, 2007. Characterization of toxic effects of sediment-associated organic pollutants using the transgenic medaka. *Environmental Science and Technology*, 41, 7830-7836.
- Cailleaud K., Forget-Leray J., Budzinski H., Le Boulenger F.**, 2003. Impact des contaminants présents en estuaire de Seine sur les fonctions neuromusculaires et reproductrices du copépode *Eurytemora affinis* (2ème volet). *Rapport Seine Aval*.
- Cailleaud K., Forget-Leray J., Souissi S., Hilde D., Le Menach K., Budzinski H.**, 2007. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species (*Eurytemora affinis*/ (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere*, 70, 270-280.
- Chase M.E., Jones S.H., Hennigar P., Sowles J., Harding G.C.H., Freeman K., Wells P. G., Krahforst C., Coombs K., Crawford R.**, 2001. Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 490-504.
- Domagalski J. L., Kuivila K.M.**, 1993. Distributions of pesticides and organic contaminants between water and suspended sediment, San Francisco Bay, California. *Estuaries*, 16, 416-426.
- Fernandes M.B., Sicre M-A., Boireau A., Tronczynski J.**, 1997. Polyaromatic Hydrocarbon (PAH) Distributions in the Seine River and its Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 857-867.
- Fu J., Mai B., Sheng G., Zhang G., Wang X., Peng P., Xiao X., Ran R., Cheng F., Peng X., Wang Z., Tang U.W.**, 2003. Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview. *Chemosphere*, 52, 1411-1422.
- Gardner G.R. & Yevich P.P.**, 1988. Comparative histopathological effects of chemically contaminated sediment on marine organisms. *Marine Environmental Research*, 24, 311-316.
- Gardner G.R., Pruett R.J., Folmar L.C.**, 1989. A comparison of both neoplastic and non-neoplastic disorders in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) from eight areas in New England. *Marine Environmental Research*, 28, 393-397.
- Grabe S.A., Barron J.**, 2004. Sediment contamination, by habitat, in the Tampa Bay estuarine system (1993-1999): PAH, pesticides and PCB. *Environmental Monitoring and Assessment*, 9, 105-144.
- Hawkins, W.E.; Walker, W.W.; Fournie, J.W.; Manning, C.S.; Krol, R.M.**, 2003. Use of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and guppy (*Poecilia reticulata*) in carcinogenesis testing under national toxicology program protocols. *Toxicologic Pathology*, 31 suppl., 88-91.
- Itoh S., Shimada H.**, 1997. Clastogenicity and mutagenicity of hexavalent chromium in lacZ transgenic mice. *Toxicology Letter*, 16, 229-233.
- Jaouen-Madoulet**, 2000. Distribution et effets biologiques des PCB et des HAP dans les organismes de l'estuaire de Seine. Thèse d'Université. Université du Havre.
- Jolibois B.**, 2003. Etude du risque géotoxique d'eaux usées hospitalières et urbaines. Mémoire de thèse.
- Kowalewska, G., Konat-Stepowicz, J., Wawrzyniak-Wydrowska, B., Szymczak-Zyła, M.**, 2003. Transfer of organic contaminants to the Baltic in the Odra Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 703-718.
- Landahl J.T., McCain B.B., Myers M.S., Rhodes L.D., Brown D.W.**, 1990. Consistent associations between hepatic lesions in english sole (*Parophrys vetulus*) and polycyclic aromatic hydrocarbons in bottom sediments. *Environmental Health Perspectives*, 89, 195-203.
- Lipiatou E., Tolosa I., Simo R., Bouloubassi I., Dachs J., Marti S., Sicre M-A., Bayona J.M., Grimalt J.O., Saliot A., Albaiges J.**, 1997. Mass budget and dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mediterranean Sea. *Deep-sea Research II*, 44, 881-905.
- Le Goff J., Gallois J., Peluhet L., Devier M.H., Budzinski H., Pottier D., André V., Cachot J.**, 2006. DNA adduct measurements in zebra mussels, *Dreissena polymorpha* Pallas. Potential use for genotoxicant biomonitoring of fresh water ecosystems. *Aquatic Toxicology*, 79, 55-64.
- Loizeau V., Jaouen A., Le Guellec A-M., Abarnou A.**, 1999. Bioaccumulation des contaminants dans les réseaux trophiques. *Rapport Seine Aval*.
- Lyons B.P., Stentiford G.D., Green M., Bignell J., Bateman K., Feist S.W., Goodsir F., Reynolds W.J., Thain J.E.**, 2004. DNA adduct analysis and histopathological biomarkers in European flounder (*Platichthys flesus*) sampled from UK estuaries. *Mutation Research*, 552, 177-186.
- Malins D.C., McCain B.B., Myers M.S., Brown D.W., Krahn M.M., Roubal W.T., Schiewe M.H., Landahl J.T. & Chan S.L.**, 1987. Field and laboratory studies of the etiology of liver neoplasms in marine fish from Puget Sound. *Environmental Health Perspectives*, 71, 5-16.
- Malins D.C., McCain B.B., Landahl J.T., Myers M.S., Krahn M.M., Brown D.W., Chan S.L. & Roubal W.T.**, 1988. Neoplastic and other diseases in fish in relation to toxic chemicals : an overview. *Aquatic Toxicology*, 11, 43-67.
- Marchand J., Tanguy A., Laroche J., Quiniou L., Moraga D.**, 2003. Responses of European flounder *Platichthys flesus* populations to contamination in different estuaries along the Atlantic coast of France. *Marine Ecology Progress Series*, 260, 273-284.
- Marchand J., Quiniou L., Riso R., Thebaut M.T., Laroche J.**, 2004. Physiological coast of tolerance to toxicants in the European flounder *Platichthys flesus*, along the French Atlantic Coast. *Aquatic Toxicology*, 70, 327-343.
- Maron D.N., Ames B.N.**, 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173-215.
- Mazéas O.**, 2004. Evaluation de l'exposition des organismes aux HAP dans le milieu marin par le dosage des métabolites de HAP. Thèse d'Université, Université Bordeaux 1, 456 p.
- Minier M., Cachot J., André V., Prévost V., Sichel F., Le Goff J., Daon S., Budzinski H., Augagneur S., LeMenach K., Peluhet L., Laroche J.**

- Quiniou L., Moraga D., Le Pennec M., Martinez J.-C., David E., Marchand J., Rocher B., Manduzio H., 2005. Evaluation intégrée des effets des contaminants à l'échelle individuelle et populationnelle sur deux espèces de bivalves. Rapport Seine-Aval, 29 p.
- Minier, C., Abarnou, A., Jaouen-Madoulet, A., Le Guellec, A.-M., Tundjian, R., Bocquené, G., Leboulenger, F., 2006. A pollution-monitoring pilot study involving contaminant and biomarker measurements in the Seine estuary, France, using zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 112-119.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Chevreuil M., 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk deposition at a suburban site : assessment by principal component analysis of the influence of meteorological parameters. *Atmospheric Environment*, 37, 3135-3146.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Tiphagne-Larcher K., Chevreuil M., 2007. Fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Seine estuary, France: mass balance and role of atmospheric deposition. *Hydrobiologia*, 588, 145-157.
- Murchelano R.A. & Wolke R.E., 1991. Neoplasms and non neoplastic liver lesions in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, from Boston Harbor, Massachusetts. *Environmental Health Perspectives*, 90, 17-26.
- Myers M.S., Landahl J.T., Krahn M.M., McCain B.B., 1991. Relationships between hepatic neoplasms and related lesions and exposure to toxic chemicals in marine fish from the US west coast. *Environmental Health Perspectives*, 90, 7-15.
- Narbonne J.-F., Guarrigues P., Budzinski H., Morin B., Augagneur S., Clerandeu C., Mora P., 2004. Etude de l'estuaire de la Seine par l'utilisation de biomarqueurs, de bioessais et couplage avec analyses chimiques. Rapport Seine Aval.
- Ollivon D., Larcher-Tiphagne K., Garban B., Desportes A., Chevreuil M., 2005. Transfert d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) : eaux de surface et retombées atmosphériques humides. Rapport du PIREN Seine.
- Oros D.R., Ross J.R.M., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: Spatial distributions, temporal trends, and sources (1993-2001). *Marine Environmental Research*, 60, 466-488.
- Oros D.R., Ross J.R.M., Spies R.B., Mumley T., 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination in San Francisco Bay: A 10-year retrospective of monitoring in an urbanized estuary. *Environmental Research*, 105, 101-118.
- Ostling O., Johanson K.J., 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123, 291-298.
- Pisoni M., Cogotzi L., Frigeri A., Corsi I., Bonacci S., Iacocca A., Lancini L., Mastrototaro F., Focardi S., Svelto M., 2004. DNA adducts, benzo(a)pyrene monoxygenase activity, and lysosomal membrane stability in *Mytilus galloprovincialis* from different areas in Taranto coastal waters (Italy). *Environmental Research*, 96, 163-175.
- OSPAR, 1997. Report of the results of the one-off DIFFCHEM survey. OSPAR Commission, meeting document No ASMO 97/4/13, 31 pp.
- Peters N., Köhler A., Kranz H., 1987. Liver pathology in fishes from the lower Elbe as a consequence of pollution. *Diseases of aquatic organisms*, 2, 87-97.
- Quillardet P., Huisman O., D'Ari R. & Hofnung M., 1982. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K12 to measure genotoxicity. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 79, 5971-5975.
- Readman J.W., Mantoura R.F.C., Rhead M.M. and Brown L., 1982. Aquatic distribution and heterotrophic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the Tamar estuary. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 14, 369-389.
- Rocher B., Le Goff J., Peluhet L., Briand M., Manduzio H., Gallois J., Devier M.H., Geffard O., Gricourt L., Augagneur S., Budzinski H., Potier D., André V., Lebailly P., Cachot J., 2006. Genotoxicant accumulation and cellular defence activation in bivalves chronically exposed to waterborne contaminants from the Seine River. *Aquatic Toxicology*, 79, 65-77.
- Sicre M.-A., Broyelle I., Lorre A. et Salot A., 1993. Sources and transport of particulate hydrocarbons in the meso-tidal Changjiang estuary. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 37, 557-573.
- Skarphedinsdottir H., Ericson G., Svavarsson J., Næs K., 2007. DNA adducts and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) tissue levels in blue mussels (*Mytilus* spp.) from Nordic coastal sites. *Marine Environmental Research*, 64, 479-491.
- Stein J.E., Collier T.K., Reichert W.L., 1992. Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects : studies with benthic fish in Puget Sound, Washington. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11, 701-714.
- Stentiford G.D., Longshaw M., Lyons B.P., Jones G., Green M., Feist S.W., 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Marine Environmental Research*, 55, 137-159.
- Tissier C., Morvan C., Bocquené G., Grosseil H., James A., Marchand M., 2005. Les substances prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Rapport Ifremer.
- Thomas K.V., Balaam J., Barnard N., Dyer R., Jones C., Lavender J., McHugh M., 2002. Characterisation of potentially genotoxic compounds in sediments collected from United Kingdom estuaries. *Chemosphere*, 49, 247-258.
- Venier P., Zampieron C., 2005. Evidence of genetic damage in grass gobies and mussels from the Venice lagoon. *Environment International*, 31, 1053-1064.
- Vethaak A.D. et Wester P.W., 1996. Diseases of flounder *Platichthys flesus* in Dutch coastal and estuarine waters, with particular reference to environmental stress factors. II. Liver histopathology. *Diseases of Aquatic Organisms*, 26, 99-116.
- Vigano L., Camoirano A., Izzotti A., D'Agostini F., Polesello S., Francisci C., De Flora S., 2002. Mutagenicity of sediments along the Po River and genotoxicity biomarkers in fish from polluted areas. *Mutation Research*, 515, 125-134.
- Winn R., Norris M., Brayer K., Torres C., Muller S., 2000. Detection of mutations in transgenic fish carrying a bacteriophage  $\phi$ II transgene target. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 97, 12655-12660.
- White P.A., Rasmussen J.B., Blaise C., 1998. Genotoxic substances in the St. Lawrence system I: industrial genotoxins sorbed to particulate matter in the St. Lawrence, St. Maurice, and Saguenay Rivers, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 286-303.
- White, P.A.; Robitaille, S.; Ramussen, J.B., 1999. Heritable reproductive effects of Benzo[a]pyrene on the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 1843-1847.
- Witmer C.M., Park H.S., Shupack S.I., 1989. Mutagenicity and disposition of chromium. *Sci. Total Environ.*, 86, 131-148.
- Woodhead R.J., Law R.J., Matthiessen P., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments around England and Wales, and their possible biological significance. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 773-790.



## Glossaire

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

**Adsorption** : fixation physique et/ou chimique d'un atome ou d'une molécule à la surface d'un solide (adsorbant).

**Aérosol** : particules très fines, solides ou liquides, en suspension dans l'air.

**Allèle** : une des formes possibles que peut prendre un même gène. Chaque gène est représenté chez les organismes diploïdes par deux allèles identiques (homozygote) ou différents (hétérozygote)

**Allozyme** : Différents variants d'une même enzyme qui diffèrent par leur séquence en acides aminés.

**Apoptose** : processus naturel par lequel des cellules déclenchent leur auto destruction en réponse à un signal. Contrairement à la nécrose, elle ne provoque pas d'inflammation. Les membranes plasmiques ne sont pas détruites, et la cellule émet des signaux qui permettront sa phagocytose par les globules blancs.

**Bactériophage** : virus n'infectant que des bactéries.

**Bioaccumulation** : capacité des organismes aquatiques à concentrer et à accumuler les substances chimiques à des concentrations supérieures à celles trouvées dans l'eau qui les environne.

**Bioactivation** : processus métabolique enzymatique responsable de la biotransformation de la molécule originelle en métabolites électrophiles très réactifs vis-à-vis des molécules biologiques.

**Bioessai** : évaluation de la toxicité d'une substance par la mesure des effets induits sur un organisme vivant dans des conditions standardisées de laboratoire.

**Biomasse** : quantité totale de matière de toutes les espèces vivantes présentes dans un milieu naturel donné.

**Demi-vie** : temps nécessaire pour que la quantité d'une substance contenue dans un système biologique soit diminuée de la moitié de sa valeur initiale.

**Hémocyte** : cellule sanguine

**Hétérozygotie** : un individu est hétérozygote pour un gène si les deux allèles situés au même locus sont différents

**Hydrophobe** : composé insoluble dans l'eau et soluble dans les corps gras

**Intertidale** : dans un régime de mers à marées, zone comprise entre la plus haute mer et la plus basse mer de vive-eau (zone de balancement des marées)

**Isomère** : se dit de molécules possédant la même formule brute mais ayant une formule développée différente

**Locus** : place du gène sur le chromosome

**Métabolisation** : processus de transformation de substances chimiques dans l'organisme vivant sous l'action d'agents biologiques. Les métabolites en sont la résultante.

**Mésohaline** : zone dans laquelle la salinité est comprise entre 5 et 18 ‰

**Microsome** : vésicule provenant de la fragmentation du reticulum endoplasmique

**Nécrose** : c'est la forme principale de mort cellulaire. Elle est accompagnée habituellement d'une réponse inflammatoire. La cassure de la membrane plasmique qui en résulte conduit à la libération dans le milieu extérieur du contenu cytoplasmique

**Nucléotides** : les nucléotides de l'ADN sont des acides désoxyribonucléiques. Il en existe quatre : l'adénine, la guanine, la thymine et la cytosine. Ils ont la particularité de s'unir deux à deux par complémentarité par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes.

**Oligohaline** : zone dans laquelle la salinité est comprise entre 0,1 et 5 ‰

**Photolyse** : réaction chimique dans laquelle un composé chimique est décomposé par la lumière

**Polymorphisme** : variations de la séquence nucléotidique entre allèles d'un même gène

**Transition** : Substitution d'une base de l'ADN par une autre base de la même famille

**Transversion** : substitution d'une base de l'ADN par une base d'une famille différente



# La Génotoxicité

Quel risque pour les espèces aquatiques ?

Fascicules Seine-Aval

- 1.1 Seine-Aval : un estuaire et ses problèmes
- 1.2 Courants, vagues et marées : les mouvements de l'eau
- 1.3 Sables, chenaux et vasières : dynamique des sédiments et évolution morphologique
- 1.4 Matériaux fins : le cheminement des particules en suspension
- 1.5 L'oxygène : un témoin du fonctionnement microbologique
- 1.6 Contaminations bactérienne et virale
- 1.7 Patrimoine biologique et chaînes alimentaires
- 1.8 La contamination métallique
- 1.9 Fer et Manganèse : réactivités et recyclages
- 1.10 Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire
- 1.11 La dynamique du Mercure
- 1.12 Les contaminants organiques qui laissent des traces :sources, transport et devenir
- 1.13 Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant?
- 1.14 Des organismes sous stress
- 1.15 Zones humides de la basse vallée de la Seine
- 1.16 Les modèles : outils de connaissance et de gestion
- 2.1 Le Programme Seine-Aval 3 : contexte, bilan et enjeux
- 2.2 La génotoxicité : quel risque pour les espèces aquatiques ?

Réalisation	: GIP Seine-Aval 12 Avenue Aristide Briand 76 000 Rouen <a href="http://www.seine-aval.fr">www.seine-aval.fr</a>
Conception - Edition Infographie Impression sur papier recyclé ISBN	: AAZ Consultants : Quai 24 : IB4 :
Crédits photos (couverture)	: J. Cachot, K. Cailleaud, P. Lebailly, L-A Romana, GIP Seine-Aval
Date d'édition	: juin 2009



**Seine-Aval**  
GROUPEMENT D'INTÉRÊT PUBLIC

