

Écotoxicologie

EFFETS D'UNE DIÈTE DE POISSONS PROVENANT D'UN MILIEU CONTAMINÉ PAR DES XÉNOESTROGÈNES SUR LE DÉVELOPPEMENT POST-NATAL DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DE RATS MÂLES

par

P. BROUSSEAU¹, L. MÉNARD¹, J.P. ARAVINDAKSHAN¹,
M. GREGORY¹, D. MARCOGLIESE², D.G. CYR¹, M. FOURNIER^{1*}

La communauté scientifique observe et reconnaît de plus en plus les problèmes associés au rejet d'eaux usées dans l'environnement, qui ont été inadéquatement traitées. Dans la présente étude, afin d'évaluer la possibilité que les substances présentes dans ces effluents et leurs effets se transmettent le long de la chaîne alimentaire nous avons investigué l'effet de la contamination de poissons vivant dans des écosystèmes localisés en amont et en aval d'une usine d'épuration, sur le développement du système immunitaire chez le rat. Des poissons capturés dans les deux écosystèmes ont été utilisés pour nourrir des femelles enceintes. Le développement du système immunitaire des rats mâles de la F1 a été évalué par différents tests immunologiques. Nous avons observé des baisses significatives du nombre de splénocytes de même que de l'activité de phagocytose chez les rats dont les mères ont été nourries avec des poissons capturés en aval de l'usine d'épuration. Ces résultats démontrent que les traitements actuels des eaux usées doivent être améliorés puisque des effets négatifs importants ont été observés sur le système immunitaire de rats mâles exposés via la lactation.

Effects of a diet prepared with fish captured upstream and downstream of a wastewater treatment plant, releasing xenoestrogens, on post-natal development of immune system in male rats exposed only by lactation

The scientific community recognizes more and more importantly serious problems which are associated with the release in the environment of water effluents inadequately treated by wastewater treatment plant. In the present study, we have examined the possibility that those inappropriate substances might impact the food chain.

Bulletin de la Société zoologique de France 132 (1-2)

Fishes captured upstream and downstream of a wastewater treatment plant were used to prepare diets that were given to pregnant rats. The development of the immune system of F1 male rats was studied by various immunological assays using the spleen. A key element to remember is the fact that F1 rats were exposed to contaminants only by lactation. The results have shown that the number of splenocytes as well as efficiency of the phagocytosis were significantly reduced 92 days after birth. The observed effects have shown that treatment of wastewater must be rendered more efficient in order to avoid the release of xenobiotics in the environment to reduce contamination of recipient ecosystem.

Introduction

Les stations municipales de traitement d'eaux usées reçoivent, éliminent en partie, et rejettent dans les cours d'eau une foule de produits chimiques selon la nature et l'origine des eaux traitées (CHAMBERS *et al.*, 1997). Ainsi, au cours des dernières années, il a été constaté la présence de nombreux produits : biphényles polychlorés, hydrocarbures aromatiques polycycliques, métaux, dioxines, furannes, détergents, solvants, médicaments, produits pharmaceutiques et de soins personnels, hormones humaines ou de synthèse, substances complexes issues de la dégradation des végétaux, pesticides, produits chimiques bromés comme les PBDE, qui sont intégrés à des matériaux de construction ou d'ameublement et que l'on croyait fixés à demeure dans ces matériaux, mais que l'on retrouve maintenant dans l'eau et même dans le lait maternel chez l'humain. L'efficacité des infrastructures de traitement d'eaux usées à l'égard de ces substances est pratiquement inconnue.

En Angleterre, durant les années 1990, on a constaté que des truites mâles, placées en cages en aval de l'effluent d'une station de traitement d'eaux usées, se féminisaient (JOBLING *et al.*, 1996). On a d'abord cru que cette réaction était provoquée par les hormones (œstrogènes), contenues dans l'urine humaine et qui sont acheminées aux stations d'épuration municipales via les eaux d'égout. Cependant, la communauté scientifique s'est rapidement rendue compte que plusieurs produits chimiques provoquent le même type de réaction chez les poissons et chez d'autres organismes. Par exemple : dans un lac de Floride contaminé par un pesticide, les alligators mâles ont des organes génitaux atrophiés et difformes (GUILLETTE, 1998) ; des goélands des Grands Lacs contaminés par les BPC ont un comportement reproducteur inadéquat ; des poissons en aval d'usines de pâtes et papiers sont de sexes mélangés (BORTONE & DAVIS, 1994).

Ainsi, ce que l'on croyait être un problème de pollution par des œstrogènes ou d'autres hormones s'est rapidement élargi à ce que l'on appelle la pollution de l'eau par des substances à effets endocriniens ou perturbateurs endocriniens. Des études plus récentes ont démontré que le phénomène avait aussi cours au Québec : les rejets d'eaux usées de Montréal causent de la perturbation endocrinienne chez des moules et des poissons qui habitent le Saint-Laurent. Depuis quelques années, l'effet des rejets des villes de Montréal et de Gatineau sur les organismes aquatiques fait l'objet de plusieurs études par les membres de notre équipe. Des marqueurs d'exposition à ces composés (vitellogénine chez les poissons mâles ou immatures et immunomodulation) furent évalués chez des queues à tache noire (*Notropis hudsonius*) et aussi chez la moule d'eau douce (*Elliptio complanata*). Les résultats obtenus confirment le potentiel de modulation

Effet d'une diète de poissons

endocrinienne de ces effluents municipaux (ARAVINDHAKSHAN *et al.*, 2004a ; MARCOGLIESE *et al.*, 2006 ; GAGNÉ *et al.*, 2004a, 2005). En effet, à l'instar des poissons, le rejet de la ville de Montréal peut effectivement féminiser les moules d'eau douce, lorsque celles-ci y sont exposées durant un cycle complet de leur reproduction (BLAISE *et al.*, 2003).

Afin d'évaluer la possibilité que ces substances et leurs effets se transmettent le long de la chaîne alimentaire, nous avons développé un protocole d'exposition chez le rat et la souris dans lequel des extraits de poissons exposés sont incorporés dans la diète. Avec ce protocole, les effets de mélanges de contaminants tels que présents dans les gras de poissons des Grands Lacs (TRYPHONAS *et al.*, 1998a,b) ou de gras de béluga (LAPIERRE *et al.*, 1999 ; FOURNIER *et al.*, 2002 ; RUBY *et al.*, 2003), tant ceux de la population contaminée du Saint-Laurent que ceux moins contaminés de l'Arctique, ont pu être étudiés. Ces effets incluaient des atteintes toxiques, en particulier au système immunitaire. Plus récemment encore, nous avons pu mettre en évidence des effets néfastes sur le développement du système reproducteur de jeunes rats allaités par des rates nourries avec des mélanges (ARAVINDAKSHAN *et al.*, 2004b). Ce modèle se montra particulièrement sensible. Dans le présent projet il sera repris pour évaluer le risque à la santé des organismes fauniques lié à la consommation de poissons exposés aux effluents municipaux de la ville de Montréal.

Matériel et méthodes

Animaux et traitements

Des femelles Sprague-Dawley enceintes, ont été obtenues de Charles River Canada Ltd (St. Constant, Montréal, Québec). A l'animalerie, elles ont été gardées dans des conditions standards à une température constante de 22°C avec un cycle de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Le jour de la naissance, les bébés mâles ont été séparés dans 3 groupes de 16 animaux chacun. Les trois groupes expérimentaux étaient comme suit : le Groupe 1, témoin dont les mères nourricières ont reçu une diète standard pour rat (Purina Rat Chow). Le Groupe 2, dont les mères nourricières ont reçu une diète préparée avec des poissons capturés à l'Île de la Paix, située en amont de l'effluent municipal. Le Groupe 3, dont les mères nourricières ont reçu une diète préparée avec des poissons capturés à l'Île Beauregard, située en aval de l'effluent municipal. Le poisson queue à tache noire (*Notropis hudsonius*) a été sélectionné à cause de sa présence importante dans les sites étudiés et de sa faible migration. Les poissons capturés, soit à l'Île de la Paix ou à l'Île Beauregard, ont été homogénéisés et administrés par gavage aux rates nourricières. Les gavages ont été faits 3 fois par semaine avec une quantité correspondant à 1% de leur poids corporel. Les bébés n'ont été exposés que via la lactation. Le sevrage a été fait au jour 21 et à partir de ce moment, tous les rats ont été nourris *ad libitum* avec la diète standard pour rat de Purina (Purina Rat Chow). L'eau était aussi donnée *ad libitum*. Les bébés de même que les rates nourricières ont été pesés 3 fois par semaine. Des rats mâles ont été sacrifiés au moment du sevrage (jour 21) et d'autres, une fois devenus adultes (jour 92).

Rationalité dans la sélection des divers paramètres immunologiques

La raison pour laquelle des tests non spécifiques comme la phagocytose, la transformation blastique de même que l'activité NK ont été sélectionnés est la suivante. Afin d'éviter de créer un biais, il était impossible d'injecter un antigène donc de stimuler une réponse immunitaire spécifique. En effet, l'injection d'un antigène pouvait potentiellement créer de l'interférence en influençant d'autres systèmes physiologiques. L'efficacité de ces tests à révéler une immunotoxicité a été démontrée clairement par LUSTER et son équipe en 1992. De plus, d'autres études ont confirmé la pertinence de cette approche immunotoxicologique dans l'étude de mélanges complexes (TRYPHONAS, H. *et al.*, 1998a,b ; LAPIERRE *et al.*, 1999 ; FOURNIER, M., *et al.*, 2000).

Préparation des cellules et détermination de la viabilité

Les splénocytes ont été mis en suspension dans le milieu HBSS puis les cellules ont été lavées deux fois avec le même milieu. Les cellules mononucléées ont été purifiées avec un gradient de Ficoll-paque (Amersham Pharmacia, Piscataway, N.J.). L'anneau de cellules mononucléées a été récolté puis les cellules ont été lavées trois fois avec le HBSS. Après le dernier lavage, les splénocytes ont été resuspendus dans du milieu RPMI-1640 complet. La viabilité des splénocytes a été évaluée par cytométrie de flux (FACScan, Becton-Dickinson, San Jose, CA) en utilisant de l'iodure de propidium (PI). Quand la membrane d'une cellule est endommagée, elle ne peut plus exclure le PI de son cytoplasme et elle devient PI⁺.

Transformation lymphoblastique

La transformation lymphoblastique a été effectuée en mesurant le taux d'incorporation de thymidine tritiée (³H) thymidine) par des lymphocytes stimulés. Brièvement, la concentration de splénocytes a été ajustée à 5 x 10⁶ cellules/ml. Des volumes de 100 µl de la suspension de splénocytes ont par la suite été distribués dans un plateau de 96 puits à fond plat. Des mitogènes pour stimuler les lymphocytes T ont été utilisés soit la concanavaline A (Con A) et la phytohémagglutinine (PHA), ont été ajoutés aux concentrations de 2,5 µg/ml et 10 µg/ml respectivement. Les cellules ont par la suite été incubées à 37°C avec 5% CO₂ pour une période de 54 heures. Au terme de cette première incubation, 0,5 µCi de ³H) thymidine a été ajouté à chaque puits. Les cellules ont à nouveau été incubées dans les mêmes conditions pour une période de 18 heures. À la fin de l'incubation, les cellules ont été filtrées (Tetratex Cell Harvester) et l'incorporation de ³H) thymidine a été déterminée par scintillation (compteur β, Beckman LS1801). Les résultats ont été exprimés en désintégrations par minute (DPM) (BROUSSEAU *et al.*, 1998).

L'activité NK

Pour déterminer l'effet de la diète sur l'activité NK, l'activité cytotoxique des splénocytes a été effectuée avec les cellules cibles YAC-1 et déterminée par cytométrie de flux (BROUSSEAU *et al.*, 1998). Brièvement, les cellules cibles YAC-1 ont été mises en culture. Durant leur croissance en phase logarithmique, 10⁷ cellules ont été

Effet d'une diète de poissons

prélevées et incubées avec le 3-3'-diocetadecycloxacarbocyanine perchlorate (DiO) pour 20 minutes à 37°C en présence de 5% de CO₂. Les cellules ont par la suite été lavées et la concentration ajustée à 1 x 10⁶ cellules/ml. Le DiO possède un spectre d'absorption et d'émission comparable à l'isothiocyanate de fluorescéine lorsqu'il est excité à une longueur d'onde de 488 nm. Les cellules cibles (DiO⁺) ont été par la suite incubées avec les cellules effectrices, à plusieurs ratios (1/20, 1/40, 1/80), pour 4 heures à 37°C en présence de 5% de CO₂ et en présence de PI utilisé afin d'évaluer la viabilité des cellules cibles. À la fin de l'incubation, les cellules ont été remises en suspension et des acquisitions de 10 000 événements ont été faites au cytomètre de flux (FACScan, Becton-Dickinson, San Jose, CA) en utilisant une barrière limitant les acquisitions que des cellules cibles, soit celles qui sont DiO⁺. Un graphique de dispersion de points (FL2 vs FL1) a par la suite été utilisé lors des acquisitions, ce qui nous a permis de discriminer les cellules cibles DiO⁺PI⁺ et DiO⁺PI⁻. Les acquisitions et les analyses ont été faites avec le programme LYSYS II (Becton-Dickinson, San Jose, CA). Les résultats ont été exprimés en pourcentage de cytotoxicité.

Analyse de la phagocytose

La compétence des macrophages à phagocyter a été étudiée par une méthode de cytométrie de flux (BROUSSEAU *et al.*, 1998). Les suspensions de splénocytes ont été ajustées à 5 x 10⁶ cellules/ml dans le milieu HBSS. Un volume de 2,0 ml de chacune des suspensions a été transféré dans un tube de polypropylène de 15,0 ml et centrifugé à 250 x g pour 10 min. Les cellules ont été remises en suspension dans du HBSS. Pour chaque suspension, un témoin négatif et un témoin positif ont été préparés et mis en pré-incubation à 4°C et à 37°C respectivement pour une période de 30 minutes. De l'azide de sodium a été ajouté au témoin négatif. Après cette incubation, les billes de polystyrène de 2 µm de diamètre ont été ajoutées dans un ratio de 100 billes/cellule. Les cellules ont été incubées dans leurs conditions respectives pour une période de 60 minutes. À la fin de l'incubation, les suspensions ont été bien homogénéisées et un volume de 500 µl de chacune des suspensions a été prélevé et transféré sur un gradient de 3% de BSA dans un tube de polystyrène de 5,0 ml afin d'éliminer les billes libres. Les tubes ont été centrifugés à 150 x g pour 8 minutes à 4°C. Les cellules ont été par la suite resuspendues dans 0.5% de formaline préparée dans du PBS. Les acquisitions ont été faites avec un FAScan (Becton-Dickinson, San Jose, CA) à l'intérieur d'une période de 24 heures suivant la fixation. Les acquisitions et les analyses ont été faites avec le programme LYSYS II (Becton-Dickinson, San Jose, CA). Les résultats ont été exprimés en pourcentage de cellules ayant phagocyté une bille et plus et trois billes et plus.

Analyses statistiques

Toutes les données ont d'abord été analysées par le test d'homogénéité de Bartlett et de distribution normale de χ^2 , pré-requis pour faire un ANOVA. Lorsque des différences significatives ont été identifiées entre les groupes, l'ANOVA a été suivi d'un test de Dunnett pour identifier les groupes statistiquement différents.

Résultats

Nombre de cellules

Le nombre total de cellules obtenues à partir de la rate a été évalué et les résultats sont présentés dans la Figure 1. En ce qui concerne les sacrifices effectués au jour 21 suivant la naissance, nous avons obtenu des augmentations significatives et similaires dans les deux groupes d'animaux dont les mères ont reçu une diète contenant du poisson. En ce qui concerne les sacrifices effectués au jour 92 suivant la naissance, nous avons obtenu une augmentation significative du nombre de splénocytes pour les rats dont les mères ont reçu une diète préparée à partir de poissons capturés en amont de la station. À l'inverse, nous avons observé une baisse significative du nombre de splénocytes chez les rats dont les mères ont reçu une diète préparée à base de poissons capturés en aval de la station.

Phagocytosis

Les effets de la diète sur la phagocytose sont présentés dans la Figure 2. Dans un premier temps nous allons regarder les effets sur le pourcentage total de phagocytes en analysant les cellules qui ont phagocyté une bille et plus (2A). Nous avons observé une

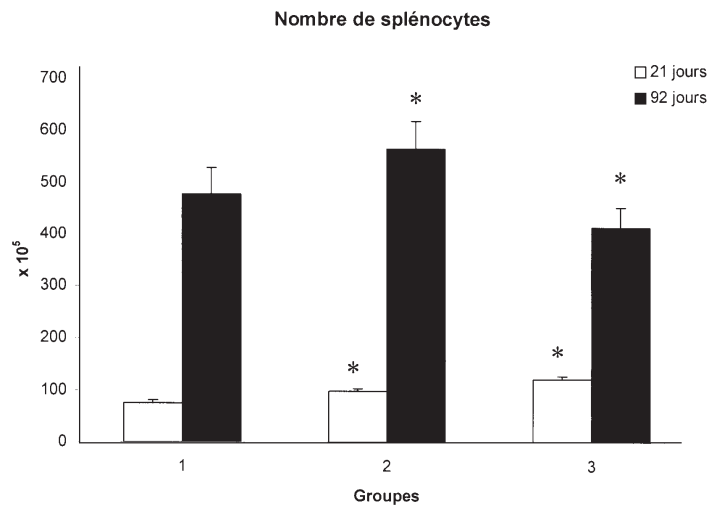


Figure 1

Le nombre de splénocytes chez les rats sacrifiés aux jours 21 et 92 après la naissance. Le groupe 1 est le témoin dans lequel les mères ont reçu une diète normale. Les groupes 2 et 3 représentent les animaux dont les mères ont reçu une diète de poissons capturés en amont et en aval de l'usine d'épuration respectivement. * = $P \leq 0.05$.

*The number of splenocytes in the rats sacrificed at days 21 and 92 after birth. Group 1 is the control Group in which mothers were fed with a normal diet. Groups 2 and 3 are the groups for which mothers received diet containing fishes captured upstream and downstream of the wastewater plant respectively. * = $P \leq 0.05$.*

Effet d'une diète de poissons

baisse significative pour les animaux sacrifiés 21 jours après la naissance, chez les animaux dont les mères ont reçu une diète préparée avec des poissons capturés en aval de la station. Une augmentation significative du nombre de phagocytes a été obtenue chez les animaux du même groupe qui ont été sacrifiés 92 jours après la naissance.

L'efficacité de phagocytose a aussi été étudiée en déterminant le nombre de phagocytes très actifs, c'est-à-dire ceux qui ont phagocyté 3 billes et plus (2B). Pour les animaux sacrifiés au jour 21 suivant la naissance, nous avons observé une baisse

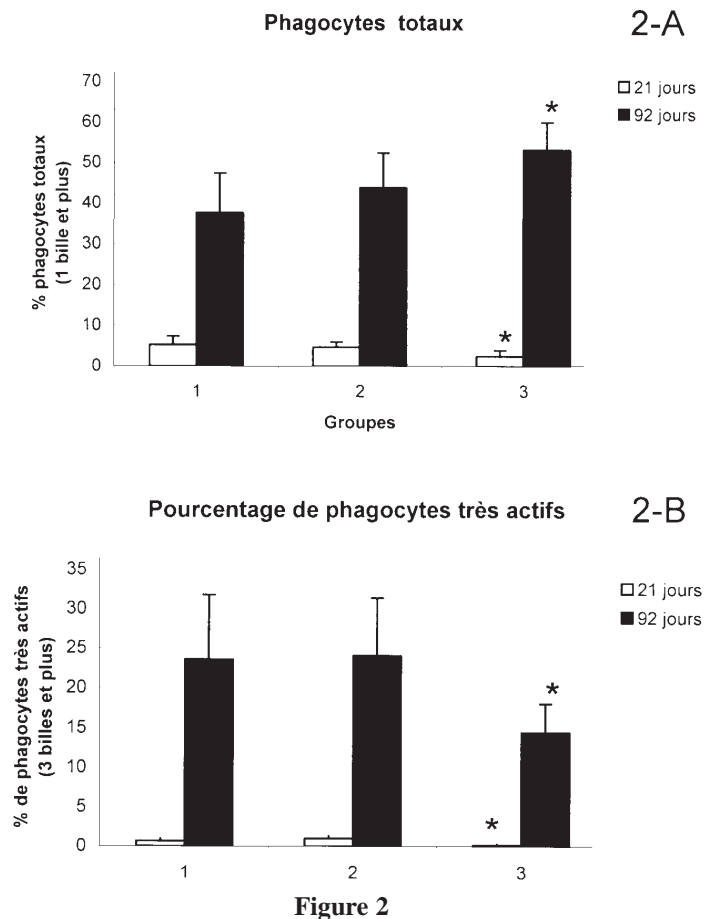


Figure 2

(A) Le pourcentage de phagocytes totaux (1 bille et plus) ; (B) le pourcentage de phagocytes très actifs (3 billes et plus) à partir de la rate des rats dont les mères ont été nourries avec une diète normale (groupe 1), une diète contenant des poissons capturés en amont (groupe 2) et en aval (groupe 3) de la station d'épuration. Les sacrifices ont été effectués 21 et 92 jours après la naissance * = $P \leq 0.05$.

(A) Percentage of total phagocytic cells (1 bead and more) ; (B) percentage of highly active phagocytes (3 beads and more) from rats for which mothers received a normal diet (group 1), a diet with fishes captured upstream (group 2) or downstream (group 3) of the wastewater treatment plant. Sacrificed were performed 21 and 92 days after birth. * = $P \leq 0.05$.

Bulletin de la Société zoologique de France 132 (1-2)

significative de l'efficacité de la phagocytose chez les animaux dont les mères ont reçu la diète contenant des poissons capturés en aval de la station. Nous avons aussi obtenu une baisse très importante de l'efficacité de la phagocytose d'environ 40% aussi chez les animaux du même groupe sacrifiés 92 jours après leur naissance.

La transformation lymphoblastique

La capacité des lymphocytes T à proliférer a été étudiée en utilisant la méthode classique d'incorporation de thymidine et deux mitogènes ; la PHA et la Con A. Des animaux sacrifiés aux jours 21 et 92 après leur naissance ont été inclus. Nous avons observé aucune différence significative lorsque les résultats des animaux dont les mères ont reçu une diète contenant du poisson étaient comparés aux résultats obtenus avec le groupe témoin (résultats non-inclus).

L'activité des cellules NK

Les résultats de l'activité des cellules NK sont présentés dans la Figure 3. Ces résultats ont été obtenus chez les rats sacrifiés 92 jours après leur naissance. Le potentiel de cytotoxicité des splénocytes a été mesuré en utilisant les cellules YAC-1 marquée au

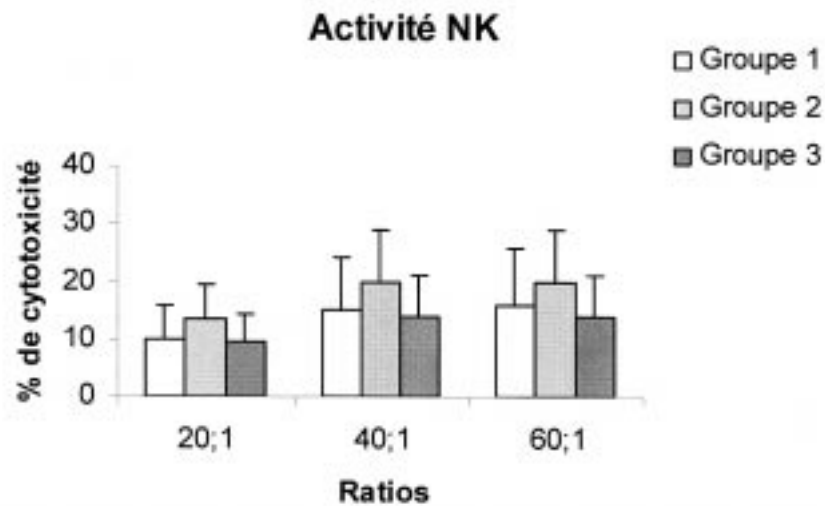


Figure 3

L'activité NK mesurée à partir de la rate chez des rats sacrifiés 92 jours après leur naissance. Le groupe 1 est le témoin dans lequel les mères ont reçu une diète normale. Les groupes 2 et 3 représentent les animaux dont les mères ont reçu une diète de poissons capturés en amont et en aval de l'usine d'épuration respectivement. * = $P \leq 0.05$.

*NK cell activity measured from the spleen of rats sacrificed 92 after birth. Group 1 is the control Group in which mothers were fed with a normal diet. Groups 2 and 3 are the groups for which mothers received diet containing fishes captured upstream and downstream of the wastewater plant respectively. * = $P \leq 0.05$.*

Effet d'une diète de poissons

DiO dont la fluorescence a été décelée par cytométrie de flux. Nous avons pu observer une légère tendance à la hausse, et ce pour tous les ratios, lorsque les résultats des animaux dont les mères ont reçu une diète à base de poissons capturés en amont de la station sont comparés au groupe témoin. Cependant, cette augmentation ne s'est pas révélée statistiquement significative. Aucun effet n'a pu être observé chez les animaux du groupe 3 soit ceux dont les mères ont été nourries avec des poissons capturés en aval de la station.

Discussion

Les effluents municipaux représentent aujourd'hui une menace très sérieuse pour la faune vivante dans et à proximité du milieu récepteur. Les impacts des effluents municipaux sont nombreux et la présence de bactéries (cholera, salmonella, shigellas), virus (hépatite, enterovirus, poliovirus) et parasites ne fait qu'augmenter le risque que les animaux de même que les humains développent des problèmes de santé graves (CHAMBERS *et al.*, 1997). De plus, les poissons vivant à proximité d'effluents municipaux sont exposés à un grand nombre de contaminants dont des métaux et des composés organiques qui font en sorte que leur consommation par les humains est restreinte. Dans les poissons, plusieurs de ces composés induisent des modifications histopathologiques importantes qui ont pour conséquences de perturber plusieurs fonctions physiologiques et voies métaboliques (SCHMIDT-POSTHAUS *et al.*, 2001 ; ESCHER *et al.*, 1999 ; JOHNSON *et al.*, 1998 ; ZELIKOFF, *et al.*, 1997 ; ARAVINDHAKSHAN *et al.*, 2004a,b). Cette situation peut mener à long terme à des changements importants dans les populations de poissons, pouvant même mettre en péril la survie de certaines espèces. Le présent projet visait à déterminer si la toxicité induite par des effluents municipaux chez le poisson pouvait se transmettre chez les organismes fauniques ou chez l'humain lors de la consommation de ces poissons.

Sur l'Île de Montréal (Québec, Canada), les eaux usées en amont de la ville sont canalisées vers un seul point, soit l'Usine de traitements des eaux usées localisée dans la partie est de l'île. Puis, l'effluent de la station est déversé à un site unique dans le chenal de navigation du fleuve Saint-Laurent par deux émissaires, ce qui occasionne l'arrivée d'une forte contamination localement. Ce site est localisé à quelques kilomètres à l'est de Montréal. Les eaux usées de la ville de Montréal contiennent un grand nombre de mélanges de contaminants complexes qui proviennent entre autre de l'activité industrielle (environ 4000 industries), domestique (population évaluée à 1 800 000 personnes) de même que de l'eau de ruissellement (environ 1000 mm/année) (DESCHAMPS *et al.*, 1998). De plus, une étape supplémentaire au traitement physico-chimique primaire impliquant du chlorure ferrique ou l'alun et un polymère anionique fait en sorte que le niveau de fer est augmenté dans l'effluent (CHAMBERS, *et al.* 1997).

Le poisson queue à tache noire (*Notropis hudsonius*) a été sélectionné à cause de sa présence importante dans les sites étudiés autant en amont qu'en aval de l'usine d'épuration, et de son faible taux de migration ce qui fait en sorte que leur exposition à l'effluent municipal a été importante. Une évaluation de la compétence du système

Bulletin de la Société zoologique de France 132 (1-2)

immunitaire directement chez ces poissons a démontré que le nombre de phagocytes de même que l'efficacité de la phagocytose sont augmentés chez les poissons capturés en aval de l'usine d'épuration (MÉNARD *et al.*, 2007). Lorsque la chair de ces poissons a été incorporée dans la diète de rate nourrissant des bébés, nous avons observé chez les rats une atteinte de certains paramètres immunitaires.

Nous avons observé dans les deux groupes de rats dont les mères ont été nourries avec une diète contenant du poisson, des variations significatives du nombre de spléno-cytes aux jours 21 et 92 et dont les plus importantes ont été observées au jour 92. Des variations dans le nombre total de cellules obtenues à partir d'organes lymphoïdes est un indicateur fréquemment utilisé en combinaison avec d'autres paramètres immunologiques afin de déceler des immunotoxicités (EPA, 1998 ; ICH, 2006).

Dans notre étude, la phagocytose a été étudiée par cytométrie de flux. Deux marqueurs ont été utilisés, le premier pour obtenir le nombre total de phagocytes (1 bille et plus) et le second pour caractériser l'efficacité de la phagocytose (3 billes et plus). Nous avons observé au jour 21 une baisse significative du nombre total de phagocytes de même que de l'efficacité, chez les rats nourris par les mères qui ont reçu la diète incluant des poissons capturés en aval de l'usine. Au jour 92, malgré le fait que le nombre de phagocytes aient été significativement augmenté chez les rats du même groupe une importante baisse (10%) de l'efficacité a aussi été observée. Alors que les poissons ont été directement exposés aussi bien aux contaminants chimiques qu'aux agents biologiques dans notre étude chez le rat, ces animaux qui ont fait l'objet du suivi immunologique n'ont jamais été exposés directement aux effluents mais aux éléments de ceux-ci qui présents dans les poissons ont été transférés dans les mères et ont ensuite été transmis aux rats via la lactation. Il est concevable que les rats aient été exposés aux éléments chimiques des effluents qui ont résisté au transfert dans la chaîne trophique et provoqués une suppression de la compétence des macrophages. Il est difficile de pointer une substance en particulier considérant que les effluents représentent un mélange complexe de diverses substances.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le personnel de la Station de traitement des eaux usées de la Ville de Montréal pour leur assistance. Cette recherche a été subventionnée par le Fond d'Action Québécois pour le Développement Durable et la Chaire du Canada en immunotoxicologie environnementale.

1. INRS-Institut Armand-Frappier, Montréal, Québec, Canada, H9R 1G6.
2. Centre St-Laurent, Environnement Canada, Montréal, Québec, Canada, H2Y 2E7.
* Michel Fournier, INRS-Institut Armand-Frappier,
Pointe-Claire Québec, Canada, H9R 1G6

Effet d'une diète de poissons

RÉFÉRENCES

- ARAVINDAKSHAN, J., PAQUET, V., GREGORY, M., DUFRESNE, J., FOURNIER, M., MARCOGLIESE, D. & CYR, D.G. (2004).- Consequences of xenoestrogen exposure on male reproductive function in spottail shiners (*Notropis hudsonius*). *Toxicological Sciences* **78** (1), 156-65.
- ARAVINDAKSHAN, J.P., GREGORY, M., MARCOGLIESE, D., FOURNIER, M. CYR, D.G. (2004).- Consumption of xenoestrogen-contaminated fish during lactation alters adult male reproductive function. *Toxicological Sciences* **81** (1), 179-89.
- BLAISE, C. GAGNÉ, F., SALAZAR, M., SALAZAR, S., TROTTIER, S. & HANSEN, P. D. (2003).- Experimentally-induced feminisation of freshwater mussels after long-term exposure to a municipal effluent. *Fresenius Environmental Bulletin*, **12**, 865-870.
- BORTONE, S. & DAVIS W. (1994).- Fish intersexuality as indicator of environmental stress. *Bioscience*, **44**, 165-172.
- BROUSSEAU, P., PAYETTE, Y., BLAKLEY, B., BOERMANS, H., FLIPO, D., TRYPHONAS, H., & FOURNIER, M. (1998).- *Manual of immunological methods*. CRC Press. Boston, USA, 141 p.
- CHAMBERS, P.A., ALLARD, M., WALKER, S.L., MARSALEK, J., LAWRENCE, M., SERVOS, J., BUSNARDA, K.S., MUNGER, K., ADARE, C., JEFFERSON, R.A., KENT & WONG, M.P. (1997).- Impacts of municipal wastewater effluents on Canadian waters : a review. *Water Quality Res. J. Canada*, Vol. 32, 4, 659-713.
- Environmental Protection Agency of United States (1998).- Health Effects Test Guidelines. OPPTS 870.7800, Immunotoxicity.
- ESCHER, M., WAHLI, T., BÜTTNER, S., MEIR, W. & BURKHARDT-HOLM, P. (1999).- The effect of sewage plant effluent on brown trout (*Salmo trutta fario*) : a cage experiment. *Aquatic Science*, **61**, 93-110.
- FOURNIER, M., DÉGAS, V., COLBORN, T., OMARA, F.O., DENIZEAU, F., POTWOROWSKI, E.F. & BROUSSEAU, P. (2000).- Immunosuppression in mice fed on diets containing beluga whale blubber from the St.Lawrence Estuary and the Arctic populations. *Tox. Letters*, **112-113** (8), 311-317.
- FOURNIER, M., LALANCETTE, A., MÉNARD, L., CHRISTIN-PICHÉ, M.S., DE GUISE, S. & BROUSSEAU, P. (2004).- Biomarqueurs immunologiques appliqués à l'écotoxicologie. In Pelletier, E., Denizeau, F., Campbell, P., Editeurs, Écotoxicologie moléculaire. Presses Université du Québec. 462 p.
- GAGNÉ, F., FOURNIER, M. & BLAISE, C. (2004).- Serotonergic effects of municipal effluents : induced spawning activity in freshwater mussels. *Fresenius Environmental Bulletin*, **13**, 1099-1103.
- GAGNÉ, F., BÉRUBÉ, E., FOURNIER, M. & BLAISE, C. (2005).- Inflammatory properties of municipal effluent to *Elliptio complanata* mussels – lack of effects from anti-inflammatory drugs. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicol Pharmacol.*, **141** (4), 332-337.
- GUILLETTE, L.J. (1998).- Endocrine disrupting contaminants and alligator embryos : a lesson from wildlife ? In : *Hormonally Active Agents In Food*. A Deutsche Forschungsgemeinschaft Symposium. G. Eisenbrand, H. Daniel, A.D. Dayan, P.S. Elias, W. Grunow, F.H. Kemper, E. Loser, M. Metzler and J. Schlatter, Eds. Wiley-VCH, Weinheim. pp. 72-88.
- ICH Topic S 8 (2006).- *Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals*.
- JOBLING S., SHEAHAN D., OSBORNE J.A., MATTHIESSEN P & SUMPTER J.P. (1996).- Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 194-202.
- JOHNSON, B.L. HICKS, H., JONES, D.E., CIBULAS, W. & DEROSA, C.T. (1997).- *Public health implications of persistent toxic substances in the Great Lakes and St.Lawrence Basins*. US Department of Health, ATSDR Report, 55 p.
- LAPIERRE, P., DE GUISE, S., MUIR, D.C.G., NORSTROM, R., BELAND, P. & FOURNIER, M. (1999).- Immune functions in the fisher rat fed beluga whale blubber from the contaminated St. Lawrence estuary. *Env. Res.*, **80** (2), 104-112.

Bulletin de la Société zoologique de France 132 (1-2)

- LUSTER, M.I., PORTIER, C., PAIT, D.G., WHITE, K.L., GENNINGS, C., MUNSON, A.E. & ROSENTHAL, G.J. (1992).- *Risk assessment in immunotoxicology. I. Sensitivity and predictability of immune tests.*
- MARCOGLIESE, D., GENDRON, A., PLANTE, C., FOURNIER, M. & CYR, D.G. (2006).- Parasites of spottail shiners (*Notropis hudsonius*) in the St. Lawrence River : effects of municipal effluents and habitat. *Canadian Journal of Zoology*, **84**, 1461-1481
- RUBY, S., TAVERA MENDOZA, L., BROUSSEAU, P., DÉGAS, V. & FOURNIER, M. (2003).- Reproductive system impairments in mice fed on diets containing beluga whale blubber from the St. Lawrence Estuary and the Arctic populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **66**, 1073-85.
- SCHMIDT-POSTHAUS, H., BERNET, D., WAHLI, T. & BURKHARDT-HOLM, P. (2001).- Morphological organ alterations and infectious diseases in brown trout *Salmo trutta* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to polluted river water. *Diseases of Aquatic Organisms*, **44**, 161-170.
- TRYPHONAS, H., MCGUIRE, P., FERNIE, S., MILLER, D., STAPLEY, R., BRYCE, F., ARNOLD, D. & FOURNIER, M. (1998a).- Effects of Great Lakes Fish consumption on the Immune System of Sprague Dawley Rats Investigated During a Two-Generation Reproductive Study. Part I. Body and Organ Weights, Food Consumption and Haematological parameters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **27**, 28-39.
- TRYPHONAS, H., FOURNIER, M., LACROIX, F., MCGUIRE, P., HAYWARD, S., BRYCE, F., FLIPO, D. & ARNOLD, D. (1998b).- Effects of Great Lakes Fish consumption on the Immune System of Sprague-Dawley Rats Investigated During a Two-Generation Reproductive Study. Part II : Quantitative and Functional Aspects. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **27**, 40-54.
- ZELIKOFF, J.T., WANG, W., ISLAM, N., FLESCHER, E. & TWERDOK, L.E. (1997).- Immune responses of fish as biomarkers to predict the health effects of aquatic pollution : application of laboratory assays for field studies. Chapitre 18. *In* : Ecotoxicology responses, Biomarkers and Risk Assessment. An OECD workshop. (J.T. Zelikoff ed.) SOS publications, Fair Haven, N.J. USA, pp. 263-279.

(reçu le 03/04/07 ; accepté le 11/04/07)