

TOXICITE A COURT TERME DU PYRALÈNE 3010 CHEZ LA TRUITELLE

par J. DEQUIDT, F. ERB, J.-C. CAZIN, J. POMMERY

(avec la collaboration technique de Ph. COLEIN)

Dans le cadre d'un contrat sur la contamination des Chaînes Biologiques (*), il nous a été demandé d'étudier, dans les organismes vivants et sur les éléments d'une chaîne alimentaire en eau douce, la destinée d'un plastifiant commercialisé en France : le « Pyralène 3010 » (**), qui figure actuellement parmi les seuls types de biphényles polychlorés (PCB) encore utilisés, compte tenu de la toxicité non négligeable et maintenant démontrée de certains produits tels que les Aroclor, Clophen, Phenoclor... (1) (2).

Lors d'un précédent travail (3) nous avons fait ressortir la difficulté d'expérimentation des plastifiants commerciaux du type PCB, dont le caractère technique se traduit en chromatographie en phase gazeuse par l'apparition de nombreux pics correspondant aux différents isomères des dérivés tri, tétra, penta... chlorés du biphényle.

Un essai d'accumulation, réalisé au moyen de pentachlorobiphényle PROLABO sur des carpes maintenues en aquarium, ne nous avait pas semblé satisfaisant et les modifications difficilement interprétables intervenant dans l'allure des chromatogrammes traduisaient vraisemblablement la métabolisation plus ou moins marquée de certains des isomères.

(*) Convention de recherche n° 75-53 accordée le 16 juin 1975 par le Ministère de la Qualité de la Vie et de l'Environnement.

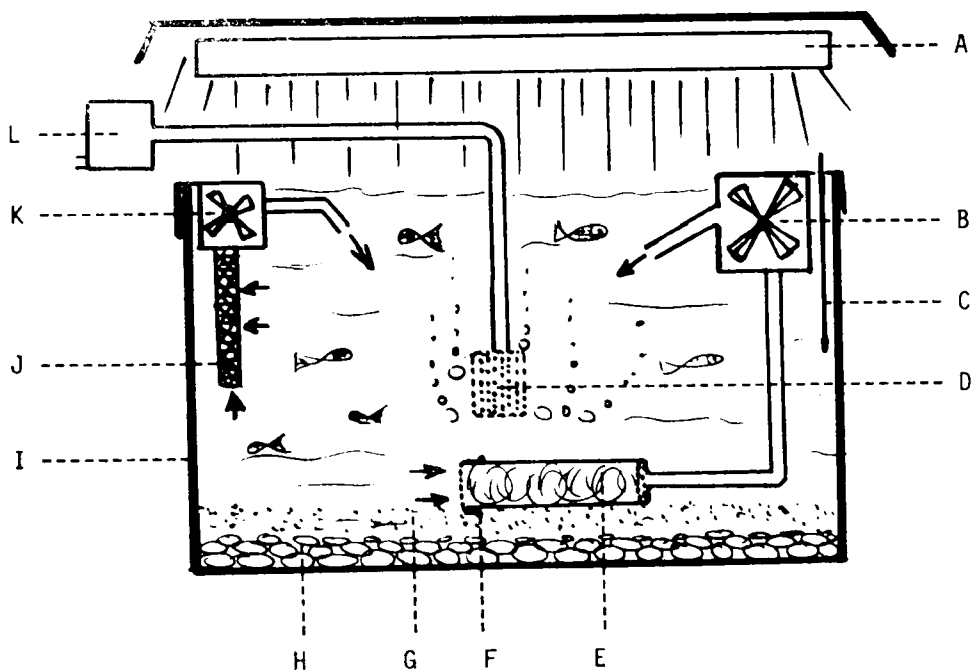
(**) Le Pyralène 3010 est un mélange contenant essentiellement des tri et tétrachlorobiphényles et répondant approximativement à la constitution suivante :

dichlorobiphényle	: 12 %
trichlorobiphényle	: 57 %
tétrachlorobiphényle	: 30 %
pentachlorobiphényle	: 2 %

L'étude du « Pylalène » nous replaçant devant les mêmes problèmes, nous avons jugé bon de réaliser au préalable une intoxication à court terme chez la truite. Ce travail nous a permis de mettre au point un protocole d'expérimentation et d'analyse suffisamment fiable pour pouvoir par la suite envisager des études plus approfondies sans risquer de compromettre les résultats par un manque d'information au départ ou une technologie insuffisante dans l'élevage de poissons exigeant des conditions rigoureuses de température et d'oxygénation.

PARTIE EXPERIMENTALE

L'intoxication a été réalisée en aquarium sur des truitelles de 2 à 3 g, vivant dans une eau convenablement oxygénée et épurée grâce à un dispositif original de pompe, filtre, etc... (schéma n° 1) pendant des périodes de 15 à 20 jours, en fonction de la mortalité constatée.



- | | |
|--------------------------------|------------------------------|
| A ... tube fluorescent | G ... sable |
| B ... pompe refoulante | H ... cailloux |
| C ... thermomètre | I ... aquarium de 300 litres |
| D ... fritté | J ... grille fine |
| E ... filtre en laine de verre | K ... pompe refoulante |
| F ... grille | L ... pompe d'oxygénation |

Schéma 1

I. - Protocole d'expérimentation et d'analyse

— L'aliment habituel des truites, se présentant sous forme d'un granulé brun, est imprégné par contact avec une solution de Pylalène dans l'éther de pétrole, sous forte agitation et pendant 24 h. Le solvant est ensuite chassé à l'évaporateur rotatif sous vide à froid et à grande vitesse pour favoriser la dispersion homogène du plastifiant. L'aliment est séché 24 h à l'étuve à 20° C, broyé et tamisé avant usage. La concentration en Pylalène de l'aliment est alors contrôlée par analyse chromatographique de l'extrait obtenu au Soxhlet pendant 24 h au moyen de l'éther de pétrole.

D'autre part, on vérifie l'absence de migration du Pylalène par mise en suspension dans l'eau, pendant des temps supérieurs au délai usuel d'absorption de l'aliment par les truitelles.

On dispose ainsi d'un aliment titré en Pylalène, et facilement accepté par les truitelles.

Les truitelles fournies par la pisciculture du Paraquet sont acclimatées en aquarium pendant quinze jours et nourries pendant ce temps quatre fois par jour (40 mg/jour/poisson) avec l'aliment non imprégné. Avant le début de l'intoxication quelques truitelles sont prélevées pour vérifier l'absence de contamination, ensuite les poissons intoxiqués qui meurent durant l'expérimentation sont soumis à l'analyse.

— **La préparation des échantillons** déjà décrite (3) consiste :

- à broyer le poisson préalablement dilacéré et intimement mélangé avec du sulfate de sodium anhydre ;
- à extraire au Soxhlet la poudre obtenue pendant 8 h par un mélange éther sulfurique - éther de pétrole ;
- à concentrer l'extrait qui est alors purifié par passage sur colonne de Florisil et élué avec 100 ml d'éther de pétrole (4).

— **L'analyse chromatographique en phase gazeuse** s'effectue au moyen d'un appareil VARIAN série 1440 équipé d'un détecteur à capture d'électrons au Nickel 63, d'un enregistreur et d'un intégrateur. On utilise une colonne SF 96 à 4 % dans les conditions décrites précédemment (3).

Le calcul des concentrations est effectué par comparaison avec le chromatogramme de la solution étalon de Pylalène 3010 à 1 ppm (schéma n° 2).

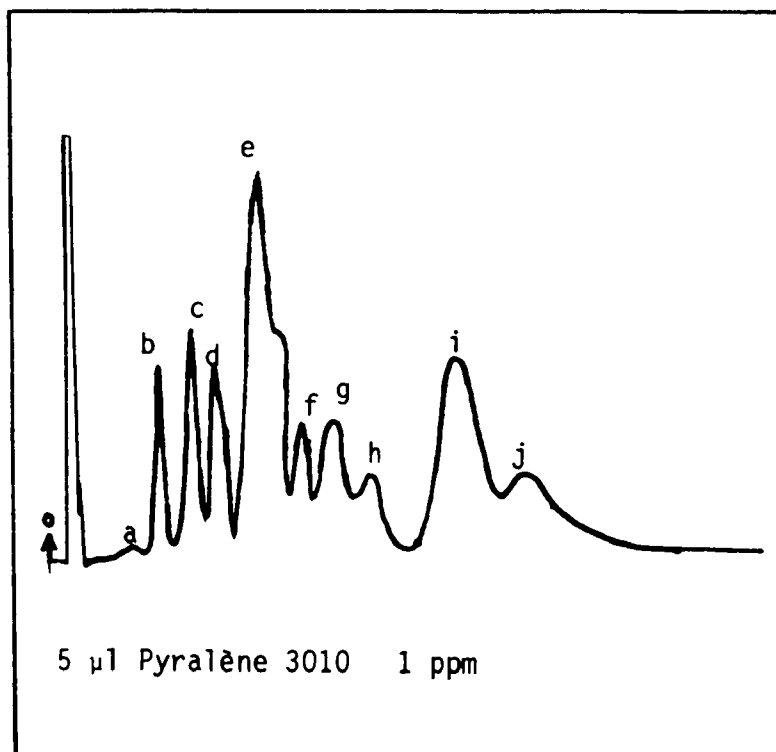


Schéma 2

On procède :

- soit au surfacage de l'ensemble des pics,
- soit par mesure de la hauteur des pics c, e ou i.

Ces pics sont choisis en fonction de leur importance dans le chromatogramme et la mesure de leur hauteur semble parfois préférable aux chiffres donnés par l'intégrateur et difficilement utilisables lorsque la ligne de base n'est pas très régulière.

II.- Intoxication par un aliment contenant 1 % de Pyralène (29 avril - 20 mai)

Avant le début de l'intoxication, l'analyse sur 2 truitelles utilisées comme blancs a confirmé l'absence d'interférence dans l'analyse chromatographique. L'intoxication qui a porté sur 9 truitelles s'est poursuivie 22 jours, jusqu'à épuisement du lot et l'analyse chromatographique a donné les résultats rassemblés dans le tableau 1.

Date	Poids truitelle en g	Concentration en γ Pyralène/g truitelle			
		1 Surfaçage total	2 Hauteur pic c	3 Hauteur pic e	4 Hauteur pic i
1 ^{er} jour	1,70	—	—	—	—
15 ^e jour (2 morts)	1,80	33,65	17,60	21,70	60
18 ^e jour (2 morts)	1,10	20,62	10,80	14,20	50
22 ^e jour (5 morts)	5,00	36	9,40	27,70	65

Tableau 1

Date	Poids truitelle en g	Concentration en γ Pyralène/g truitelle (*)			
		1 Surfaçage total	2 Hauteur pic c	3 Hauteur pic e	4 Hauteur pic i
12 ^e jour (témoins)	—	—	—	—	—
12 ^e jour (intox.) 2 morts	1,70	4,50	1,72	4,23	10,04
13 ^e jour (intox.) 2 morts	1,35	6,80	2,72	6,70	14,00
15 ^e jour (intox.) 2 morts	2,10	5,53	1,56	4,80	11,80
17 ^e jour (intox.) 2 morts	2,35	4,68	1,52	4,95	11,80

Tableau 2

Là encore, les résultats obtenus par surfaçage total des pics ou par calcul de la hauteur du pic e sont très comparables. On constate que, si la mortalité apparaît dans les mêmes délais qu'au premier essai, c'est-à-dire au 12^e jour, la concentration n'est alors que de 5 μ g/g de Pyralène chez les truitelles. Ensuite les morts se succèdent en 5 jours sans qu'il y ait de variation notable de la concentration.

Les résultats qui sont exprimés en fonction du surfaçage total, ou d'une hauteur de pic choisi au début (c), au milieu (e) ou à la fin (i) du chromatogramme varient. Ils sont faibles lorsqu'ils sont calculés en fonction du pic c (trichlorobiphényle qui est certainement notablement métabolisé), moyens pour le pic e (trichlorobiphényle), et forts pour le pic i qui représente un tetrachlorobiphényle peu ou pas métabolisé.

(*) Les intestins contenant encore de la nourriture non digérée ont été séparés de la chair des truitelles pour apprécier plus exactement la concentration dans les tissus.

En définitive le surfacage total donne une estimation moyenne correcte des concentrations mais on peut le remplacer, à défaut d'intégrateur, par le calcul de la hauteur du pic e.

A la lecture des résultats de la colonne 1, obtenue par le surfacage de l'ensemble des pics, il semble que la mortalité apparue après quinze jours coïncide avec une concentration de 30 µg de Pyralène chez la truitelle. Ensuite la concentration plafonne à 36 µg/g et les poissons meurent, peut-être par défaut d'assimilation, puisqu'il ne semble plus y avoir d'accumulation.

La mortalité importante, apparue dans les 7 derniers jours de l'expérimentation, nous a incités à reprendre l'étude, avec un aliment 5 fois moins concentré en Pyralène et préparé comme il a été décrit plus haut.

III. - Intoxication par un aliment contenant 0,2 % de Pyralène (2 juin - 18 juin)

L'expérimentation a porté cette fois sur 8 truitelles traitées avec l'aliment contaminé et, d'autre part, sur 4 truites témoins placées dans un second aquarium et nourries avec de l'aliment traité simplement à l'éther de pétrole mais ne contenant pas de Pyralène, ceci afin d'éliminer la mortalité pouvant provenir du solvant d'imprégnation.

Malheureusement, en raison d'un syndrome mycosique apparu dans l'aquarium témoin, les truites sont presque toutes mortes en 12 jours et l'analyse effectuée a montré qu'elles étaient indemnes de toute contamination par le Pyralène. Les dosages effectués sur les truitelles intoxiquées au moment de leur mort ont donné les résultats qui sont reproduits dans le tableau 2.

CONCLUSION

L'intoxication réalisée en aquarium sur des truitelles a été menée en deux temps, avec des concentrations différentes en Pyralène, pour déterminer la dose de ce plastifiant compatible avec la survie des poissons en expérience, dans le cadre de l'étude sur la contamination des Chaines Biologiques.

D'autres essais sont en cours : en effet il est difficile de tirer des conclusions valables de cette première étude, car il convient de tenir compte des problèmes que pose le maintien prolongé en aquarium de ces poissons.

En raison des différences dans les concentrations en Pyralène retrouvées chez les animaux morts dans des délais identiques, on peut invoquer un défaut d'assimilation et une dénutrition ayant pour origine la « plastification » de l'aliment qui empêche peut-être l'action des ferments digestifs.

BIBLIOGRAPHIE

- GRILLOT, FERRAND, MAZZA, PAYEN. Etude relative aux diphényles chlorés et à leur présence dans les eaux. CERCHAR Industrie, 1973.
- CHAMBON P., CHAMBON R. Etude de micropolluants d'origine industrielle. Lyon Pharmaceutique, 1973, 24, 2, 185-190.
- BRICE A., DEQUIDT J., ERB F., POMMERY J., VAN AERDE Ch. Contribution à la connaissance des pentachlorobiphényles, facteurs de la pollution des eaux. Etude expérimentale de la bioaccumulation de quelques isomères. Incidences hydrobiologiques. J. Fr. Hydrol., 1974, n° 15, 19-29.
- DEQUIDT J., ERB F., VAN AERDE Ch. Méthode de détermination des polychlorobiphényles dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Pharm. Lille, 1975, n° 2-3, 149.