

Titre du projet : Acquisition de techniques pour l'observation de l'effet de la contamination sur les populations d'amphibiens

Volet : Favoriser l'International

Porteur du projet : Christophe Regnault

Laboratoires impliqués : Laboratoire d'ECologie Alpine (UMR CNRS 5553, Grenoble) et Institut Armand-Frappier (Laval, CANADA)

Bilan du projet

Bilan d'activité

Dans les zones humides et partout dans le monde, un effondrement massif des populations d'amphibiens est décrit depuis les années 80. Ce déclin a été imputé par de nombreux auteurs à de multiples facteurs environnementaux comme la perte d'habitat, l'émergence de nouvelles maladies ou encore l'exposition à la multi-pollution. Malgré les preuves suggérant la sensibilité des amphibiens aux pressions anthropiques cumulées, le rôle joué par les contaminants dans le déclin des populations est encore discuté. Cependant, les écosystèmes de type zone humide sont contaminés par des mélanges complexes de polluants.

Afin de comprendre les synergies pouvant exister entre la contamination des amphibiens et leur susceptibilité aux maladies, il est primordial d'évaluer le statut immunitaire des animaux exposés aux xénobiotiques. Cependant, alors que l'évaluation des paramètres immunitaires chez des espèces aquatiques comme les poissons est relativement aisée, leur mesure chez les amphibiens nécessitait une certaine technicité que nous ne possédions pas au Laboratoire d'ECologie Alpine (LECA, Grenoble).

Dans le cadre du réseau international d'expert en écotoxicologie EcoBIM, Muriel Raveton et Stéphane Reynaud, les directeurs de thèse de Christophe Regnault avaient entamé une collaboration avec le Pr Michel Fournier (Institut Armand-Frappier de Laval, CANADA), expert reconnu en immunologie des amphibiens. Le Pr Fournier avait alors proposé d'accueillir Christophe Regnault, trois semaines durant, dans son laboratoire pour l'initier à l'ensemble des techniques couramment utilisées pour l'évaluation du statut immunitaire des amphibiens :

- Viabilité et cellularité
- Activité phagocytaire
- Activité des cellules NK (*natural killer cell*)
- Evaluation du taux intracellulaires en thiols
- Flambée oxydative

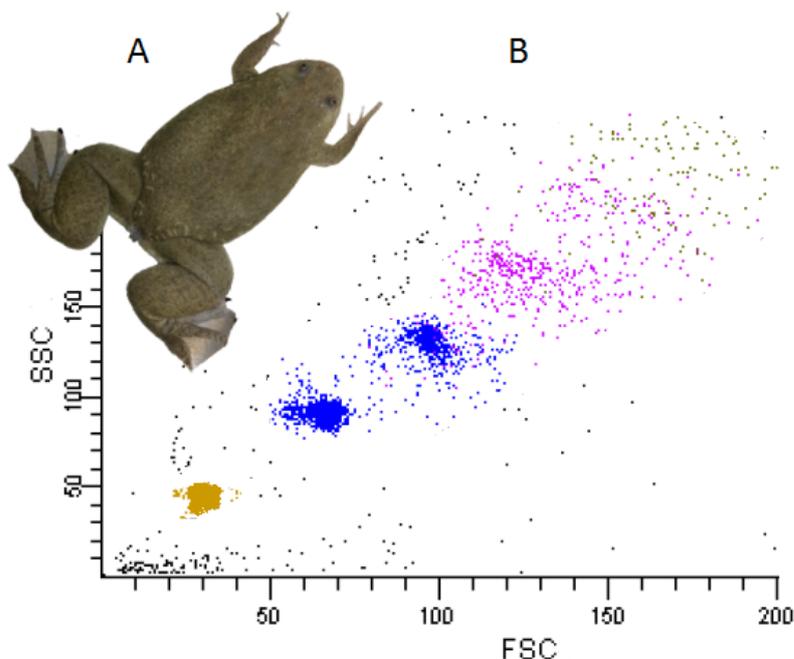
L'ensemble des manipulations ont été prises en charge par le laboratoire d'accueil et la demande de financement ne concernait que le transport, l'hébergement et la subsistance pour les trois semaines passées au Canada.

En outre, les dates coïncidaient avec le congrès annuel EcoBIM organisé par le Pr Fournier. Ce réseau international rassemble depuis 2004 environ 120 scientifiques rattachés à des équipes européennes et canadiennes pour des actions de collaboration transatlantique dans le domaine de la recherche scientifique en écotoxicologie des milieux aquatiques anthropisés. Ces rencontres annuelles en alternance entre la France et le Québec permettent l'acquisition de connaissances scientifiques sur des modèles biologiques pertinents ainsi que l'harmonisation des protocoles expérimentaux et des méthodes d'évaluation environnementale des écosystèmes aquatiques. Lors du congrès 2013 à Montréal, Christophe Regnault a pu intégrer le réseau EcoBIM et présenter ces premiers résultats de thèse (Regnault *et al.*, 2014, *Impaired liver function in Xenopus tropicalis exposed to benzo[a]pyrene: transcriptomic and metabolic evidence*, BMC Genomics).

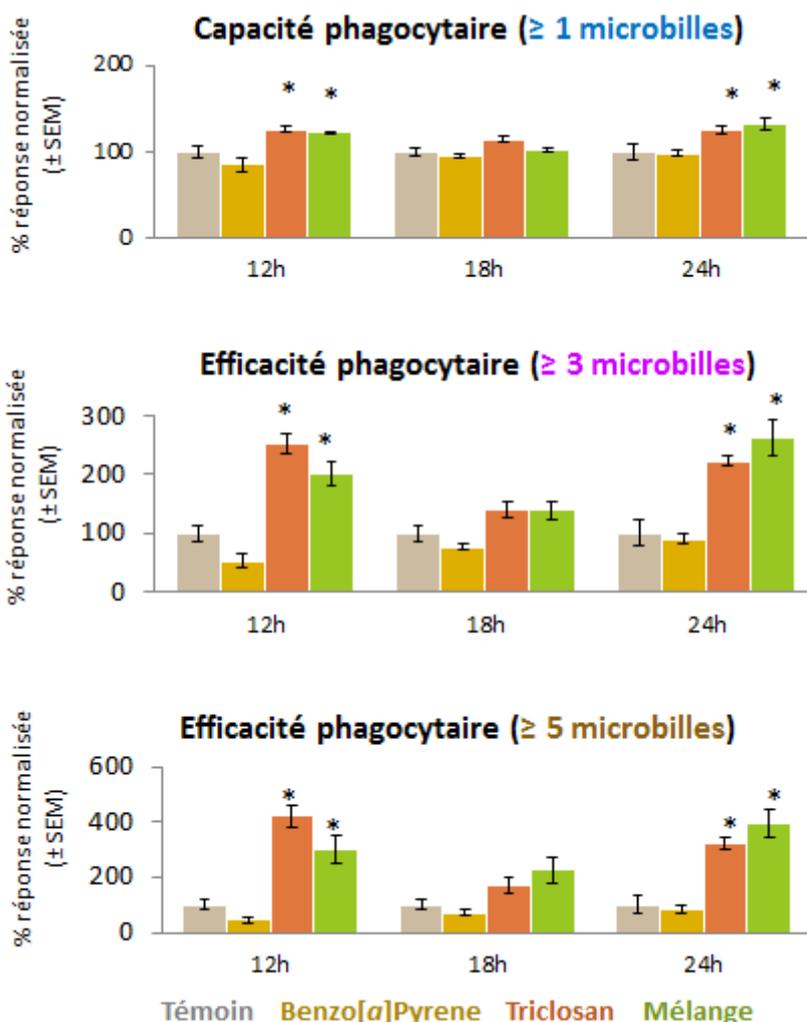
De retour du Canada, les techniques d'immunologie acquises outre-Atlantique ont été mises en pratique avec succès au LECA sur les amphibiens. Une publication scientifique est par ailleurs en cours d'écriture (Regnault *et al.*, *Metabolic and immunotoxic responses in Xenopus tropicalis exposed to endocrine disruptors*, *in prep.*)

En outre, une partie des méthodologies acquises ont été transposées sur le modèle insecte *Aedes aegypti* avec tout autant de succès. Ce travail sera valorisé par une publication (Stalinski *et al.*, *in prep.*), ayant pour but d'étudier l'impact d'une pré-exposition à un larvicide biologique (*Bacillus thuringiensis israelensis*) sur l'immunité des moustiques.

Illustrations - avec légende et crédit



A. *Xenopus tropicalis* adulte femelle. B. Diagramme de dispersion des phagocytes spléniques de *X. tropicalis* obtenu par cytométrie en flux. Les cellules sont définies par leur taille (FSC, axe x) et leur granulométrie (SSC, axe y). Crédit photo et image : Christophe Regnault.



Perturbation de l'activité phagocytaire des immunocytes spléniques de *X. tropicalis* induite par le benzo[a]pyrène et le triclosan. Les cellules sont incubées avec des microbilles fluorescentes puis le nombre de billes phagocytées par cellule est déterminé en cytométrie en flux. La capacité phagocytaire témoigne du nombre de phagocyte pouvant phagocyter au moins une bille fluorescente. L'efficacité phagocytaire rend compte de l'aptitude des phagocytes à phagocyter un maximum de bille fluorescente. *P < 0.05, significativement différent du groupe témoin. Crédit image : Christophe Regnault.

Production scientifique

- EcoBIM 2013 – Montréal : Christophe Regnault, Isabelle A. M. Worms, Christine Oger-Desfeux, Christelle MelodeLima, Sylvie Veyrenc, Marie-Laure Bayle, Bruno Combourieu, Aurélie Bonin, Julien Renaud, Muriel Raveton et Stéphane Reynaud, ***Impaired liver function in Xenopus tropicalis exposed to benzo[a]pyrene: transcriptomic and metabolic evidences.*** (Poster)
- EcoBIM 2014 – Brest : Christophe Regnault, Marlène Fortier, Pauline Brousseau, Michel Fournier, Muriel Raveton et Stéphane Reynaud, ***Impact of benzo[a]pyrene and triclosan on***

amphibian immune system: phagocytosis and expression of antimicrobial peptides.
(Conférence)

- Christophe Regnault, Antinéa Airieau, Sylvie Veyrenc, Patrick Meresse, Marlène Fortier, Pauline Brousseau, Michel Fournier, Muriel Raveton et Stéphane Reynaud, ***Metabolic and immunotoxic responses in Xenopus tropicalis exposed to endocrine disruptors.*** (Article *in prep.*)
- Renaud Stalinski, Christophe Regnault, Marie Collet, Lucie Contamin, Patrick Meresse, Stéphane Reynaud, Louis Lambrech, Laurence Despres, ***Impact of Bacillus thuringiensis israelensis on mosquito immune system.*** (Article *in prep.*)

Bilan financier succinct

Le financement accordé par le Labex OSUG@2020 était de 2000 euros pour couvrir le déplacement (billets d'avions) et les dépenses pour le logement et la subsistance durant 3 semaines au Canada. Les coûts de manipulations sont pris en charge par le laboratoire d'accueil.

Billets d'avion Lyon-Paris et Paris Montréal A/R :	700 €
Logement	650 €
Restauration	650 €
Total :	2000 €