

F.A. Abiola<sup>1</sup>P. Cissé<sup>1</sup>

## Mesure des cholinestérases chez *Tilapia nilotica* avant et après une campagne agricole au Sénégal

ABIOLA (F.A.), CISSÉ (P.). Mesure des cholinestérases chez *Tilapia nilotica* avant et après une campagne agricole au Sénégal. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 515-518

Des mesures de l'activité cholinestérasique ont été effectuées chez des poissons (*Tilapia nilotica*) avant et après l'hivernage au Sénégal. Après utilisation d'insecticides organophosphorés, les taux d'activité sont réduits de 35,60 p. 100 pour l'acétylcholinestérase, et de 56,27 p. 100 pour le propionylcholinestérase lorsqu'il s'agit du foie. Ce paramètre pourrait représenter une indication de pollution de l'environnement, surtout dans les pays en développement, où l'utilisation de ces composés est encore loin d'être abandonnée. *Mots clés* : *Tilapia nilotica* - Composé organophosphoré - Cholinestérase - Sénégal.

### INTRODUCTION

La lutte phytosanitaire utilise des produits chimiques qui incluent des insecticides. Parmi ceux-ci, les organophosphorés occupent une place importante en raison de leur grande efficacité dans l'action antiparasitaire, et d'une rémanence relativement faible dans le milieu extérieur.

En dépit des avantages certains résultant de leur usage, ces composés présentent des inconvénients, notamment par leurs effets aigus ou à long terme sur les populations non ciblées de divers écosystèmes. Le milieu aquatique constitue très souvent le réceptacle des effluents agro-industriels, des eaux de ruissellement des cultures riveraines ou des bassins-versants des cours d'eau et lacs, tous pouvant véhiculer des résidus de pesticides. En ce qui concerne les insecticides organophosphorés, leur identification directe est difficile, surtout dans les laboratoires à faibles moyens, et, lorsqu'elle est possible, leur véritable rôle dans le processus de pollution, aux taux détectés, est difficilement déterminable. C'est pourquoi il est préférable de procéder à leur mise en évidence de façon indirecte, notamment par des méthodes biologiques, qui font intervenir des enzymes spécifiques : les cholinestérases. Les méthodes de dosage sont assez simples et ne nécessitent pas un matériel très onéreux (5, 7, 8).

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'évolution saisonnière d'une activité cholinestérasique dans une région où la pollution présente un caractère saisonnier.

1. Laboratoire de Toxicologie, École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires, BP 5077, Dakar, Sénégal.

Reçu le 10.1.1990, accepté le 19.6.1990.

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

#### Lieu d'étude

Les travaux se sont déroulés dans une zone de production de la canne à sucre située près du lac de Guiers (Sénégal). Ce lac se présente comme une dépression longue d'environ 50 km et large de 7 km (3). La culture irriguée de canne à sucre nécessite un certain nombre d'installations hydrauliques, dont un système de drainage qui a un rejet dans le lac.

Les insecticides utilisés sont essentiellement des organophosphorés. En 1988, ont été utilisés : le fénitrothion (2 330 l), le malathion (1 025 l), le carbofuran (50 kg) et la dieldrine (3 900 l). Les quantités les plus importantes sont utilisées pendant la saison des pluies (juillet à septembre). La lutte est d'ailleurs renforcée pendant cette période par les services de la protection des végétaux, qui utilisent essentiellement deux formulations de fénitrothion : Sumithion<sup>ND</sup> (fénitrothion) et Sumicombi<sup>ND</sup> (fénitrothion + fenvalérate).

#### Les poissons

Les carpes (*Tilapia nilotica*) ont été prélevées à 1 km de la station de rejet des eaux de drainage. Selon les pêcheurs qui utilisent des filets de surface, les poissons sont capturés dans un rayon de 1 à 2 km de la rive.

Tous les prélèvements ont été effectués selon la même procédure, le souci majeur étant de préserver au maximum les enzymes d'une éventuelle détérioration. Les poissons sont pris le matin vers huit heures, au moment du débarquement des pêcheurs. Ce sont des poissons encore vivants, c'est-à-dire frétilants, qui sont choisis. Ils sont aussitôt mis dans des glacières dans lesquelles la réfrigération est assurée par des générateurs de froid renforcés par des blocs de glace alimentaire. Ils sont ainsi immédiatement acheminés sur Dakar, où ils arrivent très frais après un voyage de cinq à six heures. Ils sont alors pesés et congelés jusqu'à la dissection.

Quatre prélèvements ont été effectués : le 23 janvier, le 23 février, le 14 mars et le 10 octobre 1989. Le poids des carpes varie entre 300 g et 500 g.

## Préparation des échantillons

Elle consiste surtout à disséquer les organes désirés (encéphale, foie et branchies) et à préparer les homogénats. Les échantillons sont mis la veille, à 18 heures, à décongeler au réfrigérateur. Au matin, ils sont prêts à être disséqués. Les poissons sont pesés et homogénéisés à l'ultra turrax dans du tampon phosphate (0,05 M pH 8) contenant 0,2 p. 100 de triton X-100 de façon à faire un homogénat de 50 mg/ml d'encéphale, 500 mg/ml de foie et 1 000 mg/ml de branchie.

## Mesure des cholinestérases

La méthode utilisée est celle de ELLMAN *et al.* (5). Les cholinestérases hydrolysent l'iodure d'acétylthiocholine en thiocholine et en acétate. La thiocholine libérée réagit avec la dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un ion dithiobenzoate et le thionitrobenzoate qui est de coloration jaune. La vitesse avec laquelle cette coloration jaune apparaît et s'intensifie est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm.

Tous les réactifs utilisés sont purs et ont été obtenus chez Sigma chimie (La Verpillière, France). Toutes les mesures ont été réalisées à 37 °C.

## Analyse statistique

Les résultats du mois d'octobre ont été comparés aux activités de janvier, février ou mars par le test t de Student ; ceux de janvier, février et mars par l'analyse de variance.

## RÉSULTATS

Le tableau I indique la variation de l'activité cholinestérasique avant et après les campagnes agricoles.

Si les cholinestérases existent partout dans les organismes animaux, leur répartition est variable en fonction des organes. Le choix de ces derniers est donc important car ils conditionnent les résultats (fig. 1). L'activité encéphalique est relativement plus élevée avec l'acétylthiocholine ( $22,58 \pm 5,07$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{g}$  d'encéphale contre  $6,44 \pm 1,51$  pour le foie et  $1,94 \pm 0,19$  pour les branchies au mois de janvier). Avec le propionylthiocholine, la différence entre les activités encéphaliques et hépatiques est variable. Aussi bien avec l'acétylthiocholine qu'avec le propionylthiocholine, l'activité branchiale est la plus faible.

Si on compare les activités en fonction des périodes de prélèvement, aucune différence n'est observée, statistiquement, entre les activités de janvier, février et mars. La comparaison des activités d'un de ces mois avec celles d'octobre révèle une différence significative. Entre le mois

**TABLEAU I** Variation de l'activité cholinestérasique chez *Tilapia nilotica* (en  $\mu\text{moles}$  du substrat hydrolysé/min/g d'organe).

	AchE	PchE
Janvier (n = 8)		
Encéphale	$22,58 \pm 5,07$	$6,93 \pm 1,99$
Foie	$6,44 \pm 1,51$	$5,83 \pm 1,61$
Branchie	$1,94 \pm 0,19$	$1,95 \pm 0,71$
Février (n = 10)		
Encéphale	$21,27 \pm 1,98$	$6,53 \pm 1,57$
Foie	$5,74 \pm 0,88$	$9,15 \pm 1,21$
Branchie	$1,64 \pm 0,52$	$2,10 \pm 0,35$
Mars (n = 10)		
Encéphale	$29,23 \pm 6,89$	$4,95 \pm 1,68$
Foie	—	$9,27 \pm 1,68$
Branchie	$3,07 \pm 0,83$	$2,44 \pm 0,78$
Octobre (n = 11)		
Encéphale	$14,54 \pm 1,78$	$3,03 \pm 0,95$
Foie	$4,90 \pm 0,48$	$5,75 \pm 0,98$

AchE : acétylcholinestérase ; PchE : propionylcholinestérase.  
Moyenne  $\pm$  SEM avec  $P = 0,05$ .

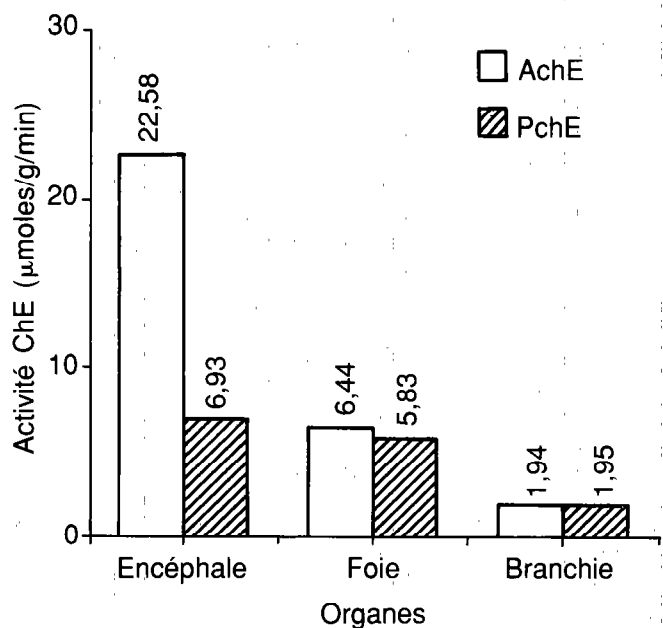


Fig. 1 : Variation de l'activité cholinestérasique en fonction des organes et du substrat chez *Tilapia nilotica*.

de janvier et d'octobre, par exemple, l'activité encéphalique est significative à 1 p. 1000 pour le propionylthiocholine et, entre les mêmes mois, cette différence est significative à 1 p. 100 pour l'acétylthiocholine.

En dehors des organes, un autre paramètre, souvent négligé, est le milieu d'homogénéisation. La présence ou non d'un détergent dans celui-ci a été testée. L'ajout du triton X-100 induit une augmentation observée chez les insectes (4). Avec l'encéphale, l'activité n'est que de 27,94 p. 100 de celle avec le triton pour l'acétylthiocholine et 38,72 p. 100 pour le propionylthiocholine. Cette baisse d'activité est moins importante avec le foie qui atteint, sans triton, 78,15 p. 100 avec l'acétylthiocholine et 90,54 p. 100 avec le propionylthiocholine.

## DISCUSSION

Le choix de l'espèce de poisson, support de ce travail, s'est fait dans le souci de pouvoir en disposer tout au long de la durée des travaux (avant hivernage et après hivernage). Le lieu retenu se trouve dans l'une des grandes régions agricoles du Sénégal où le moment d'utilisation des insecticides organophosphorés est bien connu (pendant l'hivernage). Parmi les trois organes utilisés, l'encéphale est le plus intéressant. L'activité au plan hépatique paraît variable. Quant aux branchies, elles sont de faible activité et, en plus, difficiles à homogénéiser. La seule contrainte qu'impose le choix de l'encéphale réside dans la dissection. Celle-ci nécessite une certaine méticulosité liée à sa localisation, sa fragilité et sa dimension (en moyenne 0,08 p. 100 du poids total). Le foie est plus gros (0,5 p. 100) mais d'activité variable.

En ce qui concerne le substrat, le choix de l'acétylthiocholine est meilleur car son activité est relativement plus forte au plan encéphalique.

Les préoccupations de cette étude (choix de l'organe, du substrat et du milieu d'homogénéisation) permettent la confrontation des résultats avec ceux obtenus par ANTWI

(1) au cours d'un travail similaire réalisé au Burkina Faso. Utilisant la tête entière de *Tilapia nilotica* sans détergent, les activités cholinestérasiques obtenues sont très faibles et aucune baisse d'activité n'a pu être observée après six années de traitements hebdomadaires des cours d'eau par le téméphos.

Dans la rivière non traitée au téméphos, l'activité rapportée était de  $7,18 \pm 3,09$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{g}$  de tête contre  $22,58 \pm 5,07$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{g}$  d'encéphale dans le lac de Guiers avant hivernage (janvier). Dans les rivières traitées, les valeurs moyennes sont de 7,12 et 7,76  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{g}$  de tête contre 14,54 d'encéphale dans le lac de Guiers après hivernage.

Le triton X-100 comme détergent solubilise les cholinestérasas et permet de maximiser leur activité. Plusieurs travaux parmi lesquels on peut citer ceux de BUSHY *et al.* (2), ELWOOD et FLEMING (6) ou SALTE *et al.* (9) ont déjà montré l'intérêt de la mesure de l'activité cholinestérasique comme paramètre d'indication de contamination par les insecticides organophosphorés.

## CONCLUSION

Les résultats de ce travail révèlent que, dans les conditions réelles, l'activité cholinestérasique des organismes aquatiques, et en particulier celle des poissons, subit des variations. Après la campagne agricole, l'activité encéphalique est réduite de 35,60 p. 100 pour l'acétylthiocholine et de 56,27 p. 100 pour le propionylthiocholine. Cette réduction peut-elle être une conséquence du degré de contamination de ce milieu par les insecticides organophosphorés ? Dans l'affirmative, la mesure de l'activité cholinestérasique pourrait bien, dans les conditions actuelles, servir d'indication de contamination des écosystèmes.

ABIOLA (F.A.), CISSÉ (P.). Cholinesterase measurement in *Tilapia nilotica* before and after an agricultural campaign in Senegal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 515-518

Measurements of the cholinesterase activity in fish (*Tilapia nilotica*) were performed before and after the yearly agricultural campaign in Senegal. Following the utilization of organophosphorous compounds, the activity levels were reduced by 35.60 % for acetylcholinesterase and by 56.27 % for propionylcholinesterase, these results referring to the liver. This factor could be used as an indicator of environmental pollution especially in developing countries where the use of such pesticides is far from being abandoned. *Key words* : *Tilapia nilotica* - Organophosphorous compound - Cholinesterase - Senegal.

ABIOLA (F.A.), CISSÉ (P.). Nivel de colinesterasas en la *Tilapia nilotica* antes y después de una campaña agrícola en Senegal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 515-518

Se llevaron a cabo mediciones de la actividad de las colinesterasas en peces (*Tilapia nilotica*) antes y después del invierno en Senegal. Después de la utilización de insecticidas organofosforados, la tasa de actividad se vió reducida de un 35,6 % para la acetilcolinesterasa y de 56,27 % para la propionilcolinesterasa en el caso del hígado. Este parámetro podría ser una indicación del grado de contaminación del medio ambiente, sobre todo en los países en vía de desarrollo, donde el uso de estos compuestos esta lejos de ser abandonado. *Palabras claves* : *Tilapia nilotica* - Compuesto organofosforado - Colinesterasa - Senegal.

## BIBLIOGRAPHIE

---

1. ANTWI (L.A.K.). Fish head cholinesterase activity after serial application of temephos in two rivers in Burkina Faso, West Africa. *Bull. env. Contam. Toxic.*, 1987, **38** : 461-466.
2. BUSBY (D.G.), PEARCE (P.A.), GARRITY (N.R.), REYNOLDS (L.D.). Effect of an organophosphorus insecticide on brain cholinesterase activity in white sparrows exposed to aerial forest spraying. *J. appl. Ecol.*, 1983, **20** : 255-263.
3. COGELS (F.X.), GAC (J.Y.). Circulation et salinité des eaux du lac de Guiers. Problèmes de développement et modèle de gestation. In : Lac de Guiers : problématiques d'environnement et de développement. Actes du colloque de l'Institut des Sciences de l'Environnement, 9-11 mai 1983, Dakar, Sénégal. Bruxelles, Administration de la Coopération au Développement, 1983. P. 25-40.
4. DEVONSHIRE (A.L.), MOORES (G.D.). Different forms of insensitive acetylcholinesterase in insecticide-resistant house flies (*Musca domestica*). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1984, **21** : 336-340.
5. ELLMAN (L.), DIANE COURINEY (K.), ANDRES (V.), FEATHER STONE (R.M.). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase. *Biochem. Pharmac.*, 1961, **7** : 88-95.
6. ELWOOD (F.H.), FLEMING (W.J.). Anticholinesterase poisoning of birds, field monitoring and diagnosis of acute poisoning. *Env. Toxic. Chem.*, 1982, **1** : 27-28.
7. GELMAN (A.), HERZBERG (A.). A field method to certify wether fish died from poisoning by acetylcholinesterase inhibition. *Vet. Bull.*, 1980, **50** : 223.
8. MICHEL (H.O.). An electrometric method for determination of erythrocyte and plasma cholinesterase. *J. Lab. clin. Med.*, 1949, **34** : 1564.
9. SALTE (R.), SYLVERISEN (C.), KJONNOY (M.), FONNUM (F.). Fatal acetylcholinesterase inhibition in salmonida subjected to a routine organophosphorus treatment. *Aquaculture*, 1987, **61** : 173-179.