



**HAL**  
open science

## Bioanalyse des perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques

Selim Ait-Aissa, Nicolas Creusot, Jean-Marc Porcher

► **To cite this version:**

Selim Ait-Aissa, Nicolas Creusot, Jean-Marc Porcher. Bioanalyse des perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques. Rapport Scientifique INERIS, 2012, 2011-2012, pp.51-53. ineris-01869423

**HAL Id: ineris-01869423**

**<https://ineris.hal.science/ineris-01869423>**

Submitted on 6 Sep 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Contributeurs



Sélim Aït-Aïssa



Nicolas Creusot



Jean-Marc Porcher

# BIOANALYSE DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES

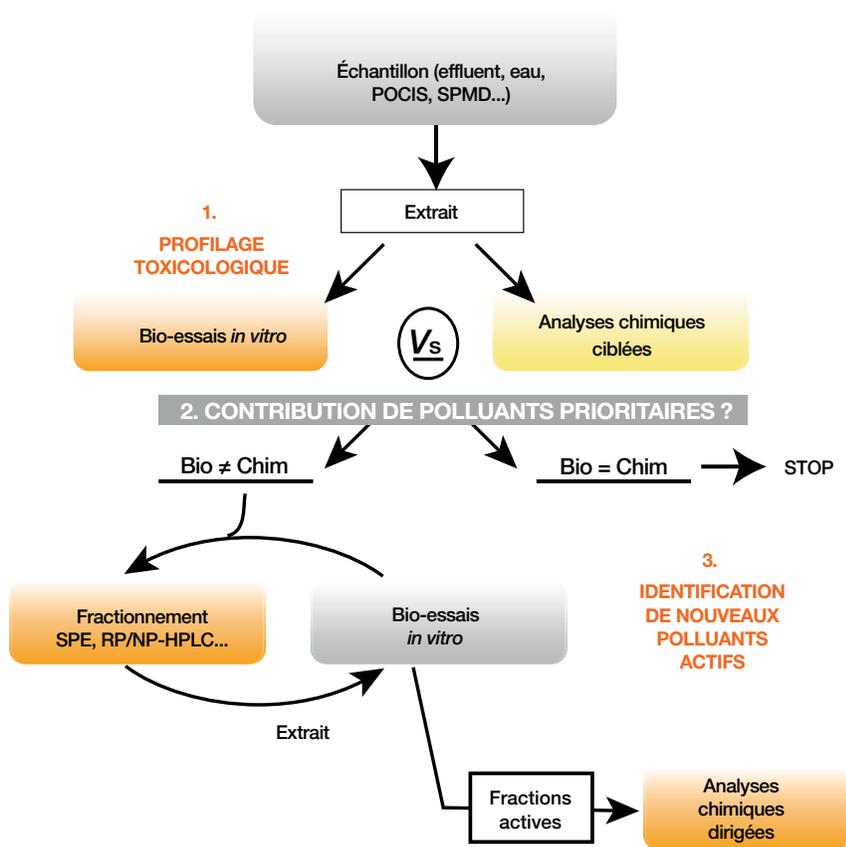
## Références

- ④ Aït-Aïssa S. *Outils bioanalytiques in vitro : principe et apports pour la surveillance des contaminants organiques dans le milieu aquatique*. INERIS, 2009, Convention-cadre INERIS-Onema 2008, Verneuil-en-Halatte, p. 26.
- ⑤ Aït-Aïssa S., Creusot N. *Veille relative aux avancées scientifiques et techniques des approches EDA pour la surveillance des substances émergentes*. INERIS, 2011, Convention-cadre INERIS-Onema 2010, Verneuil-en-Halatte, p. 10.
- ⑥ Creusot N. *Contribution de l'approche effect directed analysis à l'identification de perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques*. 2011, université Bordeaux I, Bordeaux, p. 268.
- ⑦ Creusot N., Kinani S., Balaguer P., Tapie N., LeMenach K., Maillot-Maréchal E., Porcher J. M., Budzinski H., Aït-Aïssa S. *Evaluation of an hPXR reporter gene assay for the detection of aquatic emerging pollutants: screening of chemicals and application to water samples*. Anal Bioanal Chem, 2010, 396, pp. 569-583.
- ⑧ Kinani S., Bouchonnet S., Creusot N., Bourcier S., Balaguer P., Porcher J. M., Aït-Aïssa S. *Bioanalytical characterisation of multiple endocrine- and dioxin-like activities in sediments from reference and impacted small rivers*. 2010, Environmental Pollution, 158, pp. 74-83.
- ⑨ Bellet V., Hernandez-Raquet G., Dagnino S., Seree L., Pardon P., Bancon-Montiny C., Fenet H., Creusot N., Aït-Aïssa S., Cavailles V., Budzinski H., Antignac J.-P., Balaguer P. *Occurrence of androgens in sewage treatment plants influents is associated with antagonist activities on other steroid receptors*. Water Research, 2012, 46, pp. 1912-1922.
- ⑩ Chang H., Wan Y., Hu J. Y. *Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers*. Environmental Science & Technology, 2009, 43, pp. 7691-7698.
- ⑪ Kugathas S., Williams R. J., Sumpter J. P. *Prediction of environmental concentrations of glucocorticoids: the river Thames, UK, as an example*. Environment International, 2012, 40, pp. 15-23.
- ⑫ Brion F., Le Page Y., Piccini B., Cardoso O., Tong S.K., Chung B.C. and Kah O. *Screening estrogenic activities of chemicals or mixtures in vivo using transgenic (cyp19a1b-GFP) Zebrafish embryos*. Plos One, 2012, 7, p. 10.
- ⑬ Sanchez W., Sremski W., Piccini B., Palluel O., Maillot-Maréchal E., Betouille S., Jaffal A., Aït-Aïssa S., Brion F., Thybaud E., Hinfray N., Porcher J. M. *Adverse effects in wild fish living downstream from pharmaceutical manufacture discharges*. Environment International, 2011, 37, pp. 1342-1348.

Les systèmes aquatiques sont aujourd'hui contaminés par une multitude de polluants organiques, qui contribuent à l'altération de l'état chimique et écologique des écosystèmes. Actuellement, la surveillance de la qualité chimique des eaux est principalement réalisée au travers d'analyses chimiques ciblant des composés définis comme prioritaires ou pertinents (par exemple, liste des substances prioritaires – Directive-cadre sur l'eau, 2000/60/CE). Néanmoins, du fait de la grande diversité des familles de contaminants présents et des multiples transformations qu'ils subissent dans le milieu, ces analyses ciblées ne donnent qu'une image partielle de la contamination, et donc du danger (éco)toxique associé. D'autres approches, dites bioanalytiques, sont aujourd'hui disponibles et opérationnelles pour répondre aux enjeux de la surveillance de l'état chimique des eaux (effluents, rivières, etc.). En effet, l'utilisation de bioessais *in vitro* et *in vivo*, basés sur le mécanisme d'action moléculaire des substances, permet une détection sensible et pertinente du point de vue (éco)toxicologique de polluants actifs au sein de matrices environnementales (c'est-à-dire le profilage toxicologique). La combinaison de ces bioessais à des méthodes physico-chimiques d'analyse au sein de stratégies intégrées (notamment analyses dirigées par l'effet ou *Effect Directed Analysis* – EDA) permet l'identification chimique des contaminants effectivement responsables de l'activité biologique mesurée **figure 1**. L'ensemble fournit *in fine* un diagnostic intégré de la qualité chimique renseignant sur l'identité et sur le mode d'action des composés. Dans un contexte de surveillance, ces approches tendent à s'imposer comme la base de nouvelles stratégies qui permettent de caractériser l'occurrence et les effets (éco)toxicologiques des polluants chimiques [A][B].

### Détermination de profils d'activités des perturbateurs endocriniens dans des matrices environnementales

Dans le cadre de nos programmes de recherche, nous avons développé cette démarche pour la détection et l'identification de polluants perturbateurs endocriniens (PE) dans ➤



**Figure 1**  
 Démarche bioanalytique combinant outils cellulaires *in vitro* et analyses physico-chimiques pour caractériser et identifier des molécules d'intérêt (éco)toxicologique au sein de mélanges environnementaux complexes.

➔ diverses matrices de l'environnement aquatique [C] [D] [E]. Une majorité de PE environnementaux agissent en se fixant à des récepteurs intracellulaires, tels que les récepteurs des hormones stéroïdes (œstrogènes, androgènes, glucocorticoïdes) ou des xénobiotiques (AhR, PXR), et en modulant l'expression des gènes cibles de ces récepteurs. L'emploi de bioessais cellulaires exprimant un gène rapporteur couplé à ces différents récepteurs permet une détection rapide et spécifique de ces substances. À l'aide d'une batterie de bioessais *in vitro*, nous avons ainsi pu dresser des profils d'activités PE dans diverses matrices du milieu aquatique. Le **tableau 1** présente des exemples d'activités mesurées dans divers effluents urbains, industriels ou hospitaliers.

Ces études ont révélé la présence dans ces effluents de composés stéroïdiens autres que les œstrogènes classiquement retrouvés dans ce type d'échantillons. Elles illustrent l'intérêt de ce type de criblage biologique pour caractériser différents échantillons du point de vue qualitatif (détermination de profils d'activités) et quantitatif (détermination de toxiques équivalents ou TEQ), en préalable à l'analyse chimique plus coûteuse à mettre en œuvre. Récemment, une étude portant sur la caractérisation (bio-)analytique d'un effluent d'une station d'épuration montpelliéraine a confirmé l'occurrence de composés stéroïdiens multiples [F]. En plus des hormones œstrogéniques, cette étude a permis d'identifier plusieurs stéroïdes dans l'effluent, comme des androgènes (testostérone, dihydrotestostérone et épiandrosterone, par exemple), des

corticoïdes ou encore la prégnenolone, précurseur des hormones stéroïdes chez l'homme, qui contribuait significativement à l'activité antiminéralocorticoïde mesurée *in vitro* dans l'effluent. Ces données, obtenues sur des sites français, corroborent celles d'autres études récentes menées à l'étranger [G] [H]. En revanche, les effets de ces substances sur les organismes aquatiques restent encore peu renseignés. Nous avons néanmoins pu corrélérer l'occurrence *in situ* de corticoïdes (glucocorticoïdes, progestatifs) avec des altérations de la reproduction de poissons de rivière en aval d'un site industriel [I]. De plus, nous avons pu montrer au laboratoire que différents androgènes et progestatifs peuvent moduler l'expression de l'activité aromatasase dans le cerveau de larves de poisson zèbre [J]. L'ensemble de ces travaux montre que l'approche bioanalytique permet de mettre en évidence la présence de composés d'intérêt (éco)toxicologique non identifiés *a priori* dans les listes prioritaires. La caractérisation de l'occurrence et des effets de stéroïdes environnementaux non œstrogéniques, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique (par exemple, pharmaceutique), s'impose comme une perspective majeure de recherche sur les perturbateurs endocriniens dans l'environnement. ●

#### Collaborations

P. Balaguer (INSERM U896, Montpellier); H. Budzinski (CNRS EPOC-LPTC, université de Bordeaux).

Tableau I - Activités des perturbateurs endocriniens mesurées par une batterie de tests *in vitro* dans différents types d'effluents.

Effluents	Activité œstrogénique (ng E2-eq/L)	Activité androgénique (ng DHT-eq/L)	Activité glucocorticoïde (µg DEX-eq/L)	Activité HAP-like (ng BaP-eq/L)
A (urbain)	1,6	6,4	n.d.	45
B (urbain)	1,3	14,9	n.d.	86
C (urbain)	0,9	11,4	n.d.	93
D (urbain)	87,9	445,9	n.d.	4533
E (urbain)	0,7	n.d.	n.d.	144
F (urbain)	4,6	6,9	n.d.	97
G (urbain)	2,4	n.d.	1,2	n.d.
H (urbain)	3,2	n.d.	0.18	231
I (indust./urbain)	8,2	14,1	n.d.	245
J (industriel)	0,4	n.d.	137,7	n.m.
K (hospitalier)	45,8	n.d.	~1,0	300
LD	0,03	0,5	0,02	2

n.d. : non détecté ;

LD : limite de détection ;

n.m. : non mesuré ;

E2-eq : équivalents estradiol ;

DHT-eq : équivalents dihydrotestostérone ;

DEX-eq : équivalents dexaméthasone ;

Bap-eq : équivalents benzo(a)pyrène.

## Abstract

Mechanism-based *in vitro* and *in vivo* bioassays are increasingly used as part of integrated bio-analytical strategies, for the monitoring of both classical and emerging chemical contaminants in the aquatic environment. Here, we describe such an approach based on the combination of *in vitro* screening biological tools and physico-chemical methods and used to detect and identify endocrine disruptive chemicals (EDCs) in different environmental matrices such as effluents, sediment or surface

waters. The developed approach is exemplified by the determination of steroid and xenobiotic activities profiles in various wastewater effluents and the further chemical identification of active compounds using bioassay-directed analysis. Eventually, the complementary use of innovative *in vivo* screening assays using zebrafish provide further useful information on the biological impact of active contaminants or samples, hence improving significantly chemical hazard assessment of analyzed samples.