

Qualité des eaux et santé publique
Limites des connaissances et nouveaux enjeux

Journée scientifique bi-académique
Académie nationale de Pharmacie et Académie des Technologies

Apport des outils biologiques pour la gestion de la qualité de l'eau



N. Dumoutier

Suez Environnement

Centre International de Recherche Sur l'Eau et
l'Environnement (CIRSEE)

Pôle Analyse et santé



A. Hébert/L. Lambolez

Veolia Environnement Recherche et Innovation (VERI)

Département Environnement et Santé

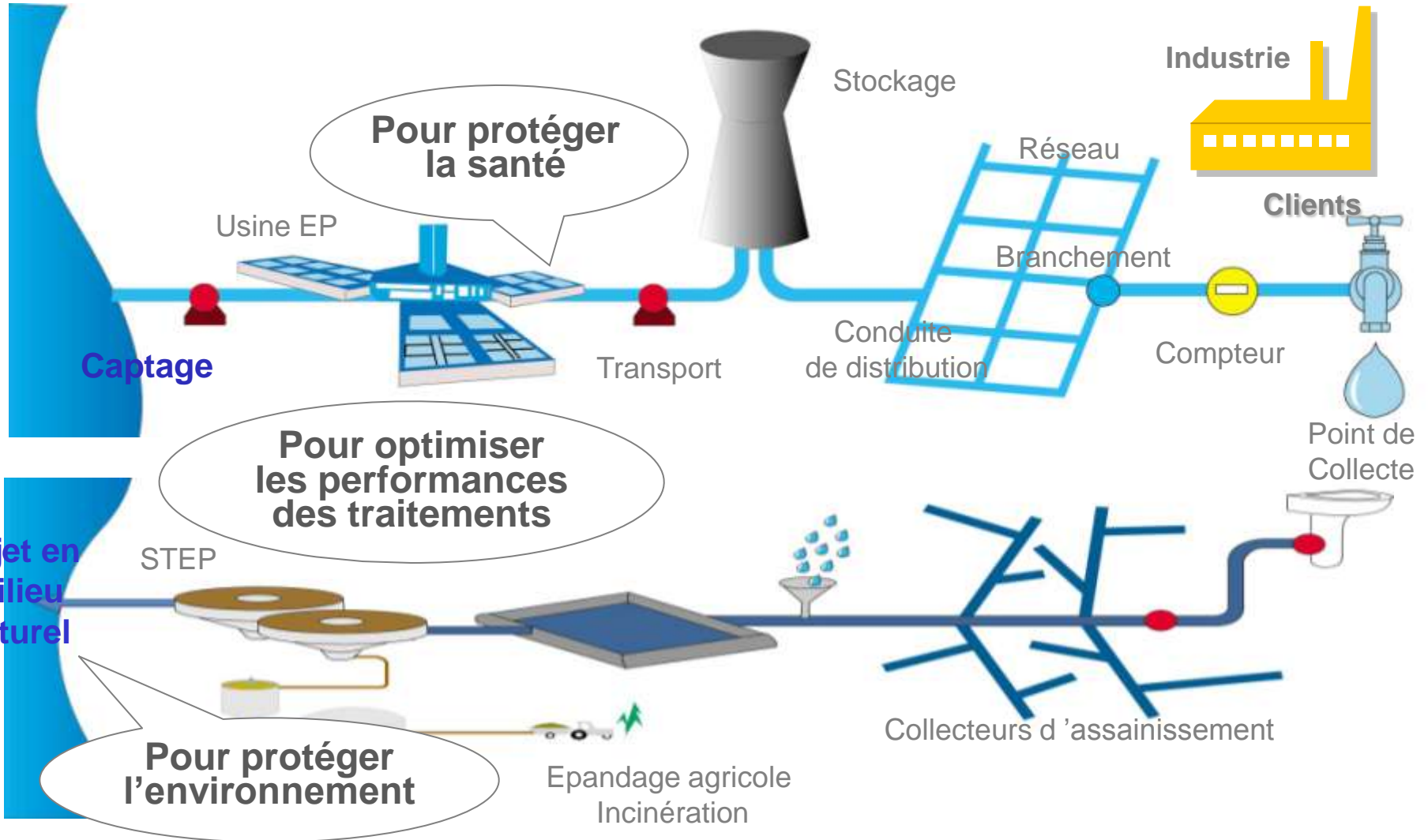
Pôle Evaluation et Veille Sanitaire

15 février 2012
Université Paris Descartes, Paris

Sommaire

- ❖ Les enjeux du contrôle de la qualité de l'eau
- ❖ Pourquoi faire appel aux outils biologiques
- ❖ Multiplicité des outils biologiques
- ❖ Exemples d'application des outils biologiques
- ❖ Des besoins en recherches complémentaires
- ❖ Recommandations

Les enjeux du contrôle de la qualité de l'eau



Pourquoi faire appel aux outils biologiques ?

- ❖ Liste croissante de substances détectées dans les eaux
- ❖ Limites des outils analytiques classiques
 - Information limitée aux seuls composés recherchés
 - Non détection des très faibles concentrations
 - Méconnaissance d'une grande partie
 - ♦ des produits de transformation (dégradation biotiques ou abiotiques)
 - ♦ des sous-produits formés au cours des traitements des eaux usées ou de potabilisation
- ❖ Des interrogations sur les effets environnementaux et sanitaires du mélange de polluants
 - Ecotoxicité et toxicité non évaluée pour une grande partie d'entre eux
 - Des concentrations < seuils d'effets mais interactions potentielles : effets synergiques, antagonistes ou potentialisateurs

 **Besoin d'outils complémentaires d'évaluation globale de la qualité de l'eau pour une détection des micropolluants par leurs effets et non leur structure**

Multiplicité des outils biologiques

❖ Différentes échelles de biotests

- Au niveau de la cellule (*in vitro*)
- Sur l'organisme global (*in vivo*)
- En population (bioindication, biosurveillance)

❖ Différents mode d'action recherchés

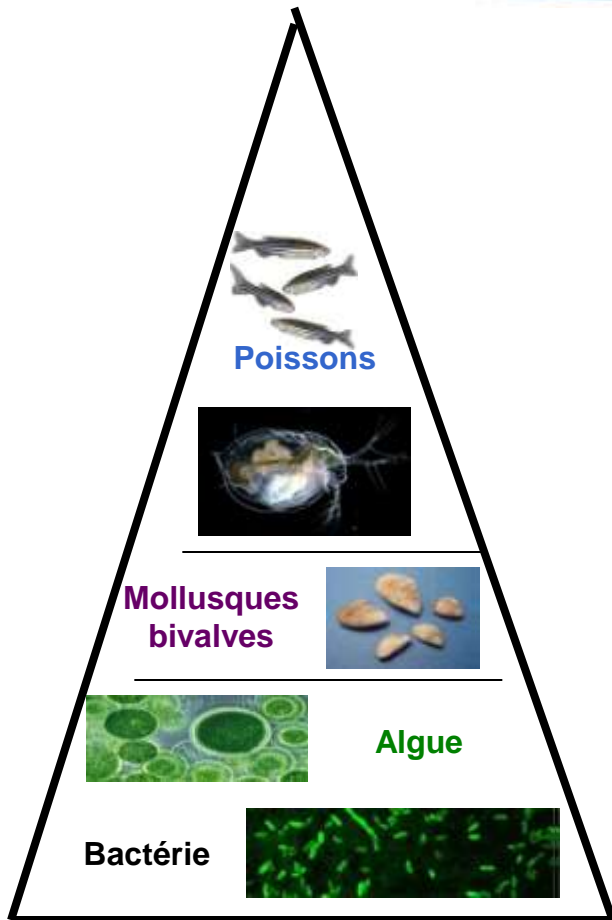
- Non spécifique (cytotoxicité)
- Réactive (mutagénicité, génotoxicité)
- Spécifique (perturbation endocrinienne)

❖ Différentes cibles

- Effets environnementaux
- Effets sanitaires

❖ Mesures ponctuelles ou en continu ↔ biocapteurs

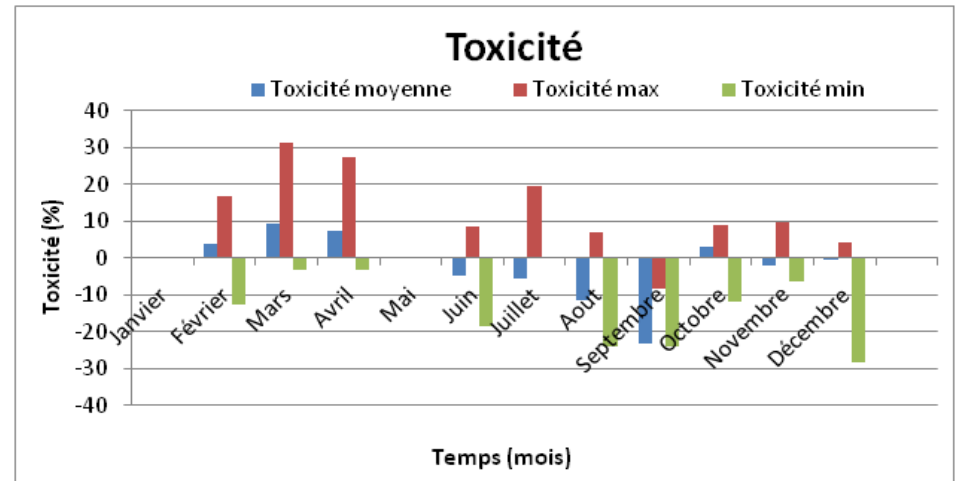
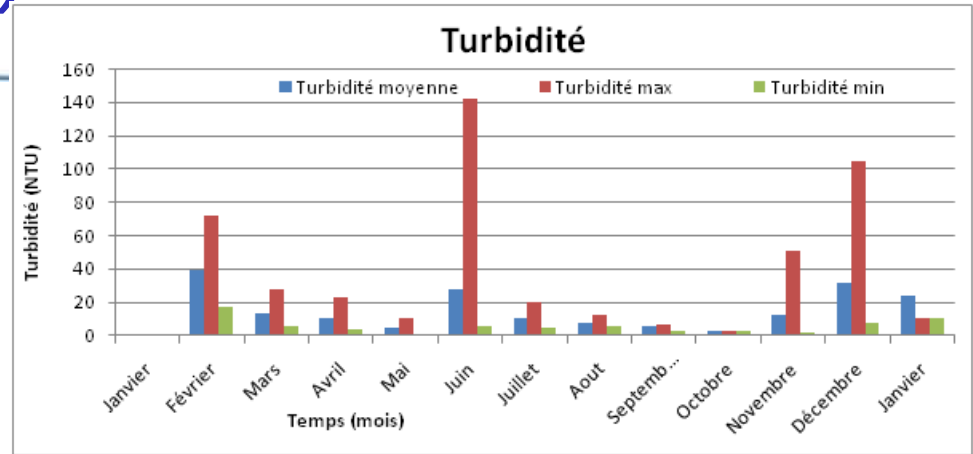
Les biocapteurs : un rôle d'alerte



Capteurs destinés au contrôle environnemental

Biocapteurs	Commercialisé par	Principe de fonctionnement
Truitosem® Truitel	CIFEC	Comportement et mobilité mesurée par effet Doppler
Gymnotox®	AquaMS (France)	Exploitation des signaux électriques émis par un poisson (<i>Apteronotus albifrons</i>) appartenant à l'ordre des Gymnotiformes
Aqua-Tox-Control	microLAN (Pays-Bas)	Capacité à nager à contre-courant
AquaTox control Daphnia	KARREN (Allemagne)	Basé sur l'observation de l'activité locomotrice et le comportement photo tactique
DTOX	® bionef (France)	
Musselmonitor	DELTA CONSULT (Pays-Bas)	Mesure des mouvements d'hyper réactivité ou de fermeture des valves
Bbe Algae Toximeter	BIONEF (France)	Détection de la fluorescence chlorophyllienne des micro-algues
Fluotox	AquaMS (France)	
TOXcontrol®	microLAN (Pays-Bas)	Mesure d'inhibition de luminescence

ToxControl pour la mesure *in situ* de la toxicité globale (*Vibrio fischeri*)



Substances

Seuil de détection

Atrazine	12.5 ppm
Diuron	13 ppm
Pentachlorophenol	1.9 ppm
Mercury	4.5 ppb

Des limites de détection ($\mu\text{g/l}$) > Norme de Qualité Environnemental (ng/l)

Outil de suivi de la variation de la qualité des eaux et rôle d'alerte en cas de pollution accidentelle

Utilisation de tests *in vitro* pour détecter la présence de perturbateurs endocriniens

Approche toxicologique de la pollution des eaux par des mélanges de micropolluants notamment à effets perturbateurs endocriniens
Application en région parisienne



UNIVERSITÉ
PARIS-SUD 11



AGENCE DE L'EAU
SEINE-NORMANDIE

EAUDEPARIS

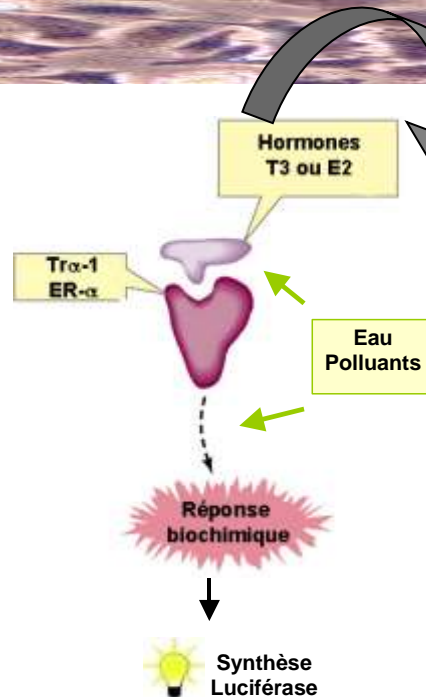
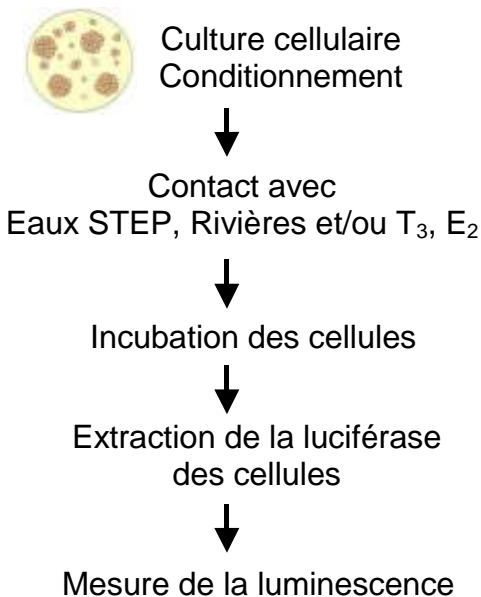
Société Anonyme de Gestion des Eaux de Paris



SVEZ
ENVIRONNEMENT

Utilisation de tests *in vitro* pour détecter la présence de perturbateurs endocriniens

Mesure d'une activité oestrogénique et thyroïdienne



PE hormones
Thyroïdiennes
Modèle PC12

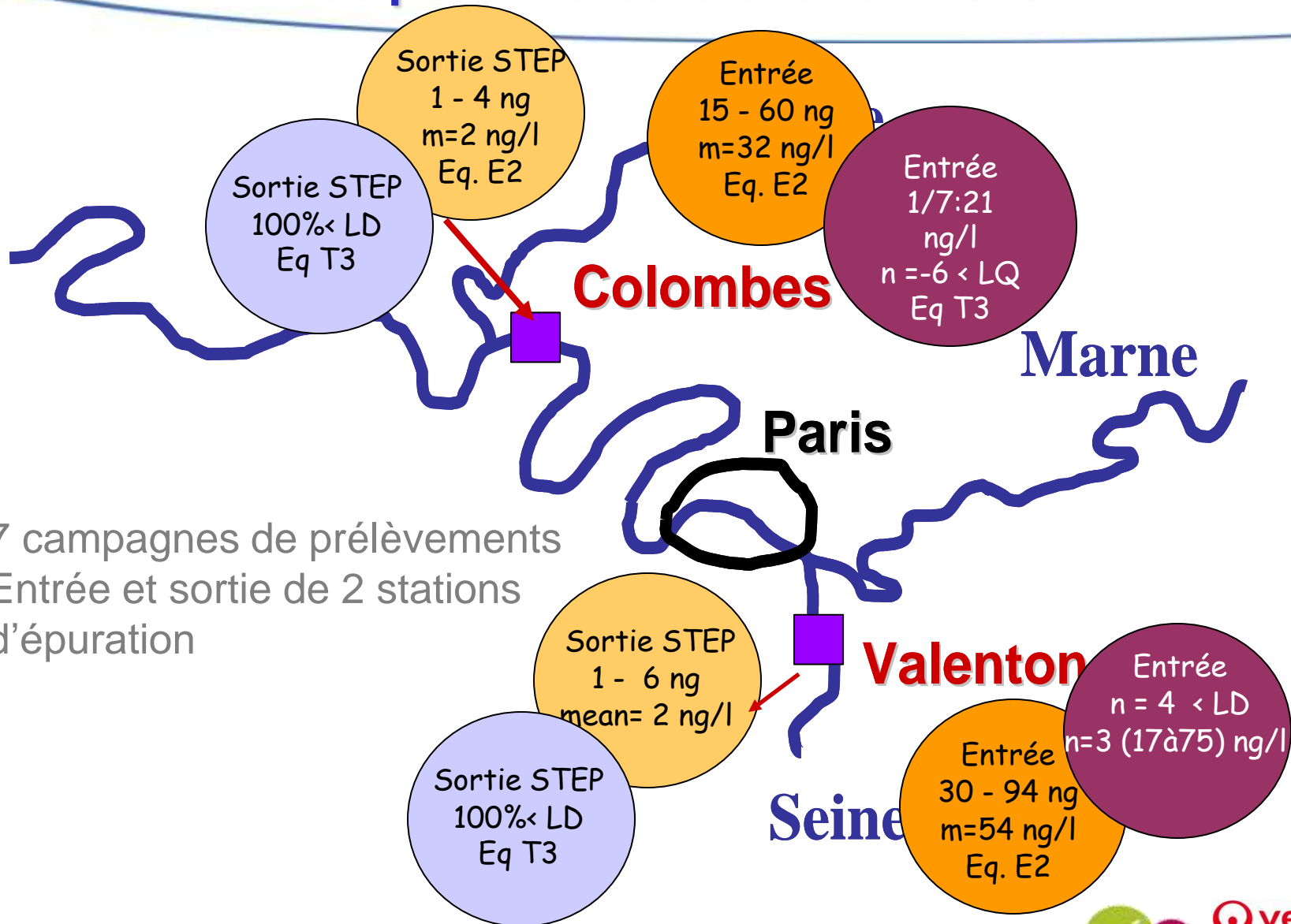
PE hormones
Estrogeniques
Modèle MELN

	Test PC-DR-LUC	Test MELN
	T3eq	E2eq
LD	6,5 ng/L	27,2 pg/L
LQ	17,3ng/L	0,3 ng/L

LD : Limite de détection - LQ : limite de quantification
T₃ : 3,5,3'-triiodo-L--thyronine - E₂ : 17 β-oestradiol

- **Test PC-DR-LUC** : Cellules tumorales de glandes surrénales de rat
- **Test MELN**: Cellule de cancer de sein humain (INSERM U540, Montpellier)

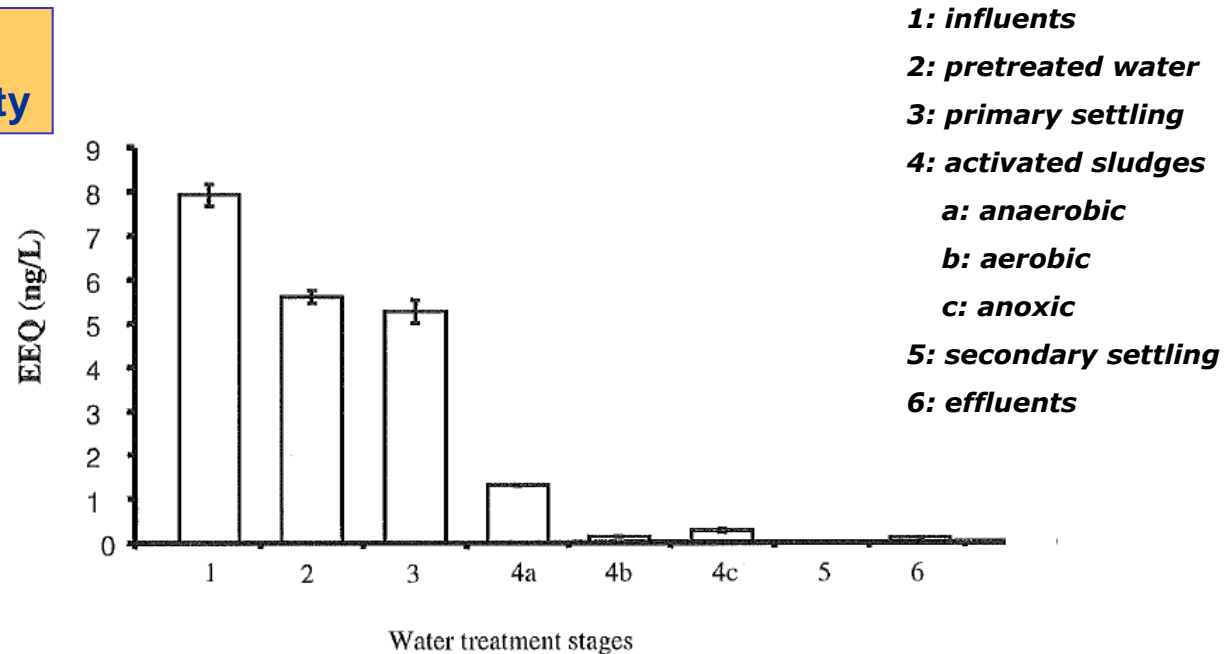
Utilisation de tests *in vitro* pour détecter la présence de perturbateurs endocriniens



7 campagnes de prélèvements
Entrée et sortie de 2 stations
d'épuration

Utilisation de tests *in vitro* pour détecter la présence de perturbateurs endocriniens

Test MELN:
Estrogenicity activity



Les essais sont répétés 3 fois et les résultats sont exprimés en valeur moyenne d'équivalent EE EN ng/L (+/- SEM)

Utilisation de tests *in vivo* pour évaluer *in situ* l'écotoxicité des rejets de STEP

Développement d'outils biologiques discriminants de l'assainissement pour la mesure et l'évaluation de sa contribution sur la qualité du milieu aquatique continental

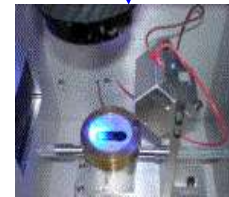
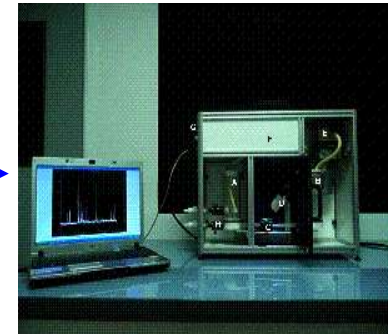
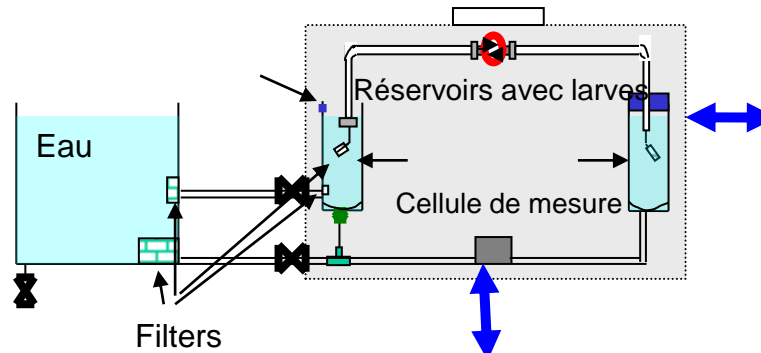
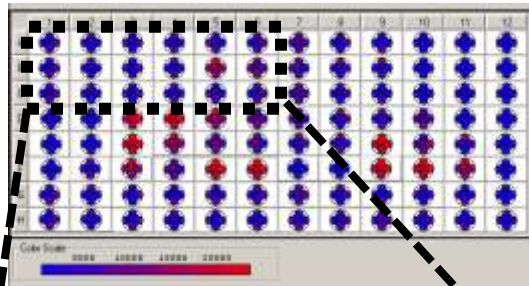
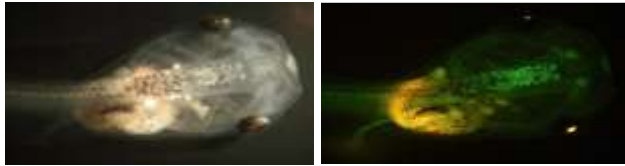


- 1 approche ex-situ : bacs contenant des organismes exposés aux effluents traités
 - 2 approches in-situ : en sortie de l'effluent dans le milieu (caging biologique) et dans le milieu naturel récepteur (à l'aide d'espèces indicatrices).
- ❖ Etude en cours en partenariat avec IRSTEA (volet écotoxicité et bioindication) et CNRS (volet analyse)

WATCHFROG pour la mesure de la toxicité spécifique (perturbation endocrinienne)



- ❖ Mesure automatisée au laboratoire
- ❖ Mesure en continu sur site



Besoins de sélectionner des outils biologiques

❖ Pour évaluer de façon complète le pouvoir de perturbation endocrinienne

- Des effets possibles aux très faibles doses avec des effets synergiques, antagonistes ou potentialisateurs envisagés
- Des fenêtres critiques d'exposition

↪ Apports récents des **outils de toxicologie prédictive** avec l'élucidation des mécanismes d'action des **différentes voies de signalisation endocrinienne**

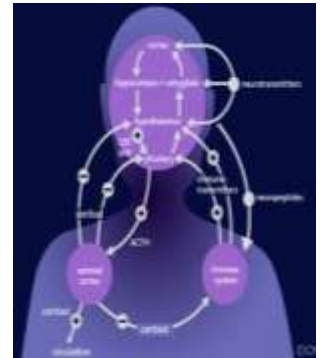
- ✓ identification de marqueurs précoces
- ✓ identification de récepteurs nucléaires/cellulaires communs aux vertébrés et mammifères

↪ Développement de **nouveaux outils de screening**

❖ Pour prendre en compte d'autres mécanismes d'action

- Mutagenicité, génotoxicité
- Neurotoxicité, immunotoxicité,...

❖ Applicables aux différentes qualité d'eau : rejets d'eaux usées traitées, ressource mais également eau distribuée



GWRC Endocrine Disruption Toolbox Méthodologie



Global Water
Research Coalition

Projet de collaboration des professionnels de l'eau

❖ Revue de la littérature

- Identification des différentes voies endocrines de signalisation et les effets associés
- Identification des composés impliqués dans PE
- Identification des bioessais pour chacun des modes d'action (thyroïdien, androgène, glucocorticoïde, progestagénique, interférences avec la stéroïdogénèse, l'acide rétinoïque (RXR/RAR) et les précurseurs des peroxyosomes)
- Priorisation des modes d'action et bioessais associés

❖ Essais interlaboratoires

- Essais avec des substances et mélanges connus
- Essais avec des échantillons d'eau ressource et d'eau potabilisée
- Comparaison d'outils in vitro / in vivo pour l'évaluation de l'activité thyroïdienne
- Elaboration d'empreinte biologique pour des polluants jugés prioritaires

❖ Développement d'une méthodologie appropriée d'évaluation des risques

❖ Recommandations aux traités d'eau



GWRC Endocrine Disruption Toolbox

1^{ers} résultats

Endpoints prioritization based on 2011 literature review

Scoring (Low 1, Medium 2, High 3)						
Selected Endpoints / activity	Abb.	OECD 2011 priority	Hazard		Exposure	
			Human	Environment	Human	Environment
Androgen Receptor signalling activity	AR		3	3	3	3
Steroid genesis	Stgn		3	2	?	?
Progestogen Receptor signalling activity	PR		2	2	3	3
Glucocorticoid Receptor signalling activity	GR	3 rd	3	2	?	?
Retinoid Receptor signalling activity	RXR	2 ^{sd}	3	3	?	?
Peroxisome Proliferator-Activated Receptor signalling acty	PPAR	1 st	3	3	3	3
Thyroid Receptor signalling activity	TR	4 th	3	3	3	3
Somatotropic	SR	5 th	2	?	3	3
Vitamin D	VitD	6 th	2	?	3	3

GWRC Endocrine Disruption Toolbox

1^{ers} résultats



Global Water
Research Coalition

Endocrine signalling pathways (→ target action)	Relevant hormones & hormone receptors	Relevant bioassays to assess endocrine disruption on priority endpoints	Environmental compounds already associated with these disruptions (OECD -2011)
HPA → Adrenal glands <i>involved in :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Glucose homeostasis - Mood, memory, emotions - Sexuality - Energy storage - Immune system - Growth- Bone biology - Reproduction - Birth process - Timing of puberty - Timing of reproductive development - Cardiovascular functions - Ionic regulation 	Corticotropin (ACTH) Glucocorticoids (GCs) Arginine vasopressin (AVP) Corticotropin-releasing hormone (CRH) Luteinizing Hormone (LH)	Glucocorticoid Receptor mediated transcriptional activation GR-CALUX	Pharmaceuticals : Beclomethasone, Betamethasone, Prednisolone Dexamethasone, Cortisone Hydrocortisone, Triamcinolone, levonorgestrel, Triamcinolone acetonide Human hormones : Cortisol
		H295R human adrenocortical carcinoma cell line	Endosulfan DDD and DDE
		Adrenocortical cell proliferation assay (ACTH release assay)	PCBs PDBEs
		Adrenal steroid cell assay (adrenal H release)	



GWRC Endocrine Disruption Toolbox

1^{ers} résultats



Global Water
Research Coalition

Action plan regarding available data

Coding	✓ = done or to be addressed in this project × = already done by another project ? = under consideration		Lit review	Meta analysis	Interlab / Interassay	Field validation	Sampling / preservation / extraction
Androgen Receptor Signaling Activity		AR	✓	✓	×	✓	×
Steroidogenesis		Stgn	✓		×		
Progesterone Receptor Signaling Activity		PR	✓	✓		✓	✓
Glucocorticoid Receptor Signaling Activity		GR	✓	?	?	✓	?
Retinoid Receptor Signaling Activity		RXR	✓	?	?	✓	?
Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Signaling Activity		PPAR	✓	?	?	✓	✓
Thyroid Receptor Signaling Activity		TR	✓	?	✓	✓	✓
Estrogen Receptor Signaling Activity (previous GWRC project) ¹		ER	×		×	×	×

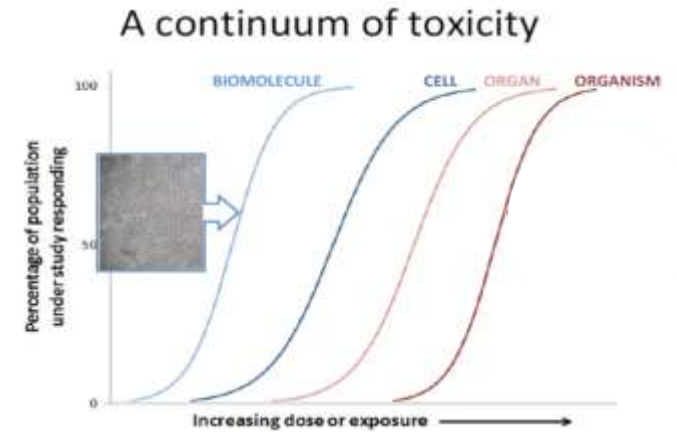


Multiplés critères de sélection des bioessais à adapter aux objectifs

- ❖ Sensible
- ❖ Sélectif
- ❖ Reproductible
- ❖ En lien avec un effet in vivo
- ❖ Robuste limitant les interférences
- ❖ Rapide
- ❖ Simple à utiliser
- ❖ Standardisé et disponible sur le marché
- ❖ Autorisant le screening
- ❖ Coût

Des besoins en recherches complémentaires

- ❖ Corrélation des essais *in vitro* / *in vivo* ?
 - pour l'interprétation des résultats
 - pour l'élaboration de valeurs repères
- ❖ Outils biologiques de « détection » d'activité et non de « marqueurs d'effets »
- ❖ Empreinte biologique des principaux polluants identifiés
 - Identification de traceurs d'activité ?



Recommandations

- ❖ Réduction à la source et protection des ressources en eau
- ❖ Optimisation des filières de traitement mais à quel prix ?
- ❖ Poursuivre les recherches relatives aux effets des faibles doses
- ❖ Utilisation de marqueurs précoces ⇨ Interprétation doit rester prudente
- ❖ Monitoring des filières de traitement ⇨ Développement d'outils spécifiques selon les objectifs
 - Protéger l'environnement
 - Protéger la santé humaine } (outils marqueurs d'effets)
 - Contrôler la qualité de l'eau ressource (outils d'alerte)
 - Optimisation des performances des traitements (outil de suivi de l'évolution de l'activité)



Merci pour votre attention

Nadine Dumoutier

Armelle Hebert

Lucie Lambolez

