

Micropolluants émergents Approches écotoxicologiques pour l'évaluation des risques

Paule Vasseur

CNRS UMR 7146, Université de Lorraine

Polluants émergents

- Récemment découverts dans l'environnement (début années 2000)

Inattendus, inconnus ou ignorés

<http://www.eugris.info/about.asp>

- Substances non recherchées en routine, ni listées dans programmes de monitoring, mais candidates possible pour future réglementation

proviennent de produits de consommation courante, domestique, professionnelle ou industrielle.

<http://www.norman-network.com/>

EXECUTIVE SUMMARY

The U.S. EPA ORD/Regional Emerging Pollutants Workshop was hosted by Region 5 and held August 11-14, 2003, in Chicago, Illinois.

- **Case Study – Triclosan: One Example of How Emerging Pollutants Come to Our Attention**
- **Perfluoro Octane Compounds in the Environment**
- **Toxic Chemicals Resulting From the Disposal of Electronic Equipment**
- **Brominated Flame Retardants**
- **Bisphenol A and Phthalate Esters**
- **Radium in Oil and Gas Piping and Production Facilities**
- **Exposures to Thallium and to Platinum Group Metals**
- **Asbestos and Related Durable Fibers**
- **Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment**
- **Environmental Monitoring for Chemicals in Waters**
- **Veterinary Pharmaceuticals: Potential Environmental Impact and Treatment Strategies**
- **Assessing the Environmental Risk of Substances Under the US Food and Drug Act**
- **Endocrine Disrupting Pollutants in Effluent Dominated Streams**
- **Biotechnology: The Promise, Potential Risks, and How Can We Find Out**
- **Environmental Futures: Nano Technology and Genomics Coming Over the Horizon**
- **Feedback from an Environmental Journalist**

Polluants émergents

« *Emerging substances of concern* »

- Contaminants organiques de la biosphère, POP organobromés, organofluorés,...
- Perturbateurs Endocriniens
- Nanoparticules
- Substances chimiques industrielles (nouvelles ou découverte récente)
- Métabolites et toxines
- Produits pharmaceutiques, et soins personnel (PPCP)

Caractéristiques & challenges

Traces dans l'environnement, concentrations < limites détection

Multicontamination

Effets des faibles concentrations / cocktail ?

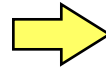
Exposition des populations et impact ?

Ce que l'on identifie



Métabolites
Produits de dégradation
transformation
combinaison avec constituants du milieu
...

- Cytotoxicité
- Perturbations endocrines
- Génotoxicité
- Immunotoxicité
- Modification de l'expression génique



Effets redoutés à long terme sur

- survie
- **juvéniles** (disparition)
- fertilité,
- développement anormal
- **reproduction**

Niveau
moléculaire
cellulaire

Dynamique de
croissance des
populations

Polluants

polluant i
polluant j
.
.
.
.
.
.
...
n



Milieu
(abiotique)



Biote
(vivant)



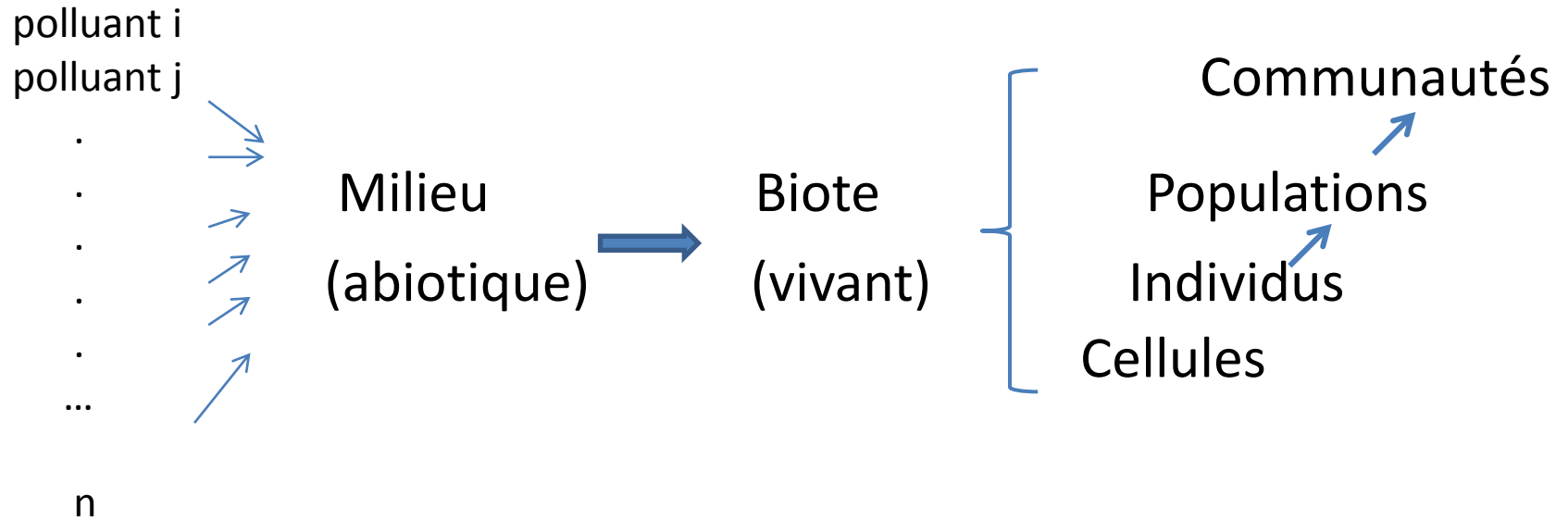
Communautés
Populations
Individus
Cellules



Approche traditionnelle

Analyse physicochimique des Polluants

- . Identification des polluants
- . Evaluation de leur (éco)toxicité

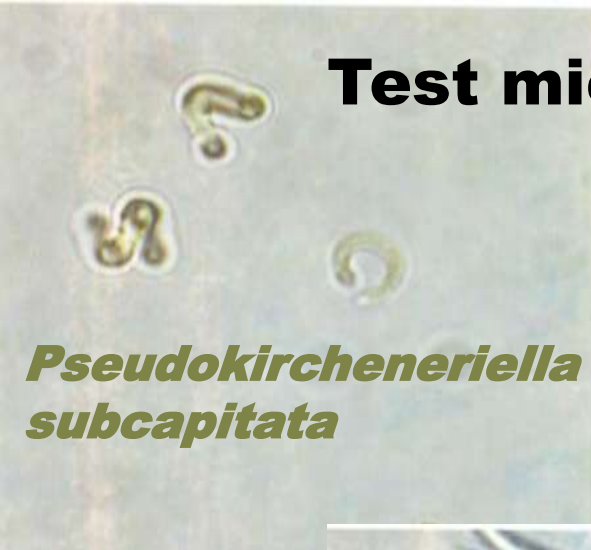


Daphnia magna

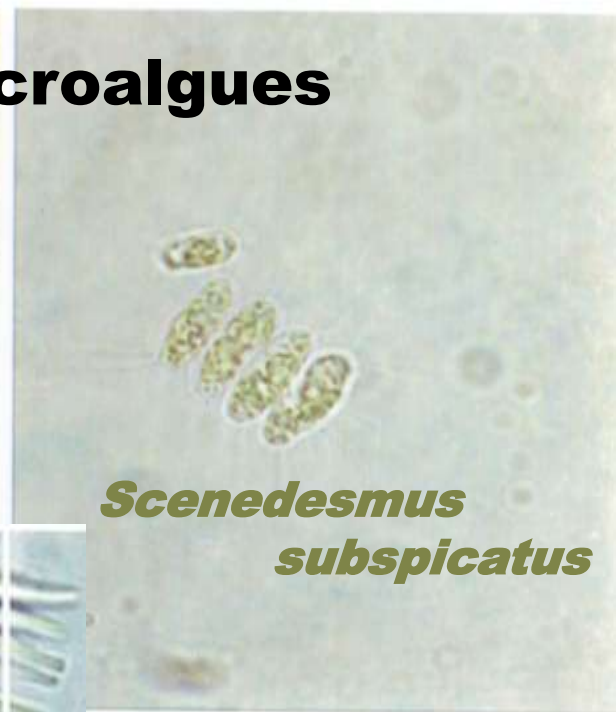


Test microalgues

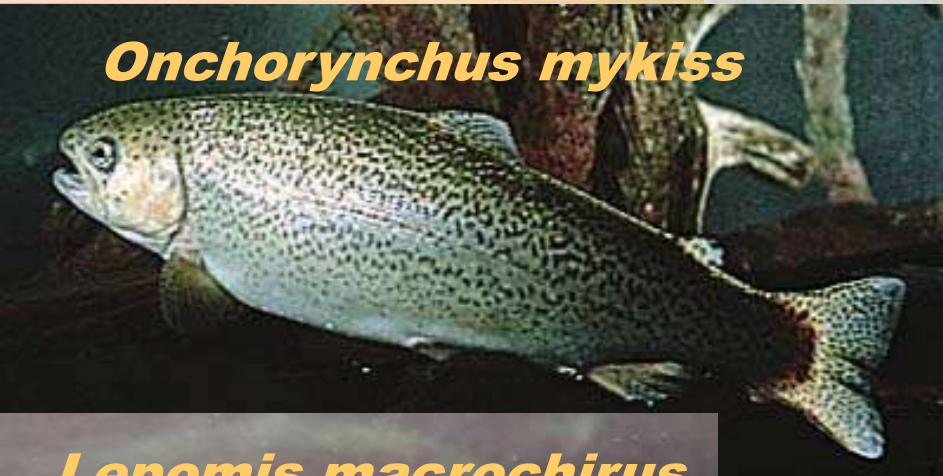
Pseudokircheneriella subcapitata



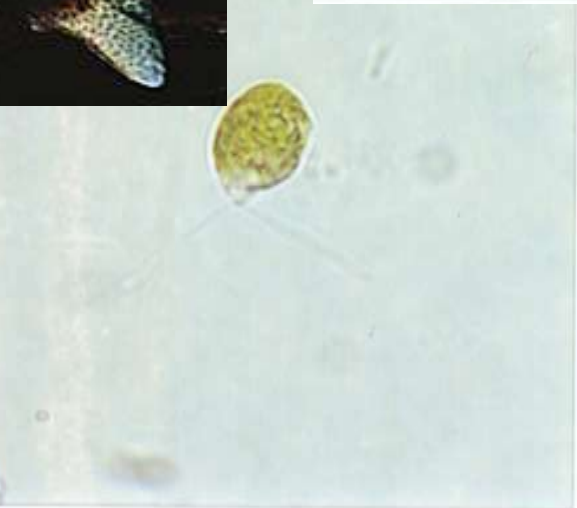
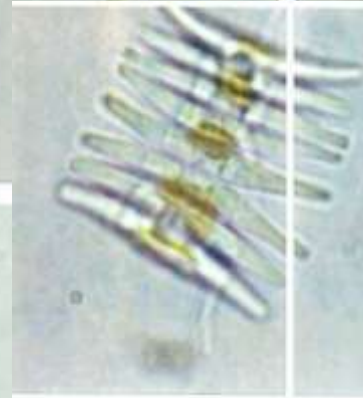
Scenedesmus subspicatus



Onchorynchus mykiss



Lepomis macrochirus



Chlorella vulgaris



Daphnia magna



Test microalgues

Pseudokirchneriella subcapitata



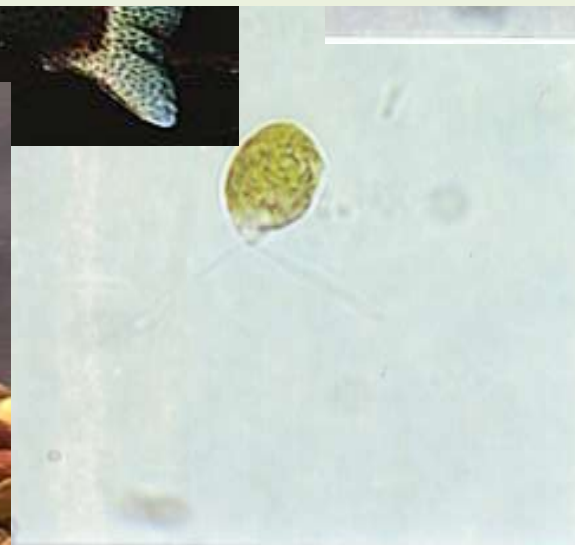
*mus
spicatus*

**PRIVILEGIER ESSAIS CHRONIQUES
FAIBLES DOSES**



**CONCENTRATIONS MAX
SANS EFFETS NEFASTES**

Lepomis macrochirus



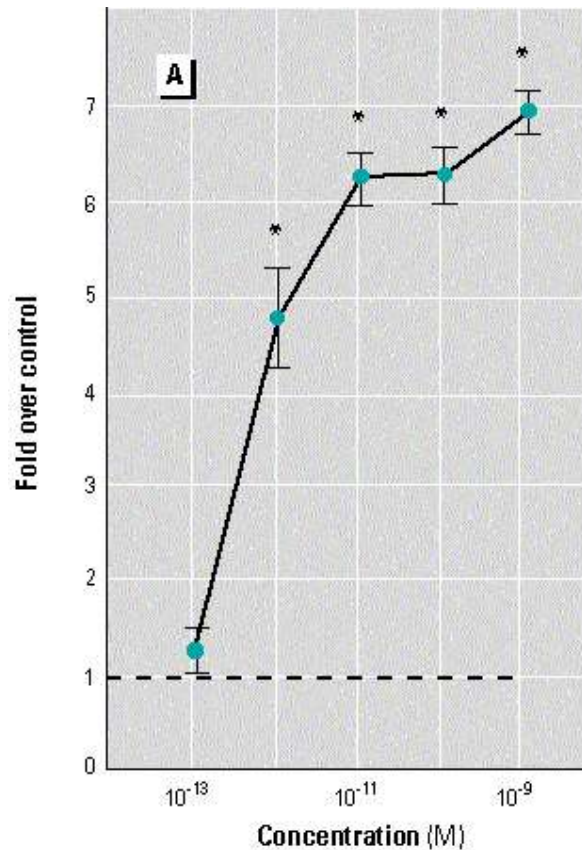
Chlorella vulgaris

SYSTEMES CELLULAIRES POUR APPROCHER MECANISMES SPECIFIQUES

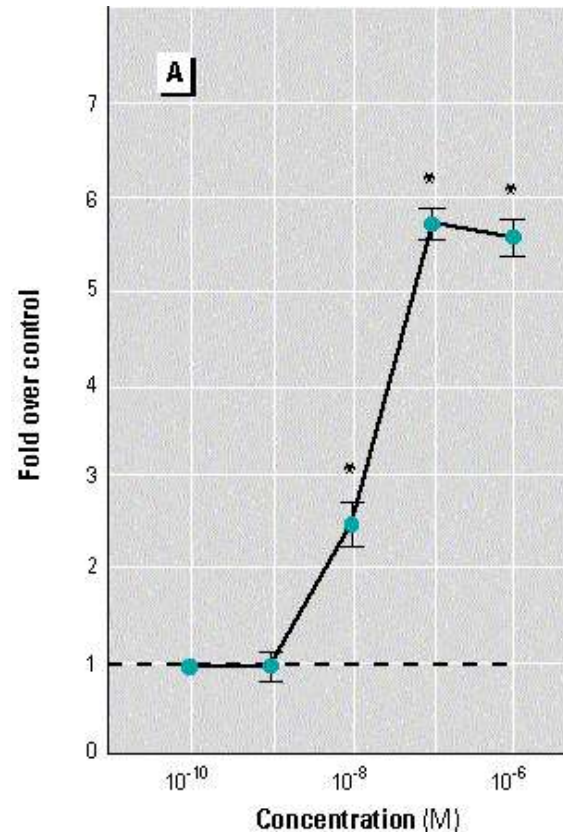
Proliferation cellulaire des cellules MCF-7 sensibles aux estrogènes

➔ **E-screen test** (Soto et al, EHP 103, supp 7, 113-122, 1995)

Oestradiol 10^{-13} à 10^{-9} M



Bisphenol A 10^{-10} à 10^{-6} M

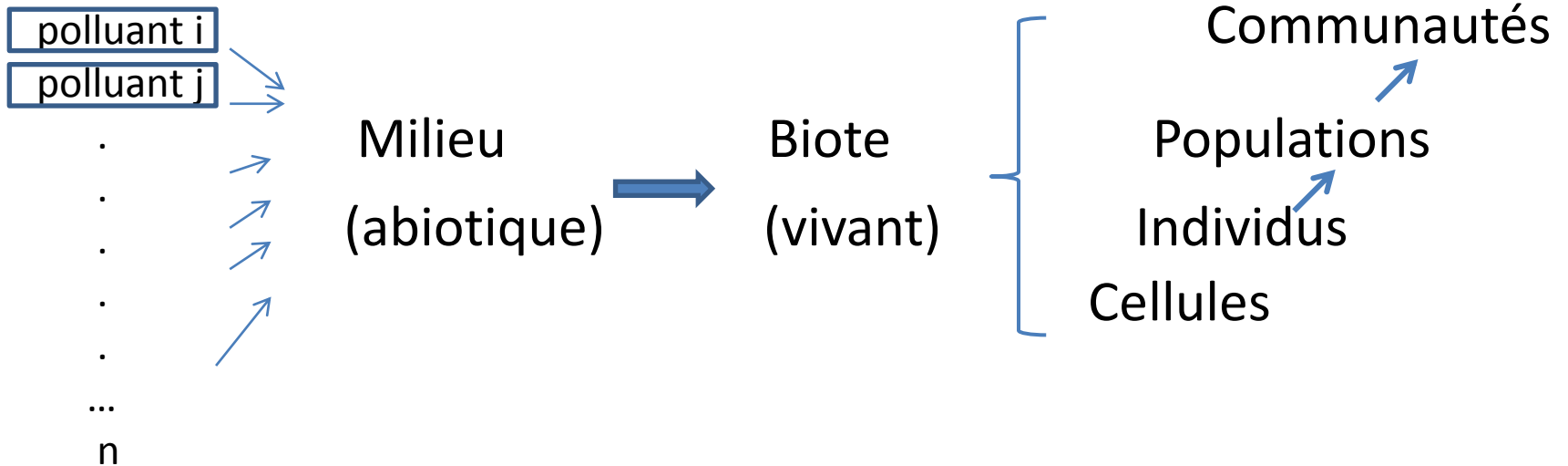


(Soto et al., EHP 104, 298-305, 1996)

Nonyl phenol [Soto et al, EHP 92, 167-173, 1991]

Pesticides, endosulfan, toxaphene, & dieldrine, [Soto et al, EHP 102,4, 380-383, 1994]

Polluants



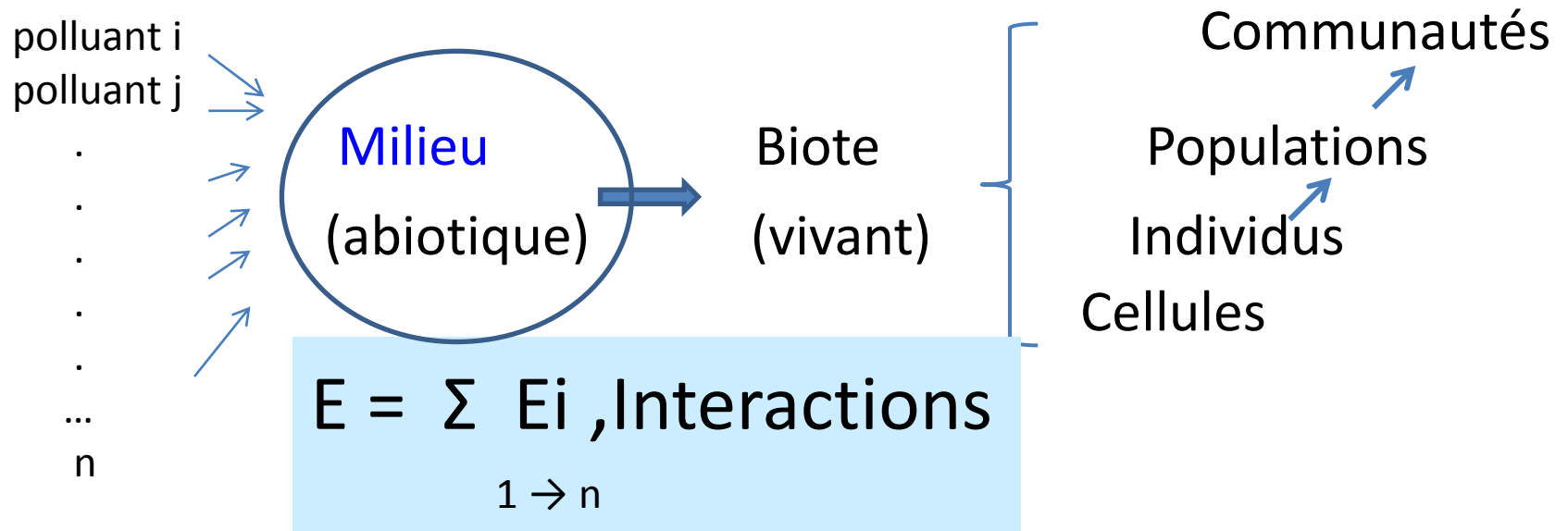
$$E = \sum_{1 \rightarrow ?} E_i$$

Interactions ?
Analyse non exhaustive

Etude du milieu dans sa globalité

- . par essais écotoxicité (standardisés, classiques)
- . par approches mécanistiques (méthodes innovantes)

Polluants



Approches mécanistiques

systèmes cellulaires

analyses transcriptomiques, biopuces

Etude de mécanismes de
dysfonctionnements



Méthodes de diagnostic

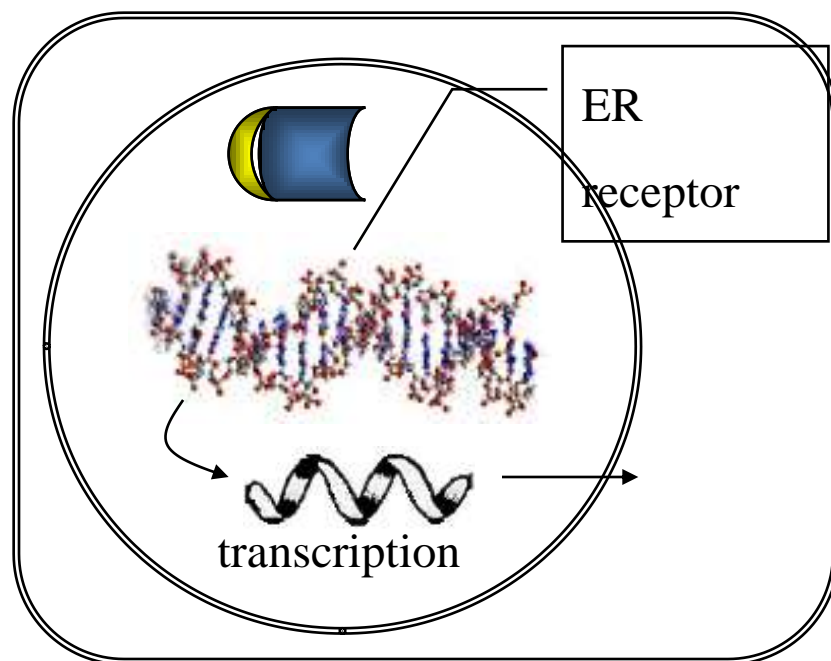


Essais bioanalytiques /fonctions biologiques essentielles
liaison à récepteurs (AhR)
fonctions endocrines

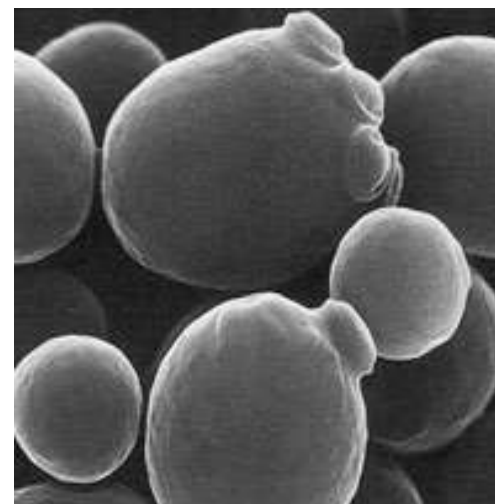
Dioxine-équivalents (essai CALUX : liaison récepteur Ah)
Estrogènes-, androgènes- equivalents

Mesure des polluants à activité estrogénique dans échantillons d'eau et de sédiment par le test YES

E2
Eq. E2



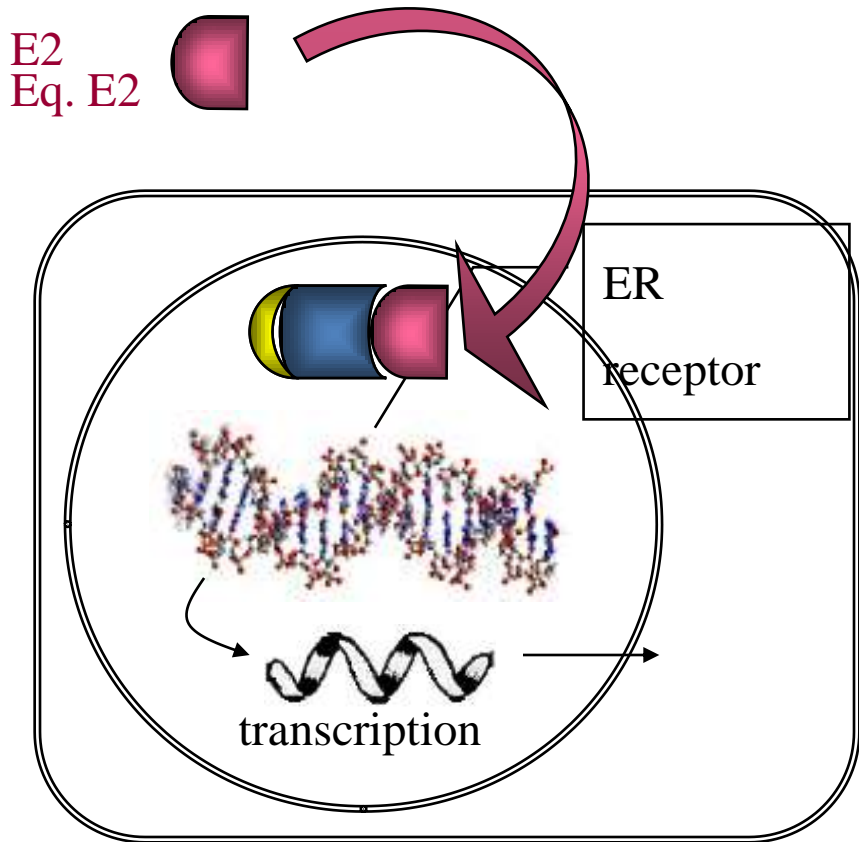
Yeast estrogen screen



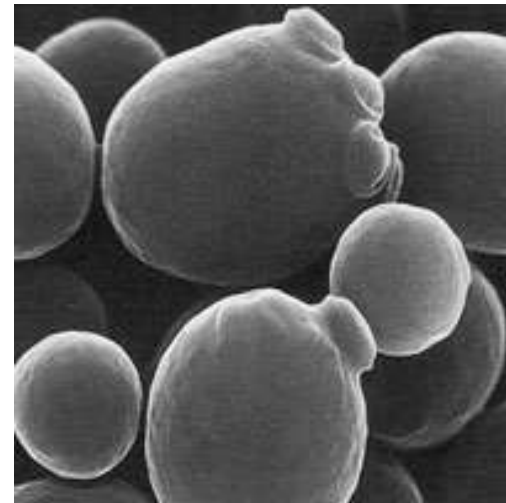
Transfection de la levure avec le récepteur aux estrogènes humain

Minier, 2007

Mesure des polluants à activité œstrogénique dans échantillons d'eau et de sédiment par le test YES



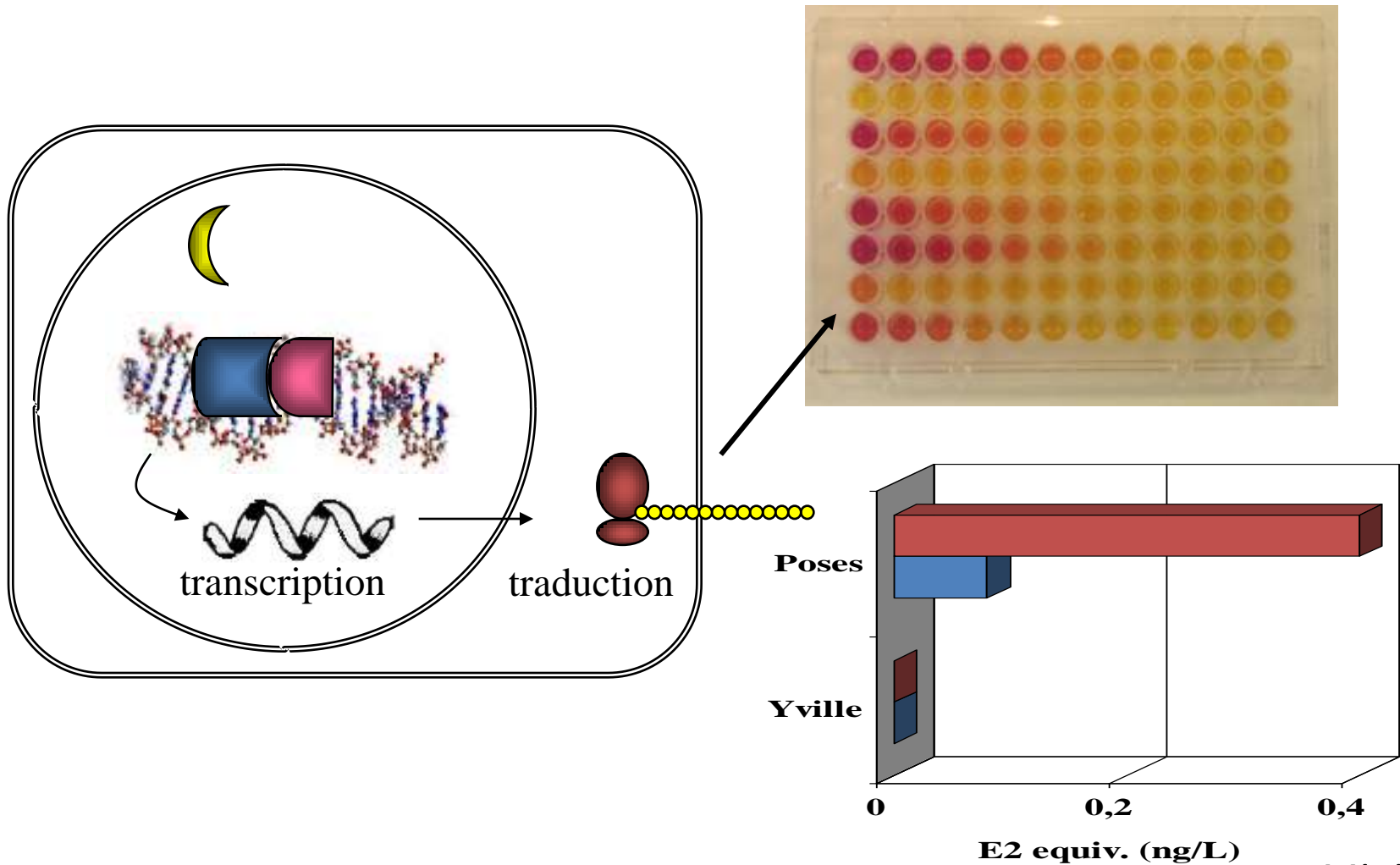
Yeast estrogen screen



Transfection de la levure avec le récepteur aux œstrogènes humain

Minier, 2007

Mesure des polluants à activité estrogénique dans les échantillons d'eau et de sédiment



Echelonner réponses in vitro (test Yes) en équivalents estradiol par rapport aux concentrations des stéroïdes naturels ou synthétiques

M.F. Kirby et al.

Table 6. Natural and synthetic steroid concentrations, measured by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), and in vitro estrogen receptor (ER) agonist potency, using the yeast estrogen screen (YES), in Howdon sewage treatment works effluent. Data reproduced from Thomas et al. [19,20]

Sampling date	Instrumental data (GC-MS)			ER agonist potency (YES)
	Estradiol (ng/L)	Estrone (ng/L)	Ethynyl-estradiol (ng/L)	ng estradiol/L ^a
06/09/00	21	96	15	130
14/09/00	8.0	15	1.6	71
21/09/00	47	54	1.5	76
28/09/00	ND	ND	ND	65
02/10/00	ND	ND	ND	105
12/10/00	ND	ND	ND	25
15/09/01	4.7	8.0	2.5	<4
21/09/01	5.7	8.2	1.4	<4
27/09/01	8.8	5.1	3.0	<4
04/10/01	ND	ND	ND	<4
06/10/01	ND	ND	ND	<4
10/10/01	<1	5.0	<1	<4

^a All YES data are blank subtracted. Concentrations represent 17 β -estradiol equivalents in the original sample before analytical manipulations. ND = no data, where sample has failed strict quality assurance procedures.

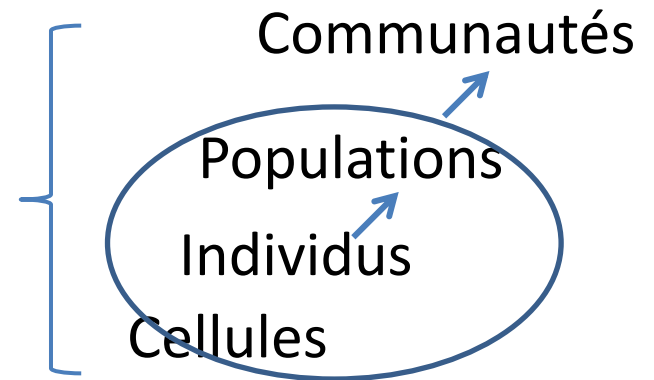
Approches in situ de l'impact

Polluants

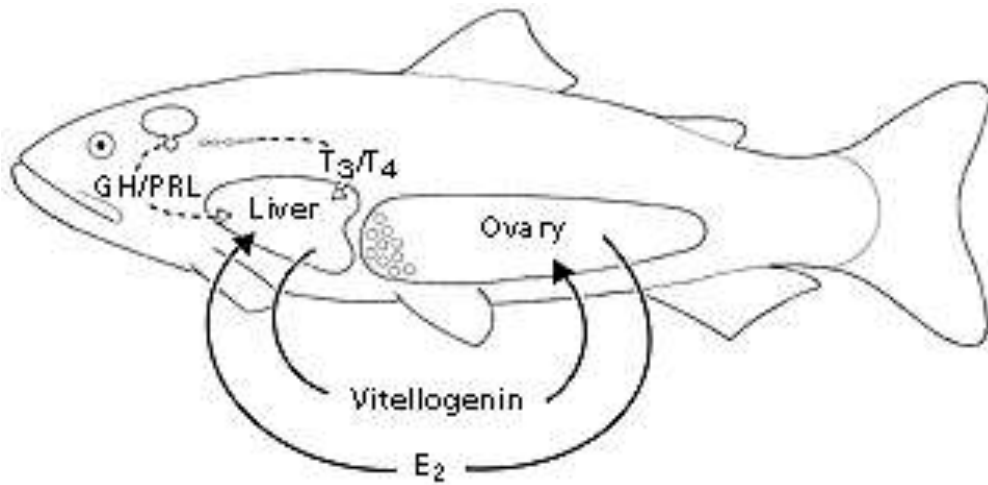
polluant i
polluant j
.
.
.
.
.
.
...
n

Milieu
(abiotique)

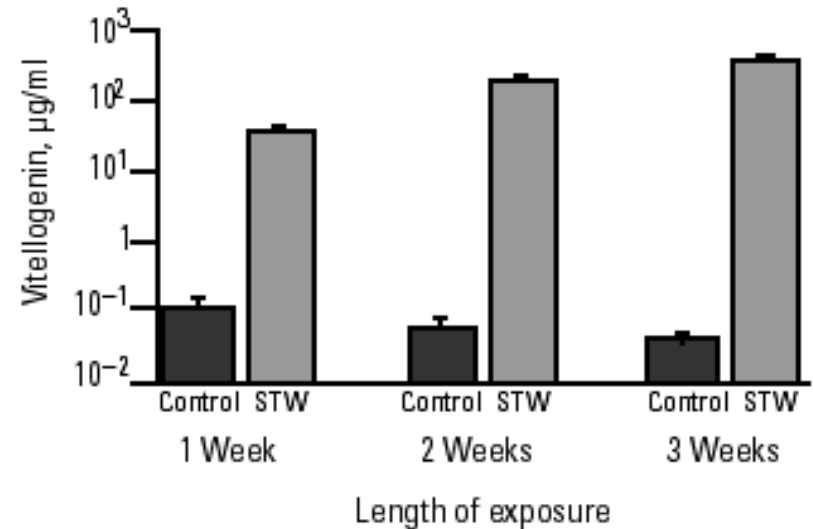
Biote
(vivant)



Mesure
Biomarqueurs
d'exposition
et d'effets



**Induction de la vitellogénine (Vtg)
dans les poissons encagés
exposés aux effluents
de stations d'épuration (STW)**

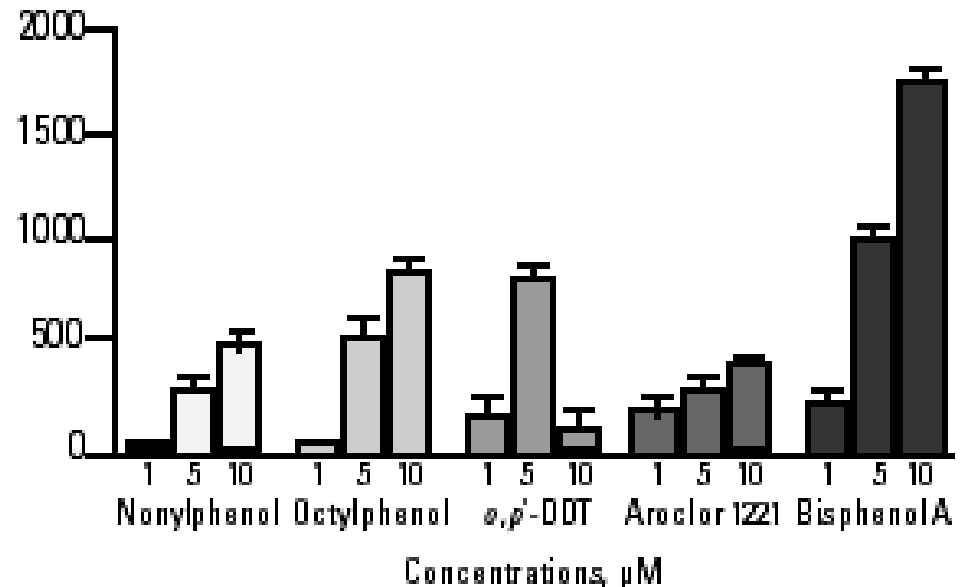
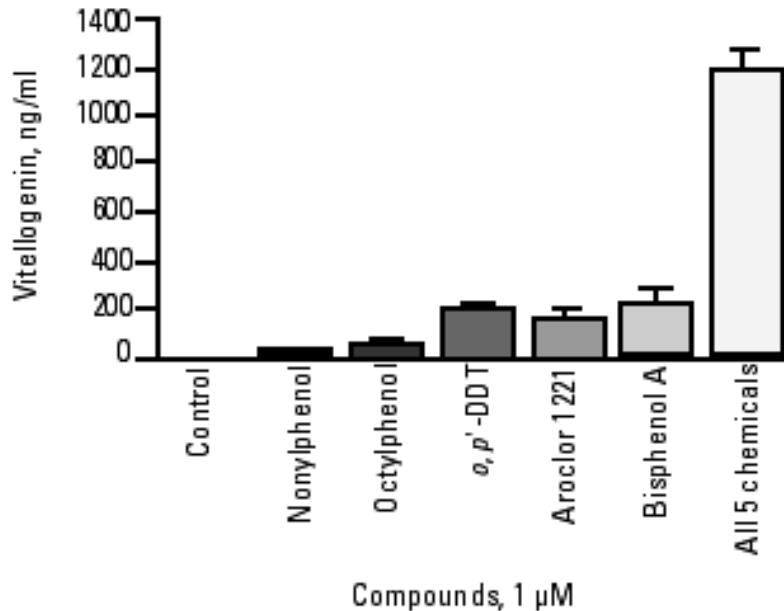
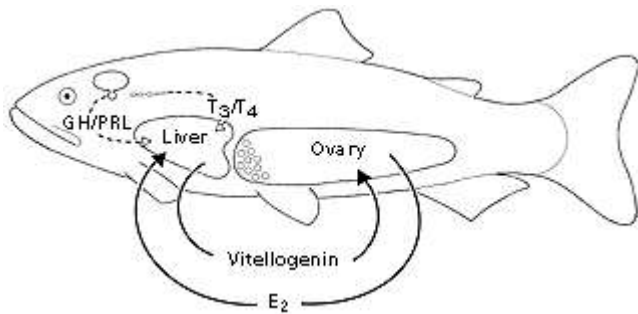


Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

John P. Sumpter and Susan Jobling

Environ Health Perspect 103(Suppl 7) :173-178 (1995)

Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom



Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment

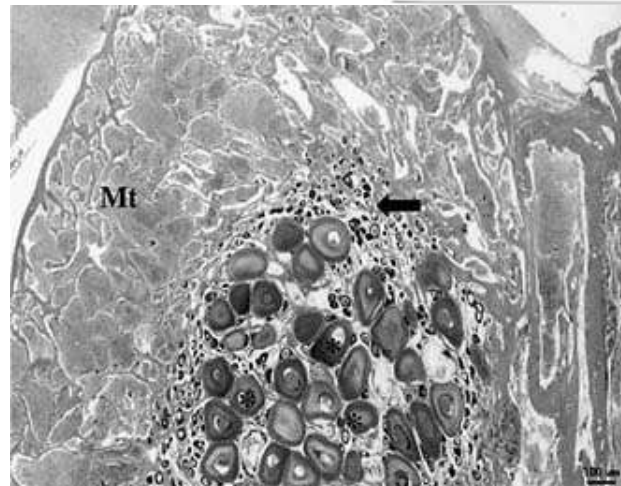
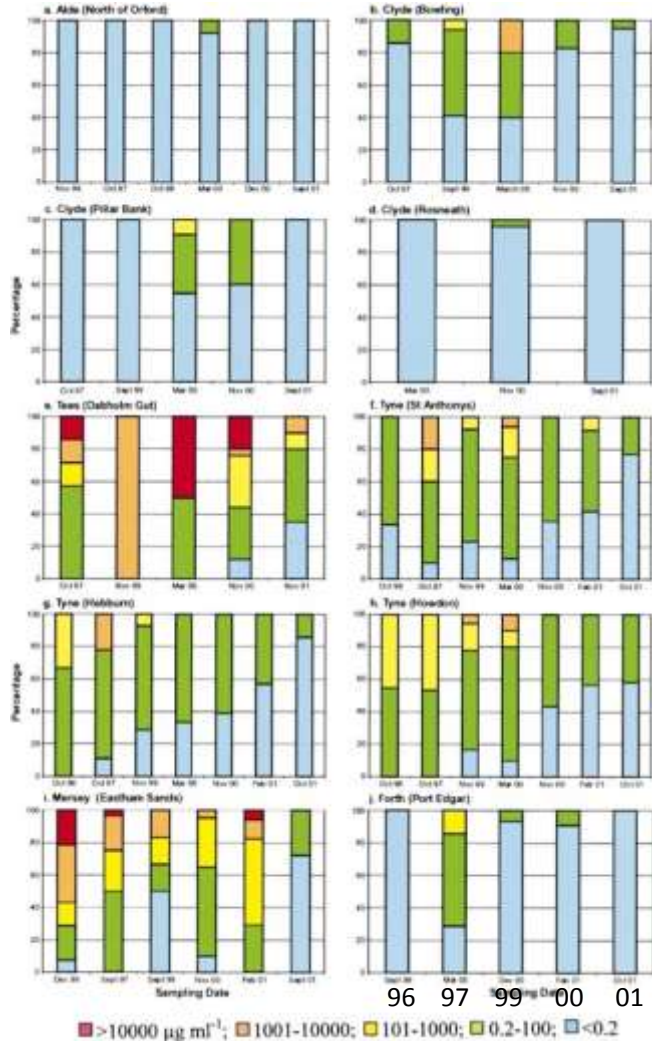
John P. Sumpter and Susan Jobling

Environ Health Perspect 103(Suppl 7) :173-178 (1995)

Brunel University, Uxbridge, Middlesex, United Kingdom

Mesure de Vitellogénine plasmatique des poissons dans rivières de Grande Bretagne

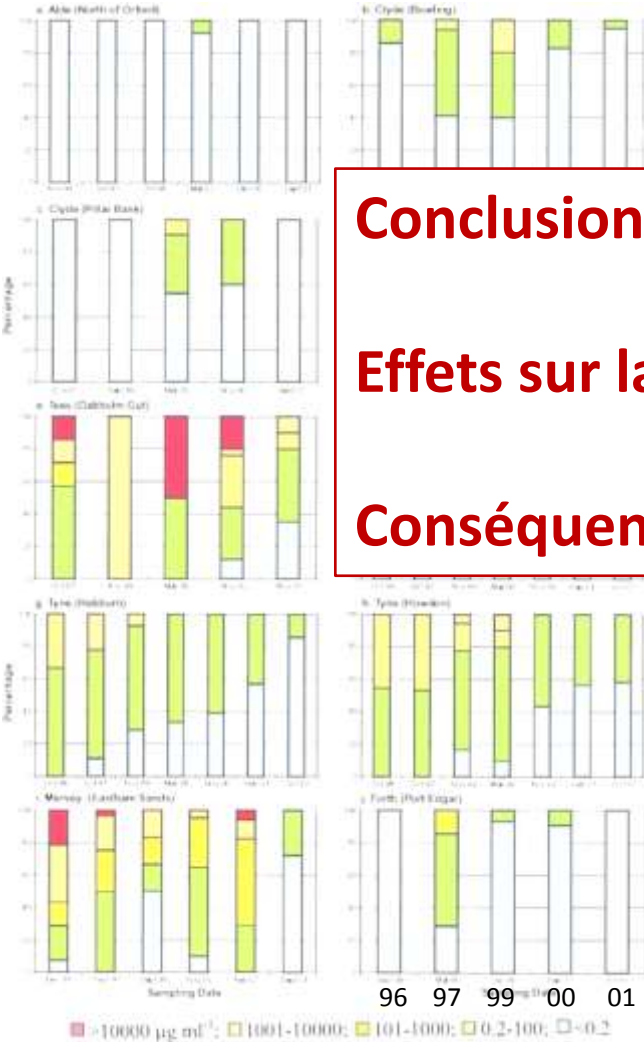
Matthiessen *et al* 2004 (Mar Environ Res, 2002 ; ET&C, 2004)



Ovotestis chez le flounder (la plie) mâle :
 Accumulation de Vtg et d'ovocytes autour du tissu testiculaire normal

Mesure de Vitellogénine plasmatique des poissons dans rivières de Grande Bretagne

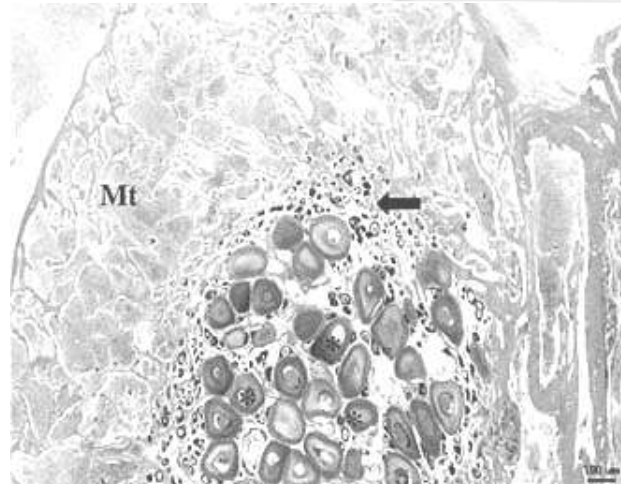
Matthiessen *et al* 2004 (Mar Environ Res, 2002 ; ET&C, 2004)



Conclusion

Effets sur la reproduction des poissons attendus

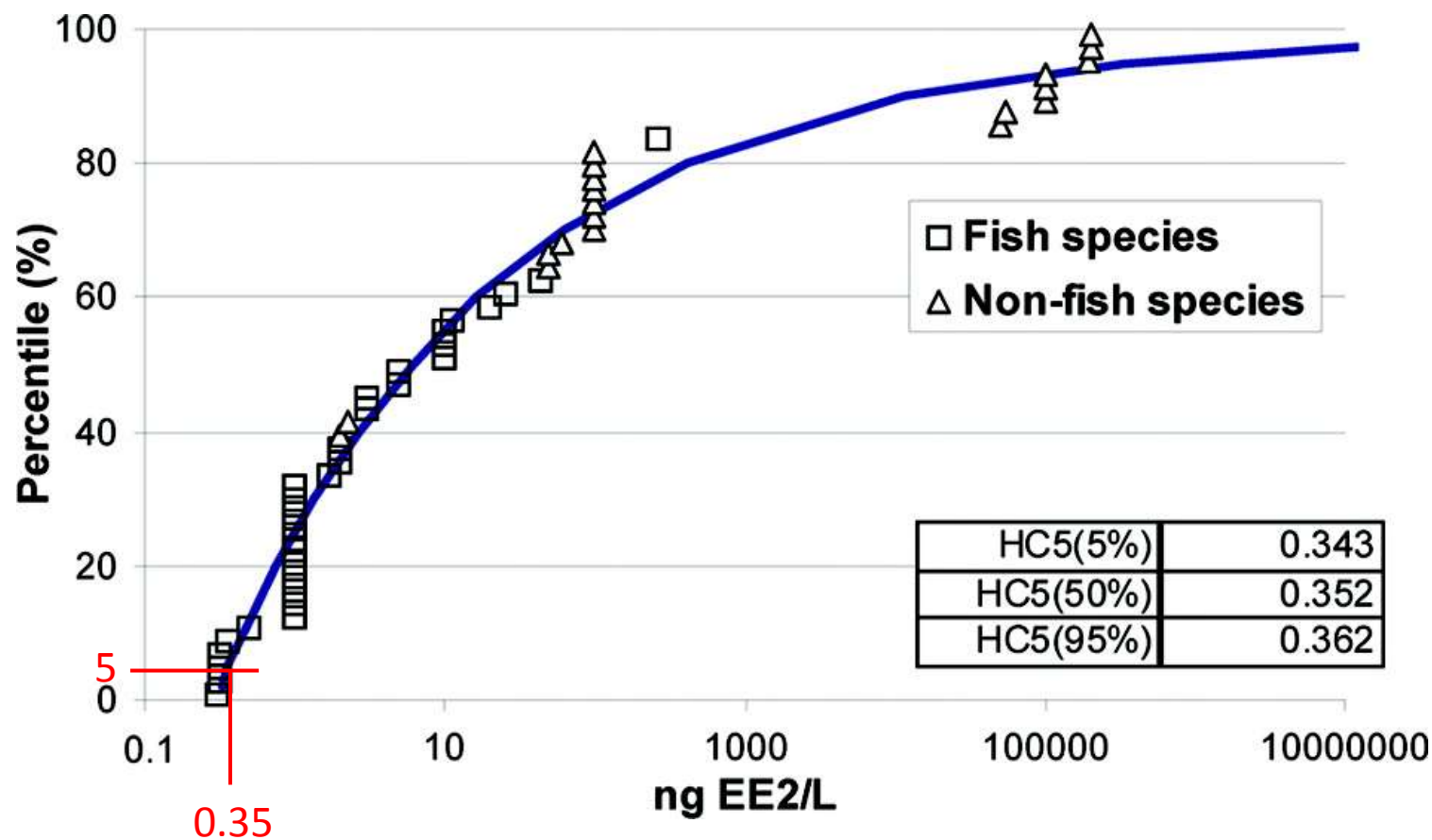
Conséquences sur les communautés piscicoles



Ovotestis chez le flounder (la plie) mâle : Accumulation de Vtg et d'ovocytes autour du tissu testiculaire normal

Concentration sans effet sur espèces aquatiques

HC5 (hazardous concentration pour 5% espèces) : 0.35 ng/L



Echelle résultats In Vitro et concentrations acceptables in vivo

In Vitro : Test Yes

Résultats en équivalents estradiol Tyne (effluent Howdon STP)

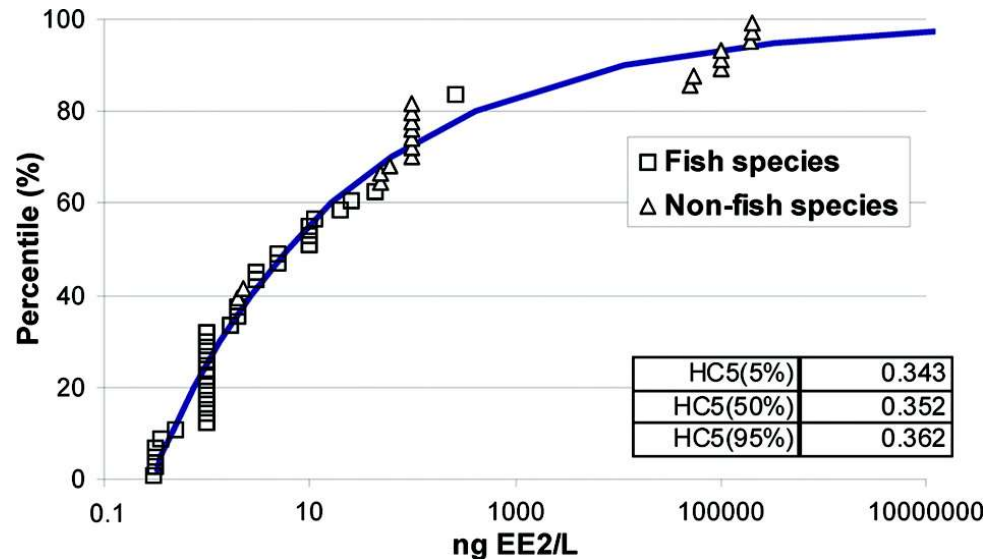
M.F. Kirby et al.

Table 6. Natural and synthetic steroid concentrations, measured by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), and in vitro estrogen receptor (ER) agonist potency, using the yeast estrogen screen (YES), in Howdon sewage treatment works effluent. Data reproduced from Thomas et al. [19,20]

Sampling date	Instrumental data (GC-MS)			ER agonist potency (YES)
	Estradiol (ng/L)	Estrone (ng/L)	Ethinyl-estradiol (ng/L)	ng estradiol/L*
06/09/00	21	96	15	130
14/09/00	8.0	15	1.6	71
21/09/00	47	54	1.5	76
28/09/00	ND	ND	ND	65
02/10/00	ND	ND	ND	105
12/10/00	ND	ND	ND	25
15/09/01	4.7	8.0	2.5	<4
21/09/01	5.7	8.2	1.4	<4
27/09/01	8.8	5.1	3.0	<4
04/10/01	ND	ND	ND	<4
06/10/01	ND	ND	ND	<4
10/10/01	<1	5.0	<1	<4

* All YES data are blank subtracted. Concentrations represent 17 β -estradiol equivalents in the original sample before analytical manipulations. ND = no data, where sample has failed strict quality assurance procedures.

Concentration sans effet sur espèces aquatiques HC5 (hazardous concentration pour 5% espèces) 0.35 ng/L



Species sensitivity distribution du 17 α -ethinyl estradiol Basée sur données reproduction NOECs

La recherche permet de développer des méthodes d'investigations pour répondre aux préoccupations

Les méthodes existent, bcp ont été validées : il reste à les appliquer en contrôle même en l'absence d'obligations réglementaires et les optimiser le cas échéant

RECOMMANDATIONS

Appliqué

Contrôle des eaux par essais bioanalytiques (mécanistiques) pertinents par rapport aux préoccupations

Recherche

Programmes de recherche sur les réponses in vivo (à long terme)

Echelonnage in vitro par rapport à in vivo

Etablissement des seuils acceptables

Identification des types de polluants responsables des effets néfastes par analyse caractérisation des substances dans les différentes fractions et activité biologique en vue prévention

Etudes mécanistiques des polluants émergents

**MERCI
DE
VOTRE
ATTENTION**

