



## Bio-analyse de perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques

Selim Aït-Aïssa

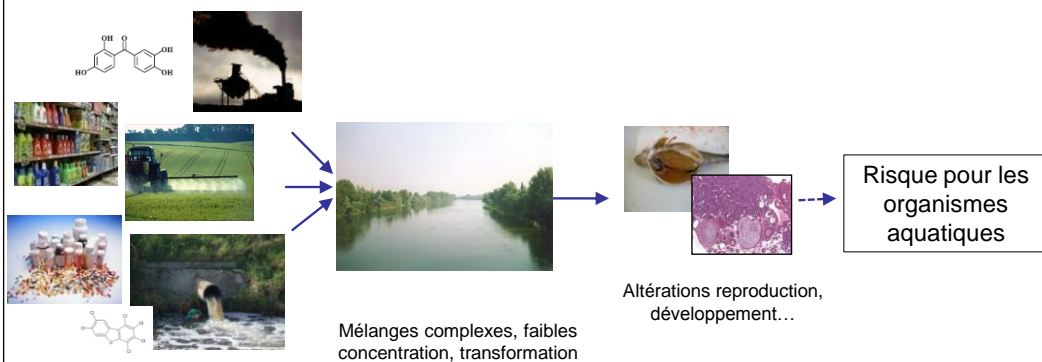
Unit d'Ecotoxicologie *in vitro* et *in vivo*

[selim.ait-aissa@ineris.fr](mailto:selim.ait-aissa@ineris.fr)

**INERIS**  
maîtriser le risque |  
pour un développement durable

● 09/07/2014 ●

## Contamination des milieux aquatiques par les PE



## Evaluation de la qualité chimique des milieux

- multiplicité des contaminants : quelles substances ?
- sources et devenir dans le milieu ?
- lien entre contamination chimique et effets biologiques ?

**INERIS**  
maîtriser le risque |  
pour un développement durable

S. AÏT AÏSSA – ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 2

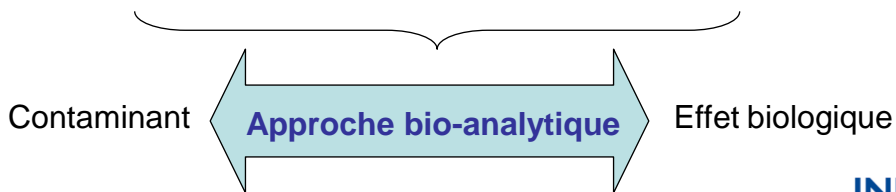
## Evaluation de la contamination chimique : quels outils?

### Analyses chimiques

- ✓ quantitatives
- ✓ spécifiques
- ✓ sensibles (traces)
- ✗ ciblées : image partielle (e.g. 41 subst. DCE)
- ✗ pas d'effet de mélange

### Bioessais

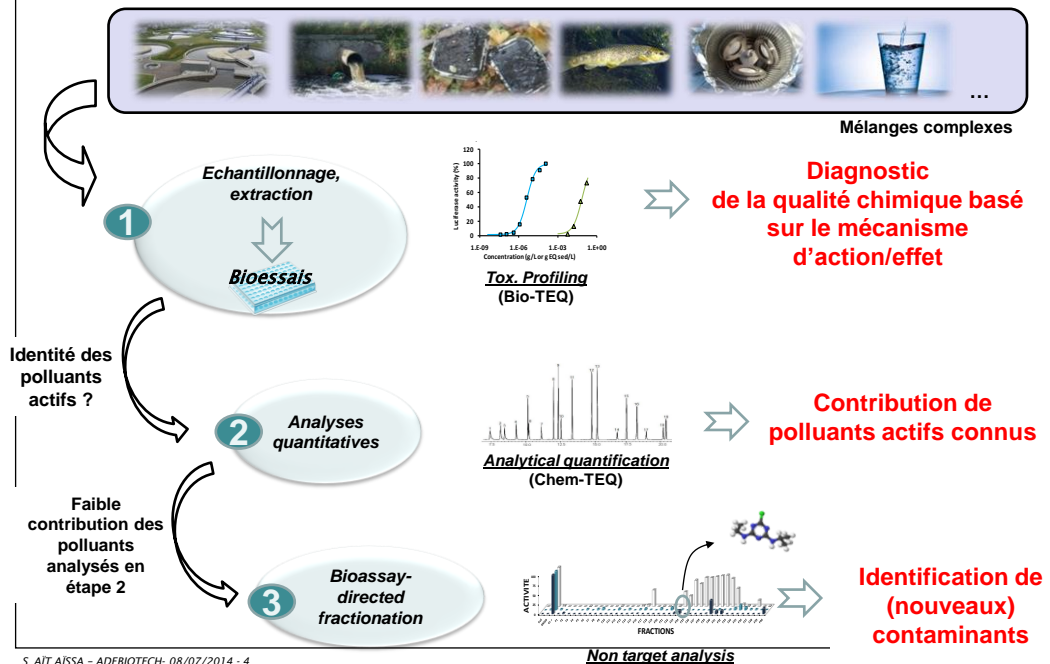
- ✓ détection de l'ensemble des composés actifs biodisponibles
- ✓ pertinence (éco)toxicologique
- ✓ spécifiques d'un mode d'action
- ✗ n'informent pas sur la nature des molécules



**INERIS**  
maîtriser le risque  
pour un développement durable

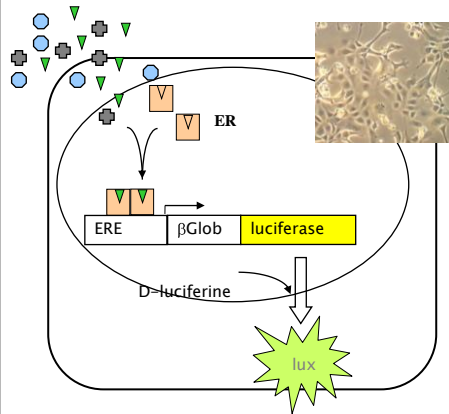
S. AIT AÏSSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 3

## Stratégie bioanalytique / Effect-directed analysis (EDA)



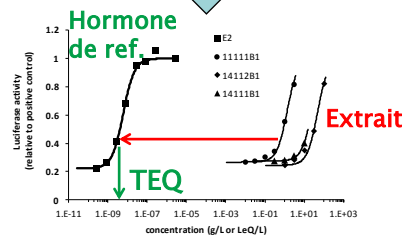
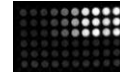
S. AIT AÏSSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 4

## Bioessais *in vitro*



Lignées cellulaires avec gène rapporteur

Echantillon environnemental



Quantification d'équivalents-toxiques (TEQs) dans l'échantillon

$$\text{Bio-TEQ} = \text{ECx}_{\text{REF}} / \text{ECx}_{\text{ECH}}$$

maîtriser le risque pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 5

## Approche multi-récepteurs : batterie de bioessais complémentaires

Activités	Récepteur cible	Polluants types détectés
Oestrogénique	Récepteur des œstrogènes (ER)	Hormones œstrogènes, alkylphénols, bisphénols, certains pesticides, filtres UV...
Dioxin-like	Récepteur de la dioxine (AhR)	HAP, dioxines, furanes, PCB-DL...
(anti)Androgénique	Récepteurs des androgènes (AR)	Hormones androgènes, Pesticides, alkylphénols
Corticoïdes	Récepteurs des glucocorticoïdes (GR), minéralocorticoïdes (MR), progestatifs (PR)	Hormones, Pharmaceutiques, pesticides, autres ?
Metabolism (CYP3A)	Récepteur des stéroïdes et des xénobiotiques (PXR)	Pharmaceutiques, pesticides, alkylphénols, stéroïdes, ...

- Détection de diverses familles de contaminants
- Profils de contamination

Collaboration P. Balaguer (INSERM U896)

INERIS  
maîtriser le risque pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 6

## Application: Etude prospective 2012 – criblage de sites



20 sites de surveillance (DCE) sur l'ensemble des districts hydrographiques métropolitains

### Pressions :

- Agricole
- Urbaine
- Industrielle
- Référence
- Mauvais état écologique



Eau de surface (POCIS)



Sédiments

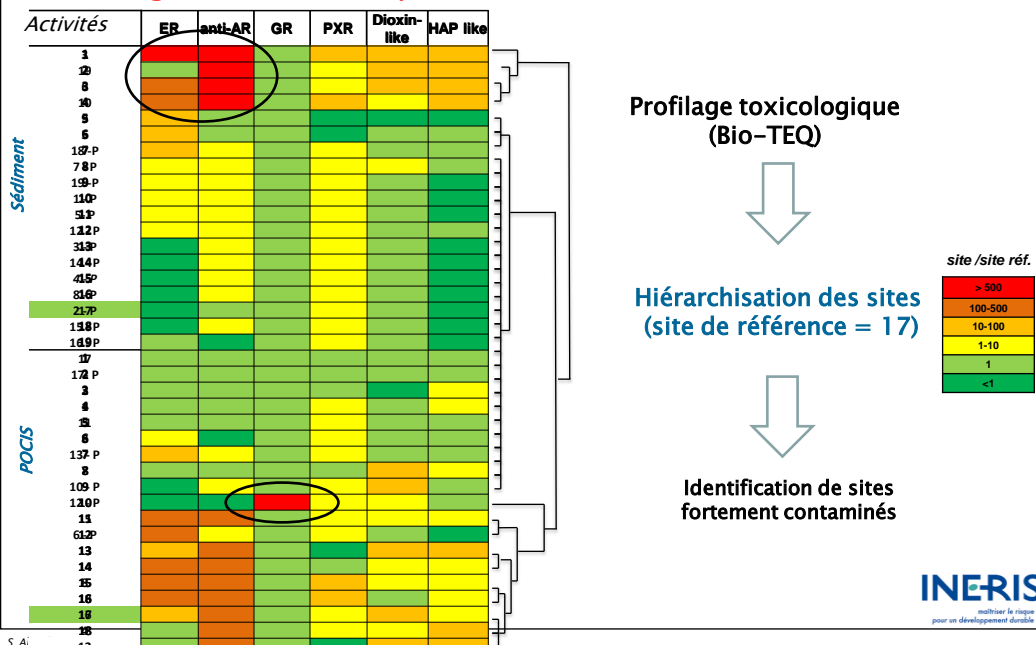


Criblage *in vitro*  
haut débit  
(automate)



S. AIT AÏSSA – ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 7

## Profilage *in vitro* et « priorisation » de sites



## Contribution de polluants actifs connus (sédiments)

	ER	PXR	Dioxin-like	PAH-like
<b>Targeted chemicals (WFD + French prospective study)</b>	estrone, mestranol, 4-tert-octylphenol, bisphenol A, propylparaben, $\alpha$ -cypermethryn, methoxychlor, metolachlor, 44'DDD	diazepam, clotrimazole, triclosan, carbamazepin, $\alpha$ -cypermethryn, 44'DDD, métolachlore, transnonachlor, 4-tert-octylphenol, bisphenol A, PCB 180/101/138/153	dibenzo(a,c)anthracen, benzo(e)pyren, benzo(g,h,i)fluoranthen, benzo(j)fluoranthen, chrysen, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, indeno(123)pyren	
<b>Chem-TEQ/ Bio-TEQ (%)</b>	<b>0.1 - 1.1 %</b>	<b>0.1 - 0.3 %</b>	<b>0.2 - 37%</b>	<b>0.1 - 4%</b>

→ Faible contribution des composés ciblés par les analyses chimiques (~200 substances analysées)

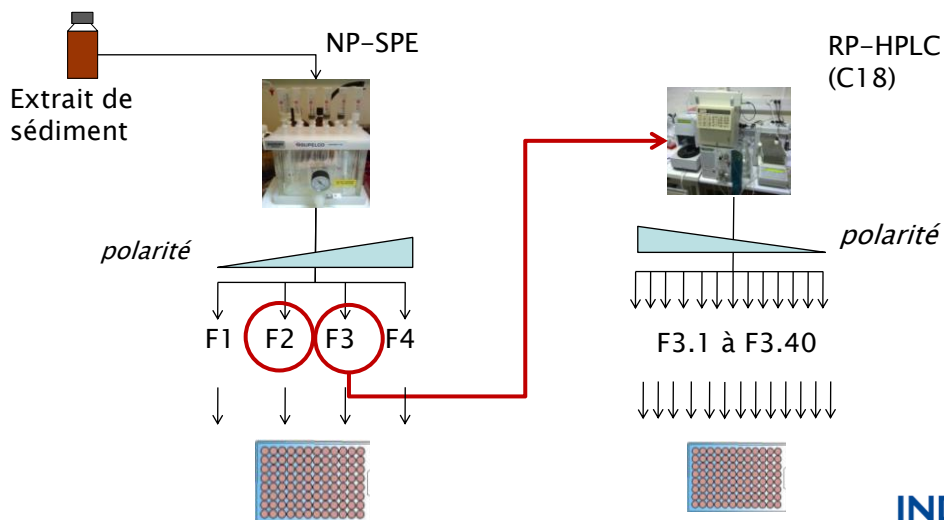


**Approche EDA : identification des composés actifs inconnus ?**

**ERIS**  
maîtriser le risque pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 9

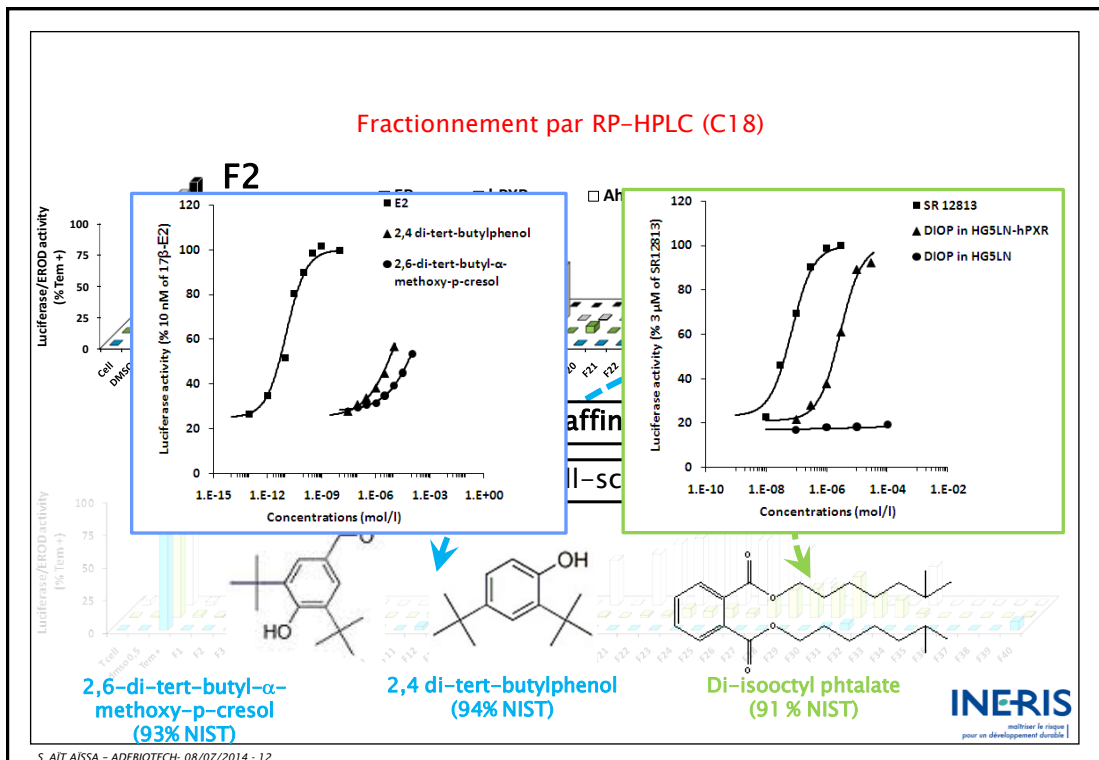
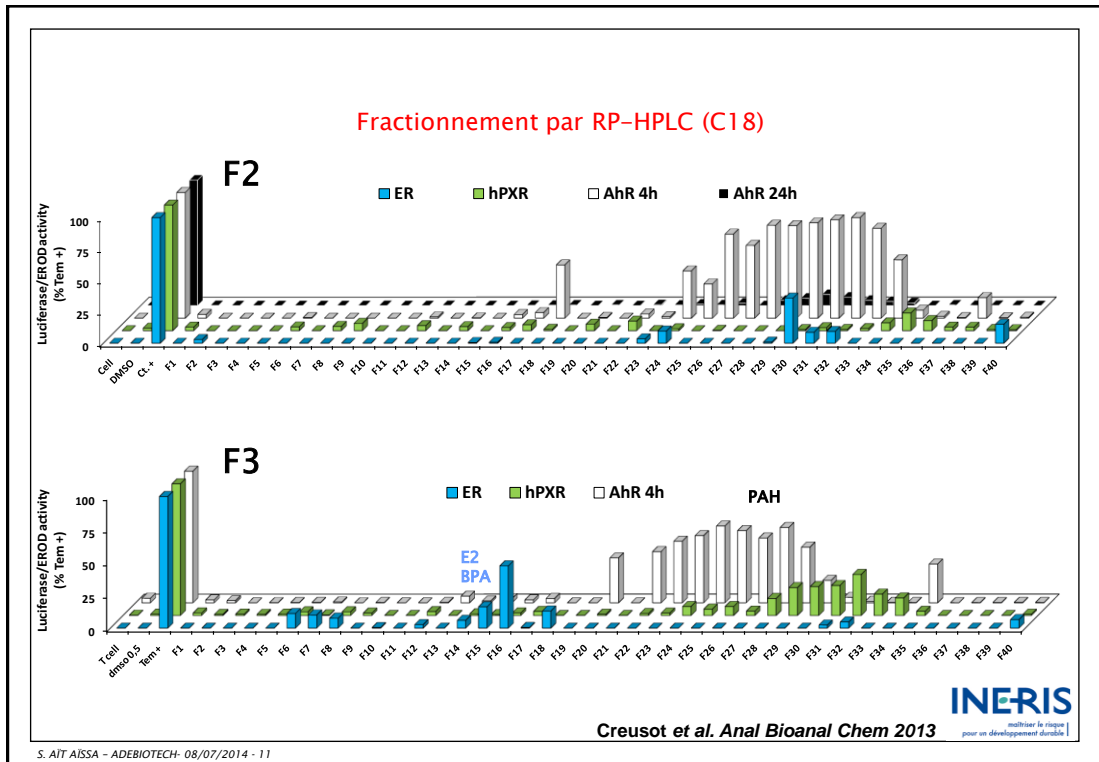
## Fractionnement et isolement de molécules actives au sein d'un mélange complexe



Creusot et al. Anal Bioanal Chem 2013

**INERIS**  
maîtriser le risque pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 10



## Apports de la bioanalyse et de l'EDA pour la surveillance des milieux

- ✓ Evaluation intégrée de la qualité chimique (TEQ)
- ✓ Caractérisation des sources et du devenir des contaminants
- ✓ Priorisation de sites
- ✓ Traitement de l'eau : efficacité de process, qualité des rejets
- ✓ Identification de polluants émergents (EDA)



### ☞ Intégration dans des programmes de surveillance

- France : convention INERIS-ONEMA, Etude Prospective 2012
- Europe : FP7-EDA-EMERGE, FP7-SOLUTIONS, Joint Danube Survey (JSD3)

➔ **Nouvelles stratégies de surveillance pour l'acquisition de données sur l'occurrence et l'identité des PE**

**INERIS**  
maîtriser le risque  
pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 13

## Besoins / développements

### Harmonisation / standardisation des méthodes

- Prélèvement et préparation de l'échantillon
  - Bioessais (modèles biologiques, calcul de TEQ...)
- *AQUAREF, NORMAN, Etudes inter-labos (JRC, Eawag/UBA), ISO*

### Pertinence des TEQ en terme d'effet biologique ?

- Intégration de modèles *in vivo* (e.g. embryon de zebrafish, cf. F. Brion)
- e.g. activités ER et AhR
- Détermination de valeurs seuils *in vitro*

### Structuration des acteurs

- Europe: réseaux (NORMAN, SOLUTIONS, EDA-EMERGE...)
- En France, il existe de vraies compétences. Besoin de structuration.

**INERIS**  
maîtriser le risque  
pour un développement durable

S. AIT AISSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 14

## Un partenariat fort avec des compétences reconnues

**Inserm**

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

Patrick Balaguer

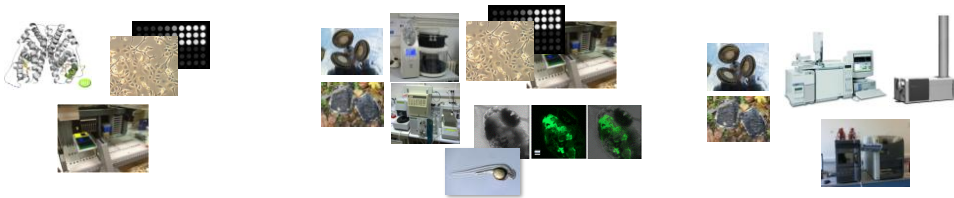


**INERIS**

Selim Aït-Aïssa  
François Brion  
Nicolas Creusot



Hélène Budzinski



Détection, Quantification, Identification et Evaluation  
des effets des perturbateurs endocriniens



S. AIT AÏSSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 15

Merci de votre attention.



S. AIT AÏSSA - ADEBIOTECH- 08/07/2014 - 16