

# Nouveaux micropolluants des eaux et nouveaux risques sanitaires

Yves Levi et Maëlle Cargouët

**Résumé** La contamination des eaux par des mélanges de polluants en très faibles concentrations conduit à des effets biologiques et toxiques détectés sur les animaux exposés, ce qui représente un risque écotoxicologique et sanitaire qu'il faut quantifier précisément. Ces micropolluants, seuls ou combinés, induisent notamment des effets perturbateurs endocriniens et/ou génotoxiques, ce qui implique, en complément de la mise en œuvre d'une politique de protection des écosystèmes, l'amélioration de l'efficacité et de la fiabilité des filières d'assainissement des eaux usées urbaines ou industrielles et de celles de la production et de la distribution des eaux potables. L'évaluation scientifique et objective des risques sanitaires est en cours au niveau international et un renforcement des compétences et des moyens est indispensable dans ce domaine qui associe intimement santé, alimentation et environnement.

**Mots-clés** Eau, pollution, risques, santé, perturbateurs endocriniens, médicaments, micropolluants.

**Abstract** **New micropollutants in waters and new health risks**

The contamination of waters by mixtures of pollutants at very low concentrations leads to biological and toxic effects detected on exposed animals constituting ecotoxicological and health risks that should be precisely quantified. These micropollutants, alone or combined, induce in particular genotoxic and/or endocrine disruptors effects, that implies, in complement of a policy for the protection of the ecosystems, an improvement of the efficiency and reliability of the sewage and drinking water production plants and distribution systems. The scientific and objective evaluation of the risks is effective at the international level and a reinforcement of competences and means are essential in this field which associates health, food and environment.

**Keywords** Water, pollution, risk, health, endocrine disruptors, pharmaceuticals, micropollutants.

## A propos de l'eau potable

L'alimentation générale constitue l'une des sources majeures d'exposition humaine aux micropolluants organiques et, parmi les apports alimentaires, une attention particulière est souvent injustement portée à l'eau. Les raisons en sont complexes qui associent à la fois son image idéalisée de pureté naturelle, ses relations intimes avec l'existence de la vie, l'historique de ses usages thérapeutiques du thermalisme, sa présence pour la baignade et les loisirs, ou encore en raison du marketing intensif réalisé pour la vente des eaux conditionnées. Plus encore que d'autres aliments, l'eau focalise toutes les attentions alors qu'elle est en France l'un des produits alimentaires les plus contrôlés et que chaque jour des millions de m<sup>3</sup> d'eau potable sont distribués et utilisés pour un bénéfice global majeur de notre espérance de vie.

L'eau assure malheureusement aussi de terribles rôles : une importante contribution à l'assainissement de notre environnement, le transport des déchets, le lessivage des surfaces, un solvant à usage industriel, le tout-à-l'égout, et elle devient ainsi un système collecteur final des pollutions diffuses industrielles, urbaines ou agricoles. Les activités humaines contribuent donc toutes, à des degrés divers, à la contamination des ressources, qu'elles soient superficielles

ou souterraines, et les cycles microbiologiques d'épuration naturels de l'environnement ne peuvent tout dégrader et éliminer (figure 1).

Que ce soit pour l'eau ou les autres aliments, les risques sanitaires majeurs à court terme restent toujours

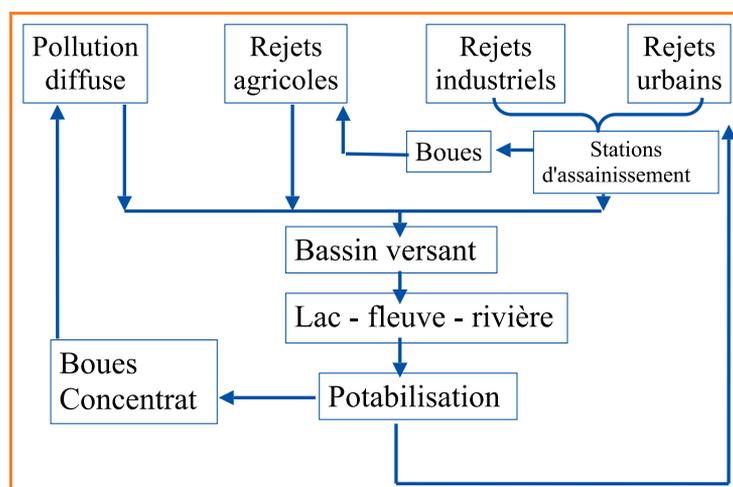


Figure 1 - Transferts de polluants dans les milieux aquatiques.

indiscutablement ceux liés à la microbiologie. Ainsi, des millions de vies seraient épargnées chaque année si toutes les populations disposaient d'un moyen de désinfection aussi simple que l'eau de Javel. Il n'en reste pas moins que depuis quelques décennies, les risques chimiques prennent régulièrement leur place dans les préoccupations mondiales liées aux problèmes de qualité des ressources en eau et des eaux destinées à la consommation humaine. Il y a quarante ans, « l'épidémie » de Minamata (Japon) avait révélé au monde les risques liés aux métaux lourds dans la chaîne alimentaire. Actuellement, les consommateurs sont préoccupés par les problèmes posés par la présence de traces de produits organiques et demandent que soient précisés et évalués les éléments concrets de leurs dangers sanitaires et environnementaux.

Les débats deviennent alors rapidement idéologiques entre « les partisans » et « les opposants », ce qui nécessite indiscutablement, et rapidement pour les pays qui savent s'en donner les moyens, de mettre en œuvre toutes les études objectives pour permettre la sérénité d'une approche d'évaluation scientifique des risques offrant alors des éléments concrets permettant leur gestion.

### Des dangers nouveaux

La liste des micropolluants organiques identifiés dans les ressources en eau est très importante et croissante, notamment pour plusieurs raisons :

- les progrès analytiques exceptionnels de ces vingt dernières années ayant permis à de nombreux laboratoires de disposer de couplages chromatographes-spectromètres de masse performants à des prix accessibles ;
- le développement de nouvelles techniques rapides et fiables d'extraction des traces de composés organiques volatils ou non à partir des matrices aqueuses ;
- l'augmentation du nombre de molécules issues de l'innovation chimique et parachimique, et en particulier certaines d'entre elles dont la stabilité était justement la qualité recherchée mais qui s'avèrent indestructibles par les processus naturels et parfois bio-accumulables ;
- l'augmentation des tonnages employés et la dispersion de molécules dans tous les foyers et les environnements humains qui accentuent la pollution diffuse.

Les dangers que représentent nombre de ces molécules polluantes ne sont donc pas nouveaux, mais la nouveauté réside dans l'accumulation de données concordantes sur les risques potentiels à moyen ou long terme et leur détection récente dans des sites où elles n'auraient pas été envisagées. L'amplification de la problématique est devenue rapidement internationale à chaque nouvelle confirmation par des équipes de recherche de chaque continent. Par exemple, au début des années 70, les nouvelles applications de la chromatographie gazeuse avec détection par capture d'électrons avaient révélé la présence des sous-produits de la chloration des eaux dont la liste s'est considérablement développée depuis grâce à des études réalisées dans tous les grands centres de recherche spécialisés. A la fin des années 80, l'herbicide atrazine de la famille des triazines, récemment interdit d'usage en France et très présent dans de nombreux cours d'eau et nappes, n'était jamais recherché en routine dans les analyses de pesticides dans les eaux car les laboratoires focalisaient leur détection sur les pesticides organochlorés.

Outre les grandes familles maintenant classiques de micropolluants comme les composés phytopharmaceutiques et leurs produits de dégradation, les solvants, les retardateurs de flamme ou les plastifiants, ces dernières années ont confirmé l'importance de polluants organiques persistants (POP), de substances à effets perturbateurs endocriniens, et révélé l'importance de composés à usages pharmaceutiques. Qu'elles soient de découvertes récentes ou non, seules ou en mélange, ces substances, une fois quantifiées, entrent dans la catégorie des dangers présents dans l'environnement et nécessitent que soient évalués les risques environnementaux ou sanitaires.

### Des risques nouveaux

De manière identique aux progrès de la chimie analytique et souvent conjointement avec elle, la toxicologie sous ses différentes applications a progressé dans ses outils et ses connaissances et révèle de nouveaux besoins et de nouvelles attentes. Les mélanges de micropolluants dans notre alimentation ne constituent heureusement pratiquement jamais de risques toxicologiques aigus à court terme, mais représentent des risques à moyen ou long terme, ce qui nécessite le développement de méthodologies plus complexes d'évaluation *in vitro* ou sur les animaux.

Les risques toxicologiques se révèlent souvent à l'occasion d'accidents majeurs, de contaminations importantes de l'environnement, au travail, ou lors d'observations réalisées sur la flore ou la faune vivant à proximité des sources majeures de pollution concentrées. Les méthodes d'évaluation de la toxicité aiguë des eaux ou de leurs extraits se sont bien développées en utilisant des crustacés, des algues, des bactéries luminescentes, des lignées cellulaires de mammifères ou des vertébrés. Des progrès ont été accomplis depuis 15 ans dans la détection des effets génotoxiques au moyen de modèles cellulaires, bactériens ou animaux.

Plus récemment, certains effets perturbateurs endocriniens ont été identifiés, et en particulier les effets estrogéniques responsables de problèmes de reproduction, de fertilité, de malformations ou de cancers sur des modèles animaux. La complexité des phénomènes en cause, présents depuis la production des hormones jusqu'à leur élimination en passant par leur transport et leur liaison aux récepteurs cellulaires, amène une nouvelle dimension de danger sanitaire qui inquiète fortement toutes les instances d'expertise et les autorités sanitaires internationales.

Les risques apparaissent alors comme émergents (cancers hormonaux dépendants, troubles métaboliques et de la reproduction, immunomodulation...) et reposent sur des dangers déjà connus et parfois identifiés (pesticides, métaux lourds, plastifiants...). Mais il n'existe pas actuellement de méthodologies, ni d'outils certifiés, robustes, de coût acceptable, permettant de quantifier simplement et efficacement tous les risques associés aux mélanges complexes de molécules présentes, à très faibles concentrations, dans les ressources en eau.

Pour compléter et valider les approches toxicologiques et écotoxicologiques, l'épidémiologie doit aussi améliorer ses outils et ses sensibilités dans le dispositif d'évaluation des impacts sur la santé humaine tant les doses sont faibles et les risques suspectés à long terme.

## Les micropolluants à effets perturbateurs endocriniens

### Nature et exemples

Un **perturbateur endocrinien** est une substance exogène qui provoque des effets néfastes sur un organisme sain, ou sa progéniture, dus à des modifications de la fonction endocrine.

Les composés responsables de ces effets biologiques peuvent être naturels (phytoestrogènes, estradiol, estriol, progestérone...) ou issus des activités humaines dont la liste qui ne cesse d'augmenter est partiellement représentée dans le *tableau I*. Les estrogènes environnementaux ou xénoestrogènes sont actuellement les perturbateurs endocriniens les mieux étudiés. Ces composés miment, augmentent ou inhibent l'action des estrogènes endogènes par des mécanismes d'action variés (*figure 2*). Ils peuvent interférer avec la production de l'hormone au sein de l'organe producteur ou agir sur les systèmes de régulation pour provoquer un signal conduisant à une augmentation ou à une diminution de sa production. Les polluants peuvent aussi interférer lors du transport de l'hormone, par exemple pendant leur fixation sur les protéines de transport sanguin. Au niveau cellulaire, ils peuvent interagir avec les récepteurs en simulant l'hormone ou en bloquant le récepteur. Schématiquement, dans les cellules cibles, des hormones fixées aux récepteurs se lient ensuite à l'ADN pour induire la transcription conduisant à la production de protéines qui sont responsables des effets des hormones. A ce niveau, certains polluants peuvent perturber le système de transcription. Finalement, l'organisme élimine les hormones notamment dans les urines, soit sous formes inchangées, soit après conjugaison avec d'autres molécules. Les perturbations sur cette élimination vont conduire à un dérèglement des systèmes de régulation et indirectement provoquer une augmentation de la production par l'organe producteur. Il est ainsi possible de constater à quel point la complexité des systèmes biologiques hormonaux animaux en équilibre subtil peut être perturbée par de nombreuses voies d'action interférentes de ces molécules dont certaines constituent des dangers potentiels dans les ressources en eau. Quelques exemples d'effets de perturbateurs endocriniens sont présentés ci-après.

### Les estrogènes

Les estrogènes sont excrétés quotidiennement à des quantités de quelques microgrammes aussi bien par la femme que par l'homme. Les quantités peuvent être multipliées par 100 ou 1 000 chez les femmes enceintes. Ces estrogènes se retrouvent dans les rivières par l'intermédiaire des effluents de stations d'épuration (STEP). Les animaux vont également contribuer à la contamination des eaux de surface, en particulier dans les zones d'élevage intensif. A cela s'ajoute l'usage d'hormones pour stimuler la croissance du bétail dans certains pays en dehors de l'Union européenne. Les principaux estrogènes naturels (estradiol, estrone, estriol) et un estrogène synthétique, l'éthinylestradiol, ont été détectés dans les eaux d'entrée (affluents) et les eaux de sortie (effluents) de STEP et les rivières de plusieurs pays [1-3].

L'analyse de traces dans les eaux usées est difficile et exige une préparation importante des échantillons. Dans les eaux usées pénétrant dans les stations, l'estriol est détecté

Tableau I - Exemples de micropolluants à effets perturbateurs endocriniens retrouvés dans les milieux aquatiques (d'après [13, 21-23]).

\*Estrog. : composé (anti-)estrogénique ; androg. : composé (anti-)androgénique ; thyroïd. : composé ayant une activité (anti-)thyroïdienne ; progest. : composé ayant une activité (anti-)progestagène ; reproduction : composé perturbant la fonction de reproduction.

|                        | Composés               | Effets*                  |
|------------------------|------------------------|--------------------------|
| Hormones de synthèse   | Éthinylestradiol       | Estrog.                  |
| Composés organochlorés | Dioxines               | Estrog.                  |
|                        | PCB                    | Estrog./androg./thyroïd. |
| Antioxydant            | Pentachlorophénol      | Thyroïd.                 |
|                        | Hydroxyanisole butylé  | Estrog.                  |
| Pesticides             | Alachlore              | Thyroïd.                 |
|                        | Aldrin                 | Estrog.                  |
|                        | Carbaryl               | Estrog./progest.         |
|                        | DTT                    | Estrog.                  |
|                        | p,p'-DDE               | Androg.                  |
|                        | Dicofol                | Estrog.                  |
|                        | Dieldrine              | Estrog.                  |
|                        | Endosulfan             | Estrog.                  |
|                        | Fenbuconazole          | Thyroïd.                 |
|                        | Fenitrothion           | Androg.                  |
|                        | Heptachlore            | Thyroïd.                 |
|                        | Lindane                | Estrog./androg.          |
|                        | Linuron                | Androg.                  |
|                        | Malathion              | Thyroïd.                 |
|                        | Méthoxychlore          | Estrog.                  |
| Perméthrine            | Estrog.                |                          |
| Toxaphène              | Estrog./thyroïd.       |                          |
| Vinclozoline           | Androg.                |                          |
| Phtalates              | Butyl benzyl phtalate  | Estrog.                  |
|                        | Di-n-butyl phtalate    | Estrog./androg.          |
|                        | Di-éthylhexyl phtalate | Estrog./androg.          |
| Autres                 | Bisphénol A            | Estrog.                  |
|                        | Benzo-a-pyrène         | Androg.                  |
|                        | Nonylphénol            | Estrog.                  |
|                        | Octylphénol            | Estrog.                  |
| Métaux                 | Cadmium                | Estrog.                  |
|                        | Plomb                  | Reproduction             |
|                        | Mercuré                | Reproduction/thyroïd.    |

à de fortes concentrations (50-260 ng/L), suivi de l'estrone (< 0,5-50 ng/L), du 17 $\beta$ -estradiol (< 0,5-50 ng/L) et de l'éthinylestradiol (5-10 ng/L). Dans les effluents, les concentrations maximales se situent vers 60 ng/L pour l'estradiol, 80 ng/L pour l'estrone, 20 ng/L pour l'estriol et 40 ng/L pour l'éthinylestradiol (*tableau II*). Les trois estrogènes naturels et l'éthinylestradiol ont été détectés dans plusieurs rivières à de très faibles concentrations, de quelques ng/L à quelques dixièmes de ng/L (*tableau III*).

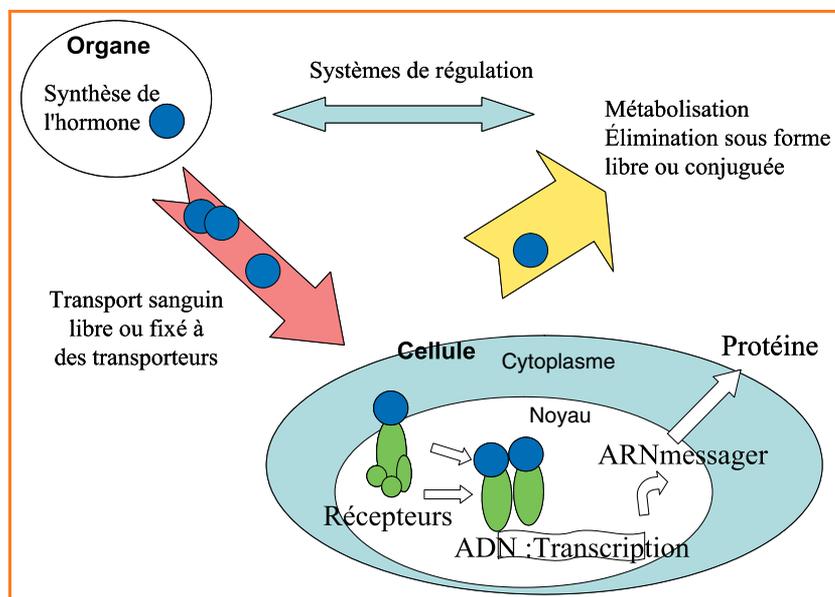


Figure 2 - Représentation schématique de la synthèse, du transport, de l'action et de la métabolisation des hormones de type estrogéniques illustrant les nombreuses possibilités d'interférence des perturbateurs endocriniens.

Tableau II - Exemple de concentration (ng/L) en estrogènes naturels et synthétiques dans les eaux de stations d'épuration.

<sup>a</sup> Concentrations minimales et maximales et concentration moyenne entre parenthèses.  
- : non analysé, nd : non détecté.

| Pays              | Concentration en estrogènes (ng/L) <sup>a</sup> |               |             |                  | Réf. |
|-------------------|---|---------------|-------------|------------------|------|
|                   | Estrone   | 17β-Estradiol | Estriol     | Éthinylestradiol |      |
| Italie entrée     | 25-132 (80)                                     | 4-25 (12)     | 24-188 (52) | 0,4-13 (3)       | [3]  |
| Italie sortie     | 2,5-82  | 0,35-3,5      | 0,44-18     | nd-1,7           |      |
| Canada entrée     | 15-41   | 6-15          | 53-250      | -                | [1]  |
| Allemagne entrée  | (27)  | (15)          | -           | (1,4)            | [2]  |
| Allemagne sortie  | 0,35-18   | 0,15-5,2      | -           | 0,1-8,9          | [9]  |
| Brésil entrée     | (40)  | (21)          | -           | (6)              | [2]  |
| Angleterre sortie | 1,4-76  | 2,7-48        | -           | nd-7             | [24] |
| Pays-Bas sortie   | < 0,4-47  | < 0,6-12      | -           | < 0,2-< 1,4      | [25] |
| France entrée     | 10-17   | 11-17         | 11-15       | 5-7              | [26] |
| France sortie     | 4-7   | 4-9           | 5-7         | 3-4,5            |      |

Tableau III - Concentration en estrogènes naturels et synthétiques dans des rivières.

<sup>a</sup> Concentrations minimales et maximales et concentration médiane entre parenthèses.  
- : non analysé.

| Pays      | Concentration en estrogènes (ng/L) <sup>a</sup> |                   |         |                   | Réf. |
|-----------|---|-------------------|---------|-------------------|------|
|           | Estrone   | 17β-Estradiol     | Estriol | Éthinylestradiol  |      |
| Italie    | 1,5   | 0,11              | 0,33    | 0,04              | [3]  |
| Allemagne | 0,1-4,1 (0,4)                                   | 0,15-3,6 (0,3)    | -       | 0,1-5,1 (0,4)     | [9]  |
| Pays-Bas  | < 0,1-3,4 (0,3)                                 | < 0,3-5,5 (< 0,3) | -       | < 0,1-4,3 (< 0,1) | [27] |
| Allemagne | < 0,5-1,6                                       | < 0,5             | < 0,5   | < 0,5             | [2]  |

Des études d'effets biologiques effectuées *in vivo* ont montré que des concentrations du même ordre que celles rencontrées dans les rivières pouvaient induire une réponse estrogénique chez diverses espèces de poissons. Fenske *et al.* ont montré en 2001 que l'exposition de poissons zèbre mâles pendant 21 jours à une concentration de 1,7 ng/L d'éthinylestradiol suffit pour induire la production de vitellogénine chez ces poissons [4]. Cette protéine servant

à la constitution des œufs est synthétisée uniquement chez les femelles mais peut-être induite chez les mâles lors de l'exposition à des estrogènes exogènes. Depuis plusieurs années, elle est utilisée comme biomarqueur d'exposition aux estrogènes environnementaux. La synthèse de vitellogénine a également été observée chez des truites Arc-en-ciel mâles après une exposition de 10 jours à des concentrations de 0,1-10 ng/L d'éthinylestradiol [5] et après une exposition de 21 jours à des concentrations de 1-10 ng/L d'estradiol [6].

### Les alkylphénols et le bisphénol A

De nombreux résultats ont été obtenus sur les alkylphénols, en particulier le 4-nonylphénol (NP) et le 4-octylphénol (OP), les alkylphénols polyéthoxylates (APE). En 1998, la production mondiale de bisphénol A était de  $1,6 \cdot 10^6$  tonnes, dont  $0,5 \cdot 10^6$  tonnes en Europe occidentale.

Les NP et l'OP sont relativement stables et sont retrouvés dans les rivières. Lors d'une étude réalisée en Angleterre et au Pays de Galles, une concentration de 330 µg/L de NP total a été mesurée dans les effluents d'une STEP recevant des eaux usées d'origines industrielles [7]. Des concentrations allant jusqu'à 180 µg/L ont été détectées dans la rivière en aval de cette STEP. Ces résultats sont confirmés dans d'autres pays et les concentrations retrouvées dans les rivières sont parfois importantes. Les auteurs suggèrent que ces fortes teneurs peuvent provenir du rejet d'effluents de STEP et de l'agriculture dû à l'utilisation des boues activées pour l'amendement des sols qui peuvent contenir jusqu'à 600 mg/kg de NP [8]. En Allemagne, des teneurs allant jusqu'à plusieurs centaines de ng/L en bisphénol A, en alkylphénol et en APE ont été mesurées dans l'Elbe et ces trois substances ont également été détectées dans des échantillons d'eau de boisson à des concentrations de quelques ng/L [9].

Les effets de ces composés sur la reproduction des poissons ont été évalués à des concentrations proches de celles rencontrées dans l'environnement. Par exemple, le bisphénol A induit la synthèse de vitellogénine chez les vairons mâles à des concentrations de 640 et 1 280 µg/L après une exposition de 43 jours, et à partir de 160 µg/L après une exposition de 71 jours [10]. Le taux de fécondité est réduit de 50 % après une exposition à 640 µg/L de bisphénol A et est nul après une exposition à 1 280 µg/L. Routledge *et al.* [6] ont estimé entre 1-10 µg/L la concentration en OP à partir de laquelle il se produit une induction de vitellogénine chez la truite Arc-en-ciel. Des résultats similaires ont été obtenus pour le NP. Une étude *in situ* montre que l'induction de vitellogénine chez des carpes mâles prélevées près d'une STEP est en partie corrélée ( $r = 0,75$ ) à la présence de NP dans la rivière [11].

### Les phytosanitaires et les PCB

Malgré leur interdiction d'usage qui se généralise dans le monde, les phytosanitaires organochlorés sont encore détectés dans de nombreux pays dans les eaux de surface,

les sédiments et les matières en suspension à des concentrations de quelques dizaines à quelques centaines de ng/L. Les concentrations en triazines sont plus élevées, mais ces molécules présentent des effets toxiques moindres. Les polychlorobiphényles (PCB) sont retrouvés dans l'environnement, selon les produits, à des concentrations de quelques ng/L à une centaine de ng/L.

### Les méthodes d'étude des perturbateurs endocriniens

#### Les essais *in vitro*

Des essais sont réalisés :

- Par la mesure de l'affinité de liaison des polluants aux récepteurs des hormones étudiées par l'utilisation de techniques de liaison compétitive du ligand au récepteur. Cet essai ne permet pas de distinguer les agonistes des antagonistes. L'extrapolation des résultats obtenus chez une espèce à une autre espèce est difficile en raison de possibles différences de structure des récepteurs [12-13].

- Par l'étude de la capacité des molécules à induire la prolifération de cellules hormono-dépendantes. Ce sont des lignées cellulaires de carcinomes mammaires, mais également des cellules cancéreuses humaines de l'endomètre. Le test sur cellules MCF-7, ou « E-screen assay », est l'un des plus utilisés. L'addition de substances estrogéniques va induire la prolifération des cellules alors que l'addition de substances anti-estrogéniques va inhiber cette prolifération en réponse à l'estradiol [14].

- Par l'induction de protéines ou d'enzymes hormono-dépendantes. L'utilisation de gènes rapporteurs dans des cellules eucaryotes et les levures permet également l'évaluation de l'expression de gènes hormonaux-dépendants. Dans ces essais, le gène rapporteur, transfecté de façon stable ou transitoire, va coder pour une protéine ou une enzyme facilement quantifiable [15-16].

Les tests *in vitro* ne prennent pas en compte la notion de bio-accumulation ni les différentes interactions possibles au sein de l'organisme, en particulier le métabolisme et l'excrétion du produit testé et les interactions entre les différents éléments du système endocrinien.

Afin de déterminer réellement si une substance chimique est un perturbateur endocrinien, des études *in vivo* sont nécessaires. Cependant, une évaluation complète de tous les effets possibles causés par un produit chimique sur la reproduction nécessite une étude sur plusieurs générations.

#### Les essais *in vivo*

Plusieurs paramètres peuvent être mesurés afin de déterminer le potentiel (anti-)estrogénique ou (anti-)androgénique d'une substance : le poids et l'histologie des organes de reproduction, les taux sériques des hormones, l'activation des gènes *in vivo*, la synthèse de protéines, le comportement, la croissance, le développement, le maintien de la grossesse, l'anatomie et la morphologie. Ils sont étudiés sur différents modèles animaux, à savoir :

- Sur des mammifères : réalisés essentiellement chez les rongeurs, les effets estrogéniques sur l'appareil reproducteur femelle sont évalués par une mesure de l'augmentation du poids de l'utérus de femelles adultes ovariectomisées ou juvéniles (test utérotrophique), de l'induction de la cornification vaginale de femelles ovariectomisées, de l'âge de l'ouverture du vagin des femelles juvéniles, de l'histologie du vagin et de l'utérus, des avortements spontanés, et de différents paramètres biochimiques.

Les différents paramètres permettant l'évaluation des effets estrogéniques sur l'appareil reproducteur mâle sont, entre autres, le fonctionnement de l'épididyme, la spermatogénèse et le poids des glandes sexuelles accessoires (prostate, vésicule séminale).

- Sur des poissons : le système endocrinien des téléostéens est le mieux étudié. Les tests sur poissons portent sur des études de toxicité à court terme, des études sur les juvéniles et des études sur le cycle de vie partiel ou complet. Les poissons les plus communément utilisés sont la carpe, le guppie, la truite Arc-en-ciel, le vairon tête-de-boule, le médaka et le poisson zèbre. Les principaux paramètres mesurés dans les tests sur le cycle de vie sont la mortalité, le comportement, la croissance, le développement et la reproduction. Bien que plusieurs de ces paramètres soient le reflet d'effets (anti-)estrogéniques/androgéniques, la plupart ne sont pas spécifiques en termes de mécanismes d'action.

Afin d'évaluer les effets de substances estrogéniques ou androgéniques, d'autres paramètres peuvent être mesurés chez les poissons tels que les concentrations plasmatiques en hormones sexuelles par détection immunologique, l'index gonado-somatique (rapport entre le poids des gonades et le poids total du corps), la maturation finale de gamètes par l'observation de la taille, de l'ovulation, de la mobilité des spermatozoïdes, etc. Une attention particulière a été portée à la mesure de l'induction de la vitellogénine comme biomarqueur d'exposition à des substances estrogéniques. Quelques études ont montré une corrélation entre l'induction de vitellogénine et des anomalies de la reproduction. Chez la truite Arc-en-ciel mâle, le traitement à des alkylphénols a été corrélé à une baisse de la croissance testiculaire qui peut être associée à un effet négatif sur la reproduction [17].

- et enfin, sur des oiseaux, des reptiles et des amphibiens.

### Stratégie internationale sur les micropolluants à effets perturbateurs endocriniens

Parmi les pays ou les organisations internationales, les États-Unis avec l'Agence pour la Protection de l'Environnement (US-EPA) et l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) se sont particulièrement impliqués dans le problème des perturbateurs endocriniens en créant des groupes de travail pour l'essai et l'évaluation de ceux-ci.

En 1999, la Communauté européenne a adopté une stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens. Cette stratégie prend en compte des mesures à court, moyen et long termes. L'une des principales actions à court terme est l'établissement d'une liste prioritaire des substances devant faire l'objet d'une évaluation approfondie. En 2000, une liste de 553 substances synthétiques et 9 hormones de synthèse ou naturelles a été dressée. En France, le ministère de l'Écologie et du Développement durable vient d'éditer en décembre 2003 une plaquette du Comité de la prévention et de la précaution intitulée *Les perturbateurs endocriniens : quels risques ?*

### Les micropolluants issus de l'usage des médicaments humains et vétérinaires

Depuis peu de temps, des substances à usages thérapeutiques ont été identifiées comme de nouveaux polluants

des systèmes aquatiques. La production et la consommation de molécules à usages thérapeutiques et de diagnostic représentent des tonnages non négligeables dont les traces sont retrouvées dans les rejets aqueux industriels, hospitaliers, urbains et d'élevages intensifs. L'hospitalisation centralise généralement les rejets de ces molécules, mais les pratiques modernes de soins tendent, pour un bénéfice de santé et de confort des patients, à privilégier le maintien des soins à domicile, ce qui a pour corollaire d'augmenter l'émission diffuse des résidus de médicaments qui parviennent alors soit dans une station d'épuration, soit directement dans les milieux aquatiques. Lorsque ces résidus se rejoignent dans les réseaux d'assainissement, il est retrouvé des traces d'hormones, d'anti-inflammatoires, d'hypolipémiants, d'antidépresseurs, d'antiépileptiques inchangés ou métabolisés qui arrivent dans les systèmes d'assainissement collectifs. Les caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques des médicaments et de leurs métabolites seront variables ; ce qui, combiné à la variabilité de l'efficacité des stations d'épuration lorsqu'elles existent et aux facteurs de dilution dans les eaux de surface où se jettent les effluents, modulera les concentrations retrouvées dans les rivières et aux prises d'eau destinées à la production d'eau potable.

Le nombre de travaux portant sur l'identification des traces de résidus pharmaceutiques dans les eaux a fortement augmenté depuis 1995 et plus de 35 molécules figurent maintenant classiquement parmi les listes publiées. Ternes, après avoir mis au point des méthodes analytiques adaptées, a recherché et détecté 32 molécules différentes et 5 métabolites parmi lesquels des anti-inflammatoires, des hypolipémiants, des bêtabloquants, des anxiolytiques ou anti-épileptiques, aussi bien dans les rejets de stations d'épuration que dans les rivières [18].

Le *tableau IV*, qui rassemble quelques exemples publiés, montre que les concentrations varient de quelques ng/L dans les rivières à quelques µg/L dans les eaux d'égout non traitées. L'étude réalisée en 2002 par Kolpin *et al.* [19] sur le territoire américain montre la présence, à des concentrations comparables, de résidus de médicaments non prescrits et en vente libre dans environ 80 % des sites examinés.

Les risques environnementaux ou sanitaires sont, une fois encore, extrêmement difficiles à évaluer car ils peuvent, à ces concentrations très inférieures à celles utilisées en

thérapeutique, être totalement négligeables ou, en combinaison avec d'autres polluants, devenir significatifs.

Les effets biologiques sont alors à rechercher dans ceux qui sont normalement attendus pour ces classes de molécules à usages thérapeutiques ou alors parmi des effets secondaires. En tout état de cause, les observations sont à réaliser en priorité sur la faune animale exposée dans les cours d'eau pollués en aval des rejets.

Ternes avait montré que pour une large catégorie de molécules aussi diverses que des anti-inflammatoires, des hypolipémiants ou des β-bloquants, une station d'épuration classique présentait un rendement d'élimination de 7 à 96 % selon les composés [18]. En étudiant des filières de réutilisation des eaux usées, Drewes *et al.* ont montré que l'augmentation du temps de rétention permet une amélioration du taux d'élimination et qu'un traitement supplémentaire par osmose inverse permet de rendre non détectables les composés encore présents en sortie de filière classique [20].

L'analyse du risque pour la consommation d'eau potable doit prendre en compte la nature des effets biologiques attendus, l'efficacité et la fiabilité de la filière de traitement, et le type de population exposée. A titre d'exemple, il convient de se préoccuper des effets des usages intensifs et des résidus d'antibiotiques sur une éventuelle augmentation des populations bactériennes résistantes à ces antibiotiques en aval des élevages ou piscicultures, mais aussi d'étudier le devenir des composés utilisés en chimiothérapie et éliminés par les patients traités.

La Directive européenne 2001/82/EC du 6 novembre 2001 prévoit l'étude de l'impact écotoxicologique des nouveaux médicaments vétérinaires. L'EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) indique dans son *Guide d'étude des risques environnementaux* la méthode de calcul du **PECw** ou « **Predicted Environmental Concentration in surface water** », calculé selon la formule très approximative :

$$\text{PECw (g/L)} = (A \times (100-R)) / (365 \times P \times V \times D \times 100)$$

dans laquelle A (kg) représente la quantité annuelle utilisée, R (%), le taux d'élimination par les stations de traitement ou dans la nature, P, le nombre d'habitants de la zone étudiée, V (m<sup>3</sup>), le volume d'eaux usées par habitant et par jour, et D, le facteur de dilution des rejets dans la rivière. Il est alors

Tableau IV - Exemples de composés à usages thérapeutiques détectés dans diverses matrices aqueuses.

| Composé         | Classe pharmaceutique    | Effluents de STEP (µg/L) | Rivières (µg/L)     | Eau souterraine (µg/L) | Mer (µg/L)   | Réf.                         |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|---------------------|------------------------|--------------|------------------------------|
| Bezafibrate     | Hypolipémiant            | 2,2                      | 0,35                |                        | 0,001-0,018  | [18]<br>[19]<br>[28]         |
| Ac. clofibrigue | Métabolite hypolipémiant | 0,36<br>0,48             | 0,066<br>0,45       | 0,02<br>0,06           | 0,001-0,0078 | [18]<br>[29]<br>[28]<br>[29] |
| Diclofenac      | Anti-inflammatoire       | 0,81                     | 0,15<br>0,103       | 0,04                   |              | [18]<br>[28]                 |
| Ibuprofen       | Anti-inflammatoire       | 0,37                     | 0,07<br>0,035       |                        |              | [18]<br>[28]                 |
| Metoprolol      | β-bloquant               | 0,73                     | 0,045               |                        |              | [18]                         |
| Carbamazepine   | Antiépileptique          | 2,1<br>1,63              | 0,25<br>0,025-1,075 | 0,16-0,36              |              | [18]<br>[29]<br>[28]         |

précisé qu'un PEC supérieur à 0,01 µg/L doit nécessiter des études approfondies alors que les États-Unis, sur un paramètre similaire, fixent la valeur seuil à 0,1 µg/L. Enfin, il est précisé l'importance de calculer le **PNEC** ou « **Predicted No Effect Concentration** » à partir des données connues de toxicité aiguë. Tout ceci illustre l'effort qui est fait pour élaborer des stratégies d'évaluation globales, voire même des textes réglementaires, mais révèle aussi le manque d'éléments et d'outils de décision face à cette problématique complexe.

### Implications pour l'industrie de la production d'eau potable

Pour se débarrasser de ces micropolluants organiques présents dans les ressources, les technologies existantes dans les pays les plus économiquement favorisés permettent de les biodégrader et biotransformer, adsorber, oxyder, précipiter ou retenir sur des systèmes membranaires. Au moment où de nombreux pays ne disposant pas de ressources en eau en quantités suffisantes mettent en œuvre des systèmes de réutilisation des eaux d'égouts pour l'irrigation ou même la production d'eau potable avec une filière très complexe, la fiabilité et l'efficacité des usines de traitement doivent être adaptées à l'élimination de ces traces de molécules à effets biologiques détectables.

En assainissement, les traitements doivent maintenant s'intéresser au devenir des micropolluants organiques à tous les niveaux des filières physico-chimiques ou biologiques. Dans les filières de potabilisation, la biodégradation est augmentée en favorisant le temps de contact entre la biomasse microbienne et l'eau à traiter. L'adsorption est réalisée partiellement sur les boues floculées et précipitées en tête de station et sur du charbon actif utilisé dans les filtres, ce qui implique une surveillance attentive de leur vitesse de saturation afin d'optimiser les coûts de régénération. Les traitements oxydants, et notamment l'ozone, conduisent à d'intéressantes dégradations de molécules organiques indésirables. Les traitements membranaires, et en particulier les plus fins comme la nanofiltration ou l'osmose inverse, mais aussi les couplages de charbon actif et d'ultrafiltration, permettent d'obtenir des taux de purification très intéressants, mais le coût de production augmente et les concentrats dans lesquels se trouvent les micropolluants doivent être traités.

Néanmoins, le développement de ces technologies implique de prendre en compte de nombreux épiphénomènes qui peuvent être indésirables. Par exemple, certains procédés de traitement tels que la chloration ou l'ozonation transforment ces molécules en métabolites qui peuvent à leur tour présenter des effets biologiques indésirables. Par ailleurs, les boues et résidus des traitements sont le plus souvent réutilisés en agriculture ou déversés dans l'environnement, ce qui contribue aussi à la contamination diffuse. Enfin, certains matériaux servant au transport ou au stockage des eaux peuvent relarguer des molécules indésirables alors qu'à la sortie de l'usine, l'eau avait une très bonne qualité. C'est notamment le cas des vieilles canalisations en plomb.

### Conclusion

Dans l'histoire de notre planète, la pollution des ressources en eau qui était de nature plutôt biologique (micro-organismes, déchets organiques de fermentation,

rejets d'azote...) s'est transformée, depuis 50 ans, par l'apparition des traces de tout ce que la chimie moderne a su inventer, transformer ou modifier. Produits finis, intermédiaires de synthèse, métabolites ou substances de dégradation se trouvent dispersés dans nos systèmes aquatiques, pour certains volatils et pour d'autres biodégradables ou au contraire persistants. Ces mélanges complexes de traces de molécules à des concentrations très faibles se retrouvent dans la chaîne alimentaire et pour certaines s'accumulent.

Il est donc évident qu'il existe un danger, mais un danger ne signifie pas obligatoirement un risque significatif. Inutile alors de vouloir argumenter pour ou contre les bienfaits des substances phytosanitaires, des résidus de médicaments ou des détergents car seule l'évaluation scientifique, validée et objective, permettra de chiffrer le ou les risques sanitaires. Ces risques nouveaux portent sur les cancers hormono-dépendants, les troubles de la reproduction, la génotoxicité, mais peut-être aussi sur d'autres effets qui n'ont pas encore été bien décelés, notamment dans les fonctions liées aux hormones thyroïdiennes. Les risques envisagés se situent non seulement dans le domaine du chronique et du long terme, mais se compliquent encore en raison des interférences, des synergies et antagonismes entre molécules et entre effets biologiques.

L'industrie chimique s'est mobilisée, notamment en Europe. L'OCDE contribue à la normalisation de méthodes d'évaluation et les instances européennes ont financé et financent toujours des programmes de recherche spécialisés et mettent en place des directives et des programmes d'évaluation des risques comme le programme REACH (Registration, Evaluation, Autorisation of Chemicals) qui étudiera plus de 30 000 composés produits à plus d'une tonne par an. Les équipes de recherche développent et valident des méthodes fiables d'évaluation et l'épidémiologie devra apporter, si cela est possible, des éléments complémentaires pour qu'une analyse du risque soit conduite dans des conditions optimales. Nous souhaitons tous que notre espérance de vie augmente encore, mais nous voulons aussi continuer à garantir notre confort et notre environnement et celui des générations futures. Pour cela, il faut pouvoir calculer objectivement les risques et en définir les niveaux d'acceptabilité. Les composés bromés retardant d'incendie, les plastifiants, les éthers de glycols dans les peintures, les antibiotiques utilisés en élevage intensif ont tous une fonction importante, mais ils ont aussi un impact sur notre environnement et, pour certains d'entre eux, les risques mis en évidence ne les rendent plus acceptables.

Personne ne souhaite voir augmenter le prix de l'eau, mais la pollution des ressources rend indispensable la mise en œuvre de traitements de haute technologie et une meilleure prise en compte des déchets et sous-produits, ce qui augmente le coût de la surveillance et du contrôle réglementaire. La gestion des eaux, en zones de pénurie ou non, nous rend tous responsables de la protection de nos ressources superficielles ou souterraines, et plus se dévoilent les effets chroniques biologiques des traces de micropolluants, plus les sociétés doivent se doter d'outils performants d'analyse de risque pour permettre aux décideurs de mettre en œuvre des actions justes et adaptées.

### Références

- [1] Lee H.B., Peart T.E., Determination of 17 beta-estradiol and its metabolites in sewage effluent by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *J. AOAC Int.*, **1998**, *81*, p. 1209.

- [2] Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.D., Servos M., Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil, *Sci. Total Environ.*, **1999**, *225*, p. 81.
- [3] Baronti C., Curini R., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Samperi R., Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water, *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, *34*, p. 5059.
- [4] Fenske M., van Aerle R., Brack S., Tyler C.R., Segner H., Development and validation of a homologous zebrafish (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan) vitellogenin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its application for studies on estrogenic chemicals, *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **2001**, *129*, p. 217.
- [5] Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N.C., Tyler C.R., Sumpter J.P., Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works, *Chem. Ecol.*, **1994**, *8*, p. 275.
- [6] Routledge E.J., Sheahan D., Desbrow C., Brighty G.C., Waldock M., Sumpter J.P., Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. *In vivo* responses in trout and roach, *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, *32*, p. 1559.
- [7] Blackburn M.A., Waldock M.J., Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales, *Water Res.*, **1995**, *29*, p. 1623.
- [8] Petrovic M., Barcelo D., Determination of anionic and nonionic surfactants, their degradation products, and endocrine-disrupting compounds in sewage sludge by liquid chromatography/mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **2000**, *72*, p. 4560.
- [9] Kuch H.M., Ballschmiter K., Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCl)-MS in the picogram per liter range, *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, *35*, p. 3201.
- [10] Sohoni P., Lefevre P.A., Ashby J., Sumpter J.P., Possible androgenic/anti-androgenic activity of the insecticide fenitrothion, *J. Appl. Toxicol.*, **2001**, *21*, p. 173.
- [11] Sole M., Porte C., Barcelo D., Vitellogenin induction and other biochemical responses in carp, *Cyprinus carpio*, after experimental injection with 17 alpha-ethynylestradiol, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2000**, *38*, p. 494.
- [12] Wooge C.H., Nilsson G.M., Heierson A., McDonnell D.P., Katzenellenbogen B.S., Structural requirements for high affinity ligand binding by estrogen receptors: a comparative analysis of truncated and full length estrogen receptors expressed in bacteria, yeast, and mammalian cells, *Mol. Endocrinol.*, **1992**, *6*, p. 861.
- [13] Soto A.M., Sonnenschein C., Chung K.L., Fernandez M.F., Olea N., Serrano F.O., The e-screen assay as a tool to identify estrogens – an update on estrogenic environmental pollutants, *Environ. Health Perspect.*, **1995**, *103*, p. 113.
- [14] Soto A.M., Fernandez M.F., Luizzi M.F., Oles Karasko A.S., Sonnenschein C., Developing a marker of exposure to xenoestrogen mixtures in human serum, *Environ. Health Perspect.*, **1997**, *105* Suppl. 3, p. 647.
- [15] Pons M., Gagne D., Nicolas J.C., Mehtali M., A new cellular model of response to estrogens: a bioluminescent test to characterize (anti) estrogen molecules, *BioTechniques*, **1990**, *9*, p. 450.
- [16] Terouanne B., Tahiri B., Georget V., Belon C., Poujol N., Avances C., Orio F. Jr., Balaguer P., Sultan C., A stable prostatic bioluminescent cell line to investigate androgen and antiandrogen effects, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **2000**, *160*, p. 39.
- [17] Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthiessen P., Sumpter J.P., Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals, *Environ. Toxicol. Chem.*, **1996**, *15*, p. 194.
- [18] Ternes T., Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, *Wat. Res.*, **1998**, *32* (11), p. 3245.
- [19] Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T., Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in US streams 1999-2000: a national reconnaissance, *Environm. Sci. Technol.*, **2002**, *36* (6), p. 1202.
- [20] Drewes J.E., Heberer T., Reddersen K., Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse, *Wat. Sci. Technol.*, **2002**, *46* (3), p. 73.
- [21] Jobling S., Reynolds T., White R., Parker M.G., Sumpter J.P., A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic, *Environ. Health Perspect.*, **1995**, *103*, p. 582.
- [22] Andersen H.R., Andersson A.M., Arnold S.F. et al., Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals, *Environ. Health Perspect.*, **1999**, *107*, Suppl. 1, p. 89.
- [23] Vinggaard A.M., Breinholt V., Larsen J.C., Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation *in vitro*, *Food Additives And Contaminants*, **1999**, *16*, p. 533.
- [24] Desbrow C., Routledge E.J., Brighty G.C., Sumpter J.P., Waldock M., Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and *in vitro* biological screening, *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, *32*, p. 1549.
- [25] Johnson A.C., Belfroid A., Di Corcia A., Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent, *Sci. Total Environ.*, **2000**, *256*, p. 163.
- [26] Cargouët M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Tamisier-Karolak S., Levi Y., Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France), *Sci Total Environ.*, 25 mai **2004**, *324* (1-3), p. 55.
- [27] Belfroid A.C., Van der Horst A., Vethaak A.D., Schafer A.J., Rijs G.B.J., Wegener J., Cofino W.P., Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands, *Sci. Total Environ.*, **1999**, *225*, p. 101.
- [28] Weigel S., Kuhmann J., Hühnerfuss H., Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibrac acid, caffeine and DEET in the North sea, *Sc. Tot. Environm.*, **2002**, *295*, p. 131.
- [29] Heberer T., Reddersen K., Mechlini A., From municipal sewage to drinking water: fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas, *Wat. Sci. Technol.*, **2002**, *46* (3), p. 81.



Y. Levi

**Yves Levi**

est professeur à la Faculté de pharmacie, Université Paris-Sud\*



M. Cargouët

**Maëlle Cargouët**

a effectué son doctorat dans l'équipe EA 3542 de la Faculté de pharmacie de l'Université Paris Sud de 1999 à 2003.

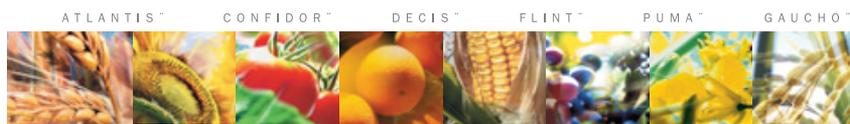
\* Université Paris-Sud 11, Faculté de Pharmacie, EA 3542 Santé Publique-Environnement, 5 rue Jean-Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex.  
Courriel : yves.levi@cep.u-psud.fr  
<http://www.u-psud.fr/labopse.nsf>

Bayer CropScience: a new world leader in crop solutions



Your partner for growth

[www.bayercropscience.com](http://www.bayercropscience.com)



Bayer CropScience