



**PROGRAMME  
NATIONAL  
DE RECHERCHE  
SUR LES  
PERTURBATEURS  
ENDOCRINIENS**



# Contamination de l'air ambiant par les perturbateurs endocriniens en Ile-de-France et caractérisation des effets toxiques associés

## "Endocrinair"





# Problématique scientifique



## Les perturbateurs endocriniens

- Composés présents dans les matériaux de construction et les produits de consommation
- Molécules semi-volatiles, substances prioritaires (réglementation CEE ou mondiale)
  - ⇒ exposition par inhalation, gaz > particules (intérieur et extérieur des locaux)

## Questions soulevées

- Contamination de l'air ambiant ? Sources ?
- Danger sanitaire ?
- Exposition de la population générale ?



# Objectifs généraux

## Caractériser la contamination de l'air ambiant

- en milieu urbain : intérieur ou extérieur
- en phase gazeuse et en phase particulaire
- par 7 familles de PE

## Evaluer ses effets perturbateurs *in vitro*

- sur 3 principaux axes endocriniens :  
œstrogénique, androgénique, thyroïdien

## ⇒ Intégration des approches chimique/ biologique

- **Caractérisation du danger: stratégie bio-analytique**
- **Données d'exposition de la population générale**
- **Démarche préalable à une ERS**



# Résultats attendus et aspects innovants



## Résultats

- Comportement de la contamination de l'air ambiant : milieux / saisons / phases
- Comparaison de 2 protocoles d'échantillonnage : "actif" / "passif"
- Exposition de la population générale : enfants / adultes
- Caractérisation du potentiel PE de l'air sur tests cellulaires "gène rapporteur luciférase"
- Identification des micropolluants responsables des effets observés

## Innovations

- 55 molécules : 9 phtalates, BPA, 8 PBDE, TBBPA, 2 alkylphénols, 19 PCB, 15 HAP
- Multi-analyse MS/MS  $\Rightarrow$  du pg au ng/m<sup>3</sup> en phase gazeuse ou particulaire
- Multi-bioessais : ER/ TR/ AR (GR...)
- Stratégie bio-analytique
- Partenariat pluridisciplinaire : 3 équipes de recherche, 2 organismes (CSTB, Airparif)



# Difficultés pressenties

## Réalisation des campagnes de terrain

- Conditions météorologiques inhabituelles
- Colmatage des filtres ⇒ réduction des volumes d'air échantillonnés
- Panne matérielle, vandalisme ⇒ retard et coût ↗

## Laboratoire

- Perte d'échantillon, contamination d'extrait ou du blanc analytique
- Absence de réponse biologique des extraits  
⇒ regroupement des extraits par phase "gaz" ou "particules"
- Toxicité cellulaire des extraits ⇒ dilution
- Faisabilité d'un test GR sur cellules épithéliales pulmonaires

## Possibilités d'interprétation des résultats

- Effets PE induits par d'autres xénobiotiques que ceux recherchés
- Effets mélanges : antagonistes, synergiques, additifs

# Calendrier prévisionnel

| Tâche  | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
|--|------|------|------|------|
| Développements méthodologiques<br>(chimie & biologie)<br><b>Validation : 1 x série sur 1 site urbain<br/>"extérieur" &amp; "intérieur"</b> |      |      |      |      |
| Campagne air extérieur<br><b>2 sites : référence/urbain x 2 séries (Eté/Hiver)</b>   |      |      |      |      |
| Campagne air extérieur<br><b>2 sites : urbain/périurbain x 2 séries (Eté/Hiver)</b>  |      |      |      |      |
| Campagne air intérieur<br><b>3 habitats x 2 séries (Eté/Hiver)</b>   |      |      |      |      |
| Exploitation, interprétation, synthèse   |      |      |      |      |



# Campagne préliminaire de validation des protocoles



## Conditions de prélèvements atmosphériques

- Volumes échantillonnés suffisants pour la chimie et la biologie  
⇒ débit : vitesse linéaire  $< 130$  cm/s (EPA, 1985)
- Colmatage des filtres en milieu urbain
- Optimisation de la rétention de la phase gazeuse

## Conditions analytiques

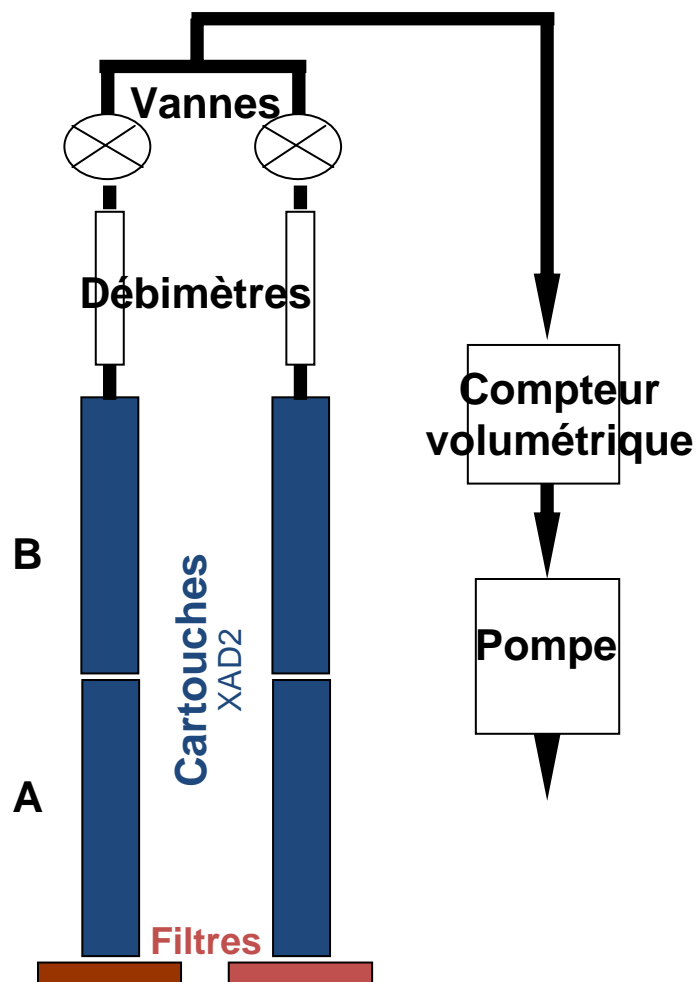
- "Blancs" résine XAD et filtre compatibles avec les concentrations atmosphériques
- Rendements d'extraction résine ⇒ analyse quantitative

## Conditions des bioessais

- Sensibilité compatible avec le niveau de contamination de chaque phase

# Résultats préliminaires: approche chimique

## Dispositif de prélèvement



6 prélèvements : 3 intérieurs, 3 extérieurs

## Echantillonnage sur 14 jours

- Colmatage limité : débit  $\searrow$  5 à 20%
- Vitesse moyenne 124 cm/s  
 $\Rightarrow$  400-500 m<sup>3</sup> (x2)
- Blanc XAD terrain  $\sim$  blanc XAD extraction
- Rétention phase gazeuse satisfaisante  
cartouche A : 65 à 100% du total A+B

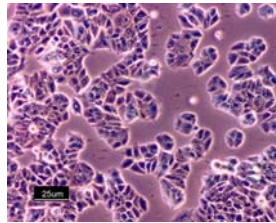
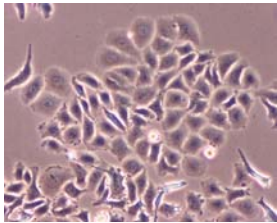
## Caractérisation des molécules

- Tous les composés sont détectés :  
niveaux cohérents avec ceux de la littérature  
(du pg au  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
- Phase gazeuse > phase particulaire
- Concentrations "intérieur"  $\geq$  "extérieur"

# Résultats préliminaires : approche biologique

## 2 tests cellulaires: MELN / PC-DR-LUC

- mesure de la perturbation de la transcription :
  - en absence de ligand naturel (agonistes)
  - en présence de ligand naturel (antagonistes / surinducteurs)
- mesure de la viabilité cellulaire en parallèle



PC-DR-LUC (TR $\alpha$ 1)  
(Jugan et al., 2007)  
triiodothyronine (T3)

MELN (ER $\alpha$ )  
(Balaguer et al., 1999)  
estradiol (E2)

## Caractérisation des effets

- blancs satisfaisants
- effet thyroïdien sur la phase gazeuse intérieure
- effets perturbateurs œstrogéniques:
  - intérieur > extérieur
  - phase gazeuse > phase particulaire
  - cartouche A > cartouche B

Plaques 96 puits  
18h d'incubation à 37°C



# Etat d'avancement et perspectives



## Actions réalisées

- Réunions des partenaires : juillet 2009, mars et avril 2010
- Validation du protocole bio-analytique général

## Actions à réaliser en 2010

- Equipement (mai) de deux sites pilotes extérieurs (Airparif) : urbain et rural  
prélèvement d'air (PNRPE)  
dépôts atmosphériques (Programme PIREN-Seine)
- 1<sup>ère</sup> campagne expérimentale "estivale" (Juin-Juillet)
- 2<sup>ème</sup> campagne expérimentale "hivernale" (Décembre- Janvier)