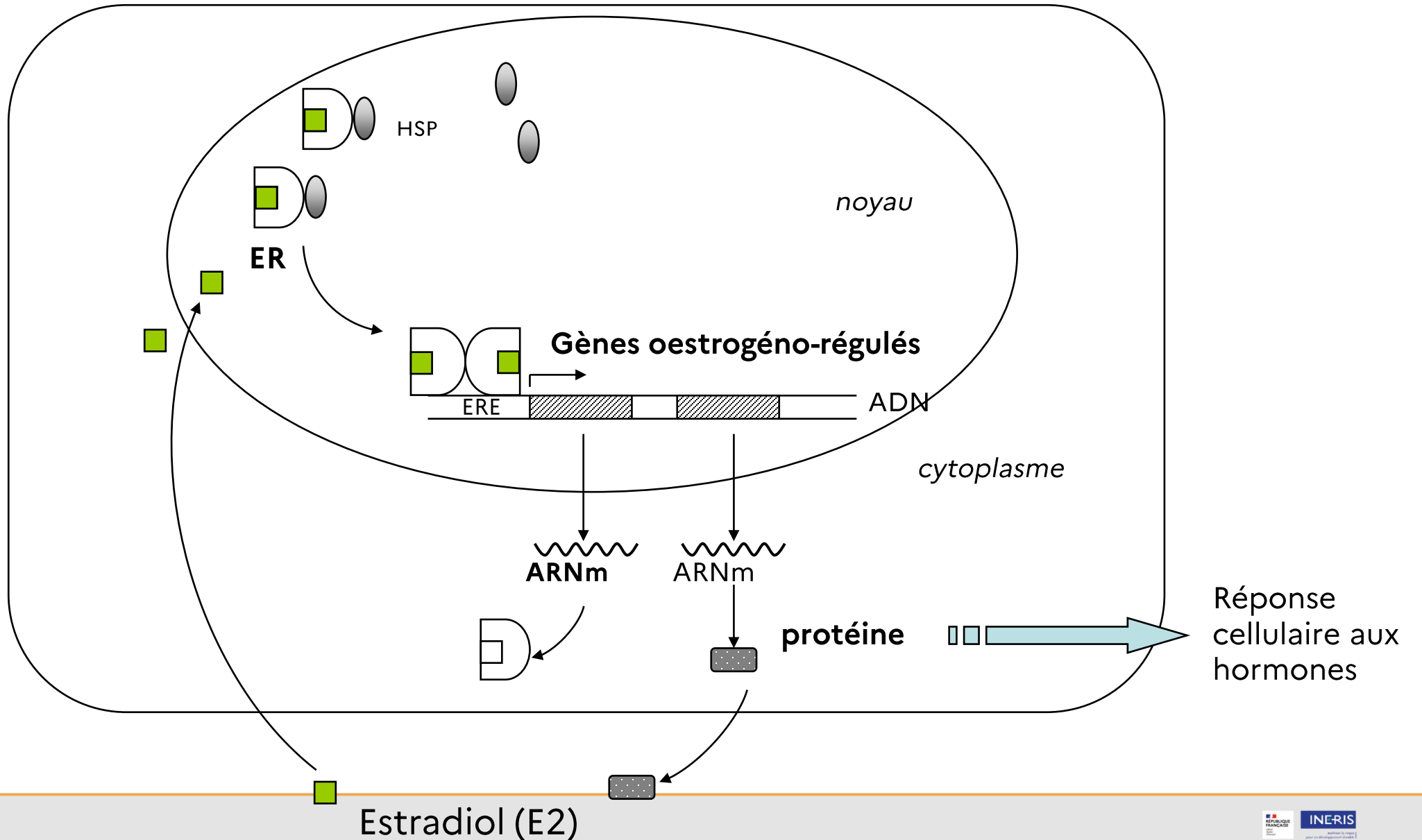


# Bioanalyse des œstrogènes : principe et performance en biosurveillance

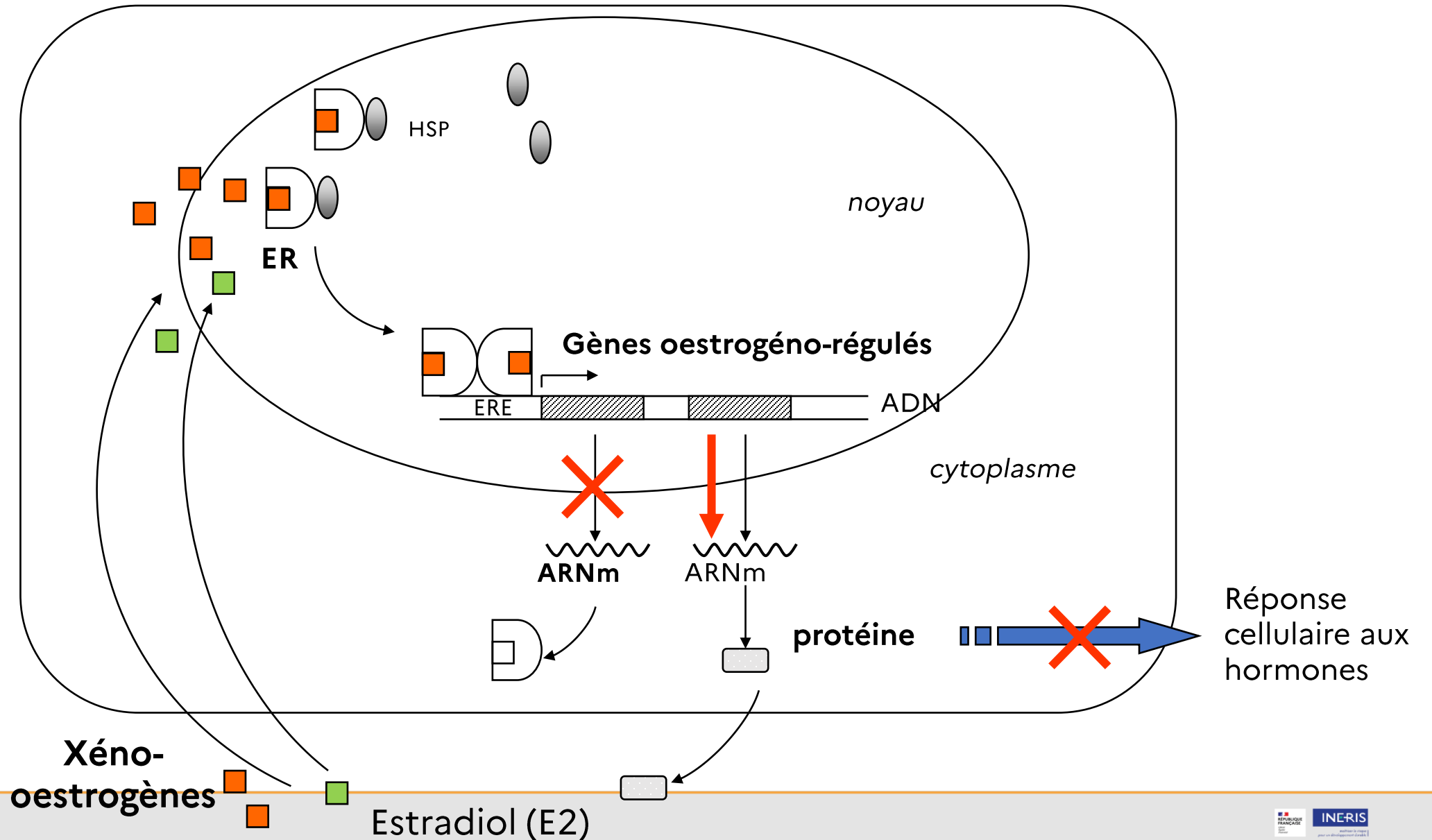
Selim Aït-Aïssa

Bioessais *in vitro* = outils cellulaires basés sur le **mode d'action** des œstrogènes

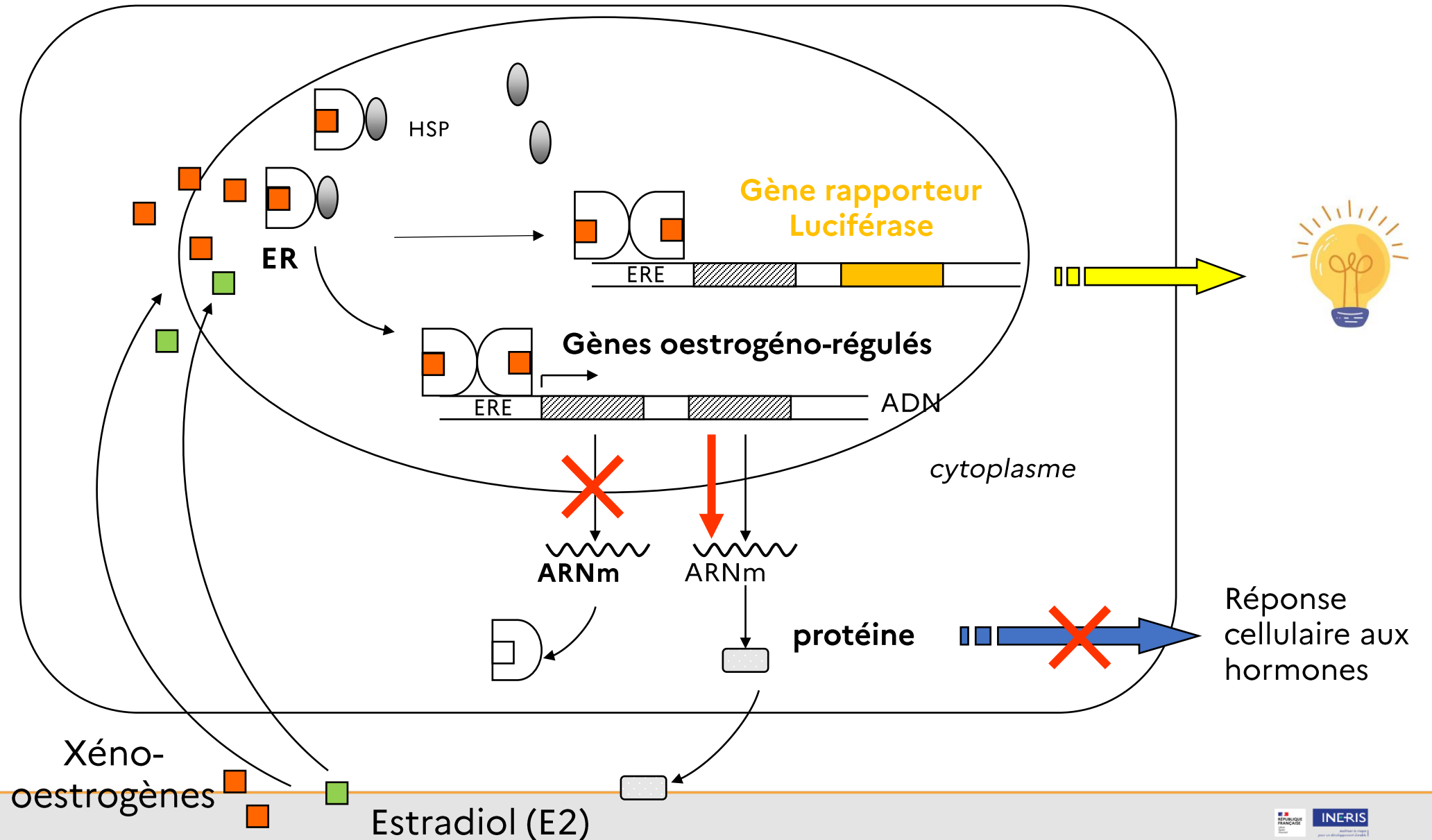
## Mode d'action via le récepteur des œstrogènes (ER)



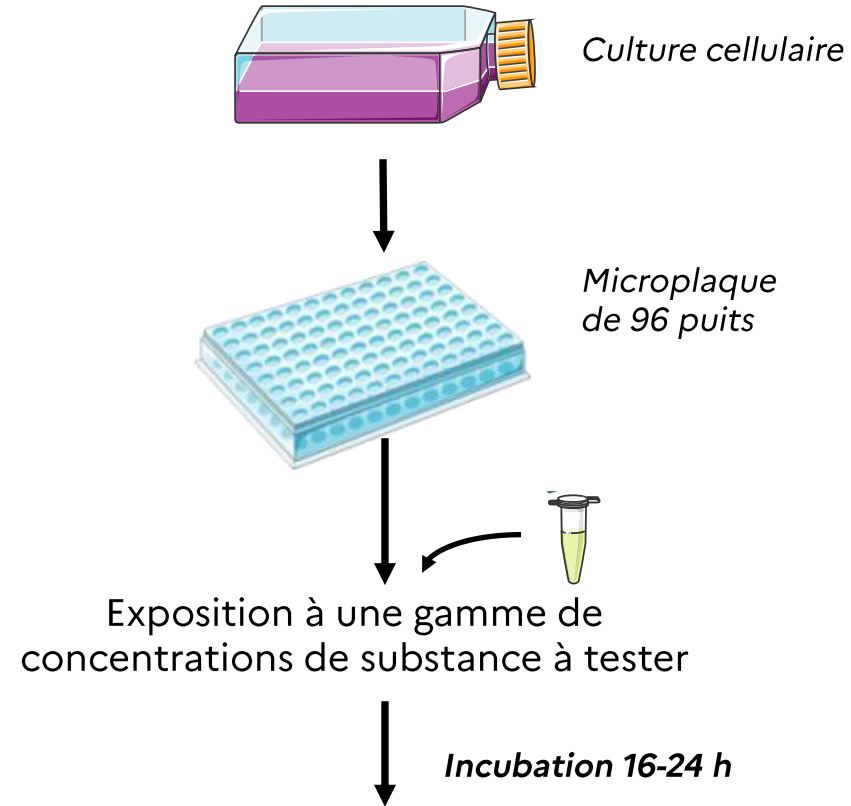
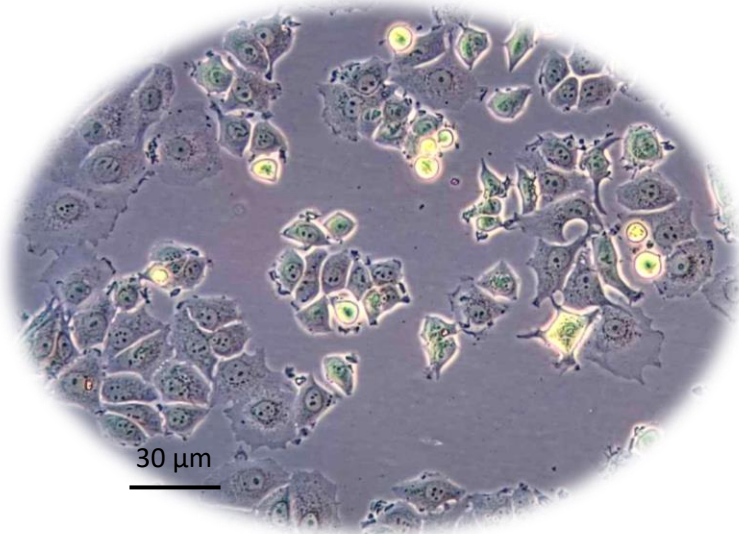
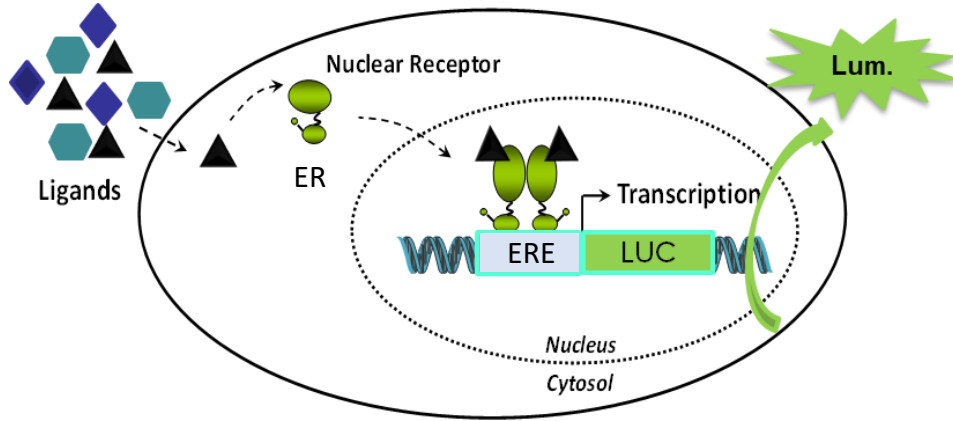
## Mode d'action via le récepteur des œstrogènes (ER)



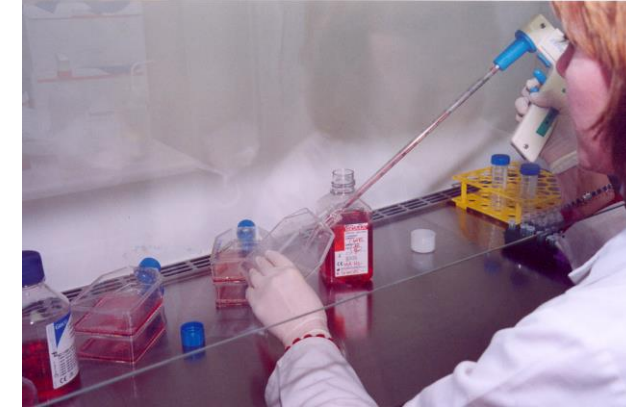
# Mode d'action via le récepteur des œstrogènes (ER)

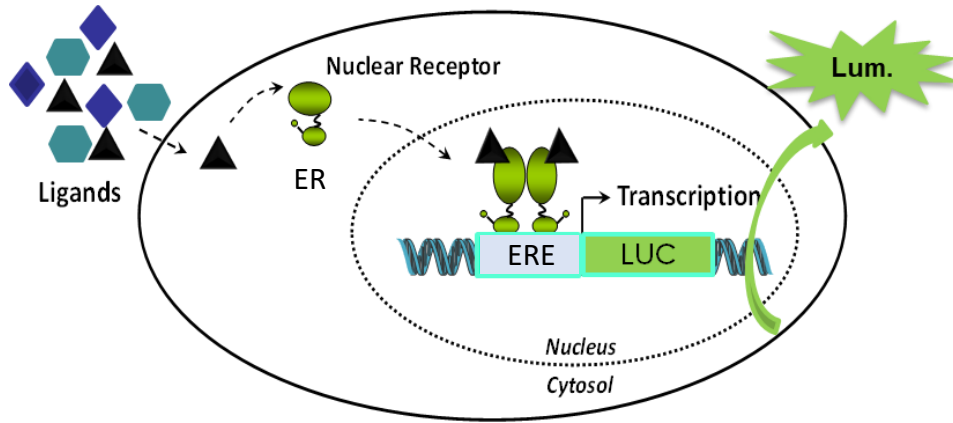


# Principe d'un bioessai cellulaire *in vitro*

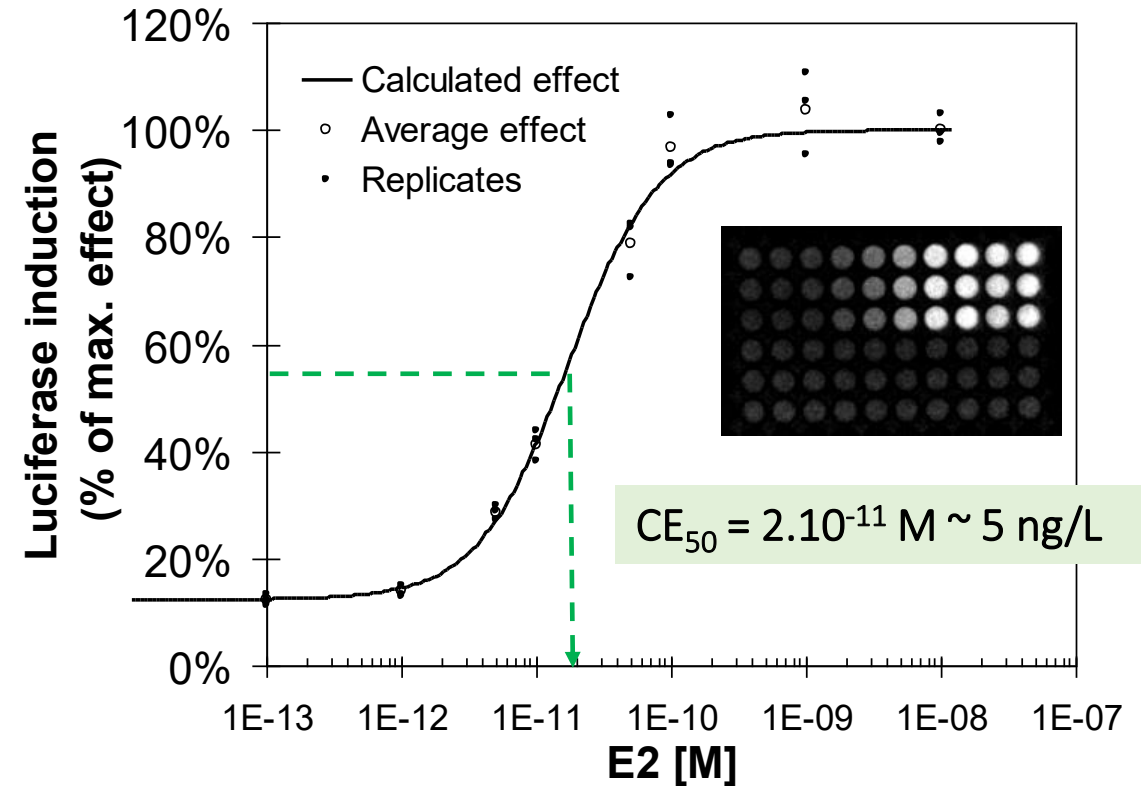


**Mesure de luminescence**



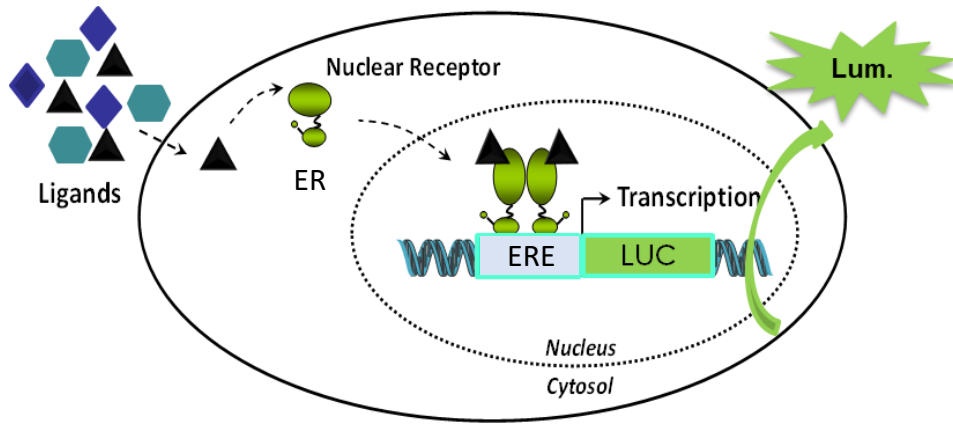


## Effet du 17 $\beta$ -oestradiol (E2) dans le bioessai MELN

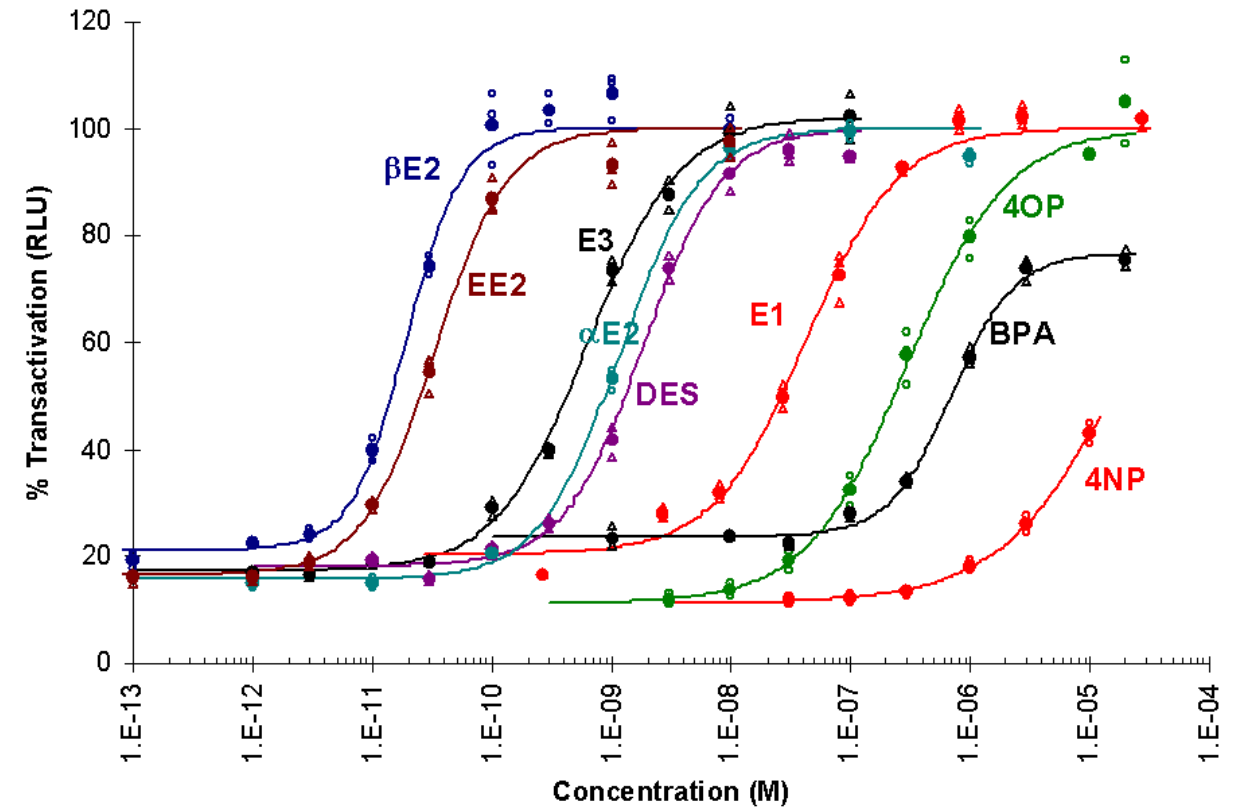


E2 = 17 $\beta$ -estradiol

CE50 = concentration induisant 50 % de l'effet maximum



## Effet de substances individuelles



Quantification du potentiel œstrogénique d'une substance :

$$EEF = CE50_{E2} / CE50_{\text{substance}}$$

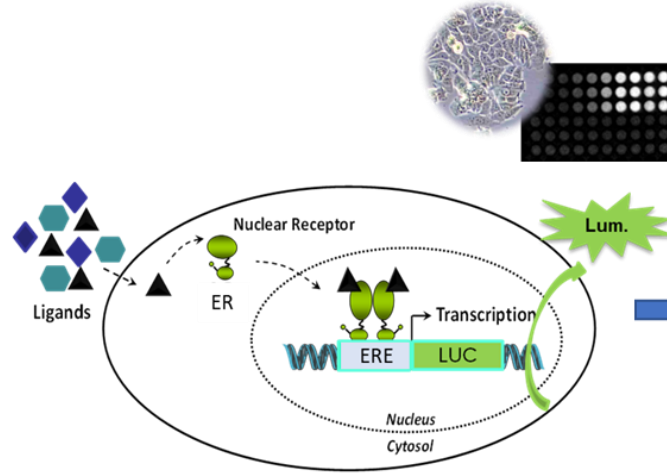
(EEF = Estradiol Equivalent factor)



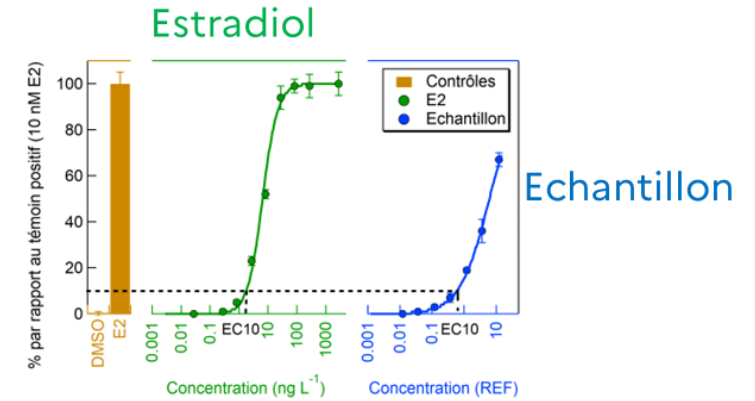
Prélèvement  
d'eau



Extrait  
organique



Bioessai  
cellulaire



Traitement des  
données

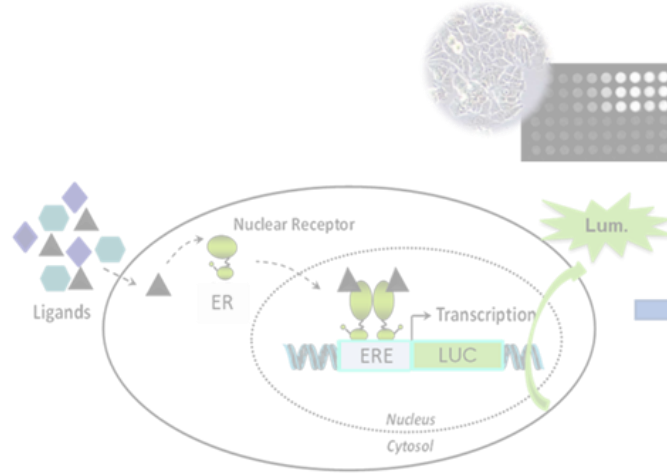
**Quantification** de l'activité oestrogénique  
dans l'échantillon en **équivalents-Estradiol**  
(= concentration en g E2-Eq/L)



Prélèvement d'eau



Extrait organique



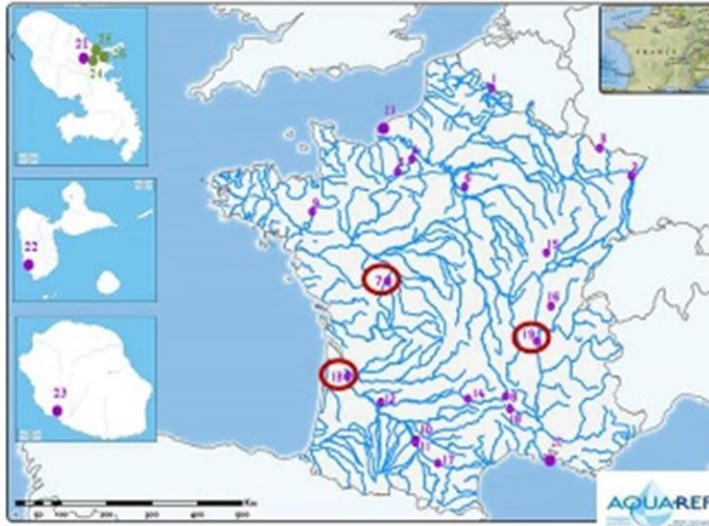
Bioessai cellulaire

Quantifi  
dans l'éc  
(=

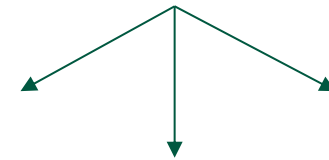
*Analyse de l'activité œstrogénique dans l'eau dans le cadre des programmes de surveillance chimique de la DCE à l'aide de bioessais in vitro*

**Recommandations techniques**

## 20 sites - Eaux de surface



Profils d'activités endocriniennes



Echantillonnage : ponctuel vs passif

Bioessais vs chimie?

## Surveillance prospective : Apport des bioessais pour l'évaluation de la qualité chimique des milieux aquatiques

S. Aït-Aïssa, C. Chardon, F. Brion

Juin 2020

Rapport final

En partenariat avec



20 Sites – Eaux de surface



## Estradiol-Equivalents (EEQ)

ng E2-Eq/L

|               |       |
|---------------|-------|
| Gier          | 8.78  |
| Vilaine       | 3.20  |
| Rosselle      | 2.92  |
| Jalle         | 1.63  |
| Clain         | 1.28  |
| Souffel       | 1.25  |
| Lazaret       | 0.65  |
| Tréboul       | 0.60  |
| Iton          | 0.38  |
| Antifer       | 0.22  |
| Risle         | 0.04  |
| Boralde (ref) | <0.06 |
| Tolzac        | <0.06 |
| Etang du Gol  | <0.05 |
| Escaut        | <0.04 |
| Hers mort     | <0.04 |
| Grand Galion  | <0.01 |
| Pérou-pères   | <0.01 |
| Allier (ref)  | <0.01 |
| Luech (ref)   | <0.01 |

## Quotient de Risque (RQ)

$$RQ = EEQ / VS^*$$

\***Valeur seuil (VS) = 0,56**  
ng E2-Eq/L (Brion et al.  
2019)

Käse et al 2018 : **0,4** ng/L  
Escher et al 2018: **0,37** ng/L  
Jarosova et al 2014: **0,3** ng/L  
VanderOost et al 2017: **0,5** ng/L

|      |
|------|
| 15.7 |
| 5.7  |
| 5.2  |
| 2.9  |
| 2.3  |
| 2.2  |
| 1.2  |
| 1.1  |
| 0.7  |
| 0.4  |
| 0.1  |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |
| 0    |

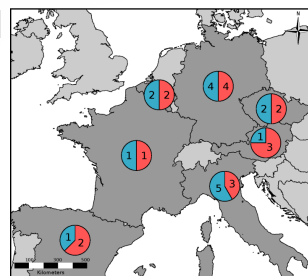
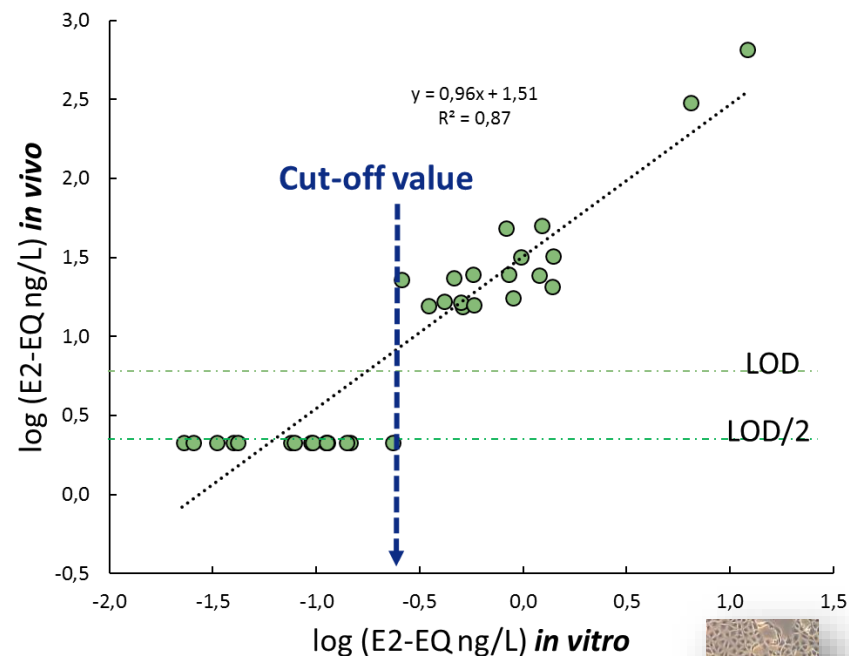
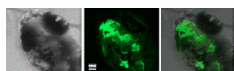
■ RQ>1  
■ RQ<1

En 2026, une valeur seuil de **0,093 ng E2-EQ/L** a été proposée au niveau européen par le WG-EBM piloté par le JRC (Gomez et al. 2026 + Guide Européen à paraître)

# RQ *in vitro* : comparaison avec l'activité estrogénique *in vivo* (test EASZY OECD-TG250)

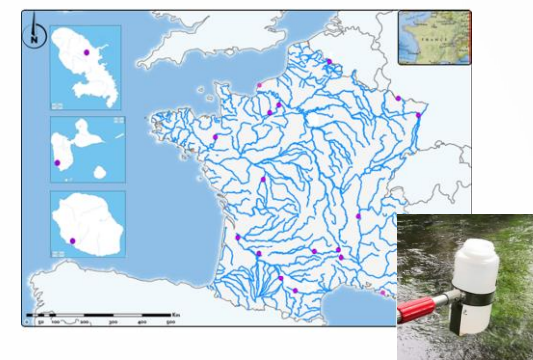
EU Science-Policy Interface project: « Steroid estrogen monitoring using effect-based and chemical analyses »

33 European surface and waste waters



Pertinence du risque associé à la mesure *in vitro* au regard d'un effet *in vivo* chez le poisson

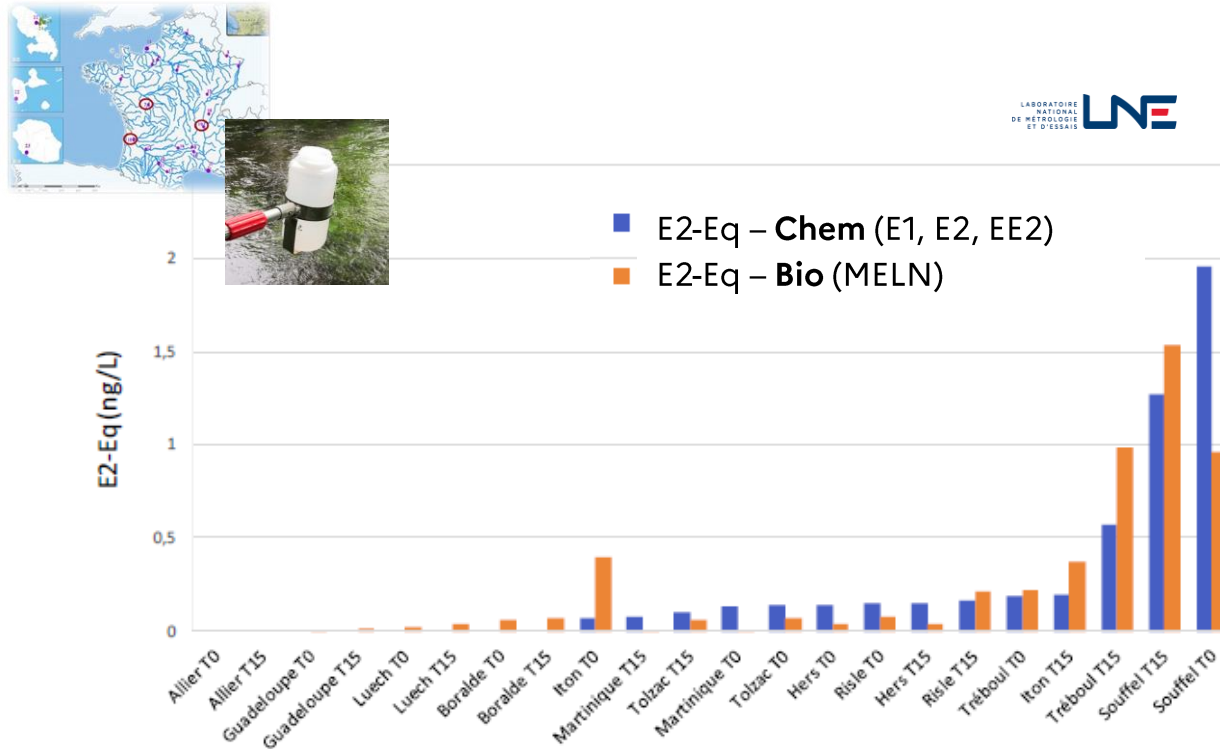
## Réseau de Surveillance prospective Eaux de surface



| Sites       | <i>In vivo</i><br>(EASZY) | <i>In vitro</i><br>(RQ MELN) |
|-------------|---------------------------|------------------------------|
| Gier        | Active                    | 15.7                         |
| Vilaine     | Active                    | 5.7                          |
| Souffel     | Active                    | 2.2                          |
| Jalle       | Non active                | 2.9                          |
| Iton        | Non active                | 0.7                          |
| Antifer     | Non active                | 0.4                          |
| Risle       | Non active                | 0.1                          |
| Pérou-pères | Non active                | 0.0                          |
| Gr. Gallion | Non active                | 0.0                          |

# Activité oestrogénique *in vitro* vs. analyses des hormones E1, E2, EE2

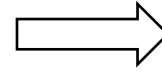
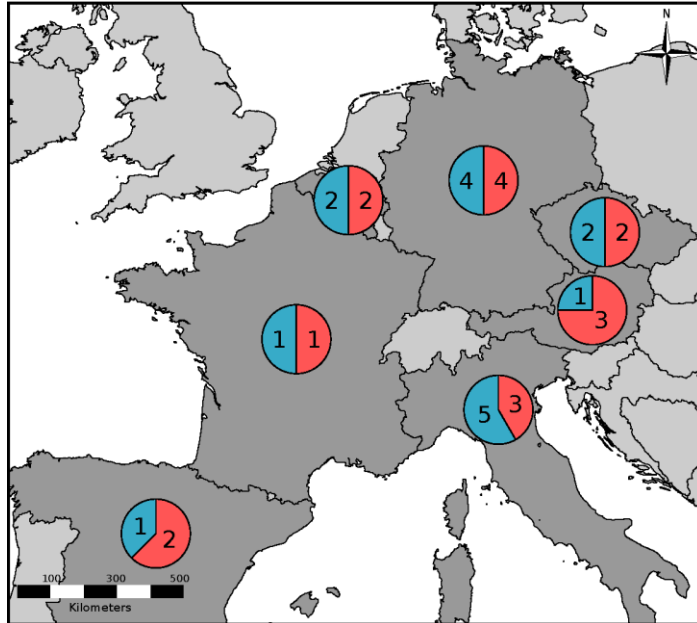
E2-Eq dérivés des analyses chimiques :  $E2-Eq_{Chem} = \sum (EEF \times \text{concentration mesurée})$



|                   | RQ-Chim | RQ-Bio |
|-------------------|---------|--------|
| Pérou-Pères T0    | 0       | 0,0    |
| Pérou-Pères T15   | 0       | 0,0    |
| Grand Gallion T0  | 0       | 0,0    |
| Grand Gallion T15 | 0       | 0,0    |
| Souffel T0        | 3,0     | 1,7    |
| Souffel T15       | 2,1     | 2,7    |
| Iton T0           | 0       | 0,7    |
| Iton T15          | 0,4     | 0,7    |
| Risle T0          | 0,3     | 0,1    |
| Risle T15         | 0,3     | 0,4    |
| Allier T0         | 0       | 0      |
| Allier T15        | 0       | 0      |
| Hers T0           | 0       | 0,1    |
| Hers T15          | 0       | 0,1    |
| Boralde T0        | 0       | 0,1    |
| Boralde T15       | 0       | 0,1    |
| Tréboul T0        | 0       | 0,4    |
| Tréboul T15       | 0,9     | 1,8    |
| Luech T0          | 0       | 0,0    |
| Luech T15         | 0       | 0,1    |
| Tolzac T0         | 0       | 0,1    |
| Tolzac T15        | 0       | 0,1    |

Estrone (E1) = principal contributeur  
En accord avec études européennes (Neale et al 2015, Kase et al 2018)

Quotients de risques (RQ) :  
Classification similaire des sites par la chimie et par le bioessai *in vitro*



18 eaux de surface (ESU)

17 eaux usées (EU)

Extraction (C18, clean-up)

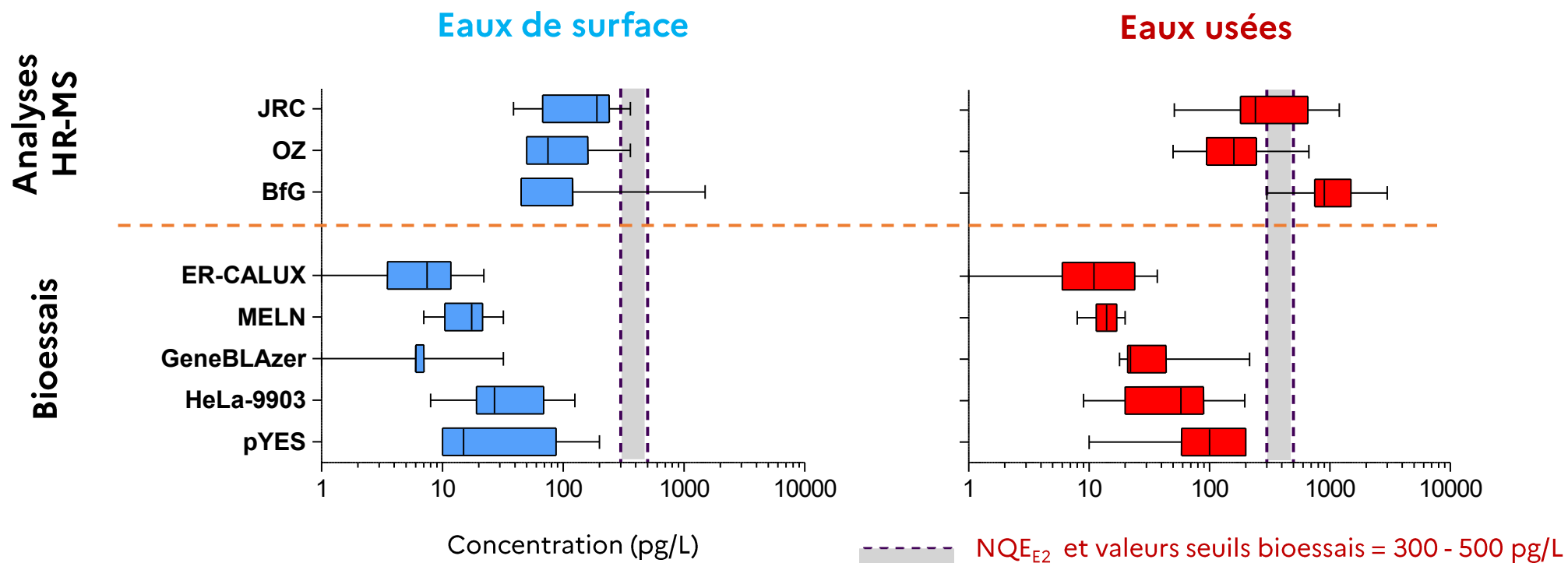
5 bioessais in vitro  
**E2-EQ**

- **ER-Calux** (BDS, NL)
- **pYES** (BfG, GR)
- **MELN** (INERIS, FR)
- **Hela 9903** (RECETOX, CZ)
- **ER-GeneBlazer** (UFZ, GR)

3 méthodes LC-MS/MS  
**E2, EE2, E1** (LOQ<EQS)

- JRC, IT
- Swiss Centre for Applied Ecotoxicology, CH
- BfG, GR

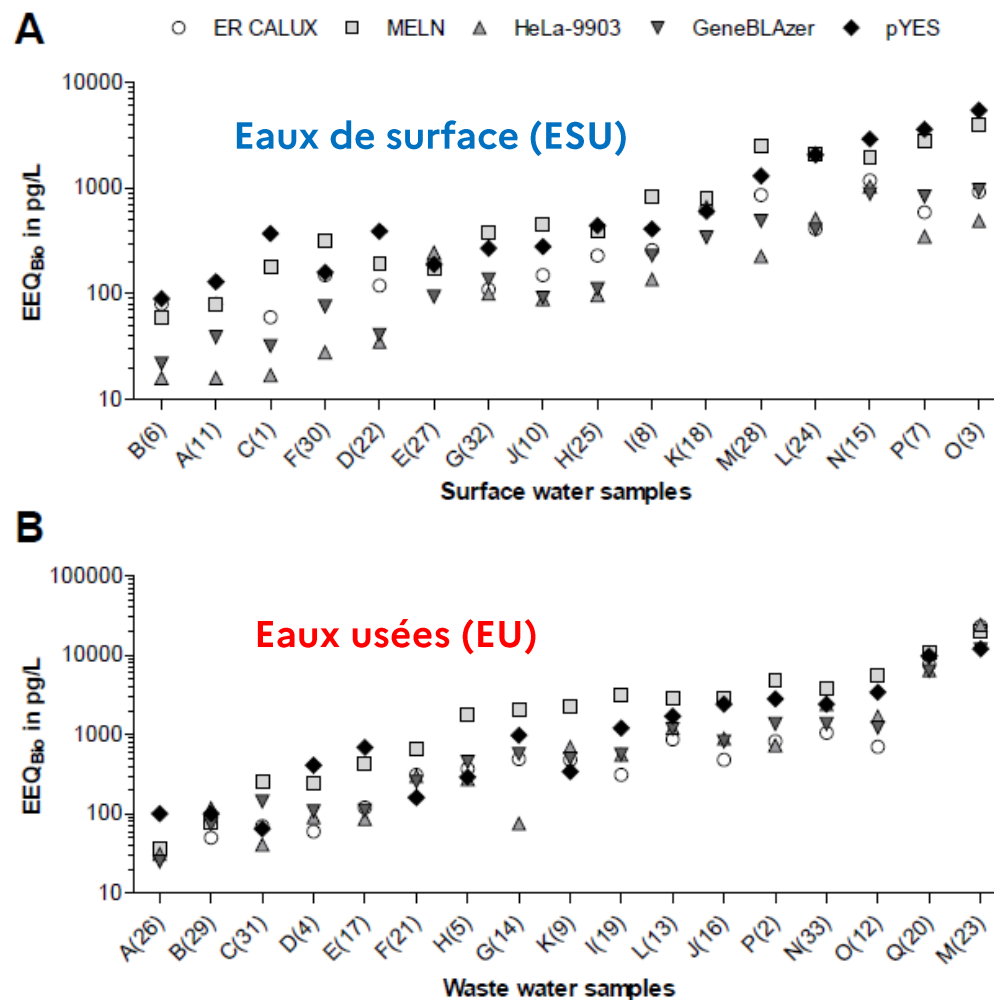
Publications : Könneman et al, TrAC, 2018 ; Käse et al. TrAC, 2018



- Performance analytique des bioessais : **LQ ~7-30 pg E2-Eq/L (eaux de surface)**
- LQ plus fortes pour les analyses chimiques (effet matrice dans les eaux usées)

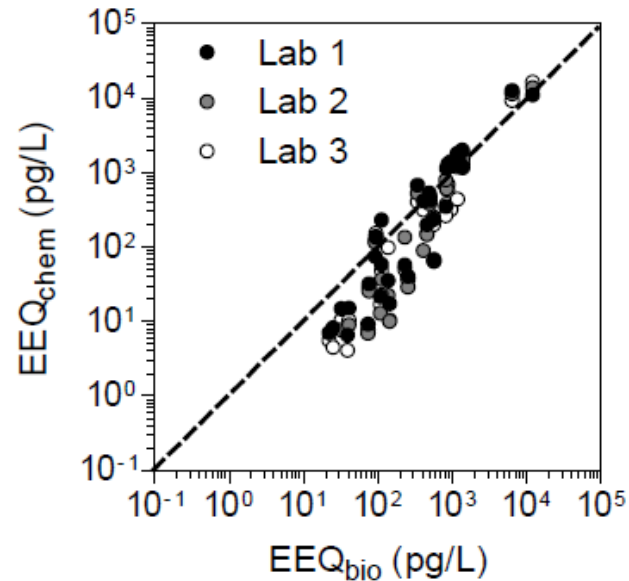
# Action européenne Science Policy Interface

## Comparaison 5 bioessais in vitro

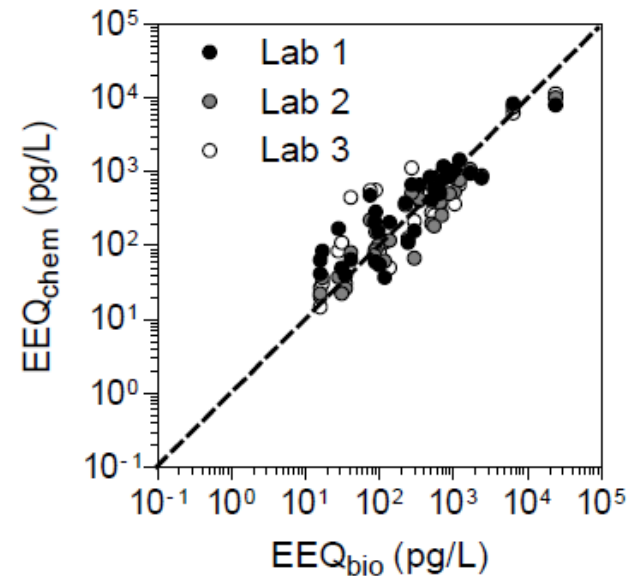


- Activité estrogénique détectée dans tous les échantillons, par les 5 bioessais
- Large amplitude de concentrations: 10-10000 pg/L
- Forte corrélation des bioessais entre eux

**ER-GeneBlazer**



**HeLa-9903**



- Activité estrogénique détectée dans tous les échantillons, par les 5 bioessais
- Large amplitude de concentrations: 10-10000 pg/L
- Forte corrélation des bioessais entre eux
- Forte corrélation entre E2-EQ chimie et E2-EQ biologiques, quelque soit le bioessai (2 exemples)
- E1, E2 et EE2 expliquent >90% de l'activité des rejets
- Contribution mineure des autres xéno-estrogènes

- Adaptés et performants pour l'analyse environnementale
  - | Quantitatifs : concentration en g E2-Eq / L
  - | Sensibles : LOQ ~10-60 pg/L
  - | Spécifiques : intègrent l'ensemble des substances ayant le même mode d'action des œstrogènes (y compris E1, E2, EE2)
- Techniquement matures
  - | ISO 19040-1, 19040-2, 19040-3, OCDE TG455
  - | Guide technique AQUAREF 2026
- Eprouvés en surveillance chimique
  - | Nombreuses études de comparaison inter-laboratoires (incl. Bioessais vs chimie)
  - | WG/EBM : EIL en cours menés par le JRC (Gomez et al., 2026 - 14 bioessais évalués)
  - | WG/EBM : Préparation d'un guide européen (fin 2026)
- Nouvelle valeur seuil basse (0,09 ng E2-EQ/L) : un défi (bio-)analytique et environnemental?

# Merci de votre attention

