

# Les effets de la pilule sur les poissons

**A l'heure actuelle, les substances à effets endocriniens sont entre autres la cause des phénomènes de féminisation observés chez les poissons mâles. Dans le cadre du programme européen COMPREHEND, l'EAWAG s'est chargé d'étudier les effets d'effluents de stations d'épuration sur des truites arc-en-ciel mâles et a effectivement pu constater une féminisation chez les poissons. Parallèlement à ces essais, des échantillons d'effluents de station d'épuration ont été analysés. Une analyse chimique d'ultra-traces a permis de mettre en évidence dans quelques échantillons une augmentation des concentrations d'hormones. De plus, une certaine activité estrogène a été détectée à l'aide de tests effectués sur des cellules de levures transgéniques.**

Les produits chimiques dans l'environnement qui provoquent des perturbations du système hormonal chez l'homme et l'animal sont également appelés «hormones environnementales». Elles figurent en tête de ligne des substances estrogéniques dont l'action est similaire à celle des hormones sexuelles féminines. En font partie:

- l'estrogène naturel qu'est l'estradiol ainsi que ses produits de transformation l'estrone et l'estriol,
- les estrogènes de synthèse tels que l'éthinylestradiol contenu dans la pilule contraceptive et enfin
- certaines substances chimiques produites en grande quantité que l'on retrouve par exemple dans les détergents industriels (les alkylphénolpolyéthoxylates et leurs produits de dégradation comme le nonylphénol) et dans les plastiques (bisphénol A).

Bon nombre de ces substances à effets endocriniens sont présentes dans le milieu aquatique. Ainsi, par exemple, les estrogènes naturels ou synthétiques atteignent les stations d'épuration par les excréments humains. Une part y est retenue, le reste est déversé dans les eaux de surface.

## Effet des «hormones environnementales»

Chez les poissons, l'estradiol endogène induit la production de vitellogénine dans le foie. Cette protéine précurseur des vitellines atteint les ovocytes des ovaires par la circulation sanguine et seules les poissons

femelles adultes en possèdent de grandes quantités dans le sang. La communauté scientifique s'est donc alarmée quand des études britanniques ont fait état au milieu des années 90 de fortes concentrations en vitellogénine dans des poissons mâles. Les animaux étudiés provenaient de tronçons de cours d'eau situés en aval d'effluents de stations d'épuration et l'on attribua la synthèse de vitellogénine à la présence de substances estrogènes dans l'eau. Les études ont de plus révélé que les poissons mâles de cours d'eau pollués pouvaient présenter des gonades mixtes, c.-à-d. des testicules contenant aussi des ovules. Ce phénomène appelé féminisation ou intersexe a également été observé il y a peu de temps chez des corégones du lac de Thoun.

On ne peut qu'émettre des hypothèses sur les effets des substances estrogènes sur l'homme. A l'heure actuelle il n'est pas encore démontré que la diminution de la densité et de la qualité des spermatozoïdes et l'augmentation de la fréquence des cas de cancer des testicules postulées chez les hommes sont bien attribuables aux hormones environnementales.

## Plus de 500 perturbateurs endocriniens potentiels

C'est dans une situation d'urgence que des programmes d'évaluation au niveau international ont vu le jour ces dernières années pour tenter d'identifier parmi les quelque 80 000 produits chimiques en circulation

les substances pouvant présenter une activité endocrine. L'Union Européenne a ainsi dernièrement présenté une liste de 553 substances chimiques plus 9 hormones stéroïdes naturelles et synthétiques susceptibles de perturber le système hormonal de l'homme et des animaux sauvages [1]. D'autres projets de recherche nationaux et internationaux dans lesquels l'EAWAG est aussi impliqué étudient la distribution d'hormones environnementales dans les eaux de surface ainsi que leurs effets sur les organismes aquatiques. Parmi les projets nationaux citons le programme de recherche national «PNR50 – Perturbateurs endocriniens» lancé en été 2001 et le projet «Fischnetz – réseau suisse poissons en diminution», qui cherche entre autres à savoir si des substances à effets endocriniens sont responsables du déclin des populations de poissons observé dans les eaux suisses. Les résultats présentés dans cet article proviennent du projet européen COMPREHEND («COMmunity Programme of Research on Environmental Hormones and ENdocrine Disrupters») qui est arrivé à son terme fin 2001. Le but de COMPREHEND était d'étudier les substances à activité hormonale dans les effluents de stations d'épuration industrielles et communales et de mettre au point de nouvelles méthodes d'analyse des hormones environnementales.

## Une augmentation des taux de vitellogénine également dans les poissons suisses

Des truites arc-en-ciel mâles ont été maintenues pendant deux semaines dans les effluents de la station d'épuration (STEP) de Rontal dans le canton de Lucerne. Des poissons témoins ont séjourné pendant la même durée dans la rivière Ron en amont de l'effluent de la station d'épuration ou au laboratoire. Les poissons n'ont pas été nourris pendant la durée de l'expérience. La figure 1 montre que les taux de vitellogénine

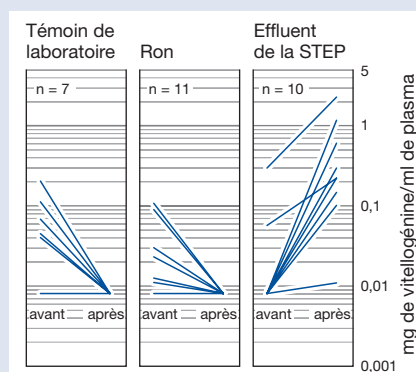


Fig. 1: Induction de vitellogénine dans des truites arc-en-ciel mâles (n = nombre de poissons mâles).

diminuent chez tous les poissons témoins au cours de l'essai. Ce phénomène s'explique probablement par le fait que les poissons avaient été élevés avant les essais avec des aliments pour poissons qui contenaient vraisemblablement des substances à effets endocriniens. A l'inverse, les poissons exposés aux effluents de STEP présentaient après l'expérience des taux de vitellogénine plus élevés qu'avant, ce qui semble indiquer la présence de composés à effets endocriniens dans l'eau.

## Une combinaison de méthodes analytiques chimiques et biologiques

En même temps, des échantillons ont été prélevés dans les effluents de la STEP de Rontal pour en étudier la teneur en substances à effets endocriniens potentiels. Pour ce genre d'études l'EAWAG fait appel à une combinaison de deux types de méthodes. L'analyse chimique ultra-traces permet de déterminer la concentration d'hormones environnementales connues dans l'échantillon d'eau. En parallèle, des tests biologiques, qui permettent de mesurer l'activité estrogène de l'échantillon étudié, utilisent un système de cellules de levures auxquelles ont été intégrés un récepteur à estrogènes humain ainsi qu'un gène rapporteur. Si l'échantillon d'eau contient des hormones environnementales, elles se fixent au récepteur, activent le gène rapporteur et peuvent ensuite être mises en évidence par une réaction biochimique

colorée. L'intensité de la coloration traduit l'activité estrogène de l'échantillon qui est exprimée en équivalents estradiol. Une méthode à elle seule ne suffit pas; ce n'est que la caractérisation de l'échantillon d'eau, c.-à-d. la détermination de sa teneur en hormones environnementales et de son activité estrogène, qui donne un aperçu général et qui présente les avantages suivants:

- forte probabilité d'exclusion des résultats négatifs faux,
- identification des échantillons dont les différents composants à effets endocriniens présentent des concentrations inférieures à la concentration effective minimale, mais dont la combinaison présente une activité estrogène mesurable [2],
- possibilité d'identifier des hormones environnementales inconnues dans les échantillons présentant des effets endocriniens.

## Concentrations attendues et mesurées dans les effluents de la STEP

Si l'on suppose que le rapport entre hommes et femmes est de 1:1, que 60% des femmes ont leurs menstruations et que 0,8% d'entre elles sont enceintes, on peut considérer qu'un individu moyen (y compris les hommes) rejette 3,1 µg d'estradiol par jour [3]. Appliqué sur le nombre d'habitants dans le bassin d'alimentation de la STEP de Rontal et partant du fait que 50% des hormones stéroïdes sont éliminées dans la station, on peut s'attendre à une concentration en estradiol des effluents de 1,6 ng/l. Avec l'analyse chimique ultra-traces on mesure effectivement une concentration moyenne de 2,0 ng d'estradiol par litre d'effluent (Fig. 2A). On a calculé de la même manière une concentration en éthinylestadiol (théorique) des effluents de 3 ng/l qui correspond également à la concentration moyenne de 1,5 ng/l (Fig. 2A). Par contre, l'échantillon B surprend par ses concentrations élevées en estradiol et en estrone.

## Activité hormonale attendue et mesurée dans les effluents de la STEP

A partir des concentrations dans les échantillons d'eau déterminées par analyse chimique et des activités estrogènes relatives des différentes hormones environnementales, il est possible de calculer une activité estrogène théorique pour chaque échantillon (exprimée en équivalents d'estradiol attendu) (Fig. 2B). L'estradiol et l'éthinylestadiol servent de référence et présentent une activité hormonale égale à 1, les produits de dégradation que sont l'estrone et l'estriol présentent des activités de 0,474 et

de 0,003 respectivement. Par contre, les activités estrogènes des produits chimiques industriels sont en général plus faibles de plusieurs ordres de grandeur. Mais étant donné qu'ils peuvent être présents dans l'environnement à des concentrations beaucoup plus élevées que les estrogènes naturels et synthétiques, il faut se garder de les négliger. Par exemple, le nonylphénol présente une activité hormonale 40 000 fois plus faible que l'estradiol, mais sa concentration de 1,6 µg/l dans les effluents de la STEP de Rontal est 1000 fois supérieure à celle de l'hormone, ce qui correspond à une activité estrogène de 0,04 ng/l.

Dans notre étude, les activités estrogènes réelles mesurées par les tests de levure s'accordent généralement avec les valeurs calculées. Seul dans l'échantillon B l'activité estrogène calculée est inférieure à la valeur réelle dont elle ne constitue que 60% (Fig. 2B). Ceci indique clairement la présence d'autres substances à effets endocriniens dont certaines sont peut-être inconnues et qu'il convient d'identifier par analyse chimique.

Il est donc indispensable de poursuivre les recherches dans ce domaine afin d'obtenir un aperçu global de la situation. A l'avenir, il faudra d'autre part analyser les effets des hormones environnementales sur les populations, les biocénoses et les écosystèmes aquatiques.



Marc J.-F. Suter, chimiste, dirige la division «Chimie analytique de l'environnement aquatique» de l'EAWAG. Domaines de recherche actuels: Analyse chimique axée sur l'identification des effets sur l'environnement, développement de méthodes analytiques de traces, effets biologiques de composés anthropogènes sur les organismes aquatiques.

### Coauteurs:

H.-R. Aerni, B. Kobler, B. Rutishauser, F. Wettstein, R. Fischer, A. Hungerbühler, M.D. Marazuela, R. Schöneberger, R.I.L. Eggen, W. Giger et A. Peter

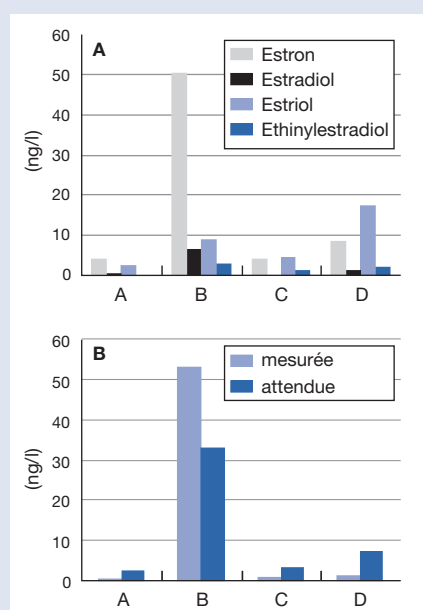


Fig. 2: Étude de 4 échantillons d'eau prélevés dans les effluents de la STEP de Rontal. (A) Concentrations d'estrogènes naturels et synthétiques. (B) Activités estrogènes attendues et mesurées exprimées en équivalents estradiol.

- [1] KOM (2001) 262; voir sous: [http://europa.eu.int/eur-lex/fr/com/cnc/2001/com2001\\_0262fr01.pdf](http://europa.eu.int/eur-lex/fr/com/cnc/2001/com2001_0262fr01.pdf)
- [2] Silva E., Rajapakse N., Kortenkamp A. (2002): Something from «nothing» – eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environmental Science & Technology* 36, 1751–1756.
- [3] Johnson A.C., Williams R.J., Ulahannan T. (1999): Comment on «Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening» *Environmental Science & Technology* 33, 369–370.