



**HAL**  
open science

# La pollution environnementale par les hormones oestrogéniques

Marine Deroo

► **To cite this version:**

Marine Deroo. La pollution environnementale par les hormones oestrogéniques. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02015768

**HAL Id: dumas-02015768**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02015768>**

Submitted on 12 Feb 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

UFR DE PHARMACIE

THESE  
POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> février 2018  
Par DEROO Marine

# LA POLLUTION ENVIRONNEMENTALE PAR LES HORMONES ŒSTROGENIQUES

## JURY

**Présidente :** M<sup>me</sup> Déborah CLOSSET-KOPP, Maître de Conférences à l'UFR de Pharmacie

**Membres :** M. Emmanuel Baudrin, Professeur à l'UFR de Pharmacie

M. Thierry Cockenpot, Docteur en Pharmacie

M<sup>me</sup> Clotilde Fasquelle, Docteur en Pharmacie

Thèse n°

## REMERCIEMENTS

Mes plus sincères remerciements iront, dans un premier temps à mon jury,

Monsieur Emmanuel Baudrin, mon directeur de thèse, je vous remercie d'avoir accepté de travailler avec moi sur ce sujet, de m'avoir donné de précieux conseils et d'avoir fait preuve de patience pendant plus de 2 ans !

Madame Déborah Closset-Kopp, merci d'avoir accepté d'être membre du jury et de juger cette thèse.

Monsieur Thierry Cockenpot, mon premier maître de stage de 3<sup>ème</sup>, merci d'avoir su me donner l'envie de continuer dans cette voie et d'avoir répondu présent pour cette soutenance aujourd'hui.

Madame Clotilde Fasquelle, toujours au rendez-vous en toute circonstance ! Merci d'être présente et de me faire l'honneur d'être dans ce jury.

Merci à Pierre de toujours être présent, de me booster, d'avoir participé et de m'avoir aider à finaliser à cette thèse ! Vite vite les vacances !! ☺

Merci à mes parents, Matt & Phili d'être là aujourd'hui et de toujours me pousser à aller au bout de mes rêves !

A mes coupiiiiines adorées, à nos moments mémorables, à la fac, à Amiens et à Lille, au « Golbo » de Paris, à Hardelot, à la fontaine de Marbella, à SUUUUper Champeaux, à Amsterdam, et maintenant à Montdibouzz, bientôt à la Réunion et bien d'autres encore !!

A Alice, qui me fait toujours autant rire & rêver avec ses histoires insolites, d'Espace, de clef de camion, de péruvien, de salon de jardin et j'en passe ! Merci encore pour ce sublime orange sanguine :P

A Cam, toujours motivée, jamais sans sa moumoute, qui a appris à connaître mes titres « lounges » et qui nous emmène à l'autre bout du monde pour des heures de rando !

A Cloclo, 6 000 kms qui nous ont rendu inséparable ! Une titine mal accrochée derrière une autre, un alternateur, une tente, une couverture de survie, un capot qui fume, des cartes papiers, des rires et des pleurs, des joints de culasse... Unique & inoubliable ! Merci de me faire rêver quand tu chantes Céline, d'être née quelques jours avant moi (histoire de partager les instants bougies & cadeaux) !

A Dodo, toujours partante, parée de sa palette & de ses pinceaux ! Merci de toujours répondre présente quelque soit la circonstance, pour boire un thé (sans oublier les muffins), organiser des soirées (déguisées bien sur), cuisiner (merci pour les idées recette), faire du shopping, danser (avec K. Maro évidemment), voyager (J-4) ou même peindre et déménager !

A 16, toutes ces heures de révision & de craquage, de la BU à la fenêtre de nos chambres en passant par le miroir ! A tous ces matins allant à la fac au pas de course, à tous ces moments de soutien dès qu'on entendait les mots « ch'tis » ou « marseillais », pour les attractions à sensation trop fortes ainsi que pour la jardinière de légumes (jamais sans ton saucisson bien sur) !

A Claire, spéciale dédié à tes goûts musicaux ; à Mimi pour sa bonne humeur ; à tous ces instants brunchs, goodies, paillettes, moumoutes et cocooning entourés de ses coupiines !

# LA POLLUTION ENVIRONNEMENTALE PAR LES HORMONES

## OESTROGENIQUES

### TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	1
TABLE DES MATIERES .....	3
LISTE DES ABREVIATIONS .....	6
LISTE DES TABLEAUX .....	8
LISTE DES FIGURES.....	9
INTRODUCTION .....	10
I. Contamination de l'environnement par les hormones œstrogéniques.....	12
1. Présentation des hormones œstrogéniques.....	12
1.1. Les hormones d'origine naturelle.....	12
1.1.1. L'estrone (E1).....	12
1.1.2. L'estradiol (E2).....	12
1.1.3. L'estriol (E3).....	13
1.1.4. Production et excrétion urinaire des hormones naturelles .....	14
1.2. Les hormones d'origine synthétique .....	14
1.2.1. L'éthinylestradiol (EE2).....	14
1.2.1.1. Action .....	14
1.2.1.2. Métabolisme.....	15
1.2.1.3. Elimination.....	16
1.2.2. Le 17β-estradiol.....	16
1.2.2.1. Action.....	16
1.2.2.2. Métabolisme.....	16
1.2.2.3. Elimination.....	16
1.2.3. Leurs effets indésirables .....	16
1.2.4. Leur consommation .....	17
2. Méthodes d'analyse des hormones œstrogéniques dans l'eau .....	19

2.1	Extraction.....	19
2.1.1.	Extraction Liquide-Liquide .....	19
2.1.2.	Extraction Phase Solide.....	20
2.2.	Méthodes de détection .....	20
2.2.1.	Méthodes instrumentales .....	20
2.2.2.	Méthode non instrumentale : ELISA.....	21
3.	L'eau, son cycle et son arrivée en station d'épuration.....	22
4.	Aspects quantitatifs de la pollution par les hormones œstrogéniques.....	25
4.1.	Dans les influents.....	25
4.2.	Dans les effluents.....	28
4.3.	Dans les eaux de surface ou eaux superficielles (ES).....	29
4.4.	Dans les sédiments .....	32
5.	Conclusions.....	33
II.	Les Conséquences de cette pollution.....	34
1.	Les effets sur l'environnement.....	34
1.1.	L'écosystème aquatique.....	34
1.1.1.	Impact sur la fécondation.....	34
1.1.2.	Induction de production de vitellogénine et impact sur la féminisation .....	36
1.1.3.	Impact sur la reproduction.....	38
1.1.4.	Impact sur d'autres paramètres (taille, mortalité, éclosion des embryons).....	39
1.2.	L'écosystème terrestre .....	39
2.	Les effets sur l'Homme.....	40
2.1.	L'eau destinée à la consommation humaine (EDCH) .....	40
2.1.1.	Retrouve-t-on des hormones œstrogéniques dans l'EDCH ?.....	41
2.1.2.	Exposition et risque .....	44
2.2.	Les hormones œstrogéniques sont-elles considérées comme perturbateurs endocriniens (PE) ?	45
2.2.1.	Les perturbateurs endocriniens : qui sont-ils ? .....	45
2.2.2.	Comment interfèrent-ils avec le système endocrinien ? .....	46
2.2.3.	Comment est-on exposé ?.....	47
2.2.4.	Quelles peuvent être les conséquences ? .....	47
2.2.5.	Comment sont-ils réglementés ? .....	48
2.3.	L'effet cocktail .....	49
2.4.	Conclusions.....	50

III.	La lutte contre cette exposition .....	51
1.	Premier levier : évaluation du risque .....	51
1.1.	Evaluation du risque environnemental (ERE) par l'Agence Européenne du médicament (EMA) 51	
1.2.	Indicateurs de toxicité .....	55
1.3.	Liste des substances prioritaires et liste de vigilance établie par l'Union Européenne (UE) dans le domaine de l'eau.....	58
2.	Contrôle du rejet .....	59
2.1.	Médicaments non utilisés (MNU) et Cyclamed .....	59
2.2.	Communication et informations .....	60
2.2.1.	Plan National Santé Environnement (PNSE).....	61
2.2.2.	Plan National sur les Résidus Médicamenteux dans les eaux 2011-2015 (PNRM) ...	62
3.	Traitement de la pollution.....	63
3.1.	Performances des stations d'épuration (STEP) .....	63
3.2.	Épuration par un processus physique .....	64
3.2.1.	L'adsorption.....	64
3.2.2.	Filtration sur membrane.....	65
3.2.2.1.	L'osmose inverse .....	65
3.2.2.2.	La nanofiltration .....	66
3.2.2.3.	L'ultrafiltration .....	68
3.3.	Processus biologique : les boues activées .....	69
3.4.	Processus d'oxydation .....	72
3.4.1.	La photocatalyse.....	72
3.4.2.	La chloration .....	74
3.4.3.	L'ozonation .....	74
	CONCLUSION .....	77
	BIBLIOGRAPHIE.....	78

## LISTE DES ABREVIATIONS

AFSSA = Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AMM = Autorisation de Mise sur le Marché

AMPERES = Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles

ANC = Assainissement Non Collectif

ANSES = Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ANSM = Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé

ARS = Agence Régionale de Santé

AVC = Accident Vasculaire Cérébral

BPA = Bisphénol A

CAP = Charbon Actif en Poudre

COC = Contraceptifs Oraux Combinés

CPG = Chromatographie Phase Gazeuse

CPL = Chromatographie Phase Liquide

CPL/SM-SM = CPL couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem

CSP = Code de la Santé Publique

EE2 = Éthinylestradiol

E1 = oestrone

E2 = estradiol

E3 = œstriol

EC<sub>50</sub> = Median Effective Concentration

EDCH = Eau Destinée à la Consommation Humaine

ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

EMA = Agence Européenne du Médicament

ERE = Evaluation du Risque Environnemental

ES = Eaux de Surface

HTA = Hypertension Artérielle

LC<sub>50</sub> = Median Lethal Concentration

LHN = Laboratoire d'Hydrologie de Nancy  
LOD = Limit of detection  
LOQ = Limit of quantification  
LD = Limite de Détection  
LOEC = Lowest Observed Effect Concentration  
LQ = Limite de Quantification  
MNU = Médicaments Non Utilisés  
NOEC = No Observed Effect Concentration  
OMS = Organisation Mondiale de la Santé  
PBT = Persistence Bioaccumulation Toxicité  
PE = Perturbateur Endocrinien  
PEC = Predicted Environmental Concentration  
PES = Polyéther sulfone  
PNEC = Predicted No Effect Concentration  
PNRM = Plan National sur les Résidus Médicamenteux  
PNSE = Plan National Santé Environnement  
PPCPs = Pharmaceuticals and Personal Care Products  
POA = Procédés d'Oxydation Avancée  
SIAAP = Syndicat Interdépartemental pour l'Assainissement de l'Agglomération Parisienne  
STEP = STation d'EPuration  
THM= Trihalométhanes  
THS = Traitement Hormonal Substitutif  
TVP = Thrombose Veineuse Profonde  
UE = Union Européenne  
VTG = Vitellogénine

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition des COC selon la génération et le dosage en éthinylestrodiol

Tableau 2 : Concentration moyenne des hormones œstrogéniques dans les influents en ng/L

Tableau 3 : Concentration médiane des hormones œstrogéniques dans les effluents en ng/L

Tableau 4 : Concentration médiane des hormones œstrogéniques dans les eaux de surface en ng/L

Tableau 5 : Taux de fécondation d'un groupe de poissons *Pimephales promelas* exposés à des solutions de EE2 de différentes concentrations

Tableau 6 : Concentration en VTG selon la durée d'exposition aux effluents selon Jobling et coll.

Tableau 7 : Concentration de BPA, E1, E2 et EE2 dans de l'eau de consommation humaine d'après une étude de Kuch et Ballschmiter

Tableau 8 : Consommation d'eau en mL/kg selon l'âge d'une personne

Tableau 9 : Résumé des valeurs de NOEC, LOEC et EC50 trouvées par Thorpe et coll. pour l'exposition de truites arc-en-ciel aux œstrogènes.

Tableau 10 : Extrait de l'annexe du journal officiel de l'UE du 24 mars 2015 « liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance à l'échelle de l'Union, établie conformément à l'article 8 ter de la directive 2008/105/CE »

Tableau 11 : Rendements d'élimination des hormones œstrogéniques par ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse tirés du projet AMPERES

Tableau 12 : Rendements d'élimination des œstrogènes par les boues activées

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de l'estrone (E1)

Figure 2 : Structure de l'estradiol (E2)

Figure 3 : Métabolisme de l'estrone et de l'estradiol

Figure 4 : Structure de l'estriol (E3)

Figure 5 : Structure de l'éthinylestradiol (EE2)

Figure 6 : Métabolisme de EE2

Figure 7 : Le cycle domestique de l'eau

Figure 8 : Les étapes de l'eau dans une station d'épuration

Figure 9 : Comparaison au niveau mondial de la répartition des différents types d'œstrogènes au niveau des stations d'épuration (influent et effluent)

Figure 10 : Comparaison au niveau mondial de la répartition des différents types d'œstrogènes dans les eaux de surface

Figure 11 : Schéma récapitulatif des voies d'introduction des médicaments à usage humain et vétérinaire dans l'eau destinée à la consommation humaine d'après l'AFSSA

Figure 12 : Le système endocrinien

Figure 13 : Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens

Figure 14 : Schéma de la procédure d'évaluation du risque environnemental de l'EMA pour les substances pharmaceutiques à usage humain

Figure 15 : Principe de fonctionnement de Cyclamed

Figure 16 : Procédé d'osmose inverse à travers une membrane semi-perméable

Figure 17 : Procédé de nanofiltration

Figure 18 : Schéma représentant le processus d'épuration utilisant des boues activées

## INTRODUCTION

Depuis le début des années 80, la mise en évidence des médicaments dans l'environnement, considérés comme micropolluants, s'intensifie. Ce terme « micropolluant » désigne une substance polluante présente à des concentrations faibles et qui provoque une altération des qualités d'un milieu donné. Ils se retrouvent généralement dans l'environnement, et en particulier dans les eaux (eaux de surface, sédiments...). La plupart du temps, ils sont présents à des concentrations infimes mais leur rejet continu dans l'environnement leur donne un caractère persistant.

Certains micropolluants, que ce soient les matières plastiques, les pesticides ou les métaux lourds (mercure, plomb...), sont reconnus comme tels depuis de nombreuses années. Les médicaments, quant à eux, font partie des contaminants dits « émergents », un nombre croissant d'études mettant en évidence leur présence dans l'environnement. A l'heure actuelle, de nombreuses études ont décelé la présence de molécules à usage thérapeutique et diagnostic dans les eaux. C'est notamment pour cette raison que les pouvoirs publics, la communauté scientifique et le grand public s'interrogent de plus en plus sur les risques sanitaires liés à ces substances.

Les rejets médicamenteux concernent toutes les molécules pharmaceutiques, comme par exemple, les antibiotiques, les antalgiques, les  $\beta$ -bloquants... ainsi que les hormones œstrogéniques telles que l'estrone, l'estradiol, l'estriol et l'éthinylestradiol. Ces dernières présentent un potentiel risque vis-à-vis de l'environnement et de l'Homme. Elles polluent à faible dose mais de façon chronique, nous allons donc particulièrement nous y intéresser dans cette thèse. Plus récemment, des chercheurs ont essayé de comprendre et d'analyser l'effet cocktail de toutes ces substances réunies. Ainsi, nous allons recenser les données disponibles actuellement et tenter d'évaluer ce risque.

Pour cela, dans une première partie, nous rappellerons quelles sont les principales molécules naturelles et synthétiques de cette famille ainsi que leurs propriétés. Cette partie visera également à donner des éléments de quantification de ces micropolluants dans les différents types d'eaux dans l'environnement. Cela permettra de faire le point sur les méthodes d'analyses qui ont permis de connaître l'émergence de cette contamination, mais aussi d'en percevoir leurs limites actuelles.

Dans une deuxième partie, nous examinerons les conséquences sur les écosystèmes aquatiques et terrestres, ainsi que sur la santé de l'être humain. Nous évoquerons alors l'implication des effets perturbateur endocrinien, dont nous pouvons rapprocher les effets sur l'environnement des hormones œstrogéniques.

Enfin, dans la troisième partie, la prise de conscience actuelle sera soulignée. Cela nous permettra d'apprécier les moyens mis en œuvre pour pallier à ce risque environnemental de plus en plus menaçant. C'est pourquoi nous tenterons de trouver des solutions, à la fois pour limiter et contrôler le rejet dans l'environnement, en particulier à travers les différents processus utilisés pour traiter les eaux usées.

## I. Contamination de l'environnement par les hormones œstrogéniques

### 1. Présentation des hormones œstrogéniques

#### 1.1. Les hormones d'origine naturelle

##### 1.1.1. L'estrone (E1)

L'estrone (figure 1) est l'une des trois hormones œstrogéniques naturelles sécrétée par l'ovaire à une concentration de l'ordre de 3 à 20 µg/ personne/jour (1). Elle est également issue de la biodégradation de l'estradiol (E2) ainsi que de l'éthinylestradiol (EE2).

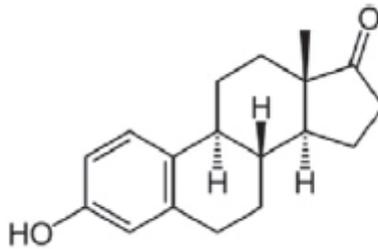


Figure 1 : Structure de l'estrone (E1)

##### 1.1.2. L'estradiol (E2)

L'estradiol ou 17β-œstradiol (figure 2) est essentiellement produit par les ovaires, de la puberté à la ménopause ; par les glandes surrénales et par le tissu adipeux après la ménopause. Durant la grossesse, il est produit par le placenta. Il aide à la croissance des organes sexuels féminins. Sa concentration excrétée varie entre 2 à 12 µg/personne/jour (1). L'homme sécrète également cette hormone mais en bien plus petite quantité.

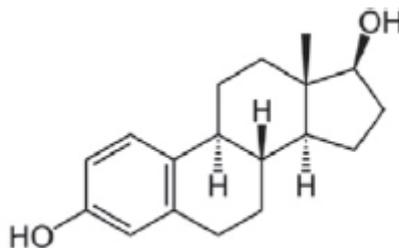
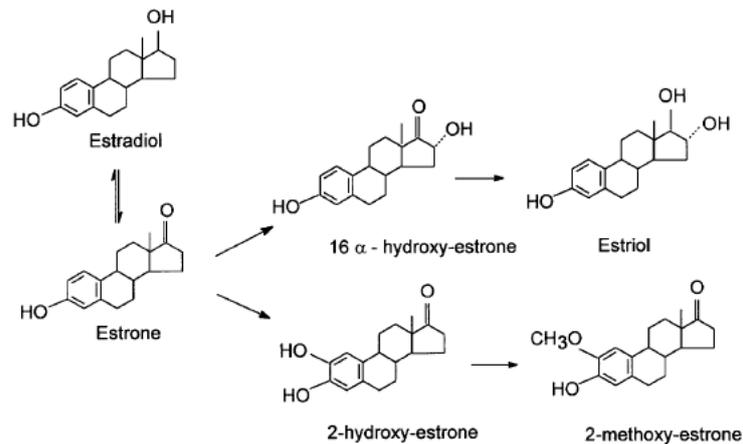


Figure 2 : Structure de l'estradiol (E2)

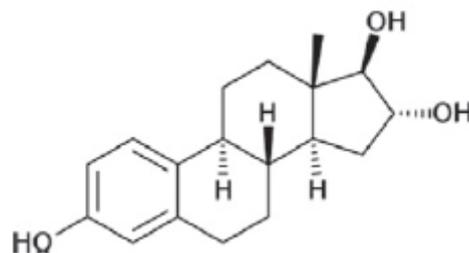
L'estrone E1 subit principalement trois voies de métabolisation. Une partie est transformée en estradiol E2. Les deux autres chemins de métabolisation emmènent vers deux métabolites hydroxylés (figure 3) : le 16 $\alpha$ -hydroxyestrone et le 2-hydroxyestrone, eux-mêmes respectivement transformés en estriol E3 et 2-méthoxyestrone (2).



**Figure 3** : Métabolisme de l'estrone et de l'estradiol

### 1.1.3. L'estriol (E3)

L'estriol (figure 4) est un métabolite de l'estradiol et de l'estrone. Il est nettement moins actif que ces deux autres œstrogènes. C'est un œstrogène d'action courte et d'élimination rapide. Il est surtout produit au cours de la grossesse par le placenta. En thérapeutique, il est majoritairement utilisé par voie vaginale au cours de la ménopause.



**Figure 4** : Structure de l'estriol (E3)

#### 1.1.4. Production et excrétion urinaire des hormones naturelles

Les femmes sont les principales productrices d'œstrogènes. Les hommes en produisent également mais à des quantités infimes par rapport aux femmes ; de l'ordre de 2 à 5 fois moins si l'on compare à une femme non ménopausée (3). En effet, selon l'âge et les conditions physiologiques, les femmes n'excrètent pas les mêmes quantités d'œstrogènes.

Avant la ménopause, l'estrone (E1) est la substance dont l'excrétion urinaire est la plus importante, suivie de près par l'estriol (E3) puis l'estradiol (E2) à des taux respectifs de 10,73 ; 8,12 et 4,71 µg/jour (d'après une étude portant sur 133 échantillons) (3).

Au cours de la grossesse, le placenta est la première source de production d'œstrogènes (4). Le taux de production augmente continuellement pour atteindre en fin de grossesse, 100 à 120 mg/jour (5). Les taux d'estriol retrouvés sont nettement supérieurs à l'estrone et l'estradiol, ils représentent 60 à 70% de la totalité des œstrogènes (5), parfois même plus selon Liu et coll.(3).

Après la ménopause, l'estrone est la molécule la plus excrétée au niveau urinaire (5 µg/jour) suivie de l'estradiol et l'estriol qui ont des quantités équivalentes (2,78 µg/jour) (nombre d'échantillons = 42) (3).

Concernant les animaux, il est important de souligner qu'il existe aussi une excrétion naturelle dans les urines et / ou fèces, en particulier pour les femelles (6), ce qui posera un problème pour les élevages intensifs, comme nous le verrons plus loin.

### 1.2. Les hormones d'origine synthétique

#### 1.2.1. L'éthinylestradiol (EE2)

##### 1.2.1.1. Action

Aussi appelé le 17 $\alpha$ -éthinylestradiol, EE2 est un puissant œstrogène synthétique oral (figure 5). Il a la même action que l'estradiol (E2), hormone naturelle. Après une administration orale, son activité œstrogénique est 50 fois supérieure à celle du 17 $\beta$ -œstradiol. Il a une action proliférative sur les tissus épithéliaux des organes génitaux féminins. Il stimule la production de glaire cervicale, réduit sa viscosité et augmente son

caractère filant. Il est ainsi utilisé comme contraceptif en médecine humaine à des dosages variant de 15 à 30 µg selon les pilules. Il est aussi utilisé dans les patchs contraceptifs Evra® ou les anneaux vaginaux contraceptif Nuvaring®.

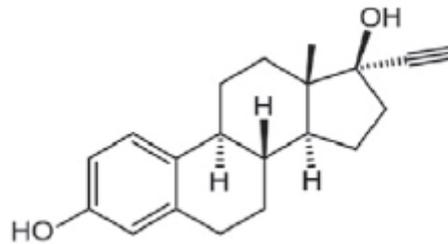


Figure 5 : Structure de l'éthinylestradiol (EE2)

#### 1.2.1.2. Métabolisme

L'éthinylestradiol subit principalement une hydroxylation aromatique (7) dans laquelle les principaux métabolites sont hydroxylés (2-hydroxy-EE2) et méthylés (2-méthoxy-EE2) (8). Ceux-ci sont présents sous forme de métabolites libres ainsi que de conjugués glucuronés (3-glucuronide-EE2) et sulfonés (3-sulfate-EE2) dans le sérum (9) (figure 6).

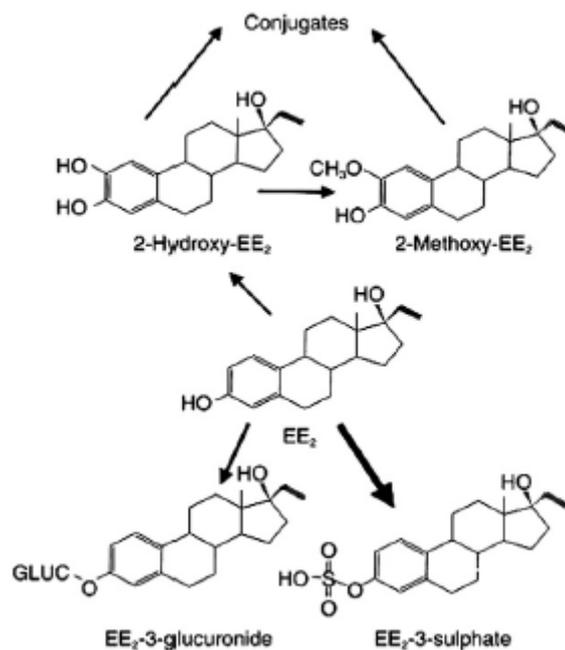


Figure 6 : Métabolisme de EE2

### 1.2.1.3. Elimination

L'éthinylestradiol n'est pas excrété de façon significative sous forme inchangée. Les métabolites sont éliminés à 40% dans les urines (origine rénale) et 60% dans les selles (origine biliaire). Il est également éliminé sous la forme d'estrone. Sa demi-vie est d'environ 24 heures (10).

### 1.2.2. Le 17 $\beta$ -estradiol

#### 1.2.2.1. Action

Le principe actif de synthèse est le 17 $\beta$ -estradiol. Ce dernier est chimiquement et biologiquement identique à l'estradiol endogène humain. Il remplace l'arrêt de production des œstrogènes chez les femmes ménopausées et soulage les symptômes liés à la ménopause. Il est aussi utilisé en prévention de l'ostéoporose seul ou en association. Il existe sous forme de comprimés (Oromone®...), de patchs (Estrapatch®...), ou de gel (Estreva®...).

#### 1.2.2.2. Métabolisme

Le métabolisme du 17 $\beta$ -œstradiol s'effectue surtout au niveau hépatique et subit les mêmes transformations que l'estradiol naturel, vu précédemment.

#### 1.2.2.3. Elimination

Le 17 $\beta$ -œstradiol et ses métabolites sont excrétés par voie urinaire (90 à 95%) et dans les selles (5 à 10%). Sa demi-vie est de 14 à 16 heures.

### 1.2.3. Leurs effets indésirables

L'éthinylestradiol est très fortement fixé dans les microsomes hépatiques (là où a lieu le métabolisme des médicaments), sa présence est donc prolongée dans le foie où il pourra

induire de nombreux effets métaboliques par l'activation d'importants systèmes enzymatiques. C'est pourquoi, dans ses effets indésirables, nous allons retrouver l'augmentation de la synthèse des protéines impliquées dans le métabolisme lipidique, l'augmentation du risque d'hypertension artérielle (HTA), l'augmentation de la synthèse de facteurs de coagulation qui accroît le risque de thrombose veineuse (TVP) ainsi qu'une diminution de la tolérance glucidique qui implique un hyperinsulinisme augmentant le risque de développer un diabète et une prise de poids.

Concernant l'estradiol, nous avons vu qu'il pouvait être utilisé pour pallier la carence œstrogénique liée à la ménopause. Par exemple, il ralentit ou supprime la perte osseuse liée à la carence œstrogénique. Cet effet persiste aussi longtemps que dure le traitement. L'objectif du traitement est donc de prévenir les fractures ostéoporotiques. Cependant, l'utilisation dans cette indication est controversée en raison des nombreux effets extra osseux : des études ont montré une augmentation du risque coronarien, d'Accident Vasculaire Cérébral (AVC), et thromboembolique lors du traitement par voie orale (11). Plus inquiétant encore, une augmentation du nombre de diagnostics de cancer du sein. Actuellement, ils sont donc peu prescrits et délivrés en pharmacie. Leur utilisation va être restreinte aux femmes dont le risque de fracture est associé à des troubles du climatère altérant la qualité de vie de la patiente (bouffées de chaleur, sécheresse vaginale...) après échec des autres traitements (12). La mesure de la pression artérielle et la palpation mammaire sont recommandés au minimum une fois par an ainsi qu'une mammographie de dépistage tous les deux ans (13).

#### 1.2.4. Leur consommation

La France est le 4<sup>ème</sup> consommateur mondial de médicaments derrière les Etats Unis, le Japon et l'Allemagne. Il existe à l'heure actuelle sur le marché français près de 3000 molécules à usage humain et 300 à usage vétérinaire. Les hormones sexuelles féminines sont surtout utilisées comme contraceptifs ou dans le traitement hormonal de la ménopause (THS = Traitement Hormonal Substitutif). Les anti-estrogènes sont utilisés en hormonothérapie et sont indiqués dans le traitement du cancer du sein. Ils agissent par inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs.

Les 30 premières molécules les plus vendues représentent 40,4% du marché. Selon l'analyse des ventes de médicaments en France en 2013 (14), le contraceptif hormonal (lévonorgestrel / éthinylestradiol) est la 28<sup>ème</sup> substance active la plus vendue en officine. Cette pilule est un contraceptif oral combiné (COC), c'est-à-dire qu'elle associe un progestatif (lévonorgestrel, désogestrel...) avec un œstrogène, l'éthinylestradiol, sur lequel nous nous attarderons particulièrement.

A la fin de l'année 2012, la médiatisation des risques liés aux contraceptifs oraux combinés (COC) et les recommandations qui en ont découlé ont modifié les habitudes contraceptives en France (15). En effet, selon le progestatif utilisé, il existe 4 générations de pilule. Les pilules, plus récentes, de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération ont un risque thromboembolique plus élevé que celles de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération. Après cette médiatisation, les ventes globales de contraceptifs n'ont que peu baissé entre 2012 et 2013 (-1%). Cependant, l'utilisation de COC toutes générations confondues a baissé au profit des stérilets et implants. L'emploi des pilules de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération a largement augmenté (+32%) au détriment des pilules de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération (-48%).

Si l'on regarde par rapport à la consommation œstrogénique, l'éthinylestradiol, on remarque qu'il y a eu des changements de comportement (tableau 1).

	COC 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> G - 20µg	COC 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> G – entre 30 et 40 µg	COC 3 <sup>ème</sup> et 4 <sup>ème</sup> G – entre 15 et 20 µg	COC 3 <sup>ème</sup> et 4 <sup>ème</sup> G – entre 30 et 40 µg
Avril 2014	30%	44%	11%	7%
Avril 2012	11%	35%	29%	16%

Tableau 1 : Répartition des COC selon la génération et le dosage en éthinylestradiol (15)

## 2. Méthodes d'analyse des hormones œstrogéniques dans l'eau

La complexité des échantillons récupérés (divers composés pouvant interférer) et la faible concentration en œstrogènes (nano- ou picogramme par litre) nécessitent l'utilisation de techniques d'analyse d'une grande sensibilité. Ces dernières permettront de quantifier les œstrogènes de façon la plus précise possible.

### 2.1 Extraction

Deux types d'extraction sont le plus souvent utilisées pour extraire les contaminants d'un milieu aqueux ; il s'agit de l'extraction liquide-liquide (ELL) et de l'extraction en phase solide (EPS).

#### 2.1.1. Extraction Liquide-Liquide

L'extraction liquide-liquide est la technique la plus ancienne et la plus simple. C'est un procédé physique permettant la séparation d'un ou plusieurs constituants en utilisant la différence de solubilité d'une espèce entre deux liquides non miscibles. Un solvant organique non miscible avec l'eau et ayant une forte affinité pour le polluant en question est utilisé. Après la séparation des deux liquides, seule la phase organique contenant les polluants est récupérée. Cependant, en raison de la consommation de grandes quantités de solvants ou d'eau ainsi que des multiples étapes de manipulation, cette technique n'est plus souvent utilisée dans le domaine de l'analyse environnementale.

Du fait des faibles concentrations en micropolluants dans l'environnement aquatique, il est apparu nécessaire de développer une technique permettant l'analyse de gros volumes d'eau ; c'est ainsi que l'extraction sur phase solide est apparue.

### 2.1.2. Extraction Phase Solide

Par conséquent, l'extraction phase solide est une méthode plus récente et couramment utilisée pour l'extraction des molécules pharmaceutiques dans les eaux en raison de son efficacité et de sa rapidité. Elle est basée sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases : liquide et solide. Dans ce cas, l'échantillon à analyser est filtré à travers la phase solide qui fixe les polluants. Ils sont ensuite concentrés grâce à un petit volume de solvant dont l'affinité avec la substance polluante est plus grande que celle entre les composés et la phase solide. Cette technique facilite l'analyse des composés présents à des concentrations infimes dans l'environnement, elle est aussi moins polluante que la précédente car elle nécessite moins de solvant (16). Les rendements de cette extraction sont très variables, ils dépendent du solvant et du type de phase solide utilisés, du pH et des propriétés physico-chimiques des molécules.

## 2.2. Méthodes de détection

### 2.2.1. Méthodes instrumentales

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est généralement employée pour l'analyse de molécules thermostables, volatiles ou semi-volatiles (17). L'analyte, entraîné par un gaz inerte (la phase mobile), circule dans une colonne (la phase stationnaire) pour être séparé des autres molécules présentes dans l'échantillon. Les différents composés se séparent et sortent de la colonne les uns après les autres en fonction de l'affinité de chacun avec la phase stationnaire. Les molécules peuvent être détectées par différentes techniques : détecteur à conductivité thermique, détecteur à ionisation de flamme...

La chromatographie phase gazeuse a deux avantages principaux : la vitesse d'analyse et la grande capacité de séparation (18). Dernièrement, le couplage de la spectrométrie de masse à la CPG (CPG/SM) a permis de gagner en sensibilité et spécificité du signal.

La chromatographie en phase liquide (CPL) est, quant à elle, une technique de séparation qui s'applique aux composés liquides. Elle se base sur le partage de l'analyte entre une phase liquide mobile et une phase stationnaire solide.

La spectrométrie de masse (SM) est, quant à elle, connue comme une technique d'analyse plus récente dont l'application est souvent utilisée en couplage aux systèmes de CPL et CPG pour les analyses environnementales. Son principe se base sur la mesure des rapports masse sur charge ( $m/z$ ) de différents ions formés par ionisation des molécules séparées par la technique de chromatographie. Mais la mauvaise sensibilité de la spectrométrie de masse restait un problème.

Le développement de la spectrométrie de masse en tandem, également utilisée en couplage à la CPL (CPL/SM-SM ou CPL/SM<sup>2</sup>), a résolu cette difficulté. C'est une technique de plus en plus utilisée et de détection sensible (17). Les appareils qui permettent cette technique sont faciles d'utilisation mais nécessitent du personnel qualifié. Par rapport à la SM simple, elle permet donc une meilleure caractérisation des molécules même à l'état de trace, elle est capable de discriminer plus efficacement les différences entre un analyte et le signal dues à un interférent de la matrice. Elle est également capable d'améliorer les limites de détection et de quantification. Toutefois, cette technique reste chère, la limite de détection est de l'ordre du nanogramme par litre, ce qui est parfois insuffisant pour l'analyse environnementale des œstrogènes malgré les progrès de ces dernières années.

### 2.2.2. Méthode non instrumentale : ELISA

La technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une méthode immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. Cette technique d'analyse est moins chère et plus sensible (la limite de détection est de l'ordre du picogramme par litre) si l'on compare aux méthodes instrumentales ; elle nécessite un petit volume d'échantillon, est rapide et simple d'utilisation. La réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement.

Il n'existe pas aujourd'hui de méthodes normalisées pour le dosage des molécules pharmaceutiques dans les eaux. Auparavant, la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem apparaissait comme la méthode la plus sûre ; l'AQUAREF, c'est-à-dire le laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques, avait standardisé cette méthode (19). Plus récemment, en 2016, d'après Fang et coll. (18), c'est la méthode ELISA qui apparaît comme la plus fiable pour mesurer les œstrogènes dans ce type d'échantillons.

### 3. L'eau, son cycle et son arrivée en station d'épuration

L'eau circule en permanence sur toute la surface de la Terre. Elle s'évapore des océans et y revient sous forme de pluie. Le soleil permet l'évaporation de l'eau des rivières, des lacs, des mers, des océans qui, en se refroidissant, forment de fines gouttelettes. En se regroupant, elles forment des nuages qui, poussés par le vent, rencontrent des masses d'air froid et donnent naissance à la pluie. L'eau s'infiltré dans le sol et rejoint les nappes phréatiques, les sources, rivières, fleuves... pour recommencer continuellement.

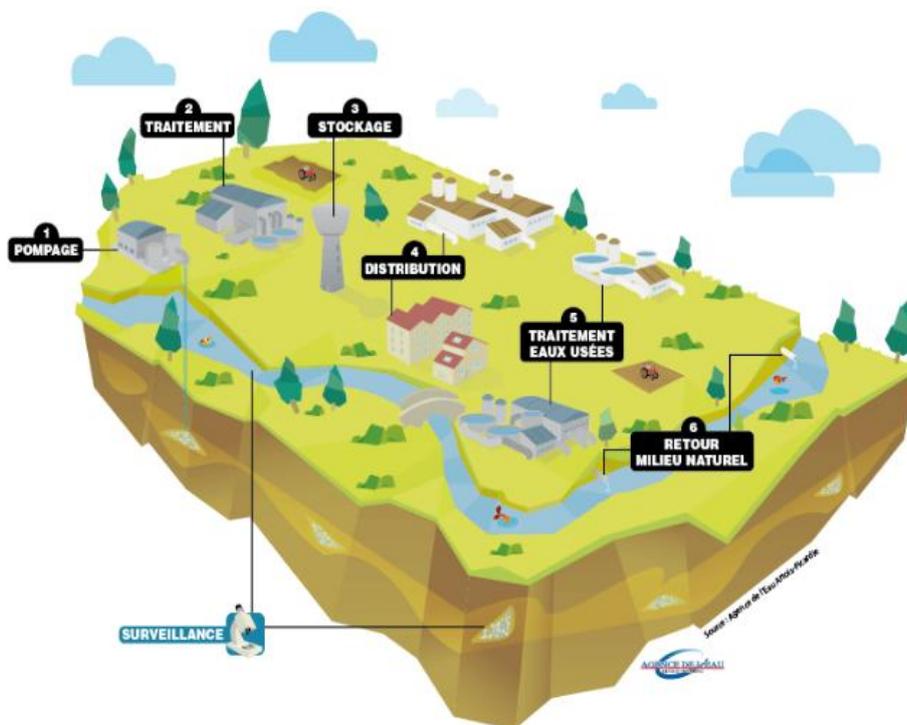


Figure 7 : Le cycle domestique de l'eau (20)

Pour s'approprier cette ressource, l'homme a dû mettre en place un système spécifique : le circuit domestique de l'eau ou petit cycle (figure 7). La station de pompage sert à capter l'eau ①. La plupart du temps, l'eau est pompée dans la nappe phréatique. Elle est ensuite rendue potable dans une usine de traitement qui élimine les impuretés et subit un traitement à l'ozone ainsi qu'au chlore pour terminer la désinfection ②. Une fois potable, l'eau est ensuite soit utilisée directement, soit stockée dans des châteaux d'eau ③ afin d'être distribuée ultérieurement vers les habitations ou les sites industriels ④. Après utilisation, les eaux usées vont jusqu'en station d'épuration (STEP) pour y être « nettoyées » ⑤. L'eau en ressort suffisamment propre, mais non potable, pour être rejetée dans le milieu naturel ⑥.

Nous allons détailler l'arrivée des eaux usées en station d'épuration. Il faut d'abord savoir qu'il existe 2 types d'assainissement : l'assainissement collectif par le réseau communal pour un grand nombre d'habitations, appelé le « tout-à-l'égout » ainsi que l'assainissement individuel ou non collectif (ANC) quand le nombre d'habitation est insuffisant.

L'assainissement collectif (21) est constitué de grandes canalisations de collecte des eaux usées qui sont acheminées vers une station d'épuration. Les eaux usées sont acheminées vers une STEP : les polluants sont alors dégradés et séparés de l'eau afin de restituer au milieu naturel une eau plus propre. Les polluants sont conditionnés en boues, suivant leur état, différentes filières d'élimination existent. Les eaux pluviales quant à elle sont parfois collectées en même temps que les eaux usées ou sont dirigées immédiatement vers le milieu naturel.

Arrivée en STEP, l'eau subit différents procédés afin d'être purifiée (figure 8) :

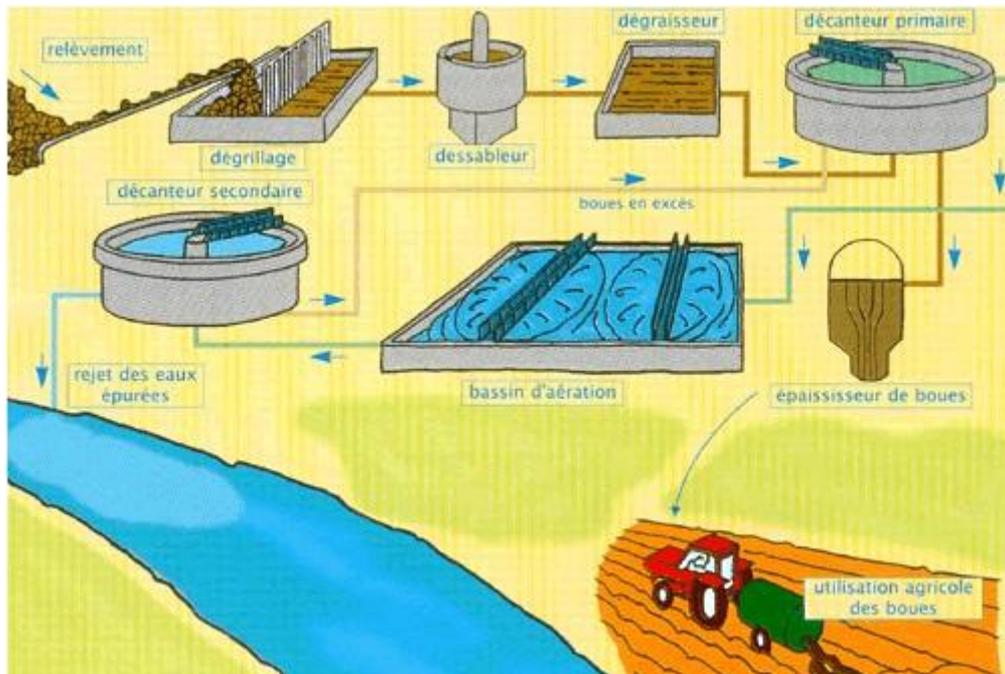


Figure 8 : Les étapes de l'eau dans une station d'épuration (22)

- Le pré traitement ou traitement primaire : le dégrillage qui élimine les déchets volumineux (morceaux de bois, plastiques...) puis le dessablage qui permet d'extraire les sables, graviers... (plus lourds que l'eau) ; le déshuilage qui débarrasse l'eau des graisses et enfin, la décantation primaire où la boue est récupérée au fond du bassin.

- Le traitement secondaire est effectué de façon biologique (système le plus répandu) : les eaux arrivent dans un bassin où sont développés des micro-organismes. Ces êtres vivants microscopiques vont digérer les impuretés et conduire à la formation de boues. Ce traitement comprend une phase d'oxygénation : de l'oxygène est introduit dans l'eau (conditions aérobies). Ensuite, la décantation secondaire permet d'extraire une deuxième boue issue de ce traitement.

Il peut aussi être effectué de manière physico-chimique (23) (système plus performant et de plus en plus retrouvé). Différents procédés s'appliquent pour les matières en suspension : la floculation ; la centrifugation ; la filtration. Pour les matières en solution, nous retrouverons l'oxydation et l'osmose inverse.

- Le traitement tertiaire est un traitement complémentaire soit, pour une réutilisation de l'eau à des fins industrielles ou agricoles, soit, pour la protection du milieu récepteur. Il est, en réalité, peu effectué. La désinfection consiste, par exemple, en un traitement aux ultra-violets ou par ajout d'espèces chlorées.

- Le traitement des boues s'effectue parallèlement au traitement de l'eau avec la boue récoltée dans les bassins de décantation et durant la clarification (étape de séparation de l'eau des boues). Les boues sont ensuite réparties pour l'épandage agricole dans les champs (riches en azote et matières organiques), pour le compostage ou pour être incinérées. A travers cette voie de l'épandage notamment, il existe un potentiel restant d'hormones œstrogéniques non éliminées dans la STEP et ainsi, un risque de transfert et de contamination vers les eaux superficielles et souterraines.

#### 4. Aspects quantitatifs de la pollution par les hormones œstrogéniques

Publié au Journal Officiel du 24 mars 2015, suite à de nouvelles exigences pour la politique communautaire dans le domaine de l'eau, la commission européenne a établi une première liste de vigilance (24). Cette liste comprend, dans un premier temps, dix substances ou groupes de substances à surveiller. Parmi elles, on retrouve différents médicaments : le diclofénac (anti-inflammatoire) ; l'érythromycine, la clarithromycine et l'azithromycine (antibiotiques de la famille des macrolides) ainsi que l'éthinylestradiol (EE2) et l'estradiol (E2). L'objectif de cette directive est de recueillir des données afin de surveiller le risque que présentent ces molécules notamment dans le milieu aquatique.

##### 4.1. Dans les influents

Les influents correspondent aux eaux usées résiduaires brutes à l'entrée des STEP. Miège et coll. ont publié en 2009 dans *Environmental pollution* (25) un résumé de 117 articles scientifiques concernant les produits pharmaceutiques et cosmétiques (PPCPs = *Pharmaceuticals and Personal Care Products*). Près de 15 classes thérapeutiques et 190 molécules y sont répertoriées.

Concernant les influents, EE2 est une substance œstrogénique peu souvent détectée (25) (26). Sa concentration moyenne étant de 4,2 ng/L selon Miège et coll. On retrouve des concentrations similaires, quels que soient les lieux d'analyse, allant de 4,9 à 7,1 ng/L dans Paris et sa banlieue (27), tout comme en Italie où la moyenne est de 3 ng/L (26). Elles sont ainsi de l'ordre de quelques ng/L.

Au contraire de EE2, E1 est la molécule la plus souvent retrouvée dans les influents (28). Les quantités selon les articles varient de quelques ng/L à plusieurs dizaines de ng/L. La moyenne retrouvée est de 67,2 ng/L dans le rapport de Miège et coll. Cette concentration est retrouvée plus faible par exemple pour Baronti et coll. 52 ng/L en Italie (26), 40 ng/L au Brésil, et 27 ng/L en Allemagne (29). On remarque que ces concentrations varient du simple au double. Une étude réalisée dans la région Parisienne par Cargouët et coll., ayant comparé les hormones naturelles E1,E2 et E3 à l'hormone synthétique EE2 (27), a rapporté des quantités plus faibles de E1 de l'ordre de 13,4 ng/L pour des valeurs entre 9,6 et 17,6 ng/L.

Pour E2, les concentrations sont semblables que cela soit en Italie (12 ng/L en moyenne) (13) ou en Allemagne (15ng/L) (29), ou à Paris (14,31ng/L) (27). Elles sont plus élevées au Brésil (21 ng/L) (29).

Quant à E3, elle n'est, parfois, pas du tout échantillonnée (29). Au global, elle est quantifiée dans beaucoup moins d'échantillons que les trois substances précédentes. En effet, le nombre d'échantillons pour E3 était de 36 selon Miège et coll. Il est très supérieur pour E1, E2 et EE2 : 109, 108 et 70 respectivement (25). Cependant, quand E3 est recherché, sa concentration dans les influents est souvent la plus haute : 80 ng/L en moyenne pour Baronti et coll. (26) contre 115 ng/L pour Miège et coll. (25) (tableau 2).

Localisation	E1 estrone	E2 estradiol	E3 estriol	EE2 éthynylestradiol
Paris & sa banlieue - 2004 (27)	13,4	14,3	13,4	6
Italie - 2000 (26)	52	12	80	3
Allemagne - 1999 (29)	27	15	X	
Brésil - 1999 (29)	40	21	X	
Résumé de 117 articles - 2009 (25)	67,2 avec n=109	22,2 avec n=108	115 avec n=36	4,2 avec n=70

X : non mesurée

n : nombre d'échantillon

Tableau 2 : Concentration moyenne des hormones œstrogéniques dans les influents en ng/L

Dans le résumé de Miège et coll., on remarque que le nombre d'échantillons varie énormément selon la molécule considérée. Il est nécessaire de prendre en compte cet élément pour l'interprétation des résultats. Plus le nombre d'échantillons sera important, plus le résultat sera fiable. Ce nombre varie aussi beaucoup selon les études. Une étude avec une quantité d'échantillons plus faible paraîtra moins pertinente.

La stabilité ainsi que la reproductibilité des échantillons est aussi mis en cause dans certaines études. Selon les résultats de l'essai inter-laboratoires résidus de médicaments dans les eaux (30), EE2 et E1 paraissent stables alors que E2 varie ; sa dégradation correspondant en partie à la formation d'E1. Pour vérifier cette formation, E1 n'était pas présent dans cet échantillon au départ. Pour le suivi environnemental, le problème du délai entre le prélèvement et l'analyse paraît donc déterminant. Dans cette même étude, il apparaît impossible de doser ces composés sans prétraitement préalable de l'échantillon, dans le but de le stabiliser.

#### 4.2. Dans les effluents

Les effluents correspondent aux eaux usées épurées ou traitées en sortie de STEP.

Une nouvelle fois, E1 est la molécule la plus souvent retrouvée (25) (28). En 2014, elle est présente dans 100% des échantillons à Lyon (31) à une concentration médiane de 8,7 ng/L. On note les mêmes médianes en Allemagne à 9 ng/L (29) ou en Italie à 9,3 ng/L (26). Elle est plus faible au Canada à 3 ng/L (29) ainsi qu'aux Pays Bas à 4,5 ng/L (32). Dans ce dernier pays, E1 et E2 sont les plus détectés, alors que E2 ne l'est pas en Allemagne (29) ou à Lyon (31).

Aux Pays Bas, E3 n'a pas été quantifié. EE2 l'a été dans deux échantillons seulement. Pour ce dernier, les valeurs étaient inférieures à la limite de détection (LD) qui était entre 0,3 et 1,8 ng/L selon la STEP prise en compte. Il en a été de même à Paris (27), où EE2 a été moins détecté que les hormones naturelles réunies car les valeurs étaient inférieures à la LD ou la limite de quantification (LQ). Sa concentration variait entre 2,7 et 4,5 ng/L lorsqu'il a pu être quantifié. Il ne l'a pas du tout été dans les effluents à Lyon (31) « n.d. ». En comparaison, au Canada, la concentration médiane d'EE2 retrouvée est élevée : 9 ng/L.

E3 est toujours rarement échantillonné (29) (32). Cependant, à Lyon, les concentrations sont très élevées, elles sont comprises entre 202 à 208 ng/L malgré une faible fréquence de détection à 25% (31) (tableau 3).

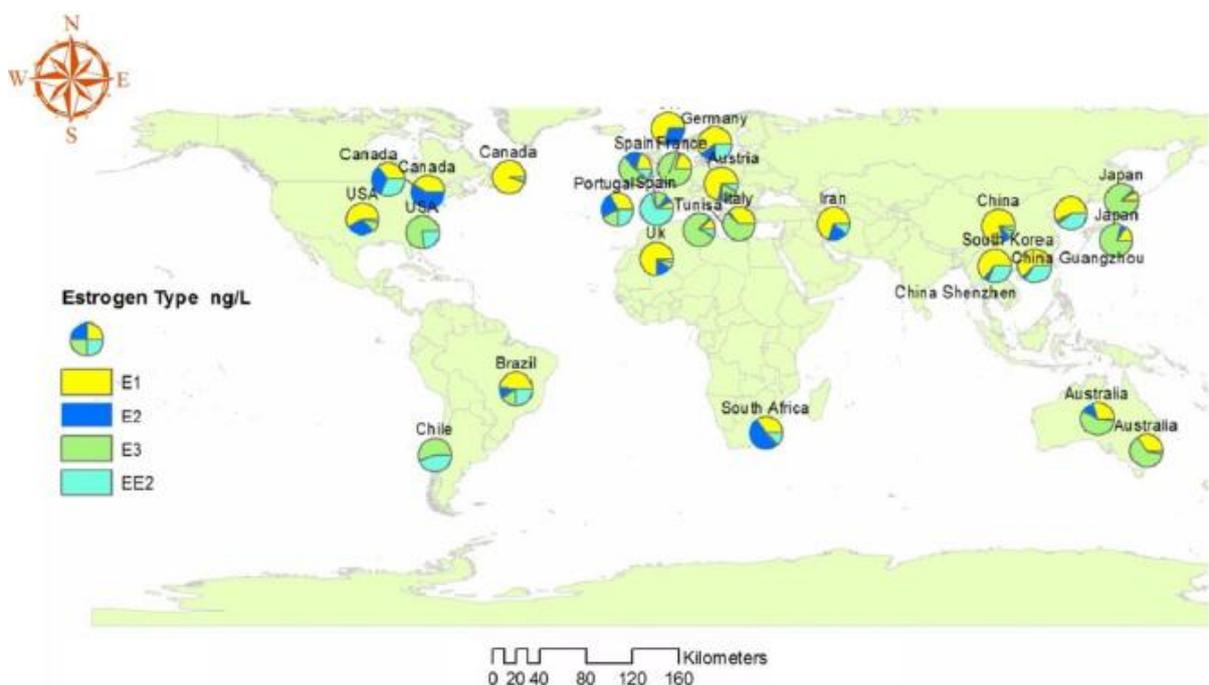
Localisation	E1 estrone	E2 estradiol	E3 estriol	EE2 éthinyloestradiol
Paris & sa banlieue - 2004 (27)	6,35	6,9	6,25	3,75
Pays Bas - 1999 (32)	4,5	0,9	X	
Italie -2000 (26)	9,3	1,0	1,35	0,45
Allemagne - 1999 (29)	9,0	n.d.	X	1,0
Canada - 1999 (29)	3,0	6,0	X	9,0
Lyon - 2014 (31)	8,7	n.d.	210	n.d.
Résumé de 117 articles - 2009 (25)	10	1,5	1,4	0,5

X = non mesuré

n.d. = non détecté

Tableau 3 : Concentration médiane des hormones œstrogéniques dans les effluents en ng/L

Récemment, Adeel et coll. ont illustré les différences observées dans le monde sur les quantités d'œstrogènes retrouvées au niveau des stations d'épuration (influent et effluent compris) (33). Des concentrations élevées sont retrouvées en Europe (Autriche, France, Portugal, Royaume-Uni...), au Brésil, en Amérique du nord, en Asie du sud-est (Chine, Japon) ainsi qu'en Afrique du Sud et en Tunisie (figure 9). Pour la France, E3 est majoritairement repéré. Il paraît difficile ici de discuter de façon plus approfondie les valeurs, étant donné le manque d'informations et le fait que les influents et effluents n'ont pas été différenciés. A noter néanmoins, une grande variabilité géographique de la répartition des différentes hormones œstrogéniques retrouvées.



**Figure 9 :** Comparaison au niveau mondial de la répartition des différents types d'œstrogènes au niveau des stations d'épuration (influent et effluent) (33)

#### 4.3. Dans les eaux de surface ou eaux superficielles (ES)

Les ES désignent l'ensemble des masses d'eau se trouvant à la surface de la terre. Elles correspondent aux océans, mers, cours d'eau, lacs et rivières... Elles sont naturellement alimentées par les précipitations et perdues par évaporation ou par infiltration dans les eaux souterraines.

Selon Belfroid et coll. (32) tout comme Gabet Giraud et coll. (31) et Ternes et coll. (29), E1 est la molécule la plus détectée à des valeurs de concentration relativement faibles,

les concentrations médianes étant respectivement de 0,3 ng/L ; 1,5 ng/L et comprise entre 0,7 et 1,6 ng/L pour l'Allemagne (tableau 4). Par contre, c'est le contraire aux Etats-Unis, E1 a la plus petite fréquence de détection bien que sa concentration médiane soit plus élevée qu'ailleurs (27 ng/L) (34).

E2 et EE2 ne sont ni quantifiés aux Pays Bas, les valeurs sont inférieures à la LD (32) ; ni à Lyon « n.d. » (31). En comparaison, ils le sont aux Etats-Unis : 9 ng/L pour E2 et 73 ng/L pour EE2 (34). En banlieue parisienne, les hormones naturelles E1 et E2 sont retrouvées à des concentrations similaires respectivement de 1,8 ng/L et 2,1 ng/L. Elle est de 1,5 ng/L pour EE2 (27).

Concernant E3, sa fréquence de détection est la plus élevée aux Etats-Unis par rapport aux autres hormones œstrogéniques, sa concentration est de 19 ng/L (34). Cette dernière est similaire à Lyon : 26 ng/L mais elle n'est quantifiée que dans 2% des échantillons (nombre d'échantillons n = 42) (31).

On constate donc une très grande variabilité dans les données publiées sur les différents types d'œstrogènes détectés.

Localisation	E1 estrone	E2 estradiol	E3 estriol	EE2 Ethinylestradiol
Etats-Unis – 2002 (34)	27 FD : 7,1%	9 FD : 10%	19 FD : 21,4%	73 FD : 15,7%
Paris & sa banlieue - 2004 (27)	1,8	2,1	2,1	1,5
Pays Bas - 1999 (32)	0,3 FD : 64%	n.d.	X	n.d.
Allemagne - 1999 (29)	0,7 à 1,6 FD : 20%	n.d.	n.d.	n.d.
Lyon - 2014 (31)	1,5 FD : 98%	n.d.	26 FD : 2%	n.d.

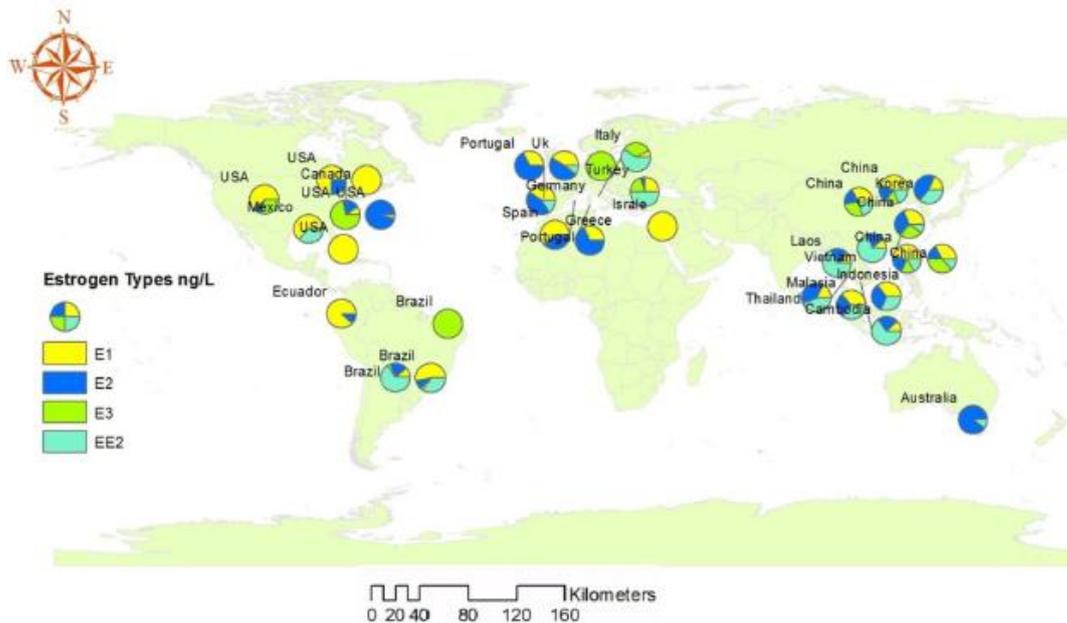
X = non mesuré

n.d. = non détecté (inférieur à la limite de détection)

**Tableau 4** : Concentration médiane des hormones œstrogéniques dans les eaux de surface en ng/L et leur fréquence de détection (FD) en %

Adeel et coll. ont, une nouvelle fois, illustré les différences dans la répartition des œstrogènes retrouvés au niveau mondial, mais cette fois ci, au niveau des eaux de surface (33) (figure 10). Comme précédemment, on constate que la répartition des œstrogènes n'est pas uniforme sur tous les continents et même au sein d'un pays. Les zones les plus touchées sont l'Amérique du Nord, Mexico, l'Equateur, le Brésil et Chili, le bassin méditerranéen de l'Europe, l'Asie du sud-est et le sud de l'Australie. Les pays où les concentrations en œstrogènes sont les plus élevées sont notamment la Chine et le Brésil. Les lieux de prélèvement sont à proximité de grandes villes ce qui peut en partie expliquer ces données. Pour les Etats Unis et l'Australie, les zones fortement polluées correspondent à des lieux d'élevage intensif de vaches ou de volailles par exemple, dans lesquels les hormones sont utilisées pour contrôler les cycles de reproduction des animaux et ainsi, accroître la production. Il a été retrouvé jusqu'à 92,7 ng/g d'estrogènes dans la partie sèche de fumier de vache ou volaille, ce qui montre bien que c'est une source non négligeable de la pollution œstrogénique (35). On note également des zones où l'éthinylestradiol (EE2) est majoritaire et à des concentrations élevées : le Brésil, l'Asie du sud-est en particulier le Cambodge, Laos, Vietnam. On pourrait souligner ici les différentes habitudes contraceptives des pays. Il est vrai que les pilules sont très utilisées en Europe, elles le sont beaucoup moins en Afrique par exemple (36). Au Japon, l'emploi de la pilule est légale depuis seulement 1999 (37). Malgré tout, on peut constater qu'en Europe, EE2 est loin d'être l'œstrogène le plus présent. On peut supposer que la qualité de l'épuration en Europe est meilleure qu'en Asie du sud-est par exemple, où EE2 est plus présent.

Les données repérées dans les eaux de surface et dans les stations d'épuration sont similaires, en particulier en Asie et Australie.



**Figure 10** : Comparaison au niveau mondial de la répartition des différents types d'œstrogènes dans les eaux de surface (33)

#### 4.4. Dans les sédiments

Un sédiment est un ensemble de grains de matière qui proviennent de l'altération ou de la désagrégation de roches préexistantes ou d'êtres vivants. Il est caractérisé par la nature minéralogique de ses constituants, la taille et leur origine. Grâce à ses spécificités, on peut retracer le chemin parcouru de ce sédiment.

Au Japon, les concentrations retrouvées dans les sédiments vont de 0,05 à 3,60 ng/g pour E1 et de 0,07 à 0,59 ng/g pour E2 ; beaucoup de valeurs sont inférieures à la limite de quantification (LQ). Les mesures concernant E3 et EE2 sont en dessous de la LQ (37). Les concentrations sont assez équivalentes en Allemagne, elles s'étendent de 0,2 à 2 ng/g pour E1 et de 0,2 à 1,5 ng/g pour E2 (38). A contrario du Japon, EE2 a été retrouvée de 0,4 à 0,9 ng/g. Là aussi, beaucoup de valeurs sont inférieures à la LQ. D'ailleurs, les valeurs médianes pour E1, E2 et EE2 sont en dessous de la LQ. Aux Etats Unis, les concentrations sont plus élevées (39). Elles se situent entre 0,9 et 7 ng/g pour E1 ; entre 0,9 et 4 ng/g pour E2 et entre 1,4 à 12 ng/g pour EE2. Selon la localisation des prélèvements, les résultats varient de façon évidente. La proximité d'une STEP ainsi que d'une grande ville influence les quantités retrouvées. Par exemple, dans le bassin Artois Picardie, la métropole lilloise est la plus contaminée, tant par le nombre de substances que par les concentrations retrouvées (40).

Dans cette étude, le flux total de médicaments dans les eaux de surface a été mis en corrélation avec le nombre d'habitants : comme on peut s'y attendre, les valeurs des flux les plus élevées sont retrouvées là où la population est la plus dense.

De plus, on observe ici que beaucoup de mesures sont en dessous des limites de détection et/ou de quantification. La limite de détection LD est la plus petite concentration pour un composé pouvant être détectée, qui produit un signal détectable différent de celui produit par un « blanc », dans les mêmes conditions. Mais cette concentration n'est pas nécessairement quantifiable. La limite de quantification LQ est, quant à elle, la concentration minimale du composé à partir duquel il existe un résultat de mesure avec une fiabilité acceptable. Globalement, on remarque que les LQ sont, dans de nombreux articles, trop élevées par rapport au niveau de concentrations des résidus médicamenteux habituellement retrouvés (40). Les LQ sont de l'ordre du  $\mu\text{g/L}$  alors que les concentrations retrouvées sont de l'ordre du  $\text{ng/L}$ , parfois même en dessous. Il est donc nécessaire d'améliorer les LQ pour obtenir des résultats plus représentatifs.

## 5. Conclusions

D'après ce que nous avons pu constaté ci-dessus, sur la dernière décennie, la consommation de pilules œstrogéniques diminue légèrement en France au profit des stérilets et implants mais elle reste le moyen le plus accessible en terme de coût et de facilité de prise. Dans le monde, la consommation tend à la hausse avec l'objectif de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) d'augmenter l'accès à la contraception. Aussi, cette partie met en évidence la présence des hormones œstrogéniques dans l'environnement. La gamme de concentration s'étend du non quantifiable à quelques  $\text{ng/L}$  selon le type d'eau considéré. De nombreux paramètres comme la localisation des prélèvements ; la proximité d'un élevage ou d'une grande ville par exemple ; influencent les concentrations retrouvées. Ainsi, nous avons pu constater une très grande variabilité de la répartition des hormones dans le monde. Il est à noter également que les molécules sont plus ou moins détectées selon les seuils de détection propres aux méthodes analytiques utilisées par les différents laboratoires. Une harmonisation des méthodes existantes, grâce à la chromatographie haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem, et la mise au point de méthodes plus sensibles apparaissent nécessaires.

## II. Les Conséquences de cette pollution

### 1. Les effets sur l'environnement

#### 1.1. L'écosystème aquatique

Dans la première partie, nous avons pu souligner que les concentrations retrouvées étaient de l'ordre du ng/L voir de la dizaine de ng/L. Cependant, le déversement dans les milieux aquatiques et terrestres, même à de faibles concentrations, suffit pour que certains organismes soient exposés tout au long de leur existence, c'est-à-dire de façon chronique. Nous allons tenter ici de comprendre quelles peuvent en être les conséquences.

##### 1.1.1. Impact sur la fécondation

La fécondation est l'étape dans le cycle de reproduction où les gamètes masculins et féminins se rencontrent et fusionnent.

Chez un poisson d'eau douce, dont le nom scientifique est *Pimephales promelas*, Pawlowski et coll. ont mesuré l'impact de 3 semaines d'exposition à de faibles quantités d'éthinylestradiol sur le taux de fécondation. Pour cela, ils ont comparé des poissons exposés à des concentrations différentes d'EE2 (1, 10 et 100 ng/L) par rapport à des poissons non exposés (solution de contrôle qui contient de l'eau mélangée avec un solvant, le diméthylsulfoxyde DMSO) (41). Comme le montre le tableau 5 ci-dessous, la solution de contrôle et la solution à une concentration en EE2 égale à 1 ng/L montrent que ces poissons ont des taux de fécondation supérieurs à 90%. Ce taux diminue avec l'augmentation de la concentration en EE2 jusqu'à être complètement inhibé pour une exposition à une solution contenant 100 ng/L de EE2.

Concentration en EE2 (ng/L)	Solutions de contrôle (0 ng/L)	1	10	100
Taux de fécondation	> 90%	> 90%	~ 30%	0%

Tableau 5 : Taux de fécondation d'un groupe de poissons *Pimephales promelas* exposés à des solutions de EE2 de différentes concentrations

Ces taux sont bien distincts de l'étude de Parrott & Blunt où la même espèce de poissons a été exposée à EE2 tout au long de leur vie (42). En effet, 48h après la fécondation, les œufs de ces poissons ont été placés dans plusieurs aquariums, l'un contenant une solution de contrôle, les autres contenant chacun une solution à une concentration différente en EE2. Les chercheurs ont ainsi pu observer l'impact d'une exposition à EE2 sur la croissance de ces poissons, du stade larve jusqu'à l'âge adulte ; sur le taux de fécondation également. Les solutions de contrôle conduisent à des taux de fécondation >80% après 106 jours d'exposition. Pour des expositions en EE2 à des concentrations de 0,32 et 0,96 ng/L, les taux de fécondation sont respectivement de 63 et 36%. Ils sont nettement inférieurs à ceux vu précédemment pour les mêmes niveaux d'exposition. Toutefois, les durées d'exposition sont différentes (d'un côté, les poissons ont été exposés trois semaines ; de l'autre, ils sont exposés depuis leur naissance et durant plus de 15 semaines). Cela confirme qu'une exposition prolongée et chronique est plus nocive qu'une exposition ponctuelle.

Cette diminution du taux de fécondation peut être expliquée par une baisse de la production et de la mobilité du sperme ainsi qu'un arrêt du développement des testicules après exposition à des solutions contenant de l'EE2 chez les males (43). Chez les femelles, cela peut être expliqué par des ovaires plus petites. En effet, dans les deux études précédentes, le rapport gonado-somatique (GSI = Gonado-somatic index) est diminué chez les poissons ayant été exposés à une solution contenant de l'EE2 par rapport une solution de contrôle. Cet indice est généralement calculé en effectuant le rapport entre le poids des gonades (ici les ovaires) et le poids total du corps. Il est utile pour déterminer les saisons de reproduction chez les animaux. Sa variation montre une atteinte au niveau de l'organe reproducteur. Il a également été remarqué que plus les concentrations en EE2 dans les solutions augmentaient, plus ce rapport diminuait ; après trois semaines d'exposition à EE2 (41) ou même après plus de 21 semaines (soit 150 jours) d'exposition (42).

### 1.1.2. Induction de production de vitellogénine et impact sur la féminisation

La vitellogénine (VTG) est une lipoprotéine plasmatique synthétisée par le foie de la femelle en période reproductrice dite « femelle mature ». La détection de VTG se fait le plus souvent par détection immunologique à l'aide de la méthode ELISA, ce qui nécessite des anticorps anti-VTG spécifiques prélevés sur du plasma sanguin de poissons.

Elle est un biomarqueur d'exposition aux perturbateurs endocriniens (PE), tels que les hormones (44), et de leurs effets, en particulier chez les poissons. Elle va ici permettre de caractériser une éventuelle exposition à des contaminants œstrogéniques.

Elle est présente naturellement chez les femelles et est fortement impliquée dans la fonction de reproduction (45). Elle est également induite chez les mâles et les juvéniles exposés à des œstrogènes (46). Ainsi, elle va être représentative de la féminisation des poissons c'est-à-dire une atténuation, chez les mâles, des caractères sexuels secondaires masculins et à une apparition des caractères féminins.

A Berlin, Hansen et coll. ont montré qu'après une seule injection d'une solution à 10 µg/L d'œstradiol E2 dans le péritoine de truites males, on retrouvait 3,9 mg/mL de VTG dans le sérum 5 jours après l'injection, 93 mg/mL après 15 jours et 114 mg/mL après 3 semaines (44). On peut en conclure que la concentration de VTG augmente jour après jour lorsque les truites reçoivent une injection d'E2.

Toujours chez les truites males, Hansen et coll. ont exposé durant 6 mois des poissons à différentes concentrations d'effluents (10% ; 20% ; 30% ; 40%) provenant d'une station d'épuration de Berlin. A 10% d'effluent mélangé avec de l'eau, les concentrations en VTG retrouvées sont comprises entre 2 et 10 µg/L ; à 40% elles sont supérieures à 100 µg/L. Ils ont ainsi pu voir que plus la concentration en effluent de l'échantillon est élevée, plus la production de VTG augmente. Ce qui démontre, la présence de perturbateurs endocriniens dans ces effluents.

Plus récemment, Jobling et coll., ont étudié deux types de poissons, les truites et carpes. Ils les ont exposées à une solution contenant 100% d'effluent provenant d'une station d'épuration du nord de Londres. Il a auparavant été établi que ces effluents contenaient des œstrogènes ; entre 4 et 56 ng/L pour les œstrogènes naturels ; et entre

moins de 0,5 ng/L (non détectable) et 2 ng/L pour l'éthinylestradiol. Ils ont montré que les résultats chez la truite et la carpe sont similaires : lorsque la durée de l'exposition augmente, la quantité de vitellogénine produite évolue vers un maximum (47). En effet, les concentrations en VTG après 14 jours d'exposition et 28 jours sont très similaires (tableau 6). Ainsi, cela supposerait qu'il existe un seuil maximal de concentration en VTG malgré une exposition maintenue.

Durée d'exposition aux effluents (jours)	Concentration en VTG chez la truite en µg/mL	Concentration en VTG chez la carpe en µg/mL
0	0,038 +/- 0,0089	0,043 +/- 0,007
3	8,55 +/- 3,66	0,505 +/- 0,260
14	130 +/- 19,45	9,63 +/- 2,50
28	137,8 +/- 80,97	9,57 +/- 1,59

**Tableau 6** : Concentrations en VTG selon la durée d'exposition aux effluents selon Jobling et coll. (47)

L'induction de VTG est bien en corrélation avec la féminisation des poissons. Fenske et coll. ont observé une diminution du nombre de poissons zèbres présentant des testicules matures après une exposition après fécondation à 3 ng/L d'EE2 et ce, quelle que soit la durée de l'exposition (42, 75 et 118 jours après la fécondation) (48). Ces résultats coïncident bien avec l'induction de VTG, vue précédemment, à cette même concentration.

Le poisson zèbre naît femelle quand l'œuf éclot et dispose d'ovaires juvéniles non fonctionnels qui, au cours de la maturation, se transforment en gonades mâles ou femelles. L'analyse histologique des gonades dans cette même étude a montré un ratio ovaires / testicules plus élevé dans le groupe ayant été exposé à EE2 que dans le groupe de contrôle. Ce ratio montre bien la féminisation des poissons zèbres après exposition aux œstrogènes.

Pour les solutions de contrôle, le sexe masculin est présent entre 50 et 60% (42) dans les travaux de Parrott & Blunt. Dans le groupe qui a été exposé 150 jours après fécondation à des concentrations en EE2 de 0,32 ng/L, la différence est significative et le sexe masculin n'est plus présent qu'à ~35%. A des concentrations d'exposition en EE2 supérieures à 3,5 ng/L ; on observe une féminisation dans 100% des cas ; le sexe masculin ayant totalement disparu.

Dans certains articles, on commence également à retrouver la notion d'inter-sexe. On retrouverait des poissons avec la présence de tissus masculins et féminins à la fois après exposition entre 5 et 6 ng/L d'éthinylestradiol pendant 3 ans (43). Par exemple, des cellules femelles dans des gonades mâles ou inversement. Ces résultats paraissent très inquiétants, les concentrations en EE2 retrouvées dans l'environnement étant de l'ordre du ng/L.

### 1.1.3. Impact sur la reproduction

La reproduction correspond à l'ensemble des processus permettant à un être vivant de perpétuer son espèce.

Chez *Pimephales promelas*, Jobling et coll. ont remarqué que la production d'œufs après une exposition à EE2 est dose dépendante jusqu'à un certain seuil (47). En effet, le nombre d'œufs est de 150 dans les solutions de contrôle. Lorsqu'il est exposé à une concentration d'EE2 de 0,1ng/L pendant 3 semaines, le nombre d'œufs augmente à 200 ; à 1 ng/L d'EE2, il est à 390. Dans un premier temps, EE2 semble avoir un effet stimulant sur la production. Néanmoins, à des concentrations supérieures à 1 ng/L, le nombre d'œufs diminue progressivement malgré l'augmentation des quantités d'EE2. A 100 ng/L d'EE2, aucun œuf n'est produit. Cela est confirmé par Pawlowski et coll. (41). Des résultats similaires aux mêmes concentrations sont présentés. Les explications de cette inhibition complète de la reproduction sont celles évoquées précédemment lors de la diminution du taux de fécondation. En effet, la féminisation des poissons implique une perte des caractères masculins chez les mâles et la diminution du poids des gonades perturbe l'appareil reproducteur chez les mâles et femelles.

Des informations identiques ont également été mises en évidence avec Fenske et coll. chez des poissons zèbres (48). Cependant, une inhibition complète de la reproduction est présentée à des concentrations beaucoup plus faibles, dès 3 ng/L d'EE2.

Pour rappel, il est intéressant d'avoir à l'esprit que l'éthinylestradiol est justement utilisé chez l'homme dans les pilules œstro-progestatives afin d'inhiber la reproduction. Dans ce cas, la dose quotidienne délivrée en EE2 varie de 20 à 30 µg selon la pilule considérée.

#### 1.1.4. Impact sur d'autres paramètres (taille, mortalité, éclosion des embryons)

L'exposition à des œstrogènes n'a pas d'impact uniquement sur la reproduction et le système reproducteur, elle peut influencer également sur la taille des populations exposées. En effet, une différence significative a été retrouvée après 150 jours d'exposition à EE2 pour deux concentrations différentes (42). Chez les femelles adultes, une légère augmentation de la taille est observée à 0,32 ng/L d'EE2 (elle est de 51 mm) par rapport aux solutions de contrôle (eau et éthanol) ou la taille est de 48 mm. Tandis qu'une diminution est observée à 23 ng/L d'EE2 : 35mm. Chez les mâles, aucune différence par rapport aux solutions de contrôle n'est remarquée, quelle que soit l'exposition.

Ces résultats ne sont pas les mêmes avec Pawlowski et coll., après trois semaines d'exposition, une diminution du rapport poids (en g) sur taille (en mm) est montrée par rapport aux solutions de contrôle (41). Chez les mâles, c'est à partir d'une concentration en EE2 de 10 ng/L et chez les femelles dès 100 ng/L.

Pour certaines caractéristiques, il est important de noter qu'aucune différence n'a été perçue dans ces travaux, notamment au niveau de la mortalité (47) ou de l'éclosion des embryons lorsque les larves éclosent après avoir rompu la membrane de l'œuf (48).

#### 1.2. L'écosystème terrestre

Concernant l'écosystème terrestre, les données se font plus rares et moins détaillées. Malgré tout, quelques études ont montré que les phytoestrogènes causaient des anomalies morphologiques de l'appareil reproducteur des moutons ou souris incluant l'apparition de kystes (49). Les phytoestrogènes sont des composés produits naturellement par les plantes, telles que le soja ou le lin. Ils ont la capacité de produire des effets œstrogéniques, leur structure moléculaire étant similaire à celle des hormones œstrogéniques. Chez les moutons exposés aux phytoestrogènes, une stérilité temporaire ou permanente a aussi été observée, elle était associée à une perte des caractères sexuels. Cela dépendait de la durée de l'exposition mais aussi de l'âge auquel a été exposé l'animal. C'est à ce moment qu'ils ont constaté que l'exposition néonatale engendrait les conséquences les

plus graves à long terme. Chez les chats, les œstrogènes modifient la vision en induisant une augmentation de la pression intra-oculaire (50).

Dans d'autres études, du lait de vache enrichi en estrone et estradiol a été donné à des souris. Ils ont constaté une augmentation du poids de l'utérus chez les femelles et une diminution de la concentration en testostérone dans le sang chez les mâles (51). On retrouve une nouvelle fois ici les anomalies morphologiques et le phénomène de féminisation déjà évoqués chez les poissons lors d'une exposition aux œstrogènes.

Sahoo et coll. ont comparé trois groupes de vaches et génisses, dont deux ont reçu des injections d'hormones de reproduction avant l'insémination artificielle (l'un des deux ayant reçu une injection d'estradiol) (52). Le troisième étant le groupe de contrôle. Le groupe ayant reçu une injection d'estradiol a un taux de fécondation de l'ovule par le gamète mâle de 60% ; celui du groupe de contrôle est de 15%. Cette expérience confirme qu'une injection d'œstrogènes au bon moment modifie fortement les capacités de reproduction.

## 2. Les effets sur l'Homme

### 2.1. L'eau destinée à la consommation humaine (EDCH)

L'eau du robinet est produite à partir d'eau prélevée par un captage dans une nappe souterraine ou dans une ressource superficielle d'eau douce (fleuves, rivières, canaux, lacs...) ou d'eau de mer. Selon la qualité d'eau prélevée, la production d'eau potable peut nécessiter différentes étapes de traitement afin de maintenir sa qualité dans les installations de stockage (réservoirs, châteaux d'eau) et dans les réseaux de distribution jusqu'au robinet du consommateur.

Il existe différentes voies d'introduction des résidus de médicaments dans le milieu hydrique et en particulier dans l'eau destinée à la consommation humaine. La figure 11 nous montre de quelle manière des médicaments à usage humain mais aussi vétérinaire peuvent être transférés dans cette eau. Les œstrogènes peuvent se retrouver dans l'EDCH par ces trois voies d'introduction (médicaments à usage vétérinaire, médicaments à usage humain et industries chimiques – pharmaceutiques).

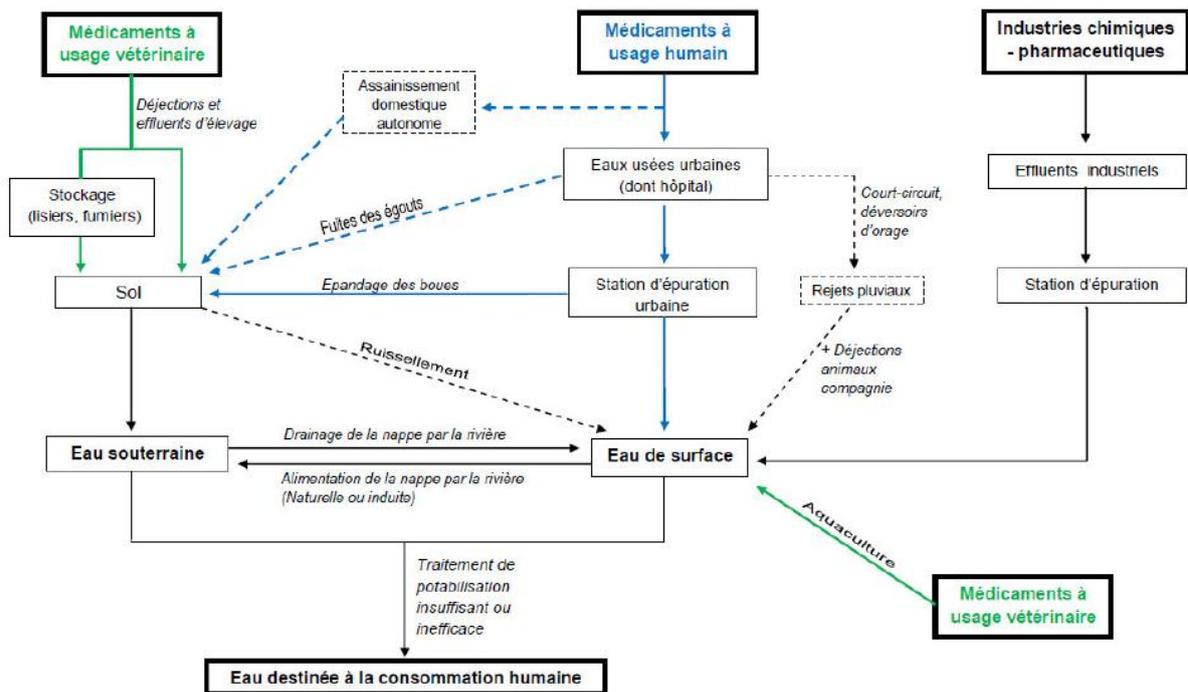


Figure 11 : Schéma récapitulatif des voies d'introduction des médicaments à usage humain et vétérinaire dans l'eau destinée à la consommation humaine d'après l'AFSSA (53)

Le code de la santé publique (CSP) régit les limites et références de qualité des Eaux Destinées à la Consommation Humaine et définit des limites de qualité avec des paramètres microbiologiques (*Escherichia Coli*, Entérocoques) et chimiques (mercure, nitrates, pesticides, plomb...) (54). La couleur, le pH, la température... sont aussi pris en compte ainsi que les paramètres indicateurs de radioactivité. Cette surveillance sanitaire de la qualité de l'eau est assurée à la fois par le distributeur d'eau et par les agences régionales de santé (ARS).

### 2.1.1. Retrouve-t-on des hormones œstrogéniques dans l'EDCH ?

Depuis 2009, six campagnes de mesures de paramètres dits « émergents » ont été réalisées. Elles permettent de rechercher la présence de certaines substances non réglementées (tels que les médicaments) ou de compléter le contrôle sanitaire de substances réglementées. Ces campagnes ont été organisées par le ministère chargé de la santé et le laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES). Elles ont porté sur des

paramètres comme les quantités de médicaments humains (diclofénac, ibuprofène, carbamazépine notamment), ou vétérinaires et le bisphénol A.

Le rapport de 2011 de cette campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine réalisée au laboratoire d'hydrologie de Nancy a révélé la présence simultanée d'une à quatre molécules médicamenteuses dans 25% des échantillons (55). Ainsi, pour environ 75% des échantillons d'eau du robinet, qu'elle soit d'origine souterraine ou superficielle, aucune des quarante cinq molécules recherchées n'a été détectée. Les 45 molécules recherchées ont été choisies à l'aide du rapport de hiérarchisation des substances réalisé par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) en 2008, qui a été basé sur le tonnage, l'activité et l'affinité pour l'eau (56). Parmi les quarante cinq molécules, vingt six n'ont jamais été retrouvées. Celles qui ont été le plus souvent détectées étaient la carbamazépine et ses métabolites l'oxazépan et l'époxycarbamazépine, la caféine et le paracétamol grâce à l'analyse par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP-SM<sup>2</sup>).

Concernant les œstrogènes, seuls E1 et E2 ont été étudiés. E1 n'a pas été retrouvé. Quant à E2, il n'a été retrouvé que dans 0,5% des cas avec une teneur maximale de 77 ng/L. La limite de quantification, probablement pas assez faible, était de 50 ng/L pour E1 et E2. Au global, les concentrations trouvées dans les eaux du robinet sont mille à un million de fois inférieures aux doses utilisées dans le cadre des doses thérapeutiques. Cependant, il paraît essentiel d'approfondir les recherches, aussi bien, sur les substances considérées individuellement que pour des mélanges de substances, afin d'appréhender de façon plus précise les conséquences pour l'homme et les écosystèmes.

Kuch et Ballschmiter ont, quant à eux, mesuré les concentrations de certains œstrogènes dans l'eau de consommation en Allemagne en 2001 (57). Ils y ont retrouvé des concentrations inférieures au ng/L pour un nombre d'échantillons total de dix (tableau 7). En ce qui concerne E1 et EE2, ils ont été quantifiés dans quatre échantillons avec des concentrations moyennes respectivement de 0,4 ng/L et de 0,35 ng/L. E2 a été retrouvé dans cinq échantillons, sa concentration moyenne étant plus élevée, de 0,7 ng/L. En comparaison, un perturbateur endocrinien avéré, le bisphénol A (BPA) a été observé dans tous les échantillons. Sa concentration moyenne s'élevant à 1,1 ng/L.

	BPA	E1	E2	EE2
Limite de détection (ng/L)	0,02	0,05	0,1	0,05
Nombres d'échantillons dans lesquels les polluants ont été retrouvés	10	4	5	4
Minimum (ng/L)	0,5	0,2	0,2	0,15
Maximum (ng/L)	2	0,6	2,1	0,5
Moyenne (ng/L)	1,1	0,4	0,7	0,35
Médiane (ng/L)	1,1	0,4	0,3	0,35

Tableau 7 : Concentration de BPA, E1, E2 et EE2 dans de l'eau de consommation humaine d'après une étude de Kuch et Ballschmiter (57)

Dans des travaux réalisés en Chine, seuls l'estradiol et l'estrone ont été recherché et détecté dans, respectivement, 53 et 31 échantillons des EDCH parmi les 62 (58). 31 d'entre eux provenaient d'importantes villes. La concentration maximale détectée a été de 1,7 ng/L pour E2 et 0,1 ng/L pour E1. Ces concentrations sont légèrement moins élevées que dans l'étude de Kuch et Ballschmiter réalisée en Allemagne. La différence est plus importante pour des quantifications réalisées aux Etats Unis où les quantités retrouvées étaient bien inférieures, c'est-à-dire en dessous de 0,5 ng/L pour ces deux mêmes molécules (59). Concernant le bisphénol A, il a été trouvé à des concentrations allant de 2 à 128 ng/L en Chine, une quantité bien au-delà de celle détectée en Allemagne.

Les données concernant des résidus de médicaments retrouvés dans l'eau destinée à la consommation humaine sont peu nombreuses. A l'heure actuelle, elles concernent plutôt des molécules présentes en grandes quantités dans l'environnement comme le bisphénol A ou les pesticides. L'estrone et l'estradiol semblent être les substances les plus recherchées pour l'instant. La présence d'estrone est observée dans près d'un échantillon sur deux ; l'œstradiol, quant à lui, est trouvé dans plus de la moitié des échantillons. Les quantités mesurées, même infimes, ne sont pas pour autant négligeables.

### 2.1.2. Exposition et risque

Pour évaluer l'exposition de l'Homme via l'Eau Destinée à la Consommation Humaine, la concentration mesurée ou estimée doit être en partie rapportée au volume d'eau consommé par jour et selon trois types de populations (tableau 8). En supposant que la population boit de l'eau du robinet, la consommation d'eau du réseau public de distribution est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (53).

Population	Valeur par défaut proposée par l'OMS
Adultes > 15 ans	33,3 mL/kg/j (2 litres pour 60kg/j)
Enfants de 3 à 14 ans	100 mL/kg/j (1 litre pour 10kg/j)
Nourrissons de 1 à 30 mois	150 mL/kg/j (0,75 litre pour 5kg/j)

Tableau 8 : Consommation d'eau en mL/kg selon l'âge d'une personne

Il est admis par tous qu'il y a une absence de risque toxique aigu pour les hormones œstrogéniques. En revanche, la question d'une faible dose à long terme ou encore le risque d'un effet cocktail d'une eau contenant diverses substances pharmaceutiques ainsi que d'autres polluants ne sont pas résolus. D'après le professeur Joyeux (60), avec une consommation moyenne d'eau du robinet de 2 litres par jour pendant 70 ans, la dose cumulée ne dépasse pas la quantité d'une prise unique thérapeutique, sauf pour cinq principes actifs dont, notamment, l'éthinylestradiol dont le rapport entre la dose cumulée sur 70 ans et la dose thérapeutique est de 2,5 pour l'éthinylestradiol. Pour la plupart des médicaments retrouvés dans les eaux, ce rapport est compris entre  $10^{-4}$  et  $10^{-9}$ . Il est important de noter que l'exposition des populations a été estimée à partir de la limite de quantification définie lors des travaux de Ternes (61). Cette estimation n'est donc pas tout à fait représentative de la quantité réellement présente dans l'environnement. Il faut également souligner que l'influence liée aux éventuels transferts alimentaires n'est pas prise en compte. Pour l'instant, la présence de résidus dans les aliments n'a pas fait l'objet de recherches suffisantes.

Selon Webb et coll. (62), l'ingestion pendant 70 ans de produits pharmaceutiques à travers l'eau potable correspondrait à 0,2 jour d'une dose thérapeutique pour plus de 90% des médicaments qu'ils ont évalués. Pour l'éthinylestradiol, elle serait bien plus élevée et

correspondrait à 2,55 jours d'une dose thérapeutique. Cette valeur est similaire à celle donnée par Joyeux mais est aussi basée sur une limite de quantification de 0,5 ng/L.

L'évaluation des risques pour l'homme est actuellement très difficile, par manque de données suffisantes et de la complexité des interactions entre les principes actifs eux-mêmes ainsi qu'avec l'environnement. Les données ci-dessus tendent malgré tout à montrer que la quantité absorbée suite à l'exposition, même sur 70 ans, est faible.

## 2.2. Les hormones œstrogéniques sont-elles considérées comme perturbateurs endocriniens (PE) ?

Un perturbateur endocrinien est selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), une substance chimique d'origine naturelle ou synthétique, étrangère à l'organisme et susceptible d'interférer avec le fonctionnement du système endocrinien, c'est-à-dire des cellules et organes impliqués dans la production des hormones et leur action sur les cellules dites « cibles » via des récepteurs.

### 2.2.1. Les perturbateurs endocriniens : qui sont-ils ?

Les perturbateurs endocriniens concentrent un ensemble de produits très divers. Cela concerne certains médicaments tels que les œstrogènes ou le tamoxifène ; les parabènes utilisés en tant que conservateurs ; ou encore les produits phytosanitaires (glyphosate, endosulfan, chlordane, pyréthriinoïdes, lindane...). Les phtalates et le bisphénol A employés comme plastifiants dans de nombreuses applications (jouets, adhésifs, câbles électriques, emballage de produits cosmétiques...) ainsi que les composés perfluorés utilisés à des fins industrielles (traitements anti-tâches, imperméabilisant...) sont également impliqués. On peut aussi citer les polybromés employés comme retardateurs de flamme (textiles, rideaux...) et les métaux lourds tels que l'arsenic, le cuivre ou le plomb.

### 2.2.2. Comment interfèrent-ils avec le système endocrinien ?

De manière générale, il s'agit de substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle qui peuvent interférer avec le fonctionnement des glandes endocrines, organes responsables de la sécrétion des hormones : thyroïde, ovaires, testicules, hypophyse, pancréas... (figure 12)

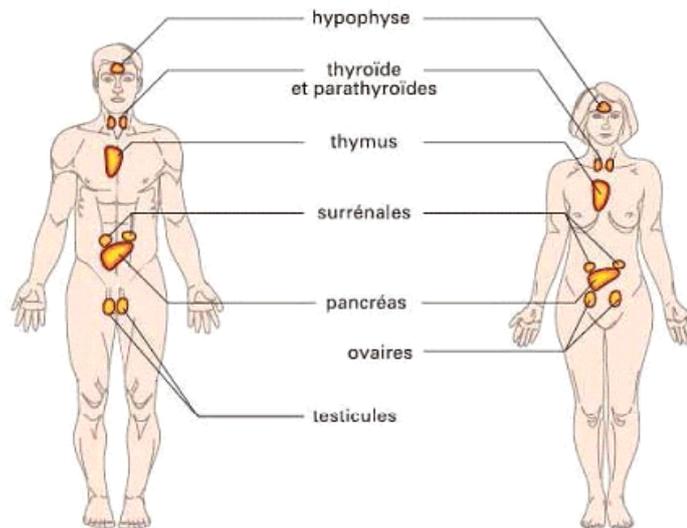


Figure 12 : Le système endocrinien (63)

Cette action peut passer par différentes voies : le perturbateur endocrinien peut mimer l'action d'une hormone naturelle et provoquer ainsi la réponse due à cette hormone (agoniste) ; il peut empêcher la fixation d'une hormone à son récepteur et ainsi bloquer la transmission du signal hormonal (antagoniste) (figure 13). Pour finir, le perturbateur endocrinien peut gêner la production ou la régulation d'une hormone ou de son récepteur et modifier une nouvelle fois son signal.

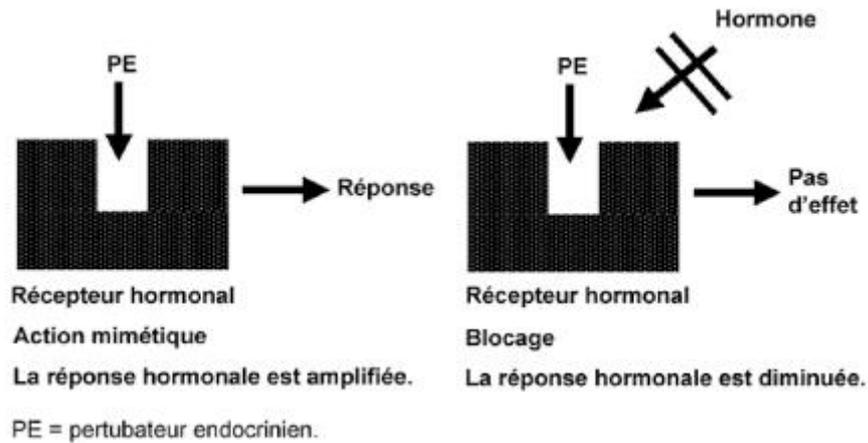


Figure 13 : Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens (64)

### 2.2.3. Comment est-on exposé ?

Leur exposition intervient par différentes voies ; il est possible de les ingérer c'est-à-dire que nous sommes exposés via l'alimentation et l'eau du fait de la présence de perturbateurs endocriniens. Il peut y avoir un transfert depuis l'emballage à l'aliment par exemple, ou à travers la contamination des sols cultivés.

Une autre voie est celle de l'inhalation par l'air et du fait de certains produits industriels (pesticides répandus ou produits de consommation courante tels que les déodorants, les parfums d'ambiance...).

La dernière exposition s'effectue directement par contact cutané et concerne les produits cosmétiques pour l'essentiel.

### 2.2.4. Quelles peuvent être les conséquences ?

Plusieurs effets dus à une exposition aux perturbateurs endocriniens sont suspectés ; baisse de la qualité et de la quantité des spermatozoïdes, abaissement de l'âge de la puberté, augmentation de la fréquence d'anomalies du développement des organes ou de la fonction de reproduction (diabète, obésité, troubles du comportement, perturbation de la fonction thyroïdienne...), survenue de certains cancers hormono-dépendants (cancer de l'utérus, des testicules...) (33). Cependant, les pathologies concernées ont une origine multifactorielle et les données sur les perturbateurs endocriniens sont encore insuffisantes à l'heure actuelle. Il

reste encore de nombreuses interrogations sur leur mécanisme d'action, la multiplicité des substances concernées et des voies d'exposition, l'exposition à faible dose dans la durée ou à des périodes critiques du développement (gestation, lactation, puberté...). Il est donc difficile d'évaluer la part attribuable de l'exposition aux PE par manque de données plus précises.

Concernant les œstrogènes, nous avons vu précédemment qu'ils étaient capables de modifier les fonctions de la reproduction. C'est en ce sens qu'ils sont considérés comme perturbateur endocrinien. Il n'a pas été montré pour le moment d'autres effets sur le métabolisme ou sur le comportement par exemple. D'autres molécules qui apparaissent beaucoup plus dangereuses, comme le bisphénol A, font la priorité des autorités de santé.

#### 2.2.5. Comment sont-ils réglementés ?

Les représentants des Etats membres de l'Union Européenne (UE) devaient, depuis décembre 2013, examiner et voter un projet de réglementation des perturbateurs endocriniens. Derrière ce projet, se cache un important enjeu : définir les critères d'identification des perturbateurs endocriniens ce qui doit permettre, à terme, d'interdire ces substances. Au regard des enjeux pour la santé publique, il paraissait essentiel que des critères d'identification des perturbateurs endocriniens soient adoptés et qu'ils respectent le principe de précaution établi par l'UE. Ce principe garantit une protection de l'environnement grâce à des prises de décisions préventives en cas de risque. La France souhaitait les identifier selon un système de catégories : perturbateurs endocriniens suspectés / présumés / connus afin de permettre aux pouvoirs publics d'établir des priorités en terme de mesures, de recherches et d'information des populations (65). Jusque juillet 2017, le texte a été jugé non satisfaisant par un certain nombre de pays ; les critères pour définir la nocivité d'un perturbateur exigeant trop de preuves. C'est le 4 juillet 2017 que le texte a été adopté. L'identification des perturbateurs endocriniens va tenir compte de toutes les preuves scientifiques pertinentes, y compris les études sur les animaux, in vitro ou basée sur des modèles informatiques. Un lien de causalité entre une substance chimique et des effets néfastes devra être démontré pour que celle-ci soit retiré du marché. Le texte intègre les perturbateurs « présumés » et plus seulement « avérés », ce qui est une avancée.

Cependant, certains considèrent toujours, notamment le Danemark et la Suède, que le niveau de preuve exigé pour retirer un produit du marché est trop important. De plus, ce texte ne concerne que les produits phytopharmaceutiques, c'est-à-dire les pesticides. Il reste encore bien d'autres produits dont il faudra tenir compte, mais ce texte va être un tremplin pour de nouvelles actions concernant par exemple : les produits cosmétiques et les emballages alimentaires (66). Le pouvoir perturbateur endocrinien de certains médicaments, en particulier l'éthinylestradiol, ne fera pas la priorité des autorités de santé, étant donné le bénéfice qu'ils apportent à l'Homme.

### 2.3. L'effet cocktail

Différents chercheurs tentent d'appréhender le potentiel synergique des mélanges de composés. Delfosse et coll. ont dévoilé en 2015 un mécanisme qui pourrait contribuer à cet effet de mélange en étudiant *in vitro* des cellules du foie humain. Ils ont testé 40 molécules en les combinant deux par deux. Parmi eux, l'éthinylestradiol a été combiné avec des pesticides organochlorés tel que le trans-nonachlore. Bien que faiblement actifs lorsqu'ils étaient présentés de façon individuelle devant le récepteur d'une cellule (où se fixe normalement une hormone afin de lancer un processus physiologique), ils ont la capacité de se fixer simultanément à un récepteur lorsqu'ils sont présentés ensemble et de l'activer de façon synergique. La fixation du premier favorise la liaison du second, la coopérativité étant due à de fortes interactions au niveau du site de liaison du récepteur. Le mélange induit ainsi un effet toxique à des concentrations largement plus faibles que les molécules séparées (67).

En effet, il existe dans notre environnement des milliers de composés dont l'action combinée pourrait avoir des effets inattendus sur la santé humaine au regard de leur innocuité en tant que substances isolées. A l'heure actuelle, les chercheurs ignorent encore l'impact sur la santé. Si ces travaux étaient confirmés *in vivo*, des retombées importantes seraient attendues dans les domaines des perturbateurs endocriniens, de la toxicologie et de l'évaluation des risques liés à l'utilisation des produits chimiques.

De nombreux facteurs sont susceptibles d'agir directement sur la fertilité ou indirectement via les effets sur le développement de l'appareil reproducteur. Parmi ces facteurs, on peut citer le mode de vie, la nutrition, les susceptibilités génétiques... L'exposition à des substances chimiques qui peuvent agir soit par une action directement toxique, soit par une action hormono-mimétique, constitue un autre type de risque, récemment mis en avant. Aujourd'hui, nous savons que les effets des perturbateurs endocriniens ne sont pas limités à des conséquences sur la reproduction mais peuvent concerner les cancers hormono-dépendants, certaines pathologies thyroïdiennes et d'autres maladies métaboliques comme le diabète (68). Cependant, la complexité et l'origine plurifactorielle de ces maladies rend difficile la part attribuable aux perturbateurs endocriniens et nécessite de plus amples recherches.

#### 2.4. Conclusions

Comme nous avons pu le constater dans cette partie, l'impact pour l'environnement est réellement démontré. Cependant, chez l'Homme le risque direct paraît moins important, et est plus difficile à montrer. De plus, les doses ingérées semblent être d'infimes quantités. Néanmoins, les modifications observées au niveau des espèces aquatiques pourraient avoir un impact de façon indirecte pour l'Homme. L'effet perturbateur endocrinien et la toxicité synergique des œstrogènes avec d'autres médicaments restent à approfondir.

### III. La lutte contre cette exposition

#### 1. Premier levier : évaluation du risque

Après avoir présenté les différents œstrogènes, quantifié leur présence dans l'environnement et tenté de démontrer l'impact environnemental et humain ; nous allons ici essayer de comprendre les plans d'action mis en place par les autorités de santé. Egalement, nous ferons un point sur les moyens installés au niveau des stations d'épuration pour lutter contre la pollution œstrogénique.

##### 1.1. Evaluation du risque environnemental (ERE) par l'Agence Européenne du médicament (EMA)

Depuis 2006, les lignes directrices élaborées par l'EMA (European Medicines Agency) imposent la prise en compte de l'impact du médicament sur l'environnement dans la balance bénéfices/risques pour l'évaluation des médicaments (69). Une Evaluation du Risque pour l'Environnement (ERE) est exigée pour toutes les nouvelles demande d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) (figure 14). Cette évaluation doit avoir lieu pour toute extension ou variation d'AMM lorsque la modification est susceptible d'entraîner des augmentations du niveau d'exposition de l'environnement. Elle prend en compte les émissions liées à l'utilisation, le stockage et l'élimination des médicaments et de leurs métabolites. Cependant, sont exclus de cette évaluation les génériques, les renouvellements ou les modifications mineures. Certaines autres molécules sont également exemptées : les vitamines, électrolytes, acides aminés, peptides, glucides et lipides, les vaccins et les médicaments à base de plantes.

La première étape de l'évaluation consiste dans le calcul de la PEC (Predicted Environmental Concentration). Celle-ci est la concentration prévisible de la substance dans l'environnement. Elle définit donc l'exposition des milieux naturels à cette substance.

Elle est calculée selon cette équation :

$$PEC = (\text{quantité} * F_{\text{excrcrte}} * F_{\text{STEP}}) / (WW_{\text{hab}} * \text{hab} * \text{dilution} * 365)$$

Avec :

Quantité = quantité consommée d'une molécule active sur une année sur une zone géographique donnée (en mg), valeur issue de la base de données des consommations nationales fournies par l'AFSSA

F<sub>excrcrte</sub> = fraction excrétée de la substance active (tient ainsi compte du métabolisme du composé)

F<sub>STEP</sub> = fraction du composé émis dans l'eau de surface à partir de la STEP (tient ainsi compte de la dégradation du composé dans les STEP)

WW<sub>hab</sub> = quantité d'eaux usées par jour et par habitant sur la zone considérée (L/hab/jour), valeur fixée par défaut à 200L

Hab = nombre d'habitants en France, fixé à 60 millions pour le calcul

Dilution = facteur de dilution du composé entre l'effluent de STEP et le milieu récepteur (eau de surface), valeur fixée par défaut à 10

Ainsi, si la PEC est inférieure à un certain seuil (pour les médicaments à usage humain, avec les eaux superficielles comme milieu récepteur, le seuil est 10 ng/L), l'ERE conclut à l'absence de risque pour l'environnement et s'affranchit de toute étude de l'impact environnemental de la molécule. Dans le cas contraire, si elle est supérieure ou égale à ce seuil, on passe à la deuxième étape qui définit la PNEC (Predicted No Effect Concentration). C'est la plus forte concentration de la substance sans risque pour l'environnement. Elle définit la toxicité de la substance vis-à-vis de l'environnement. La PNEC a cependant ses limites car elle est déterminée par molécule. Or, dans l'environnement, ce sont des mélanges de substances qui sont présents, celles-ci pouvant interagir entre elles. Caldwell et coll. (70) ont montré que la PNEC de l'éthinylestradiol était de 0,1 ng/L. Elle est la plus faible si on la compare à celle des œstrogènes naturels. Elle est ainsi la plus dangereuse de cette famille de molécules pour l'environnement. Cette PNEC est basée sur la toxicité chronique sur la reproduction des poissons. Elle est de 2 ng/L pour E2 suivi de E1 avec 6 ng/L. De même, la PNEC pour E3 est de 60 ng/L.

La PNEC est déterminée sur la base d'essais de toxicité qui, le plus souvent, s'inspirent de la valeur de la concentration sans effet (NOEC = No Observed Effect Concentration) mesurée sur différentes espèces qui représentent la communauté d'un écosystème donné (71). Caldwell et coll. ont répertorié les données disponibles (plus d'une trentaine d'études environ) de la perturbation des œstrogènes sur les fonctions de reproduction chez les poissons, indicateur sensible et représentatif, selon Caldwell (70).

La dernière étape est la comparaison entre la PNEC et la PEC. Si la PEC est supérieure à la PNEC alors la substance est considérée comme présentant un risque pour le milieu. Si le cas est inversé, le risque est faible et une simple vigilance sera nécessaire. Au plus le rapport PEC/PNEC augmente, plus la menace est élevée. Généralement, on considère que lorsque ce rapport est inférieur à 1, le risque est faible (72) (figure 14). Peu de références répertorient la PEC pour les œstrogènes, il est donc difficile de comparer ce rapport par manque de données précises. Malgré tout, EE2 semble être l'œstrogène qui présente le plus de risque par rapport aux œstrogènes naturels (71) (73).

Toutefois, l'AMM d'un médicament à usage humain exclut la prise en compte du risque environnemental dans la décision d'AMM. En conséquence, quel que soit son potentiel polluant pour l'environnement, l'AMM d'un médicament à usage humain ne peut être refusée pour ce motif.

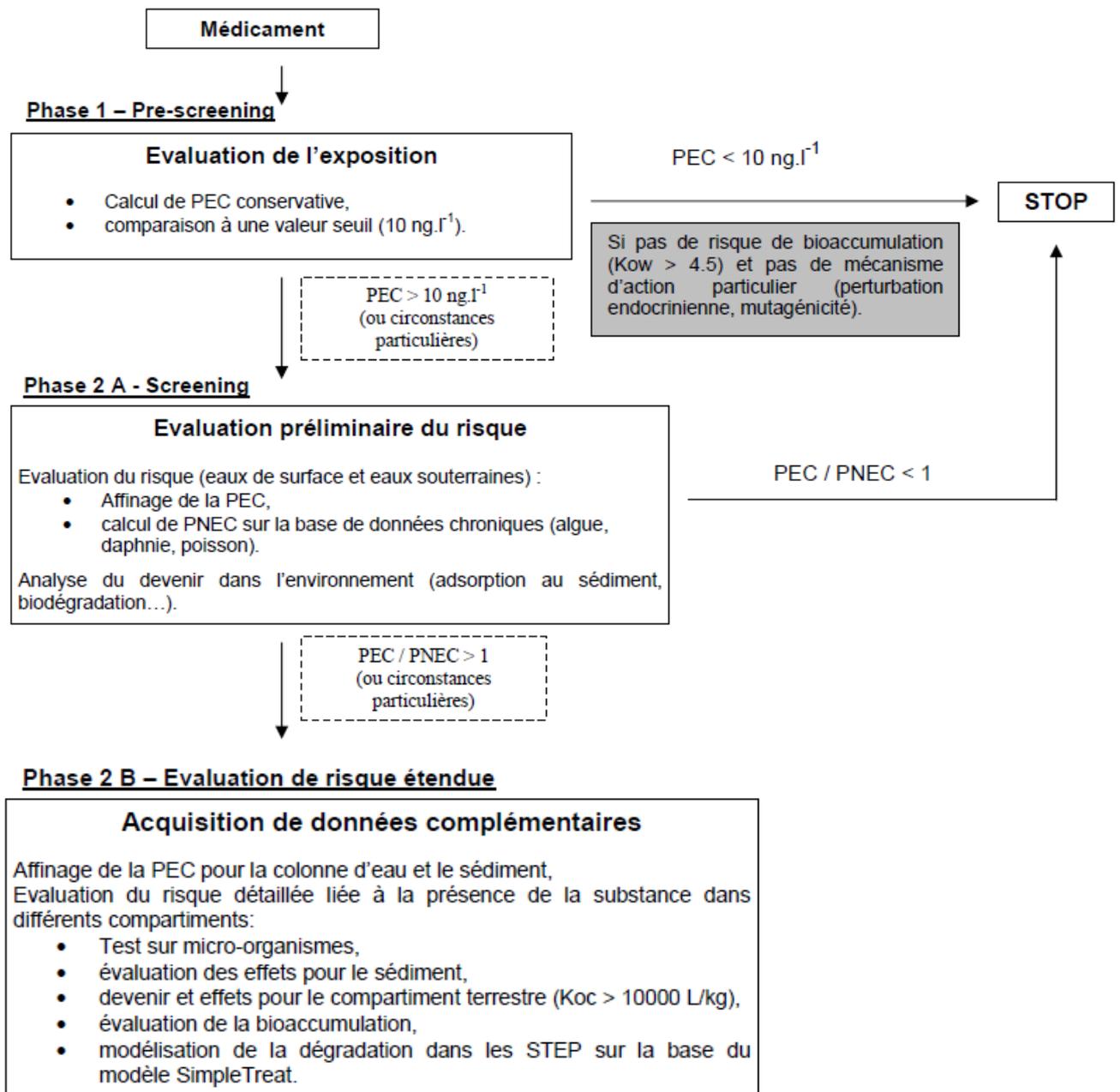


Figure 14 : Schéma de la procédure d'évaluation du risque environnemental de l'EMA pour les substances pharmaceutiques à usage humain (71)

## 1.2. Indicateurs de toxicité

D'autres paramètres permettent également d'établir la toxicité d'un principe actif :

- la NOEC (No Observed Effect Concentration) est la concentration la plus élevée d'une molécule pour laquelle aucune modification distincte n'a été observée en comparaison aux animaux témoins.

- la LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) est la plus faible concentration d'une substance qui provoque des modifications distinctes de celles observées chez des animaux de contrôle.

- la CE<sub>50</sub> ou EC<sub>50</sub> (Median Effective Concentration) est la concentration qui induit un effet de 50% par rapport aux animaux témoins.

Thorpe et coll. en 2003 ont réalisé 2 expériences chacune sur 12 poissons femelles, des truites arc-en-ciel (« rainbow trout ») (74) afin de déterminer ces paramètres de toxicité : NOEC, LOEC et EC<sub>50</sub> (tableau 9). Elles ont été exposées pendant 14 jours à différentes concentrations en œstrogènes seuls (Exp. 1) ou en mélanges E2/EE2 à un rapport fixe 25/1 (Exp. 2).

ng/L	Expérience 1			Expérience 2		
	E2	EE2	E1	E2	EE2	E2 + EE2
NOEC	4,8	0,21	0,74	9,6	1,1	Non déterminé
LOEC	14	1,0	3,3	22	7,6	5,5
EC <sub>50</sub>	26	0,95	60	19	1,8	15

Tableau 9 : Résumé des valeurs de NOEC, LOEC et EC<sub>50</sub> trouvées par Thorpe et coll. (74) pour l'exposition de truites arc-en-ciel aux œstrogènes.

Cette étude a montré que l'éthinylestradiol (EE2) a une puissance œstrogénique entre 11 et 27 fois supérieure à l'œstradiol (E2) ainsi qu'entre 33 et 66 supérieure à l'œstrone (E1). En effet, il a suffi de 0,95 ng/L d'EE2 pour avoir 50% d'effet chez les poissons, alors que cette concentration est de 26 ng/L pour E2 et 60 ng/L pour E1. L'éthinylestradiol, de synthèse chimique serait donc la substance la plus dangereuse en comparaison à E2 et E1. Il est aussi inquiétant de constater que lorsque E2 et EE2 sont réunis, la concentration la plus faible pour laquelle un effet est observé (LOEC) est plus basse (5,5) que lorsque E2 (22) et EE2 (7,6) sont pris séparément. Il y a donc un effet cocktail important de ces deux substances si l'on tient compte de la LOEC. Cet effet est plus modéré quand on regarde les résultats de la EC<sub>50</sub>.

Il est important de noter que dans cette étude, les concentrations auxquelles ont été exposées les truites, sont parfois largement supérieures à celles retrouvées dans l'environnement. Néanmoins, dans l'environnement, ces truites sont généralement exposées pendant toute leur vie soit bien plus que les 14 jours, étudiés ici.

Sanderson et coll. ont quant à eux, établi la toxicité de 4 classes pharmaceutiques (75) : les antibiotiques, les antinéoplasiques, les médicaments cardiovasculaires ainsi que les hormones sexuelles, dont font notamment parti, l'œstrone E1, l'œstradiol E2 et l'œstriol E3. Cela a pu être possible grâce au programme ECOSAR (ECOLOGICAL Structure Activity Relationships) qui prédit la toxicité aquatique des substances à l'aide d'informations incluses dans la base de données du logiciel (log de K<sub>ow</sub>, EC<sub>50</sub>...). Trois espèces ont permis de prédire cette toxicité : les daphnies, petits crustacés dont l'espèce la plus retrouvée est communément appelée « puces d'eau » ; les algues ainsi que les poissons. Selon la dangerosité prédite, quatre classes ont été établies en fonction de la concentration prédictive effective la plus basse pour 50% des organismes ou EC<sub>50</sub>. Les hormones sexuelles sont décrites comme extrêmement toxique c'est-à-dire que la concentration EC<sub>50</sub> est inférieure à 0,1 mg/L (classe répertoriée comme la plus dangereuse). Cette valeur correspond bien à ce qui a été vu précédemment puisque des effets étaient observés dès l'ordre du ng/L. Sur 92 échantillons, il a également été observé que les hormones sexuelles étaient plus toxiques envers les poissons (EC<sub>50</sub> < 0,1 mg/L dans 52% des cas) par rapport aux daphnies et algues (37%). Seulement 1% des échantillons est prédit non toxique, ce qui correspond à une concentration EC<sub>50</sub> > 100 mg/L. En comparaison, sur 2848 échantillons,

seul 1/10 parmi tous les médicaments est considéré extrêmement toxique et 1/3 non toxique.

On aperçoit à travers cet article le danger de ces substances et les effets néfastes qu'elles pourraient entraîner sur l'environnement ou sur l'Homme. Même si dans cet article, l'étude porte sur un ensemble plus large de molécules que celles étudiées dans cette thèse, il faut souligner l'importance de poursuivre les recherches autour des hormones œstrogéniques qui sont parmi les plus toxiques.

- L'indice Persistance Bioaccumulation Toxicité (PBT) :

L'indice PBT est une initiative de classification des médicaments selon leur potentiel de nuisance environnementale. Pour chaque indicateur (persistance / bioaccumulation / toxicité), des niveaux de danger sont déterminés et chaque indicateur est classé de 0 à 3 selon cette dangerosité. Le total de ces trois indicateurs représente l'indice PBT, il est ainsi compris entre 0 et 9 ; 9 étant le plus dangereux. Cet indice a été développé par un groupe de partenaires suédois mais il ne représente pas, pour le moment, un indice européen ou international validé. Le P mesure la persistance de la substance dans l'environnement. Le B mesure la bioaccumulation négligeable ou potentielle dans les organismes aquatiques. Le T mesure la toxicité aquatique, faible, modérée, importante ou très importante. Pour l'éthinylestradiol et l'œstradiol, l'indice est au maximum soit à 9. Il est plus faible pour l'œstriol, à 6 (76). Cet indice pourrait, par exemple, permettre aux médecins de prendre en compte l'impact environnemental des substances lors de leur prescription. Le nombre de molécules disponibles sur le marché pour certaines maladies permettant de choisir les moins toxiques pour l'environnement.

### 1.3. Liste des substances prioritaires et liste de vigilance établie par l'Union Européenne (UE) dans le domaine de l'eau

L'UE a établi en 2001 une liste de 33 substances prioritaires parmi celles qui présentent un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique. Ces 33 substances répondent à des normes de qualité environnementale (NQE) dans le domaine de l'eau. Cette liste comprend des pesticides tout comme des métaux lourds (77).

Par la suite, en 2008, afin d'améliorer la base d'informations pour le recensement de nouvelles substances prioritaires, une liste de vigilance a été établie (78). C'est dans cette dernière que figurent l'estradiol E2 et l'éthinylestradiol EE2. L'objectif est de recueillir des données de surveillance pour tenter de lutter contre le risque que représentent ces substances (79). L'estrone E1 est également inclus car il est un produit de dégradation de E2. Dix substances sont intégrées dans cette liste, parmi elles, d'autres molécules pharmaceutiques comme les antibiotiques (les macrolides), un anti-inflammatoire (le diclofénac) ainsi que des herbicides, insecticides...

Pour les substances inscrites dans cette Directive Cadre sur l'Eau (DCE), des normes de qualité environnementale (NQE) ont été définies. Elles sont de 0,4 ng/L pour l'estrone E1 et l'estradiol E2 ; et de 0,035 ng/L pour l'éthinylestradiol EE2 (80) (tableau 15).

Nom de la substance/du groupe de substances	Numéro CAS <sup>(1)</sup>	Numéro UE <sup>(2)</sup>	Méthode d'analyse indicative <sup>(3)</sup> <sup>(4)</sup> <sup>(5)</sup>	Limite maximale acceptable de détection de la méthode (en ng/l)
17-alpha-éthinylestradiol (EE2)	57-63-6	200-342-2	SPE Grand volume — LC-MS-MS	0,035
17-bêta-estradiol (E2), estrone (E1)	50-28-2, 53-16-7	200-023-8	SPE — LC-MS-MS	0,4

Tableau 10 : Extrait de l'annexe du journal officiel de l'UE du 24 mars 2015 « liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance à l'échelle de l'Union, établie conformément à l'article 8 ter de la directive 2008/105/CE »

La définition de normes de qualité très basses pour EE2, E2 et E1 résulte des niveaux de traces de ces contaminants dans l'environnement aquatique et de leur effet même à faibles doses. Cette limite maximale de détection est plutôt une avancée positive, cependant c'est une réelle difficulté technique pour les laboratoires de quantifier ces molécules à de telles concentrations.

## 2. Contrôle du rejet

### 2.1. Médicaments non utilisés (MNU) et Cyclamed

Les MNU correspondent aux médicaments qui n'ont pas été utilisés par les patients, qu'ils soient périmés ou non. Il convient de les rapporter en officine plutôt que de les jeter soit dans la poubelle soit dans les toilettes ou de les dissoudre avec de l'eau du robinet. Ce type de rejets est en effet aussi responsable d'une partie de la contamination de l'environnement.

Depuis 1993, l'association Cyclamed a pour mission de collecter et de valoriser ces MNU rapportés par les patients dans les pharmacies. Depuis 2007, toutes les pharmacies sont obligées de récupérer gratuitement ces MNU qui sont placés dans des cartons Cyclamed. Dans le cadre de leurs tournées quotidiennes, les grossistes répartiteurs récupèrent les cartons pleins et les déposent dans des conteneurs situés dans l'enceinte de leurs établissements. Une fois remplis, ces conteneurs sont acheminés par des transporteurs à des unités de valorisation énergétique.

L'incinération est actuellement la solution qui répond le mieux aux contraintes environnementales et de santé publique compte tenu de la nature des produits à traiter. 55 unités sont réparties en France, elles permettent une récupération énergétique sous forme de chaleur et/ou d'électricité. La redistribution humanitaire des MNU s'est arrêtée en 2008.

Ce sont les laboratoires pharmaceutiques qui financent l'ensemble des coûts liés au fonctionnement du dispositif par l'intermédiaire de leur cotisation versée à Cyclamed. Ce prorata est calculé en fonction du nombre de boîtes de médicaments mises sur le marché.

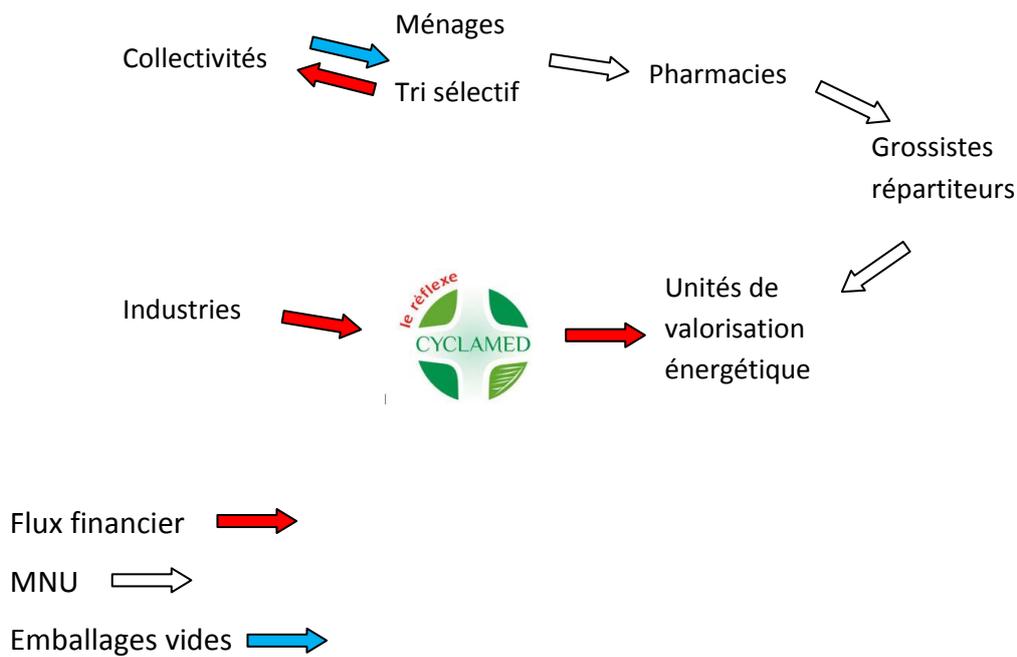


Figure 15 : Principe de fonctionnement de Cyclamed

La France a été le premier pays en Europe en 1993-1994 à mettre en place un système de récupération et de valorisation énergétique des MNU (figure 15). En 2015, c'est 12 108 tonnes de MNU qui ont été valorisés, un chiffre en constante augmentation depuis plusieurs années (81).

## 2.2. Communication et informations

La communication autour du risque environnemental et du risque sanitaire des médicaments reste particulièrement complexe et sensible pour les populations. Il convient d'informer sans paniquer et de trouver un juste équilibre entre alarme et négligence (82).

Pour le grand public, la communication doit s'orienter dans un premier temps sur des actions préventives que chacun peut et doit mettre en place comme le tri sélectif, le retour des MNU en officine et le respect de certains gestes pour limiter la contamination des milieux naturels. Pour les professionnels de santé, une meilleure information sur le problème des rejets médicamenteux dans l'environnement paraît indispensable. Ils peuvent être des relais auprès de leur patient sur les actions préventives qui peuvent être menées.

Enfin, la nouvelle organisation de notre système de santé, par la loi HPST, donne un rôle particulier aux Agences régionales de santé dont le périmètre d'action couvre largement les problèmes de santé et d'environnement.

### 2.2.1. Plan National Santé Environnement (PNSE)

La thématique des substances médicamenteuses dans l'environnement a été officiellement abordée pour la première fois dans le cadre du PNSE 1 en 2004 (83). Ce plan visait à améliorer la santé des français en lien avec la qualité de leur environnement et cela dans une perspective de développement durable. Il comportait 45 actions parmi lesquelles l'action 11 appelée « limiter les pollutions des eaux et des sols dues aux pesticides et à certaines substances potentiellement dangereuses ». Le terme substances dangereuses comprenait notamment les composés médicamenteux à usage humain et vétérinaire. Le plan planifiait que des campagnes d'analyses des eaux soient conduites par les agences de l'eau à partir de 2005, en particulier dans celles destinées à la consommation humaine. Trois bassins pilotes ont été échantillonnés au cours des années 2006 et 2007 (Seine Normandie, Rhône Méditerranée et Adour Garonne). La mise en évidence d'un certain nombre de substances dans les eaux a inquiété les autorités (84).

En 2009, un deuxième plan PNSE 2 a été mis en place, dans la continuité du premier (85). Ce second plan, en vigueur jusqu'en 2013, comprend douze mesures phares. Pour l'essentiel, il vise à identifier et réduire les expositions de la population aux substances responsables de pathologies à fort impact sur la santé (cancers, pathologies respiratoires, neurologiques...) y compris en milieu professionnel. Aussi, il a pour but de réduire les inégalités environnementales qui contribuent aux inégalités de santé, en prenant particulièrement en compte les populations les plus vulnérables (enfants, femmes enceintes ou en âge de procréer, patients atteints de cancer...). C'est dans cette optique qu'a été élaboré un plan national sur les résidus médicamenteux dans les eaux en 2011 (PNRM), plan que nous détaillerons plus tard.

Récemment, le PNSE 3 a vu le jour, il couvrira la période 2015-2019 (86). Il devra permettre de consolider les progrès déjà accomplis avec les deux premiers PNSE. Les 107

actions ont pour objectif de répondre aux enjeux de santé posés par les pathologies en lien avec l'environnement, d'améliorer les connaissances des expositions en participant aux actions de recherche ainsi que de renforcer l'information, la communication et la formation. Ce plan s'inscrit parmi d'autres tels que les plans micropolluants dans les eaux (87), sur le cancer (88), sur les perturbateurs endocriniens (89). Parmi les 107 actions, seules deux concernent les hormones ; sans que les œstrogènes soient clairement cités. Elles sont évoquées dans la partie « prévenir les risques reprotoxiques liés aux expositions environnementales et mieux les comprendre ». L'action n°17 a pour but de poursuivre l'évaluation des expositions réelles, du risque résultant des expositions et des données de dangers liés aux reprotoxiques disponibles pour les populations ciblées (hommes et femmes en âge de procréer et jeunes enfants), en population générale et professionnelle. L'action n°18 a pour objectif de poursuivre la surveillance de l'état de santé reproductive de la population française.

#### 2.2.2. Plan National sur les Résidus Médicamenteux dans les eaux 2011-2015 (PNRM)

Le PNRM s'organisait autour de trois axes définis par les ministères chargés de la santé et de l'environnement ; l'évaluation et la gestion des risques ainsi que le renforcement des actions de recherche. Il prévoyait quatre actions prioritaires (90) :

- Définir une méthode de hiérarchisation des molécules et métabolites afin d'identifier ceux pour lesquels les travaux devaient être engagés en priorité.
- Renforcer la connaissance de l'état des milieux, notamment par la réalisation de campagnes exploratrices dans les milieux aquatiques et dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH).
- Mobiliser la communauté scientifique et promouvoir des études et programmes de recherche afin d'acquérir les connaissances nécessaires à la réalisation des évaluations des risques environnementaux et sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux.

- Inciter et aider des porteurs de projets innovants avec leurs partenaires locaux sur des sites pilotes afin de mieux connaître et réduire l'impact des résidus de médicaments sur les milieux aquatiques.

Publié fin 2015, le bilan du PNRM cite les actions mises en œuvre lors de ce plan (91). Notamment, la campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les EDCH qui a permis de dresser un état des lieux des niveaux de concentration en résidus médicamenteux dans ces eaux (55). Cependant, l'objectif de prioriser les molécules n'a pu aboutir. Cela s'explique en partie, par manque de disponibilité de certaines données car elles sont parfois inexistantes ou difficiles d'accès.

### 3. Traitement de la pollution

#### 3.1. Performances des stations d'épuration (STEP)

D'une station d'épuration à l'autre, il a été constaté que les performances de chacune variaient. Les procédés utilisés au cours des différentes étapes d'épuration changent selon les STEP ; en fonction du lieu, de la taille de la station ou encore des moyens possibles. De cette façon, les procédés mis en place influent de façon importante sur les rendements d'épuration, notamment pour les résidus de produits pharmaceutiques. Ceci a été en partie souligné dans le projet AMPERES (Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles) qui s'est déroulé de 2006-2009.

Dans ce projet, 21 STEP ont été étudiées. Il en est ressorti que la variabilité des concentrations de substances en entrée de STEP était importante. Elle est en moyenne de 91%, toutes substances confondues et varie entre 39 et 347%. Les apports de substances sont très hétérogènes selon les STEP et dépendent aussi de la nature des influents (proximité d'une zone urbaine, d'un centre hospitalier...). Plus en détail, dans les eaux après traitement secondaire, la variabilité est en moyenne de 105% et dans les eaux après le traitement tertiaire de 92%. La différence de procédés mis en œuvre dans ces STEP, certains plus efficaces que d'autres, nous le verrons par la suite, et l'incertitude analytique (élevée lorsque les concentrations sont proches des limites de quantification) peuvent jouer un rôle.

Il semble également que la température des eaux joue un rôle dans les performances des STEP : Ternes et coll. ont en effet remarqué qu'en Allemagne, où la température était faible (-2°C), le pourcentage d'élimination des hormones était très inférieur à celui du Brésil, où la température avoisinait les 20°C (92). Pour le 17- $\beta$  estradiol, le rendement d'élimination au Brésil atteint 99,9% alors qu'en Allemagne, il est de 64%.

### 3.2. Epuration par un processus physique

#### 3.2.1. L'adsorption

L'adsorption définit la capacité de certains matériaux à attirer à leur surface des ions ou molécules (métaux, molécules organiques...). Il y a un transfert de matière de la phase aqueuse vers la surface solide. Concernant le traitement des eaux, le solide employé est souvent le charbon actif. Les molécules polluantes viennent ainsi se fixer à sa surface. L'eau passe à travers le filtre continuellement, cela entraîne une accumulation des substances sur le filtre, ce qui nécessiterait davantage d'études quant à la durée d'utilisation du charbon. En effet, l'atteinte rapide de la saturation implique un remplacement fréquent du filtre à charbon.

Le projet AMPERES a également eu pour objectif de mesurer la composition en micropolluants des eaux usées et traitées. Il a aussi permis de quantifier l'efficacité d'élimination de différentes filières d'épuration vis-à-vis de ces contaminants. Concernant le charbon actif, les rendements d'élimination sont différents selon l'œstrogène considéré. En effet, l'estrone est éliminé à plus de 70% alors que l'éthinylestradiol EE2 l'est à moins de 30%. Les quantités d'estradiol et d'estriol étaient trop proches des valeurs de quantification, les résultats n'ont donc pu être pris en considération (tableau 11). Dans une autre étude, Kumar et Mohan ont montré que le pH et la température influent sur l'adsorption d'EE2 (93). Pour l'adsorption de EE2, les conditions sont optimales lorsque le pH est à 7 et la température à 30°.

	Substances	Ozonation	Filtration sur charbon actif	Osmose inverse
Hormones Œstrogéniques	Estrone E1			
	Estradiol E2	-	-	-
	Estriol E3	-	-	-
	Ethinylestradiol EE2	-		

Rendement > 70%	30% < Rendement < 70%	Rendement < 30%
-----------------	-----------------------	-----------------

« - » pas de données

Tableau 11 : Rendements d'élimination des hormones œstrogéniques par ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse tirés du projet AMPERES

L'adsorption sur charbon actif semble être un procédé alternatif, notamment pour les substances résistantes aux traitements secondaires. Cependant, ces installations restent encore marginales dans le domaine de l'assainissement en France, du fait de leurs coûts.

### 3.2.2. Filtration sur membrane

#### 3.2.2.1. L'osmose inverse

L'osmose se produit quand deux liquides, situés de part et d'autre d'une membrane semi-perméable et ayant des concentrations différentes, arrivent à un équilibre. La concentration devient donc équivalente dans les deux compartiments. Ce phénomène est un procédé naturel courant, notamment à travers les membranes de nos cellules. Il y a osmose inverse quand on force ce procédé à s'inverser à l'aide d'une pression : à ce moment, seules les molécules d'eau passent à travers la membrane (figure 16). Le diamètre des pores est inférieur à 1 nm ; ce qui signifie que seules les molécules de masse molaire inférieure à 200 g/mol sont retenues.

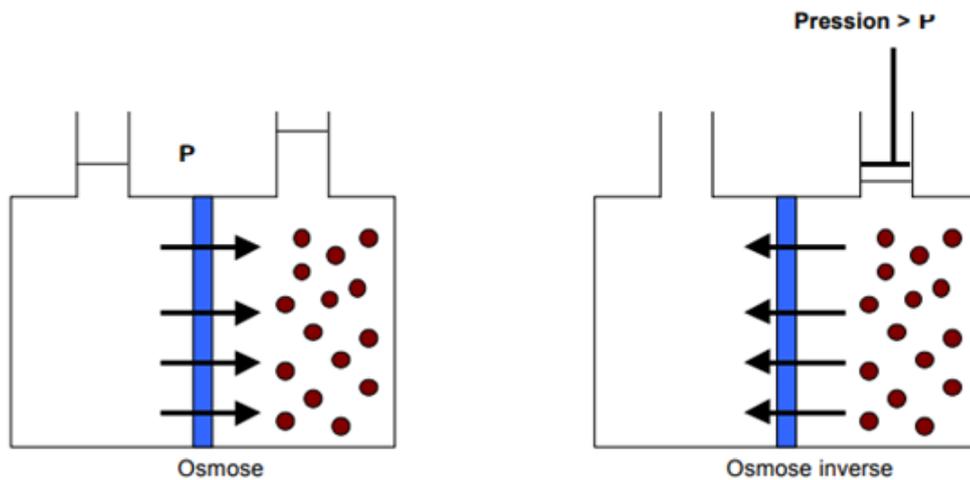


Figure 16 : Procédé d'osmose et d'osmose inverse à travers une membrane semi-perméable

Dans le projet AMPERES, avec l'osmose inverse, l'estrone a été éliminé à moins de 30%, alors que l'éthinylestradiol présente un rendement d'élimination compris entre 30 et 70%. Pour l'estradiol et l'estrone, tout comme avec le charbon actif, les valeurs étaient trop proches des valeurs de quantification, les résultats n'ont donc pu être pris en considération (tableau 10).

De façon plus générale, ce système a permis d'augmenter significativement l'efficacité d'élimination de 65% des composés pharmaceutiques étudiés, y compris pour les composés récalcitrants aux traitements secondaires.

#### 3.2.2.2. La nanofiltration

Le mécanisme de transfert par nanofiltration est une technique intermédiaire entre l'osmose inverse et l'ultrafiltration (abordée dans la partie suivante). Elle permet la séparation de composants ayant une taille en solution voisine de celle du nanomètre (figure 17). Le diamètre des pores est compris entre 1 et 10 nm. Les composés de masse molaire inférieure à 200 - 250 g/mol ne sont pas retenus par ce type de membrane. Ceux ayant une masse supérieure à 250 sont donc fortement retenus. L'estrone, l'estradiol, l'estriol et l'éthinylestradiol ont respectivement une masse molaire de 270,4 ; 272,4 ; 288,4 ; 296,4 g/mol. Ainsi, EE2 devrait être la molécule la mieux retenue par ce type de filtration. Or, ce n'est pas toujours le cas. D'autres facteurs influencent donc le rendement d'élimination.

On peut citer en exemple, le pH de la solution, sa salinité, la présence ou non d'autres molécules pharmaceutiques, la matière de la membrane... (94)

Par exemple, l'ajout d'antibiotiques à la solution d'œstrogènes a augmenté le rendement d'élimination pour E1 et E2 (95). Plus précisément, pour E2, le rendement d'élimination était de 64% dans la solution de contrôle. Mélangé avec des tétracyclines et sulfamides ; le rendement atteint 95%. Pour E1, il est passé de 80 à 98% avec ce même mélange d'antibiotiques. Egalement dans cet article, après ajout de 10 mmol/L de NaCl, le rendement a augmenté par rapport à la solution de contrôle (il est passé de 64 à 90% pour E2 et de 80 à 95% pour E1).

Weber et coll. ont étudié les différents paramètres qui pouvaient influencer la nanofiltration comme par exemple le matériau de la membrane ou la pression du perméat (le fluide passant à travers la membrane) (96). Ils ont comparé deux types de membrane qui diffèrent par leur nature, l'une en polyamide, l'autre en polyéther sulfone (PES). Celle en polyamide est plus efficace ; à une pression de 25 bar, le taux de rétention est de 100% pour l'estrone, l'estradiol et l'éthinylestradiol alors qu'il est respectivement de 42% ; 48% et 58% avec la membrane en PES.

Ils ont également constaté qu'avec une haute pression du perméat, la membrane perd en efficacité et retient moins bien les molécules. En effet, avec la membrane en PES, à une pression du perméat de 10 bar, les taux de rétention pour l'estrone, l'estradiol et l'éthinylestradiol sont respectivement de 99,6 ; 99,8 et 82,2%. Alors qu'à 35 bar, ils sont de 40,6 ; 2,9 et 9,9%.

Au vu des différences mesurées entre les taux de rétention, le choix du type de membrane et le contrôle de la pression du fluide paraissent primordiaux.

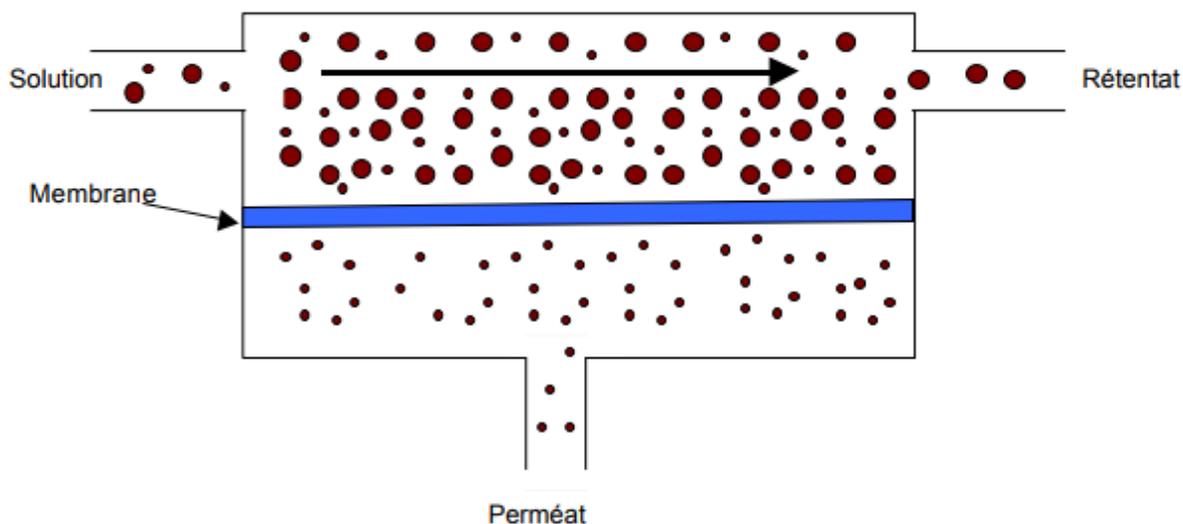


Figure 17 : Procédé de nanofiltration

### 3.2.2.3. L'ultrafiltration

L'ultrafiltration est une technique de séparation des éléments contenus dans un liquide. Elle utilise des membranes semi-perméables dont le diamètre des pores est compris entre 5 et 100 nm. Ces membranes laissent passer les petites molécules et arrêtent les molécules de masse molaire élevée.

Cette technique est donc beaucoup utilisée pour l'élimination de macrosolutés présents dans l'eau. Les œstrogènes ont cependant une masse moléculaire de l'ordre de 280 g/mol. Par conséquent, ils sont donc peu retenus par ce type de membrane et la nanofiltration est un procédé d'élimination plus efficace pour les œstrogènes. Cela a été souligné dans la revue de Silva et coll. (94) sur les procédés d'élimination des œstrogènes.

Parmi ces trois procédés de filtration sur membrane, l'osmose inverse et la nanofiltration sont les plus étudiés et efficaces. En comparaison à la nanofiltration, l'osmose inverse offre le meilleur rendement pour les substances pharmaceutiques, en particulier les œstrogènes. Cependant, ce système demande plus d'énergie pour être mis en œuvre par rapport à la nanofiltration (94). L'ultrafiltration est quant à elle, plutôt utilisée pour des molécules ayant une masse moléculaire plus élevée.

### 3.3. Processus biologique : les boues activées

Les boues activées consistent en un traitement biologique aérobie de la pollution par un écosystème floculé en suspension dans un bassin aéré et agité par un brassage mécanique. Elles utilisent les bactéries contenues dans les eaux usées afin d'éliminer les substances polluantes. Les bactéries, une fois concentrées et aérées possèdent la propriété de se regrouper en flocons (boues activées). La matière en suspension est séparée au sein d'un clarificateur, rejetant l'eau épurée d'un côté et les boues concentrées de l'autre.

Les boues produites par les stations d'épuration sont de trois types :

- Les boues primaires : elles sont issues du traitement primaire et produites par simple décantation des matières en suspension (MES) contenues dans les eaux usées. Ce prétraitement assure la séparation des phases solides et flottantes des eaux usées domestiques brutes.

- Les boues secondaires : elles sont issues du traitement secondaire qui est réalisé dans une seconde cuve et extraites au niveau du clarificateur ou décanteur secondaire. Elles sont constituées principalement de matière réfractaire à la biodégradation aérobie. L'abattement de la pollution est assuré par la mise en contact de l'eau à traiter avec des bactéries épuratrices en suspension dans l'eau et de l'oxygène dissous. Une partie de ces boues est remise en circulation vers le bassin d'aération afin de maintenir une concentration constante dans le bassin. L'autre partie est dirigée vers les filières de déshydratation et de traitement des boues (figure 18).

- Les boues mixtes : elles sont issues du mélange des boues primaires et secondaires et présentent donc un fort caractère fermentescible.

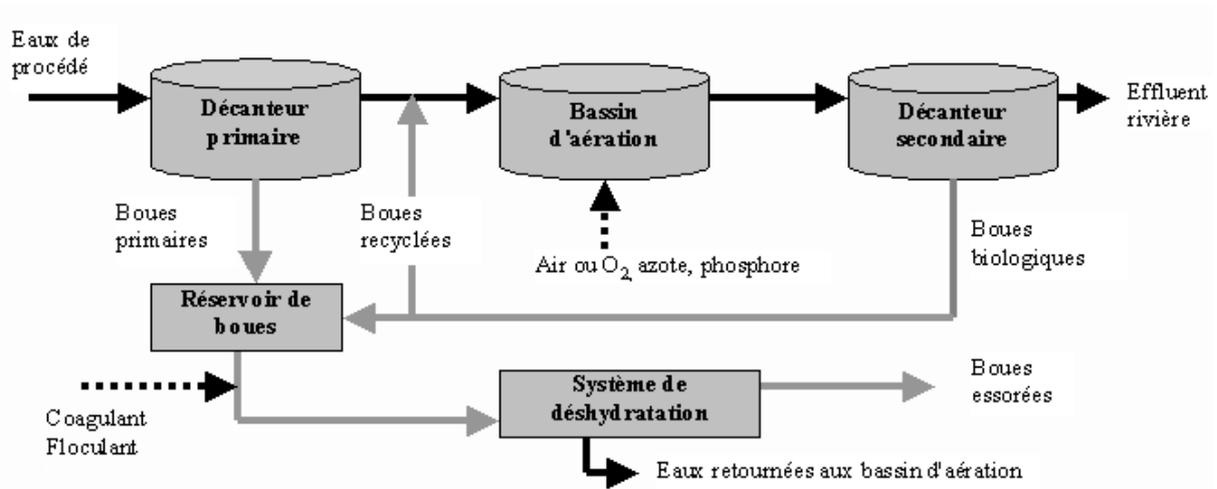


Figure 18 : Schéma représentant le processus d'épuration utilisant des boues activées (97)

### Capacité d'absorption :

Pendant la sédimentation primaire et secondaire, les composés hydrophobes peuvent s'adsorber et se partitionner sur les particules des boues selon un procédé physico-chimique qui peut être estimé par le coefficient de partage  $\log K_{ow}$ . Son facteur principal étant le coefficient de distribution d'absorption le  $K_d$ . Des corrélations ont été mises en évidence entre le  $\log K_{ow}$  et le  $K_d$  des composés sur les boues. Ces derniers peuvent être classés selon leur capacité à s'adsorber :

- $\log K_{ow} < 2,5 \rightarrow$  faible potentiel d'absorption
- $2,5 < \log K_{ow} < 4,0 \rightarrow$  potentiel d'absorption moyen
- $\log K_{ow} > 4,0 \rightarrow$  fort potentiel d'absorption

Les différences de caractère hydrophobe, de solubilité ou même de structure du composé vont avoir une influence sur la capacité d'absorption. En effet, les molécules hydrophiles ont une faible absorption par les boues.

Selon Urase et Kikuta (98), les œstrogènes E1, E2 et EE2 sont des molécules hydrophobes (lipophiles) et sont ainsi bien absorbées par les boues. Les logs de  $K_{ow}$ , mesurés par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), sont respectivement de 3,13 ; 4,01 et 3,67. Le composé avec le log de  $K_{ow}$  le plus élevé est celui qui sera le mieux absorbé par les boues. Ces mesures ont été confirmées par Adeel et coll. en 2016 (33) pour E2 et EE2 ; avec pour E1, une valeur un peu plus élevée de  $\log K_{ow}$  à 3,43.

Dans les deux cas, il est possible d'en déduire qu'E2 sera le composé le mieux éliminé lors du traitement par les boues activées. Cela a été démontré par Baronti et coll., E2 était retiré à 87%, EE2 à 85% et E1 à 61% (26). Dans cette étude, l'élimination de E3 a été également évaluée. Avec une valeur de 95%, c'est la substance la mieux éliminée, son log de  $K_{ow}$  serait donc supérieur à 4,01. Mais ce n'est pas le cas avec Johnson (77%) (99). Pour Ternes et coll., le pourcentage d'élimination pour E2 va même jusque 99% (29). A contrario, E1 a le pourcentage le plus faible pour Johnson et coll. (99). Malgré une bonne élimination de la plupart des composés œstrogéniques, il apparaît néanmoins de fortes variations en fonction des études réalisées.

Il en est de même pour les résultats obtenus dans le projet AMPERES. En effet, sur 38 substances pharmaceutiques, 19 ont des rendements d'élimination pour le traitement par boues activées supérieurs à 70% dont l'œstrone E1, l'estradiol E2 et l'estriol E3 (rendement moyen supérieur à 90% pour ces trois molécules).

Malgré certaines différences, toutes ces valeurs montrent l'efficacité du traitement par les boues activées sur les œstrogènes (tableau 11). Néanmoins, celles-ci restent à améliorer notamment pour EE2 qui reste le plus toxique.

	E1	E2	E3	EE2
Ternes et coll. 1999 (29)	83%	99%	Non mesuré	78%
Baronti et coll. 2000 (26)	61%	87%	95%	85%
Johnson et coll. 2000 (99)	74%	88%	77%	Non mesuré

**Tableau 12** : Rendements d'élimination des œstrogènes par les boues activées

En France, environ 1,18 million de tonnes de matière sèches de boues de station d'épuration sont produites chaque année. Les boues des station d'épuration peuvent être utilisées comme élément organique pour les sols car elles sont source potentielle de carbone et de nutriments. Elles sont capables de fournir aux sols les éléments nutritifs nécessaires à la culture et peuvent ainsi remplacer ou réduire l'utilisation d'engrais ou produits chimiques. Malgré tout, il convient de s'assurer de l'innocuité de ces épandages vis-à-vis des sols et des autres compartiments de l'environnement, les eaux en particulier. Il est vrai que les boues peuvent être une source d'entrée de contaminants dans la chaîne alimentaire mais aussi vers les systèmes aquatiques par ruissellement. Pour cela, il existe des teneurs limites pour d'éventuelles traces de composés (100). Ces teneurs limites sont présentes pour des substances comme le cuivre, le mercure, le plomb mais aucune législation n'existe pour le moment pour les teneurs en médicaments, alors que la présence de ces composés dans l'environnement pourrait également engendrer des risques pour la santé humaine.

### 3.4. Processus d'oxydation

#### 3.4.1. La photocatalyse

La photocatalyse fait partie des procédés d'oxydation avancée (POA). Son principe repose sur l'activation d'un semi-conducteur à l'aide d'une énergie apportée par les rayons lumineux. Le semi-conducteur est considéré comme un catalyseur. La décomposition et la dégradation de la matière s'effectue à la surface de ce catalyseur où se passe une réaction d'oxydoréduction. Le catalyseur le plus généralement utilisé est le dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ), en raison notamment de la faible énergie nécessaire à son activation. En effet, il semble bien adapté au traitement des eaux car il est biologiquement et chimiquement inerte, facile à utiliser, à produire, et peu coûteux (101).

Différents auteurs ont étudié l'élimination de l'œstradiol E2 par un traitement photocatalytique utilisant ainsi le rayonnement solaire pour éliminer les polluants. Les résultats ont montré que l'oxydation de E2 en milieu aqueux dépend du pH du milieu. Zhang et coll. ont étudié la dégradation photocatalytique sur les effluents d'une station d'épuration en Angleterre sous irradiation solaire (102). En utilisant  $\text{TiO}_2$  comme catalyseur, ils ont

montré qu'au bout de 100 heures d'éclairement, seulement 50% de la concentration initiale en E2 avait disparu. Coleman et coll. ont révélé que le taux de dégradation de E2 augmentait avec le pH pour atteindre un maximum de 98% à une valeur de pH de 7 (103). Au-delà, le taux de dégradation diminue. Des résultats similaires ont été obtenus par Zhang et coll., à un pH de 7,6.

Pour l'éthinylestradiol, les résultats semblent moins prometteurs. Au cours de l'expérience de Oliveira et coll., 10mL d'une solution contenant ce polluant à une concentration initiale de 160 µg/L ont été irradiés pendant 3 heures (104). Les résultats montrent une réduction de seulement 7,5% pour ce polluant, toujours avec TiO<sub>2</sub>. Comme nous avons pu le constater, de nombreux paramètres influencent les rendements d'élimination. Il est important de définir les conditions idéales (pH de la solution, temps d'irradiation, choix du catalyseur par exemple) dans le but d'optimiser ces traitements.

L'objectif est de se tourner vers des procédés capables d'oxyder les contaminants, peu coûteux, faciles à mettre en place et qui utilisent des techniques respectueuses de l'environnement (sans ajout de produits chimiques).

A l'heure actuelle, les stations d'épuration équipées de traitements conventionnels ne permettent pas une élimination complète des contaminants. Une réponse possible à cette problématique est d'intégrer au traitement de cette pollution la mise en œuvre de procédés d'oxydation avancés. Cependant, différents intermédiaires ont été mis en évidence lors de la réaction de dégradation photocatalytique. Certains de ceux-ci présentent une toxicité plus importante encore que l'œstradiol lui-même. Il paraît donc primordial de mieux cerner les intermédiaires réactionnels potentiellement formés au cours de ce mécanisme surtout s'ils se présentent encore plus néfastes que les polluants d'origine (105).

### 3.4.2. La chloration

La chloration est aujourd'hui le procédé de désinfection le plus souvent rencontré. Elle consiste en l'ajout d'espèces chlorées dans les eaux à des doses précises. Un temps de contact suffisant doit être respecté pour une efficacité optimale. La combinaison du chlore et de la matière organique, lorsqu'elle est incomplètement éliminée au cours des étapes précédentes, conduit à la formation de composés qui donnent un goût à l'eau du robinet. On retrouve aussi la présence de produits organo-chlorés potentiellement cancérigènes, pour lesquels la réglementation impose une teneur maximale admissible (limite de qualité qui concerne les trihalométhanes ou THM : 100 µg/L). L'avantage des éléments chlorés est leur coût, leur facilité d'utilisation ainsi que leur effet persistant dans les réseaux.

Huber et coll. ont montré qu'avec une dose de 0,1 mg/L de chlore, il était possible d'oxyder 97% de la concentration initiale en éthinylestadiol EE2 (106). Seulement, au cours de cette réaction, des sous-produits, des substances organochlorées, sont également apparus, comme souligné par Moriyama et coll. (107). De façon similaire au procédé catalytique, il paraît donc important d'effectuer de plus amples investigations pour évaluer l'impact de ces intermédiaires dans l'environnement.

### 3.4.3. L'ozonation

L'ozone  $O_3$  est un oxydant puissant qui permet la dégradation de substances chimiques présentes dans les mélanges gazeux et liquides. Les réactions chimiques peuvent être de deux types :

- Une réaction d'oxydation directe de la substance par la molécule d'ozone. L'avantage de cette réaction est la dégradation très sélective de certains types de substances.
- Une réaction d'oxydation indirecte par les radicaux libres  $HO\cdot$  (oxydants très puissants) formés par la décomposition de l'ozone au contact de l'eau. Ce mode d'action n'est cependant pas sélectif.

Le projet AMPERES a montré l'efficacité de cette filière de traitement, l'estrone E1 étant éliminé à plus de 70% par ozonation. Pour les autres, les valeurs étaient trop proches des limites de quantification et n'ont donc pas été retenues (tableau 10).

Cependant, l'ozone réagit non seulement avec les micropolluants mais aussi avec la matière organique, les nitrites et d'autres composés inorganiques. Cela engendre de nouveau, un risque de formation de sous-produits mais qui dépendent également des conditions de traitement (doses, temps de contact, température). Tout comme avec la photocatalyse et la chloration, le devenir et la toxicité des sous-produits sont encore à établir. De plus, ce traitement est onéreux et entraîne une dégradation souvent incomplète des composés.

Actuellement, des projets de recherche à l'échelle industrielle font surface. Le syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération Parisienne (SIAAP) étudie l'efficacité de différentes techniques de traitement tertiaire à travers, notamment, le suivi du procédé CarboPlus®(108). Ce procédé est basé sur les propriétés de sorption du charbon actif et fonctionne avec une injection de charbon actif en poudre (CAP). Le suivi s'est effectué sur une période de 6 à 24 mois entre 2013 et 2015. Le prototype CarboPlus® est installé au niveau du rejet de la station d'épuration qui traite les eaux usées provenant de Paris intra-muros principalement. Concernant les œstrogènes, sur les 14 campagnes effectuées, l'estrone a pu être quantifié dans 9 campagnes à une concentration de 7 ng/L. Après un temps de contact entre 10 et 20 minutes avec CarboPlus®, son rendement d'élimination est supérieur à 40%. Au global, avec un taux de traitement de 10 g/m<sup>3</sup>, les 113 composés étudiés ont atteint de bons rendements d'élimination. Il a été remarqué que l'augmentation du taux de traitement à 20 g/m<sup>3</sup> permet d'augmenter encore l'efficacité du traitement. Aussi, peu de différences d'abattement ont été observées entre 30, 45 et 60 minutes de contact (109). Pour plusieurs composés, l'abattement obtenu après seulement 5 minutes de contact représente plus de la moitié de l'abattement à 60 minutes. Cela confirme une cinétique d'adsorption rapide des résidus médicamenteux.

Les stations d'épuration actuelles n'ont pas été conçues pour éliminer les micropolluants présents dans les eaux usées tels que les substances pharmaceutiques, les hormones naturelles ou synthétiques. Néanmoins, l'ajout de procédés comme la filtration sur membrane ou l'ozonation pourrait intensifier l'élimination des substances pharmaceutiques. Ces installations restent encore marginales en France, du fait de leur coût, de la difficulté de leur mise en place et du manque de recul sur leur utilisation.

## CONCLUSION

Cette thèse permet de prendre conscience d'un problème émergent qui pourrait avoir des conséquences sur le long terme pour l'Homme et pour l'environnement. Depuis peu de temps, les consommateurs ont pris conscience de la gravité des conséquences environnementales et sanitaires liées aux produits phytosanitaires et aux hydrocarbures. De plus, aujourd'hui nous savons que certains médicaments sont présents dans l'environnement à des concentrations parfois identiques à celles de certains de ces polluants jugés plus « classiques ». Il est donc très important de se préoccuper des rejets de résidus de médicaments dans la nature, d'en évaluer les impacts et risques de façon précise, d'autant plus qu'en raison de leur émission continue, ils sont considérés comme des produits « pseudo-persistants ».

La surveillance des milieux implique l'analyse des médicaments et de leurs métabolites. Les hormones œstrogéniques sont de mieux en mieux détectées grâce à la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie phase liquide. Même si les limites de détection ont déjà été repoussées à des niveaux extrêmement bas, des efforts restent encore à faire, car même à des concentrations infimes, de l'ordre du ng/L, cette pollution n'est pas négligeable. En effet, l'impact au niveau des écosystèmes aquatiques et terrestres sur l'appareil reproducteur a été démontré.

Les médicaments ont prouvé toute leur utilité dans le traitement des maladies humaines ou dans leur prévention mais les malades peuvent en évacuer sous forme inchangée ou de métabolites présentant également une activité biologique. D'une part, il semble qu'une partie trop importante de ces médicaments prescrits soit inutilisée. Il est donc indispensable de rendre plus efficaces les filières de récupération avec incinération finale afin d'éviter leur dissémination dans l'environnement. Les médicaments à usage vétérinaire représentent un risque encore plus direct pour l'environnement car ils sont éliminés directement sur les sols ou dans l'eau par les animaux d'élevage. Il importe aussi, dans la mesure du possible, d'optimiser le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires. L'eau devenant une ressource de plus en plus rare, il est important de la préserver. Actuellement, les eaux usées traitées contiennent encore trop d'éléments indésirables, ce qui représente un frein à leur réutilisation directe.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Gower D. Catabolism and excretion of steroids. In: *Biochemistry of steroid hormones*. Oxford, UK: Makin HLJ; 1975. p. 127–48.
2. Arcand-Hoy LD, Nimrod AC, Benson WH. Endocrine-Modulating Substances in the Environment: Estrogenic Effects of Pharmaceutical Products. *Int J Toxicol*. 1998;17(2):139–58.
3. Liu Z-H, Kanjo Y, Mizutani S. Urinary excretion rates of natural estrogens and androgens from humans, and their occurrence and fate in the environment: a review. *Sci Total Environ*. 2009;407(18):4975–85.
4. Morel Y, Roucher F, Plotton I, Goursaud C, Tardy V, Mallet D. Evolution of steroids during pregnancy: Maternal, placental and fetal synthesis. *Ann Endocrinol*. 2016;77(2):82–9.
5. Pasqualini JR. Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97(5):401–15.
6. Wise A, O'Brien K, Woodruff T. Are Oral Contraceptives a Significant Contributor to the Estrogenicity of Drinking Water? *Environ Sci Technol*. 2011;45(1):51–60.
7. Purba HS, Maggs JL, Orme ML, Back DJ, Park BK. The metabolism of 17 alpha-ethinyloestradiol by human liver microsomes: formation of catechol and chemically reactive metabolites. *Br J Clin Pharmacol*. 1987;23(4):447–53.
8. Maggs JL, Grimmer SF, Orme ML, Breckenridge AM, Park BK, Gilmore IT. The biliary and urinary metabolites of [3H]17 alpha-ethynylestradiol in women. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 1983;13(7):421–31.
9. Aris AZ, Shamsuddin AS, Praveena SM. Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota. 2014.
10. Shiraga T, Niwa T, Ohno Y, Kagayama A. Interindividual variability in 2-hydroxylation, 3-sulfation, and 3-glucuronidation of ethynylestradiol in human liver. *Biol Pharm Bull*. 2004;27(12):1900–6.
11. Rossouw JE, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288(3):321–33.
12. Haute Autorité de Santé. Les traitements hormonaux substitutifs de la ménopause. 2004.
13. VIDAL. Ménopause : traitement hormonal - Prise en charge. 2017.
14. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Analyse des ventes de médicaments en France en 2013. 2014.
15. ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Quelle est la situation actuelle des pilules estroprogestatives en France ? 2017.
16. Beaumont J, Lestremau F. Analyse de substances prioritaires dans les eaux (pesticides par GC/MS/MS) | AQUAREF - Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques. 2011.

17. El Mrabet K. Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. [Paris]: Pierre et Marie Curie;
18. Fang TY, Praveena SM, deBurbure C, Aris AZ, Ismail SNS, Rasdi I. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples. *Chemosphere*. 2016;165:358–68.
19. Aquaref. Hormones estrogéniques : Méthode d'analyse dans l'eau - Phase dissoute. 2013.
20. Agence de l'Eau Artois-Picardie. Le petit cycle de l'eau (cycle domestique). 2015.
21. Assainissement collectif.
22. Agence de l'Eau Artois-Picardie. [Ecole de l'eau] Le fonctionnement d'une station d'épuration.
23. Les Agences de l'Eau. Fiche épuration de l'eau.
24. Commission Européenne. Liste de vigilance relative aux substances soumises à surveillance à l'échelle de l'Union dans le domaine de la politique de l'eau en vertu de la directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil. 2008.
25. Miège C, Choubert JM, Ribeiro L, Eusèbe M, Coquery M. Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants--conception of a database and first results. *Environ Pollut Barking Essex* 1987. 2009;157(5):1721–6.
26. 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(24):5059–66.
27. 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*. 2004;324(1–3):55–66.
28. C. Soulier, et al. Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition et devenir en station d'épuration. *Techniques Sciences Méthodes* numéro 1/2. 2011;
29. Ternes TA, Stumpf M, Mueller J, Haberer K, Wilken RD, Servos M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants--I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci Total Environ*. 1999;225(1-2):81–90.
30. Amalric L, Bados P, Charpentier R, Strub M-P, Lardy-Fontan S. Résultats de l'essai inter laboratoire "résidus de médicaments dans les eaux." 2012.
31. Gabet Giraud V, Miège C, Jacquet R, Coquery M. Impact of wastewater treatment plants on receiving surface waters and a tentative risk evaluation: the case of estrogens and beta blockers. *Environ Sci Pollut Res*. 2014;21(3):p. 1708 – p. 1722.
32. Belfroid AC. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci Total Environ*. 1999;225(1-2):101–8.
33. Adeel M, Song X, Wang Y, Francis D, Yang Y. Environmental Impact of Estrogens on Human, Animal and Plant Life : A Critical Review. *PubMed J*. 2016;

34. Kolpin DW, et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol.* 2002;36(6):1202–11.
35. Andaluri G, Suri RPS, Kumar K. Occurrence of estrogen hormones in biosolids, animal manure and mushroom compost. *Environ Monit Assess.* 2012;184(2):197–205.
36. The United Nations, New York. *World Contraceptive Patterns.* 2013.
37. Isobe T, et al. Horizontal distribution of steroid estrogens in surface sediments in Tokyo Bay. *Environ Pollut Barking Essex* 1987. 2006;144(2):632–8.
38. Ternes TA, Andersen H, Gilberg D, Bonerz M. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. *Anal Chem.* 2002;74(14):3498–504.
39. Liu R, Zhou JL, Wilding A. Microwave-assisted extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of endocrine disrupting chemicals in river sediments. *J Chromatogr A.* 2004;1038(1-2):19–26.
40. Agence de l'Eau Artois-Picardie. *Les médicaments dans les cours d'eau du bassin Artois-Picardie Résultats de la campagne exploratoire 2010.* 2010.
41. Pawlowski S, van Aerle R, Tyler C., Braunbeck T. Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2004;57(3):330–45.
42. Parrott JL, Blunt BR. Life-cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethinylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males. *Environ Toxicol.* 2005;20(2):131–41.
43. Kidd KA, et al. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(21):8897–901.
44. Hansen P-D, et al. Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors. *TrAC Trends Anal Chem.* 1998;17(7):448–51.
45. Ministère de l'Environnement de l'Énergie et de la M, Nord-Picardie C d'Etudes T de l'Équipement, documentaire P d'appui national. *La vitellogénine comme biomarqueur d'exposition et d'effet aux perturbateurs endocriniens chez "gammarus fossarum" et "eurytemora affinis" : développement et application in situ.* 2013.
46. Sanchez W, Bado-Nilles A, Porcher J-M. Fish biomarkers as a powerful tool for investigative monitoring. *Houille Blanche - Rev Int Eau.* 2012;(2):49–54.
47. Jobling S, et al. Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquat Toxicol.* 2004;66(2):207–22.
48. Fenske M, Maack G, Schäfers C, Segner H. An environmentally relevant concentration of estrogen induces arrest of male gonad development in zebrafish, *Danio rerio*. *Environ Toxicol Chem.* 2005;24(5):1088–98.
49. Burton JL, Wells M. The effect of phytoestrogens on the female genital tract. *J Clin Pathol.* 2002;55(6):401–7.

50. Shore L. Effects of Environmental Estrogens on Reproductive Parameters in Domestic Animals. *Isr J Vet Med*.
51. Grgurevic N, Koracin J, Majdic G, Snoj T. Effect of dietary estrogens from bovine milk on blood hormone levels and reproductive organs in mice. *J Dairy Sci*. 2016;99(8):6005–13.
52. Sahoo JK, Das SK, Sethy K, Mishra SK, Swain RK, Mishra PC, et al. Comparative evaluation of hormonal protocol on the performance of crossbred cattle. *Trop Anim Health Prod*. 2017;49(2):259–63.
53. AFSSA. Résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : Volet « Méthodologie générale d'évaluation de l'exposition de l'Homme aux résidus de médicaments via l'eau destinée à la consommation humaine ». 2010.
54. Commission Européenne. Directive n° 98/83/CE du 03/11/98 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine | AIDA. 1998.
55. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Campagne nationale d'analyse des résidus de médicaments dans l'eau : des résultats conformes aux attentes. 2011.
56. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Hiérarchisation des résidus de médicaments d'intérêt pour l'analyse des ressources et des eaux traitées. 2009.
57. Kuch HM, 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(15):3201–6.
58. Fan Z, Hu J, An W, Yang M. Detection and occurrence of chlorinated byproducts of bisphenol a, nonylphenol, and estrogens in drinking water of china: comparison to the parent compounds. *Environ Sci Technol*. 2013;47(19):10841–50.
59. Benotti MJ, Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Stanford BD, Snyder SA. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environ Sci Technol*. 2009;43(3):597–603.
60. Joyeux M. Résidus médicamenteux et risques sanitaires d'origine hydrique. In: *Environnement, Risques et Santé*. 2006.
61. Ternes TA. Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *TrAC Trends Anal Chem*. 2001;20(8):419–34.
62. Webb S, Ternes T, Gibert M, Olejniczak K. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol Lett*. 2003;142(3):157–67.
63. Le système endocrinien ( anatomie rapide). *Physiosciences*. 2015.
64. Jean-Claude A, Claude A-T. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. *Lavoisier*; 2008. 403 p.
65. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Perturbateurs endocriniens. 2017.

66. Commission Européenne. Communiqué de presse - Perturbateurs endocriniens: une avancée majeure pour la protection des citoyens et de l'environnement. 2017.
67. Delfosse V, et al. Synergistic activation of human pregnane X receptor by binary cocktails of pharmaceutical and environmental compounds. *Nat Commun.* 2015;6.
68. Ministères chargés de la santé, du travail, de la consommation et de l'environnement. Rapport au Parlement relatif aux perturbateurs endocriniens. 2014.
69. Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement. Médicament et environnement - La régulation du médicament vis-à-vis du risque environnemental. 2010.
70. Caldwell DJ, Mastrocco F, Anderson PD, Länge R, Sumpter JP. Predicted-no-effect concentrations for the steroid estrogens estrone, 17 $\beta$ -estradiol, estriol, and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol. *Environ Toxicol Chem.* 2012;31(6):1396–406.
71. Besse J-P. Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur: évaluation de l'exposition et des effets pour les écosystèmes d'eau douce. 2010.
72. Webb SF. A Data Based Perspective on the Environmental Risk Assessment of Human Pharmaceuticals II — Aquatic Risk Characterisation. In: Kümmerer K, editor. *Pharmaceuticals in the Environment.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2001. p. 203–19.
73. Caldwell DJ, Mastrocco F, Nowak E, Johnston J, Yekel H, Pfeiffer D, et al. An assessment of potential exposure and risk from estrogens in drinking water. *Environ Health Perspect.* 2010;118(3):338–44.
74. Thorpe KL, et al. Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. *Environ Sci Technol.* 2003;37(6):1142–9.
75. Sanderson H, Brain RA, Johnson DJ, Wilson CJ, Solomon KR. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology.* 2004;203(1–3):27–40.
76. Stockholm County Council. Environmentally Classified Pharmaceuticals 2014-2015 | Health Care Without Harm.
77. Commission Européenne. Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC (Text with EEA relevance). *OJ L, 32001D2455* 2001.
78. Commission Européenne. Directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE. 348, 32008L0105 2008.
79. Commission Européenne. Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. 226, 32013L0039 2013.

80. Commission Européenne. Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council (notified under document C(2015) 1756) Text with EEA relevance. 2015.
81. Cyclamed. Rapport annuel 2015.
82. Defarges TM, et al. Impact des médicaments sur l'environnement : état des lieux, évaluation des risques, communication. *Thérapie*. 2011;66(4):335–40.
83. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Plan National Santé Environnement (PNSE) 2004-2008. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. 2015.
84. Petit K, Teyssie R. Les synthèses techniques de l'office international de l'eau - Synthèse des connaissances sur la présence de substances médicamenteuses dans les milieux aquatiques en France et dans quelques pays. 2013.
85. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Plan National Santé Environnement 2 (PNSE 2) 2009-2013. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. 2015.
86. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Le plan National Santé Environnement 3 (PNSE3) 2015-2019. 2015.
87. Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer. Plan micropolluants 2016 - 2021 pour préserver la qualité des eaux et la biodiversité. 2016.
88. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Plan Cancer 2014-2019 - Ref : PLANKPNRT14 | Institut National Du Cancer. 2014.
89. Ministère de l'Écologie, du Développement durable, et de l'Énergie. Rapport au Parlement relatif aux perturbateurs endocriniens. 2014.
90. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Plan National sur les Résidus de Médicaments dans les eaux (PNRM) 2010-2015 - Les plans d'action nationaux. 2016.
91. Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Bilan du PNRM 2011 - 2015. 2015.
92. Ternes TA, Kreckel P, Mueller J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants — II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci Total Environ*. 1999;225(1–2):91–9.
93. Kumar D, Venkata Mohan S. Endocrine disruptive synthetic estrogen (17 $\alpha$ -ethynylestradiol) removal from aqueous phase through batch and column sorption studies: Mechanistic and kinetic analysis. *Desalination*. 2011;276:66–74.
94. Silva CP, Otero M, Esteves V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water : a review. 2012.
95. Koyuncu I, Arıkan OA, Wiesner MR, Rice C. Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes. *J Membr Sci*. 2008;309(1):94–101.

96. Weber S, Gallenkemper M, Melin T, Dott W, Hollender J. Efficiency of nanofiltration for the elimination of steroids from water. *Water Sci Technol J Int Assoc Water Pollut Res.* 2004;50(5):9–14.
97. Développement durable, Environnement et Lutte contre les changements climatiques. Bilan annuel de conformité environnementale. 2001.
98. Urase T, Kikuta T. Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Res.* 2005;39(7):1289–300.
99. Johnson AC, Belfroid A, Di Corcia AD. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci Total Environ.* 2000;256(2-3):163–73.
100. Commission Européenne. Arrêté du 08/01/98 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 08/12/97 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées | AIDA. 1998.
101. Ribeiro AR, Nunes OC, Pereira MFR, Silva AMT. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. *Environ Int.* 2015 Feb;75:33–51.
102. Zhang Y, Zhou JL, Ning B. Photodegradation of estrone and 17beta-estradiol in water. *Water Res.* 2007;41(1):19–26.
103. Coleman HM, Eggins BR, Byrne JA, Palmer FL, King E. Photocatalytic degradation of 17- $\beta$ -oestradiol on immobilised TiO<sub>2</sub>. *Appl Catal B Environ.* 2000;24(1):L1–5.
104. Oliveira H, D. Silva E, Longo C. TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>/WO<sub>3</sub> porous film electrodes for application in solar energy conversion. *Proc SPIE.* 2009;7408.
105. Mboula VM. Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire. Ecole des Mines de Nantes; 2012.
106. Huber MM, Korhonen S, Ternes TA, von Gunten U. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res.* 2005;39(15):3607–17.
107. Moriyama K, Matsufuji H, Chino M, Takeda M. Identification and behavior of reaction products formed by chlorination of ethynylestradiol. *Chemosphere.* 2004;55(6):839–47.
108. Rocher V, Mailler R, Gasperi J, Coquet Y, Nauleau F, Rousselot O, et al. Élimination des polluants émergents dans les rejets de STEP - 1. Étude du procédé CarboPlus à l'échelle du prototype. *Tech Sci Méthodes.* 2016;(3).
109. Mailler R, Gaspéri J, Coquet Y, Derome C, Buleté A, Vulliet E, et al. Élimination des polluants émergents dans les rejets de STEP - 2. Étude expérimentale des processus de sorption sur le charbon actif. *Tech Sci Méthodes.* 2016;(3):28–40.

DEROO Marine

**Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

**Université de Picardie Jules Verne**

**2017**

**Mots clé :** hormones, œstrogènes, œstrone, œstradiol, œstriol, éthinylestradiol, médicaments, micropolluants, environnement, pollution, eau, station d'épuration

**Résumé :**

Cette thèse s'intéresse dans un premier temps à la contamination de l'environnement par les hormones œstrogéniques. C'est pourquoi, nous détaillons dans un premier temps les caractéristiques de chacune des hormones, qu'elles soient d'origine naturelle (œstrone, œstradiol et œstriol) ou synthétique (éthinylestradiol) ainsi que les méthodes d'analyse les plus utilisées ; la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie phase liquide tout particulièrement. Nous explicitons notamment les aspects quantitatifs de cette pollution, en entrée de station d'épuration, ou à leur sortie. De la même manière, nous résumerons les travaux qui rapportent leur présence dans les eaux de surface et sédiments.

Ayant établi leur présence dans l'environnement dans la première partie, nous soulignons, dans un deuxième temps, quel est l'impact de cette pollution auprès des écosystèmes aquatiques et terrestres. A travers l'eau destinée à la consommation humaine, il existerait aussi un éventuel risque pour l'Homme. Enfin, nous évoquons le potentiel effet perturbateur endocrinien des œstrogènes.

Pour finir, nous expliquons comment il est possible, à l'heure actuelle, de remédier à cette pollution. Notamment, à travers de nombreux plans environnementaux, lancés par les autorités. Ces dernières mènent des actions pour lutter contre ce type de pollution et aussi, étendre la prise de conscience sur l'enjeu environnemental et sanitaire. Dans les stations d'épuration, de nouveaux traitements voient le jour. Le coût et le manque de recul vis-à-vis de ces dernières technologies freinent néanmoins leurs avancées.

**JURY**

**Présidente :** M<sup>me</sup> Déborah CLOSSET-KOPP, Maître de Conférences à l'UFR de Pharmacie

**Membres :** M. Emmanuel Baudrin, Professeur à l'UFR de Pharmacie

M. Thierry Cockenpot, Docteur en Pharmacie

M<sup>me</sup> Clotilde Fasquelle, Docteur en Pharmacie