



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

"Endocrinair"

Air contamination by endocrine disruptors in the "Ile-de-France" region
and characterization of associated toxic effects

Programme PNRPE
Rapport de fin de contrat

Laboratoire Hydrologie et Environnement - EPHE
UMR Sisyphe 7619 Tour 56, 4ème étage - case 105
4, place Jussieu 75252 Paris cedex 05
Responsable du projet : Marc Chevreuil
Courriel : marc.chevreuil@upmc.fr
Téléphone : 01 44 27 70 24 / 51 38
Télécopie : 01 44 27 45 88

Laboratoires partenaires
UMR 8079-Groupe Santé Publique – Environnement
Faculté de pharmacie- Univ. Paris sud
UMR MA-102 – LEESU
Université Paris-Est Créteil UPEC

Date : 25/04/2013

Université Pierre et Marie Curie
N° de Convention : 0962C0056-0-1 Date de notification: 1^{er} septembre 2009
Université. Paris Sud
N° de Convention : 09 62 C 0005 Date de notification: 24 septembre 2009

Table des Matières

Rapport de synthèse

1. Contexte général : situation du sujet et enjeux du projet.
2. Objectifs généraux du projet.
3. Eléments méthodologiques et difficultés rencontrées.
4. Comportement de la contamination de l'air extérieur et de l'air intérieur.
5. Etude toxicologique de l'air extérieur et de l'air intérieur.
 - Perturbations estrogéniques et thyroïdiennes.
 - Hiérarchisation des risques de perturbations endocriniennes suivant la phase gazeuse et la phase particulaire de l'air.
6. Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques et valorisation.
7. Partenariats.
8. Pour en savoir plus.

- **Résumés et mots clés** français anglais.

Rapport de synthèse

1. Contexte général : situation du sujet et enjeux du projet

La contamination permanente du compartiment atmosphérique par de nombreux composés organiques volatils et semi-volatils (COSV) dont certains sont des perturbateurs endocriniens (PE), soulève de nouvelles interrogations sociétales quant à l'ampleur de l'exposition de l'Homme à des mélanges à faibles doses et aux risques sanitaires qui en découlent. Les matériaux et les produits de consommation contiennent entre autres des composés xénobiotiques, halogénés ou non aux effets PE. Ces derniers n'étant pas en général chimiquement liés aux matrices, il s'ensuit des émissions permanentes par processus de volatilisation passive et une exposition humaine, principalement par inhalation de la phase gazeuse. Par ailleurs, la diversité des sources d'émission à l'intérieur des locaux s'est fortement accrue au cours des dernières décennies. Elles comprennent les matériaux et revêtements intérieurs : sols en vinyle, peintures, revêtements muraux qui constituent des sources de plastifiants (phtalates). Ces derniers peuvent aussi être émis à partir d'objets usuels et de mobiliers en PVC. Les équipements électriques et électroniques, notamment anciens, constituent par ailleurs, des sources de volatilisation de PCB et de retardateurs de flammes (PBDE, TBBPA). De même, des produits détergents et les polystyrènes peuvent être à l'origine de l'émission de composés utilisés comme tensio-actifs (alkylphénols).

Cependant, en dépit de l'existence de ces nombreuses sources d'émission, la présence de composés xénobiotiques dans l'air ambiant n'a fait l'objet que de rares travaux, principalement réalisés à l'étranger. En effet, les effets PE de ces composés ne sont connus que depuis une quinzaine d'années. Ainsi, il n'existe actuellement pas de protocole validé pour la caractérisation de leur niveau de concentrations dans l'environnement, ou de leur potentiel toxique. Il est ainsi nécessaire d'aboutir à une meilleure connaissance des transferts de PE dans l'air ambiant, intérieur ou extérieur vers l'Homme et d'évaluer en parallèle les risques liés à leur inhalation *via* la phase gazeuse et/ou la phase particulaire. A noter que la voie respiratoire est toujours considérée comme négligeable devant la voie alimentaire, alors que l'inhalation n'est pas documentée (INSERM, 2010)¹. Seule l'inhalation des particules en suspension est prise en considération, alors qu'il s'agit souvent d'une forme mineure d'exposition, surtout à l'intérieur des locaux d'habitation où les concentrations en particules fines peuvent être plus faibles qu'à l'extérieur (Matson, 2005)².

Par contre, la voie alimentaire est souvent majorée par des scénarios alimentaires qui ne prennent en compte que des aliments, parfois très contaminés et qui n'intègrent pas les paramètres qui atténuent fortement cette voie d'exposition : habitudes domestiques (lavage, cuisson), biodégradation potentielle des molécules ingérées et bio-accessibilité à partir des aliments ingérés.

Pour le volet de "*Chimie environnementale*", le premier enjeu et l'aspect innovant résidaient dans la réalisation de la première recherche au plan national concernant la contamination de l'air ambiant à partir des deux phases atmosphériques inhalées, gazeuse et particulaire. Le deuxième enjeu résultait dans la diversité des groupes chimiques auxquels appartiennent les 60 molécules PE étudiées dont les niveaux de concentration attendus dans l'air se situent entre quelques pg et le $\mu\text{g m}^{-3}$.

A noter que les bactéricides du groupe des parabènes n'étaient pas prévus dans le projet et ont pu être inclus en cours de réalisation du programme. De ce fait, les résultats fournis ne concernent que l'air intérieur.

De plus, il s'agissait de pouvoir échantillonner simultanément en extérieur et en intérieur, deux stations d'*Airparif* et en intérieur, trois locaux. L'étude a ainsi permis la caractérisation des niveaux de contamination de dix groupes de PE halogénés ou non (PBDE / TBBPA / PCB / HCB / HAP / phtalates / bisphénol A / alkylphénols / parabènes) dans différents lieux de vie (extérieur et intérieur) intégrant deux catégories de la

¹ INSERM (2010). Bisphénol A, effets sur la reproduction. Instituts thématiques Inserm, rapport préliminaire expertise collective, 2 juin 2010, 90 p.

² Matson U., 2005. Indoor and outdoor concentration of ultrafine particles in some Scandinavia rural and urban areas. *Sci of the Tot Environ* 343 : 169-176.

population urbaine (adultes et enfants). Cette approche devait conduire à hiérarchiser suivant les composés, l'importance relative de l'exposition en fonction des milieux ouverts et fermés ainsi que celle de sources internes et externes identifiées. La mise en place en parallèle, de "Préleveurs Passifs" et leur validation pour l'échantillonnage de la phase gazeuse constituait un autre enjeu au plan méthodologique.

Pour le volet de réalisation "Tests biologiques", les enjeux reposaient dans la possibilité de mettre en œuvre un groupe d'essais biologiques *in vitro* et d'obtenir des réponses permettant de hiérarchiser l'importance relative du potentiel perturbateur endocrinien de deux matrices atmosphériques à l'intérieur et à l'extérieur de locaux. Les essais toxicologiques, correspondant à des mesures *in vitro* de perturbations de l'activité transcriptionnelle des récepteurs aux estrogènes (ER), aux androgènes (AR) et aux hormones thyroïdiennes (TR), devaient pouvoir être conduits sur des extraits communs avec l'analyse chimique. La recherche de liens entre les résultats des essais biologiques et la présence de contaminants identifiés était par ailleurs novatrice pour les matrices atmosphériques.

2. Objectifs généraux du projet

Le premier objectif de l'évaluation du risque sanitaire lié à l'inhalation des PE en milieu urbain, reposait sur une approche de "Chimie environnementale" dont l'objectif principal était de caractériser les niveaux de contamination. La réalisation du projet a intégré l'étude de diverses familles de molécules halogénées ou non, aux effets PE, dont la présence en phase gazeuse comme en phase particulaire a été étudiée dans différents lieux de vie (extérieur et intérieur) pour deux catégories de population urbaine (adultes et jeunes enfants). L'acquisition de données environnementales sur la contamination de l'air devait ainsi permettre d'améliorer les connaissances sur sa variabilité, suivant le type d'environnement des stations de prélèvement extérieures (centre urbain/banlieue/forêt), ainsi que suivant la destination d'occupation de trois types de bâtiments (appartement/bureau/crèche). D'autre part les périodes de prélèvements ont été choisies en conditions thermiquement contrastées en été/hiver puis en été/automne/hiver, ce qui a permis d'évaluer l'importance relative des modes d'émission par processus de volatilisation passive et/ou processus de combustion.

Cette étude exploratoire, notamment à l'intérieur de bâtiments, devait permettre d'élaborer les premières hypothèses sur l'incidence d'une part, de l'environnement extérieur et d'autre part, de la nature des habitats et de leur affectation, sur la contamination de l'air inhalé et l'exposition de ses occupants.

Le deuxième objectif était de caractériser le danger sanitaire potentiel de la contamination atmosphérique par la "mesure d'effets biologiques". En effet, des perturbations endocriniennes avaient déjà été observées dans les populations animales ou humaines au niveau des systèmes hormonaux. Il était ainsi nécessaire de caractériser la toxicité de deux matrices atmosphériques : la phase gazeuse et la phase particulaire. Les essais biologiques permettent une approche toxicologique tout en constituant le seul moyen d'évaluer l'effet global induit par les mélanges. Le potentiel « PE » des matrices atmosphériques gazeuse et particulaire, a ainsi été étudié *in vitro* par la mesure de la perturbation de l'activité transcriptionnelle dépendante des récepteurs nucléaires aux hormones estrogéniques, thyroïdiennes et androgéniques, voir même aux glucocorticoïdes. Ces derniers sont en effet fortement impliqués dans la réaction inflammatoire de certaines pathologies respiratoires.

Le troisième objectif résidait dans la réalisation d'une "approche transversale" aux deux précédentes et dans l'intégration des données en chimie et en biologie afin de permettre une meilleure caractérisation de l'exposition de la population générale avec l'objectif final de réaliser une démarche préalable à une évaluation de risque sanitaire (ERS).

3. Eléments méthodologiques et difficultés rencontrées

- Protocole méthodologique mis en œuvre pour la réalisation des prélèvements et pour l'analyse chimique

Deux méthodes de prélèvements d'air ont été utilisées, un système actif "*grand volume*" pour les volets "*Chimie*" et "*Biologie*" doublé d'un système passif pour le volet "*Chimie*" uniquement.

La recherche de composés semi-volatils présents dans l'air ambiant à l'état de traces, en phase gazeuse et en phase particulaire, impose de prélever d'importants volumes d'air, de l'ordre de plusieurs centaines de m³

(technique de prélèvement "Grand Volume"). Les paramètres communs à l'échantillonnage d'air à l'extérieur et à l'intérieur de locaux sont les suivants.

L'air échantillonné avec un système de prélèvement actif par aspiration (pompe à palettes sèches) traverse un dispositif constitué d'un support de filtre ouvert en aluminium ou inox. Le prélèvement des aérosols particuliers est réalisé en mode TSP (*Total Suspended Particles*) sur des filtres en quartz préalablement calcinés.

La phase gazeuse est retenue sur un adsorbant de type résine Amberlite XAD2 dont les blancs analytiques sont compatibles avec l'analyse de tous les composés, notamment certains phtalates.

La vitesse linéaire de l'air à travers le dispositif n'excède pas 150 cm/s afin, d'une part, d'assurer une efficacité de rétention optimale de l'ordre de 100% vis-à-vis des composés étudiés et, d'autre part, de minimiser la possibilité de désorption au cours des échantillonnages d'une durée de 14 jours. La réalisation d'une campagne de validation méthodologique a permis de vérifier que la capacité de rétention du dispositif vis-à-vis de la phase gazeuse des molécules étudiées était très satisfaisante, avec environ 90 % du total adsorbé, dès la première cartouche (voir rapport intermédiaire).

Le système de prélèvement d'air passif est composé d'un support en aluminium en forme de cloche, contenant un disque en mousse de polyuréthane. Ce disque atteint l'équilibre de concentration avec l'air ambiant en 8 semaines à quelques mois, suivant les molécules. Les disques sont installés sur sites pendant 4 à 6 semaines, afin qu'ils demeurent en phase d'accumulation avant atteinte de la phase d'équilibre. Avant déploiement du préleveur, des composés de référence, deutérés ou absents dans l'environnement, sont ajoutés aux disques pour évaluer le volume d'air équivalent échantillonné. Par ailleurs, un blanc terrain est également réalisé, par type d'échantillonnage et de prélèvement. Les volumes d'air échantillonnés dépendent principalement de la circulation de l'air au voisinage du dispositif, de la température et du coefficient de partage octanol-air de chaque molécule. Ces volumes seront donc variables en fonction des sites (extérieur-intérieur), de la saison et de chaque composé.

Les adsorbants et filtres sont extraits séparément dans des Soxhlets ou par percolation puis, concentrés et purifiés sur des cartouches de florisol et silice-alumine et enfin, analysés par techniques chromatographiques (GC/MS, GC/MSMS ou LC/MSMS).

- Protocole méthodologique mis en œuvre pour la réalisation des essais biologiques

Trois tests cellulaires ont été utilisés pour évaluer le potentiel perturbateur endocrinien (PE) des phases gazeuse et particulaire de l'air ambiant : les tests MELN, PC-DR-LUC et MDA-kb2 permettant respectivement de mesurer les perturbations de l'activité transcriptionnelle du récepteur estrogénique (ER) au 17 β -estradiol (E2), du récepteur thyroïdien (TR) à la triiodothyronine (T3) et du récepteur androgénique (AR) à la dihydrotestostérone (DHT) ou du récepteur aux glucocorticoïdes (GR), l'élément de réponse contrôlant l'expression du gène rapporteur luciférase étant commun aux androgènes et aux glucocorticoïdes dans les cellules MDA-kb2. En effet, ces trois types cellulaires ont été transfectés avec un gène rapporteur à la luciférase sous la dépendance d'éléments de réponse aux hormones endocrines.

Les cellules ont été exposées pendant 20 h aux échantillons, en absence ou en présence du ligand hormonal des récepteurs, permettant d'évaluer respectivement leur potentiel agoniste de l'activité des récepteurs et leur potentiel hormono-compétitif, de type antagoniste lorsqu'ils diminuent l'activité hormonale ou de type surinducteur lorsqu'ils l'augmentent. Les activités transcriptionnelles sont ensuite mesurées en luminescence, le signal produit étant proportionnel à la quantité de luciférase synthétisée. La viabilité cellulaire est également mesurée afin de vérifier l'absence de toxicité induite par les concentrations d'échantillon testées (test au Bleu Alamar).

Les résultats correspondent à la moyenne de 2 à 4 répétitions d'expérience, à raison de 4 à 5 points de répétition de mesure par condition testée en plaques de culture à 96 puits. Ils sont exprimés en activité luciférase relative (ou RLU pour Relative Luminescent Unit) par rapport au contrôle, le diméthylsulfoxyde (DMSO), solvant des échantillons pour les essais biologiques. Les paramètres de la régression de Hill de la sigmoïde obtenue pour chaque gamme d'étalonnage réalisée en parallèle de chaque expérience ont permis de réaliser le cas échéant une évaluation quantitative de l'activité des extraits, exprimée en équivalents (éq.) toxiques (TEQ) ramenés au m³ d'air : en pg.m⁻³ d'éq. E2 pour les effets estrogéniques, en pg.m⁻³ d'éq. T3 pour les effets thyroïdiens, en pg.m⁻³ d'éq. DHT pour les effets androgéniques et en ng.m⁻³ d'éq. Flut pour les effets anti-androgéniques. Les activités de type surinducteur sont exprimées en RLU et comparées à

l'activité RLU de l'hormone égale à 1,00. Seules les activités des échantillons ayant engendré une réponse RLU significativement différente du témoin DMSO ou du témoin DMSO + hormone (test t de Student) sont considérées comme détectables et peuvent prétendre à être quantifiées. La significativité de l'activité RLU des extraits par rapport à celle des blancs d'extraction correspondants a également été évaluée par le test t de Student.

- Difficultés rencontrées

La première phase expérimentale sur "*sites ateliers*" concernant deux stations extérieures d'*Airparif* (Paris 13^{ème} et Fontainebleau), a été réalisée en été 2010 puis en hiver 2010/2011. Elle a été suivie d'une seconde phase expérimentale, prenant en compte deux sites extérieurs d'*Airparif* (Paris 13^{ème} et Lognes), (urbain, périurbain) et les 3 types de bâtiments (appartement/bureau/crèche). Elle devait être réalisée comme la précédente, mais la réalisation conjointe des prélèvements intérieur et extérieur a été décalée sur l'automne 2011 et l'hiver 2011/2012, seuls les prélèvements extérieurs ayant pu démarrer en été. Il en a résulté un échantillonnage extérieur supplémentaire sur Paris et Lognes en juin-juillet 2011.

Il faut mentionner la réticence et la crainte des administrations sanitaires et des gestionnaires de locaux à autoriser de tels prélèvements dans des bâtiments publics, notamment les crèches. De ce fait, la campagne air intérieur a été retardée de plus de trois mois, afin de trouver une solution de remplacement aux sites initialement envisagés avec le CSTB, le LHVP entre autres n'ayant pas répondu à ses sollicitations. Par ailleurs, il est également particulièrement difficile de trouver des volontaires pour la réalisation d'études à l'intérieur de locaux d'habitation, en raison de la nuisance sonore des pompes.

Par ailleurs, des composés comme le TBBPA, bien que décelés dans la plupart des échantillons, n'ont pu être que rarement quantifiés, en raison de concentrations ambiantes très faibles, avoisinant nos limites de quantification. De même les concentrations de deux groupes d'isomères de phtalates, DINP et DIDP ne sont données qu'à titre indicatif et ne sont pas discutées, en raison de leurs mauvaises résolutions chromatographiques. Pour les HAP, les prélèvements d'air intérieur montraient la présence de molécules interférentes de faible poids moléculaire à des niveaux plus élevés que l'air extérieur. Les résultats tiennent compte de ces difficultés et seules les concentrations validées ont été indiquées.

Pour le volet "tests biologiques", les essais préliminaires concluaient à une absence d'activité significative pour les blancs échantillons, confirmant ainsi la qualité des protocoles d'échantillonnage et de traitement des échantillons qui ne contaminent pas les extraits. Mais au cours de l'étude proprement dite, certains blancs d'extraction ont engendré un effet PE significatif, parfois quantifiable.

Il importait également de trouver la concentration de l'extrait qui n'induit aucune toxicité cellulaire, concentration pouvant être variable entre tests cellulaires et entre type d'échantillons. La difficulté fut donc de trouver la concentration d'extrait qui n'engendre à la fois aucune toxicité cellulaire, une activité PE significative tout en ayant un blanc inactif. Ce fut le cas notamment pour les essais sur cellules PC-DR-LUC, du fait des faibles niveaux d'activité luciférase engendrés.

L'interprétation des résultats des essais biologiques reste complexe, d'une part en raison de la possibilité d'effets PE induits par d'autres composés que ceux recherchés et d'autre part de la difficulté à pouvoir interpréter les effets d'interaction entre contaminants dans un mélange : additivité, antagonisme ou synergie d'action. Pour cette dernière raison, dans cette étude les phases gazeuses et particulières n'ont pas été testées regroupées, ni leurs activités additionnées.

Par ailleurs, la part des effets observés sur cellules MDA-kb2 attribuable à la voie des récepteurs aux glucocorticoïdes reste encore à démontrer. En effet, le fait que l'élément de réponse soit commun aux récepteurs AR et GR complique la démarche pour répondre à la question, que ce soit pour les effets de type agoniste ou hormono-compétitif. De plus, les expérimentations ont pris plus de temps que prévu, en raison de problèmes inhérents au travail avec du matériel biologique (vitalité des cellules, variabilité des résultats d'une expérience à l'autre...). En outre, le temps nécessaire pour implanter la culture des cellules MDA-kb2 au laboratoire est également à prendre en considération.

A noter que la survenue de deux maternités au cours de la réalisation du programme a successivement retardé la réalisation des objectifs.

4. Comportement de la contamination de l'air extérieur et de l'air intérieur

Les protocoles expérimentaux mis en œuvre pour cette étude se sont avérés satisfaisants à la réalisation des objectifs fixés. Par ailleurs, les résultats obtenus sont le plus souvent conformes à la fois aux propriétés des molécules, aux conditions expérimentales et aux données de la littérature scientifique internationale.

- Air extérieur

Ainsi, exception faite du TBBPA, un retardateur de flammes qui a seulement pu être décelé sans être quantifié, tous les autres composés recherchés (phtalates, BPA, alkylphénols, PCB, PBDE, HCB, PeCB et HAP) ont toujours pu être quantifiés. Ces COSV sont également ubiquistes en milieu forestier (Fontainebleau) comme en centre urbain (Paris) ou en banlieue (Lognes) et cela pour chaque période de prélèvement.

Les phtalates constituent le premier groupe de contaminants par ordre d'importance avec des concentrations de l'ordre de 10 à 100 ng m⁻³. Ils sont suivis par les HAP, puis les alkylphénols avec des concentrations avoisinant 1 ng m⁻³. La contamination en BPA est beaucoup plus faible, avec des concentrations seulement de l'ordre de 0,1 ng m⁻³. En dehors des HAP, dont les émissions sont plus élevées en saison froide avec le fonctionnement du chauffage urbain, les autres COSV présentent un cycle saisonnier marqué par des concentrations atmosphériques d'autant plus importantes que les températures sont élevées et les conditions météorologiques non dispersives. L'évolution saisonnière des concentrations été/hiver est plus marquée en milieu urbain pour des molécules volatiles, qui en sont principalement issues, tels les phtalates, avec une concentration totale moyenne à Paris de 150 ng m⁻³ en été et qui chute à 16 ng m⁻³ en hiver. La variabilité des niveaux de concentration est plus ou moins importante suivant les années et la catégorie de molécules dont certaines comme les PCB ou l'HCB peuvent être également émises lors de processus de combustion. Il en résulte que leur cycle d'émission est moins contrasté que celui de molécules, dont l'importance de la volatilisation passive est liée à celle de l'insolation et de la température ambiante qui accroît leurs pressions de vapeur.

Les résultats de la seconde campagne réalisée au cours de trois saisons, été 2011, automne 2011 et hiver 2011/2012 ont confirmé la plupart de ceux obtenus au cours de la première, été 2010, hiver 2010/2011. Ils permettent de valider l'ordre de grandeur des niveaux de concentration et leur hiérarchie suivant les molécules, ainsi que les compositions des différentes familles.

Les niveaux de contaminations enregistrés à Fontainebleau sont plus faibles que ceux de Paris.

Les concentrations en alkylphénols diminuent ainsi dans un rapport de 1 à 3 et celles en phtalates dans celui de 1 à 5. Par contre, pour les PCB, des polluants organiques persistants et d'origines plus diffuses, la différence n'est que de l'ordre d'un facteur 2.

La contamination en COSV au niveau de l'agglomération "Est de Paris" à la station de Lognes (77) est globalement inférieure à celle déterminée dans la capitale. La densité de population est le premier paramètre influençant l'émission de COSV en milieu urbain et elle y est plus faible avec 4300 hab km⁻², contre environ 20 000 hab km⁻² pour "Paris intra-muros". Cependant, compte tenu de sa proximité avec Paris (20 km) et de sa situation en périphérie d'une agglomération particulièrement dense et importante, les ordres de grandeur de concentrations à Lognes sont similaires à ceux de Paris. Ces dernières y sont plus variables en étant équivalentes, voire supérieures, selon les conditions météorologiques. A titre d'exemple, la faible différence de contamination entre les stations de Lognes et de Paris, vis-à-vis des HAP, peut s'expliquer non seulement par sa localisation en zone urbaine, mais également par la présence de zones industrielles et la délimitation du secteur d'étude par de grands axes de circulation, autoroutes et voies rapides. L'évolution de la contamination en HAP suit celle de Paris, avec un accroissement d'au moins un facteur 2 en période de chauffage et une concentration totale qui augmente de 0,5 ng m⁻³ à 1,2 ng m⁻³.

Les concentrations mesurées par le capteur passif en air extérieur sont du même ordre de grandeur que celles mesurées par le système dynamique. Néanmoins les volumes d'air échantillonnés par le système passif sont plus faibles, les limites de détection sont donc plus élevées par rapport à un système actif. De plus, ce système permet d'intégrer une période (un mois). Par contre pour des durées d'échantillonnage plus courtes le système actif est plus adapté pour observer des pics de concentration,.

Les ingénieurs météorologistes d'*Airparif* ont apporté leurs compétences en matière d'analyse de la contamination en PM10 et NO₂, en fonction de la circulation des masses d'air et des conditions atmosphériques plus ou moins dispersives suivant les paramètres météorologiques.

Au regard de l'importance du nombre de résultats concernant les COSV, seuls ceux des PCB sur Paris ont été exploités à titre de comparaison avec ces deux polluants majeurs car les PCB sont relativement rémanents dans l'air ambiant et leur émission est *a priori* non dépendante d'activité humaine saisonnière. La confrontation des concentrations en PCB_i avec l'évolution des contaminants PM10 et NO₂ montre que l'évolution des concentrations en micropolluants n'est pas uniquement régie selon les principaux facteurs météorologiques pouvant expliquer la variabilité de ces deux polluants atmosphériques. Les tendances évolutives des trois paramètres coïncident seulement lors des prélèvements d'automne 2011. Cette saison a notamment intégré, lors de la première période, un ensemble de conditions météorologiques très favorables à des concentrations relativement élevées en polluants et en PCB (PM10 : 34 µg m⁻³, NO₂ : 51 µg m⁻³, PCB : 0,290 ng m⁻³). Ainsi, du 22 septembre au 4 octobre, les masses d'air ont stagné en milieu continental. Des vents faibles ou modérés ont été couplés à des couches d'inversion de température, celle-ci ayant atteint une moyenne de 20°C, valeur favorable à l'émission de PCB par volatilisation passive à partir de sites ou matériaux contaminés.

Par ailleurs, contrairement aux *a priori* concernant les COSV et leurs mesures sur les seuls aérosols particulaires, il ressort qu'en dehors d'épisodes thermiques particulièrement froids et de périodes de fortes contamination en particules, la plupart des contaminants ici étudiés se trouvent être majoritairement présents dans la phase gazeuse de l'air ambiant. Ainsi, la proportion moyenne d'alkylphénols ou de PCB n'est jamais inférieure à 75%, proportion qui peut atteindre plus de 90% lors de certaines périodes. Cependant, d'autres composés comme le DEHP, voient leur distribution évoluer en faveur de la phase particulaire en saison froide jusqu'à 80%. De même, des HAP peu volatils comme le BaP, présent dans les deux phases en période estivale est davantage quantifié dans la phase particulaire en période hivernale. Toutefois, même si des températures élevées et de faibles concentrations en aérosols, constituent des éléments favorables à une répartition en faveur de la phase gazeuse, la détermination des conditions atmosphériques contrôlant cette répartition reste complexe. Cette dernière est en effet assujettie à d'autres paramètres environnementaux ou dépendant des activités humaines : nature et diamètre des aérosols particulaires, hygrométrie, processus d'émission etc....

- Air intérieur

Dans les trois habitats, bureau, appartement et crèche et pour les six prélèvements répartis sur les deux saisons, tous les composés recherchés (phtalates, BPA, alkylphénols, PCB, PBDE, HCB, PeCB et HAP) ont toujours pu être quantifiés, à l'exception du TBBPA dans les échantillons concomitants d'air extérieur. A noter que les prélèvements d'air intérieur ont également fait l'objet de la caractérisation initialement non prévue des parabènes, dont le développement analytique a été effectué au cours de la réalisation du projet. Ces bactéricides se sont révélés être également ubiquistes dans tous les intérieurs.

Si les phtalates constituent comme pour l'air extérieur, le premier groupe de contaminants, la hiérarchie des niveaux de concentration diffère de celle de l'air extérieur en raison de la présence de sources d'émissions spécifiquement interne ou externe pour certains contaminants. Ainsi, les HAP qui constituaient en moyenne, le deuxième groupe de contaminants par ordre d'importance dans l'air ambiant à Paris, ne le sont plus qu'en hiver, étant devancés par les PCB hors période de fonctionnement du chauffage urbain.

Les concentrations des PE déterminées à l'intérieur des habitats sont en général très supérieures à celles déterminées conjointement en milieu extérieur à Paris 13^{ème}, hormis pour les HAP dont les concentrations externes demeurent supérieures à celles des locaux, à une exception près. Les concentrations totales en phtalates sont de 10 à 20 fois supérieures à celle de l'air extérieur approchant 1 µg m⁻³. Par contre, les concentrations en DEHP, dont les sources sont davantage liées aux matériaux en PVC, demeurent du même ordre de grandeur. Les écarts sont encore plus importants pour les alkylphénols, dont les concentrations les plus élevées sont enregistrées à la crèche et sont jusqu'à 60 fois supérieures à la concentration externe. Les concentrations internes en PCB augmentent aussi, de l'ordre d'un facteur 10, excepté pour l'appartement.

En conditions intérieures, avec des températures internes relativement stables, oscillant autour de 20 à 21°C et des concentrations en aérosols relativement faibles, n'excédant pas 20 à 25 µg m⁻³, les concentrations de

toutes les molécules sont relativement stables et diminuent d'automne en hiver, tout au plus d'un facteur 3 pour le BPA, alors que celles en HAP augmenteraient dans le même rapport.

La contamination par les parabènes, principalement liée à la présence de méthyl-parabène est également relativement constante. Les concentrations se situent à des niveaux de l'ordre de 1 à 2 ng m⁻³ dans les locaux collectifs.

Concernant les prélèvements effectués par le système passif, les concentrations sont sous-estimées par rapport à celles mesurées *via* le système dynamique. Les volumes d'air échantillonnés, calculés à partir des composés de référence, montrent que la circulation de l'air a été importante et cela expliquerait la sous-estimation. En revanche, la répartition des molécules au sein de chaque famille est similaire à celle observée avec le système dynamique. Ainsi, pour les parabènes, les concentrations les plus fortes sont observées avec le méthyl-parabène, suivi du propyl-parabène, dans les deux cas.

Le système passif présente de nombreux avantages en air intérieur dont : absence de bruit, pas de coût énergétique et facilité d'utilisation. Il reste néanmoins à tester les différents systèmes (design) afin de choisir le plus adapté pour l'air intérieur. Les résultats obtenus avec ce type de préleveur confirment la répartition des molécules dans l'air intérieur.

L'exposition aux COSV par inhalation à l'intérieur de la crèche est ici la plus élevée, notamment par la présence de phtalates les plus légers (DiBP et DEP), d'alkylphénols et de parabènes, probablement issus des matériaux et/ou du mobilier, ainsi que de l'usage plus fréquent de détergents et de produits bactéricides. L'atmosphère de l'appartement est dans son ensemble la moins contaminée, probablement en raison d'une moindre proportion de revêtements synthétiques, d'équipements électroniques en fonctionnement, d'une localisation à l'écart du trafic urbain, d'aérations régulières etc...

Les conditions environnementales internes sont relativement favorables à une prédominance générale des COSV à l'état gazeux. Pour les phtalates (DEHP exclu), elle représente pour le bureau et la crèche 87 % en automne et 70% en hiver et respectivement jusqu'à 98 et 78 % pour l'appartement. La présence des alkylphénols est presque exclusivement en phase gazeuse dans une proportion comprise entre 92 et 99 %, indépendamment des milieux et de leur niveau de contamination. Il en est de même pour les PCBi, avec suivant les locaux de 96 à 100% en été et de 90 à 99% en hiver. Ces proportions dans la répartition des COSV entre la phase gazeuse et la phase particulaire les rendent particulièrement biodisponibles.

Par contre, la présence exclusive ou quasi exclusive de certains composés en phase particulaire tend à justifier le choix méthodologique d'échantillonner l'air ambiant à une vitesse linéaire inférieure à 150 cm/s, valeur retenue afin de réduire au maximum le risque de désorption de molécules à partir du filtre vers l'adsorbant de la phase gazeuse et/ou à partir de l'adsorbant. Ainsi, le DEHP est majoritairement présent en phase particulaire dans le bureau et la crèche, dans une proportion commune de 70%, puis de 78 et 98%. De la même manière, le BDE 209, composé le moins volatil ou le BaP, sont en hiver presque exclusivement rencontrés en phase particulaire.

5. Potentiel perturbateur endocrinien de l'air extérieur et de l'air intérieur

- Air extérieur

En dépit des difficultés rencontrées (toxicité d'échantillons et activité de certains blancs notamment), les protocoles expérimentaux mis en œuvre ont permis d'obtenir des échantillons d'air suffisamment concentrés en contaminants pour observer des niveaux d'activité transcriptionnelle significatifs et quantifiables dans la majorité des cas. Les résultats du volet "Biologie" ont ainsi pu répondre aux objectifs du projet et sont cohérents avec ceux du volet "Chimie". Pour chaque campagne, le potentiel perturbateur endocrinien de l'air a pu être mis en évidence. Conformément à la littérature, le potentiel perturbateur endocrinien de la phase gazeuse est en général supérieur à celui de la phase particulaire. La répartition globale des activités entre les phases et selon les saisons est également en accord avec celle des concentrations en contaminants, la part des effets PE attribuable à la phase particulaire augmentant d'été en hiver.

Des activités estrogéno-mimétiques et anti-androgéniques ont principalement été retrouvées. Elles sont quantifiables et significatives dans la phase gazeuse, quelle que soit la saison considérée (été/automne/hiver), avec des TEQ moyens sur Paris de 0,67 pg m⁻³ éq. E2 et 22 400 pg m⁻³ éq. Flut. Par contre, des différences saisonnières sont observées pour la phase particulaire. En effet, son activité prédomine en hiver (0,13 pg m⁻³ éq. E2 et 11 870 pg m⁻³ éq. Flut sur Paris), ses effets anti-androgéniques et

estrogéniques étant respectivement non quantifiables et pas toujours significatifs en période estivale. Ces effets PE sont par ailleurs ubiquistes en milieu forestier (Fontainebleau) comme en centre urbain (Paris) ou en banlieue (Lognes). Elles tendent cependant, à être les plus élevées sur la capitale. Le potentiel toxicologique de chaque contaminant ou famille de composés n'a pas pu être évalué sur nos tests cellulaires. Mais la littérature scientifique nous permet néanmoins de conclure que les contaminants quantifiés dans l'air semblent contribuer en grande partie aux activités TEQ observées, en raison notamment du potentiel estrogénique et anti-androgénique des composés majoritaires dans l'air que sont les phtalates, les alkylphénols, les HAP ou les PCB.

Un potentiel androgénique a également été quantifié dans tous les échantillons, étant en moyenne plus élevé dans la phase gazeuse que dans la phase particulaire (respectivement 1,34 et 1,07 pg m^{-3} éq. DHT sur Paris). Même si parmi les contaminants recherchés peu sont connus pour présenter un effet androgénique, les HAP pourraient en partie expliquer la répartition saisonnière des activités agonistes du récepteur AR, notamment le fait que celles-ci prédominent en hiver dans la phase particulaire (1,50 versus 0,86 pg m^{-3} éq. DHT pour la phase gazeuse, en moyenne sur Paris).

Les activités thyro-mimétiques sont dans l'ensemble les moins présentes dans l'air ambiant, n'étant pas toujours détectables, voire quantifiables. Elles sont majoritaires dans la phase gazeuse en été et dans la phase particulaire en hiver (respectivement 5,80 et 3,90 pg m^{-3} éq. T3 sur Paris). Les faibles niveaux d'activité observés dans l'ensemble sont en accord avec les niveaux de concentrations de certains contaminants susceptibles d'être des agonistes du récepteur TR, que sont les PCB, le BPA et les PBDE.

Les effets hormono-compétitifs de l'air ambiant extérieur vis à vis de l'activité d'E2 ou de T3 sont de type surinducteur. Même si ces activités sont dans l'ensemble faibles et rarement significatives, leur répartition saisonnière entre phases tend à varier dans le même sens que pour les effets agonistes.

Le potentiel PE global de l'air en automne est similaire à celui de l'été, reflet des températures presque estivales relevées à cette période pour la campagne 2011. Par ailleurs, le potentiel toxique de certains extraits est certainement le reflet de leur contamination chimique, étant globalement plus élevé pour la phase gazeuse que pour la phase particulaire.

Les niveaux de TEQ quantifiés dans l'air (de l'ordre du pg m^{-3}) restent globalement inférieurs à ceux pouvant être quantifiés dans d'autres matrices environnementales que sont l'eau (de l'ordre du ng L^{-1}) ou les sédiments (de l'ordre du $\mu\text{g g}^{-1}$). Par ailleurs, une des perspectives du projet était de pouvoir évaluer le potentiel perturbateur endocrinien des extraits d'air au niveau de la voie des récepteurs aux glucocorticoïdes. En effet, la part des effets observables sur MDA-kb2 pourrait mettre en jeu le récepteur GR mais ceci reste à démontrer. Des activités antagonistes du GR pourraient notamment être retrouvées, puisque de tels effets ont été observés pour des affluents de station de traitement des eaux usées et ont été associés à la présence d'androgènes dans les échantillons (Bellet *et al.*, 2012)³.

- Air intérieur

Les activités PE de l'air intérieur sont en moyenne largement supérieures à celles de l'air extérieur, notamment celles de la phase gazeuse : supérieures en moyenne d'un facteur 9 pour les effets estrogéniques (4,67 versus 0,51 pg m^{-3} éq. E2), d'un facteur 2,5 pour les effets anti-androgéniques (66,13 versus 25,85 ng m^{-3} éq. Flut), d'un facteur 14 pour les effets androgéniques (14,03 versus 1,04 pg m^{-3} éq. DHT) et d'un facteur 47 pour les effets thyroïdiens (46,95 pg m^{-3} éq. T3 en air intérieur, les activités étant non quantifiables en air extérieur). Ces résultats sont cohérents avec les niveaux de contamination en PE quantifiés, globalement plus élevés dans les habitats qu'en extérieur. C'est surtout le cas pour les composés estrogéniques et anti-androgéniques, majoritaires en air intérieur : les phtalates, les alkylphénols et les PCB. Les concentrations les plus élevées en perturbateurs thyroïdiens (BPA, nonylphénol, PCB, DiBP et PBDE) sont également trouvées dans les habitats. Les phtalates (DiBP, DEHP) pourraient contribuer aux fortes activités androgéniques observées dans l'air intérieur. C'est le cas également pour les HAP, même s'ils sont en moyenne moins présents dans les habitats qu'en extérieur. D'autres composés non recherchés dans cette étude pourraient également être à l'origine des différences d'activité PE intérieur/extérieur.

³ Bellet V., Hernandez-Raquet G., Dagnino S. et al. (2012). Occurrence of androgens in sewage treatment plants influents is associated with antagonist activities on other steroid receptors. *Water Res* 46(6) : 1912-1922.

Comme pour l'air extérieur, la répartition des activités entre phases est en faveur de la phase gazeuse. Les activités anti-androgéniques sont quantifiées uniquement dans cette phase et les activités estrogéniques trouvées dans la phase particulaire sont faibles ($0,51 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. E2}$). Ces résultats sont cohérents avec la présence majoritaire en phase gazeuse des contaminants pouvant contribuer à ces effets, notamment les alkylphénols, les PCB, les parabènes et dans une moindre mesure les phtalates (hors DEHP), mais aussi l'HCB pour ses effets anti-androgéniques. L'écart des activités androgéniques entre les deux phases est moindre par rapport aux autres effets PE ($3,54 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. DHT}$ pour la phase particulaire en moyenne), ce qui est en accord avec la répartition des anti-androgènes dans les phases (HAP et certains phtalates, le DEHP étant même majoritaire en phase particulaire). Quant à la présence d'effets thyroïdiens tant dans la phase particulaire ($3,70 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. T3}$ en moyenne) que gazeuse, elle serait le reflet de la contamination de ces deux phases par le BPA et les PBDE en particulier. Le nonylphénol et les PCB contribueraient eux essentiellement aux fortes activités anti-androgéniques de la phase gazeuse.

Une variation saisonnière des activités PE est par ailleurs observée en air intérieur, étant dans l'ensemble plus élevées en hiver qu'en automne, surtout dans la phase gazeuse. Pour rappel, les conditions climatiques de la campagne d'automne 2011 étaient douces, plus proches des conditions estivales qu'hivernales. Cet effet saison résulte certainement du manque de ventilation des habitats en période hivernale. Que ce soit pour les effets agonistes ou antagonistes, les activités PE de la phase gazeuse doublent environ entre l'automne et l'hiver ($2,70$ versus $6,64 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. E2}$; $49,36$ versus $82,89 \text{ ng m}^{-3} \text{ éq. Flut}$; $10,08$ versus $17,97 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. DHT}$; $31,84$ versus $62,05 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. T3}$). Concernant la phase particulaire, cet effet saison n'est observé ni pour les activités anti-androgéniques (toutes non quantifiables), ni pour les activités estrogéniques (toutes très faibles). Par contre, l'activité androgénique de la phase particulaire tend à être plus élevée en hiver qu'en automne, ce qui est cohérent avec l'augmentation des concentrations en HAP ou en phtalates dans cette phase entre ces deux saisons. Enfin, la présence majoritaire de certains contaminants perturbateurs thyroïdiens dans la phase particulaire en hiver (BPA et PBDE) est cohérente avec la plus forte activité thyro-mimétique de cette phase en hiver par rapport à l'automne ($6,63$ versus $0,77 \text{ pg.m}^{-3} \text{ éq. T3}$).

Par ailleurs, le potentiel PE de l'air intérieur diffère suivant les habitats, celui de la crèche étant largement le plus élevé (d'un facteur 2 environ pour la phase gazeuse par rapport à l'appartement et au bureau), et ce quel que soit l'effet PE considéré. La phase gazeuse de la crèche présente des activités TEQ élevées ($8,94 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. E2}$; $93,69 \text{ ng.m}^{-3} \text{ éq. Flut}$; $18,77 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. DHT}$; $71,44 \text{ pg m}^{-3} \text{ éq. T3}$) qui sont en accord avec sa forte contamination par les PE.

Concernant le potentiel de l'air à sur-induire la réponse hormonale d'E2, celui de la phase gazeuse est en moyenne plus élevé en air intérieur qu'en air extérieur (+ $0,41$ versus + $0,03$ par rapport à l'activité RLU d'E2 égale à $1,00$), alors qu'il ne varie pas pour la phase particulaire. Par contre, aucun effet saison ou type d'habitat n'est particulièrement relevable pour ces activités. Les mêmes tendances sont observées pour l'effet potentialisateur de l'air intérieur sur l'activité de T3. L'origine de ces activités hormono-compétitives reste à préciser et non seulement à l'échelle de la présente étude.

De l'ensemble de ces données toxicologiques, associées aux données chimiques, il ressort que la contamination de l'air ambiant en Ile-de-France présente un potentiel perturbateur endocrinien. Même s'il reste faible en milieu extérieur, il peut être important en air intérieur, surtout en période hivernale où les lieux sont moins ventilés. Les activités PE sont globalement plus importantes dans la phase gazeuse. En air extérieur, elles y sont majoritaires en période estivale mais augmentent cependant dans la phase particulaire en période hivernale.

La prédominance d'activités et de contaminants de type estrogénique ou anti-androgénique dans l'air en général, et dans la phase gazeuse en particulier suggère que le danger PE inhérent à la contamination de l'air touche principalement ces deux axes endocriniens. L'air présente en plus un potentiel androgénique ubiquiste dont l'origine reste à explorer, tant d'un point de vue chimique (recherche de contaminants à l'origine des effets engendrés) que toxicologique (établir la part des effets observés passant par le récepteur GR). L'axe thyroïdien reste globalement le moins touché par la contamination de l'air, surtout en milieu extérieur. D'autres contaminants que ceux recherchés pourraient être à l'origine des effets perturbateurs endocriniens engendrés et c'est sans considérer les effets mélanges potentiels entre composés, de nature additive, antagoniste ou synergique.

6. Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques et valorisation

- Implications pratiques et recommandations

Ces travaux bien que très en amont des contrôles réglementaires de la qualité de l'air et des risques toxicologiques d'exposition par l'inhalation, touchent à des problématiques d'actualité qui intéressent des organismes, comme l'ANSES, qui se préoccupe de la caractérisation des dangers sanitaires et de la protection de la santé humaine. La réalisation des travaux a fait l'objet de développements méthodologiques qui intéressent les AASQA et notamment le CSTB dans le cadre de sa coordination de l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI). Une demande de référencement a ainsi été déposée auprès de cet organisme par chaque laboratoire de chimie.

Enfin, les résultats ici obtenus pourront contribuer à la définition de molécules prioritaires en matière de surveillance de la qualité de l'air ambiant ou de contrôle de sources d'émission diffuse à l'intérieur, comme à l'extérieur des habitats humains. Ainsi, des molécules appartenant aux groupes des phtalates et des alkylphénols figurant déjà sur la liste des molécules prioritaires pour la protection des milieux aquatiques (DCE, 2000), représentent également des COSV ubiquistes et relativement abondants dans les atmosphères interne et externe de l'habitat urbain. Dans un premier temps le DEHP et les nonylphénols pourraient constituer d'autres molécules dont le contrôle des concentrations dans l'air ambiant à partir des phases regroupées pourrait être associé à celui des HAP. Par ailleurs, il semblerait que l'emploi courant de matériaux et équipements en plastique, comme celui de détergents récemment développés par l'industrie chimique devrait être considéré avec davantage de réserve.

- Réalisations pratiques et valorisation

Les résultats du projet et ses aspects innovants sont nombreux, tant sur le plan international que national. A la date de remise du rapport de fin de contrat, les premiers résultats en chimie et en biologie de la campagne de validation ont été respectivement présentés lors de deux colloques nationaux (Chevreuil et al., 2011 ; Chevreuil, 2011) et un colloque international (Oziol et al., 2012). Ils ont fait également l'objet de trois autres communications (1 communication orale et 2 posters), lors du colloque international du PNRPE (10 et 11 décembre 2012).

Concernant les publications internationales, une publication relative à la première caractérisation de la contamination de l'air intérieur par les composés PE est en cours de rédaction en collaboration avec le CSTB. Une seconde sur la contamination de l'air extérieur est également envisagée avec la participation d'*Airparif*. Deux articles méthodologiques traitant de l'évaluation des performances des protocoles d'échantillonnage actif ou passif est aussi planifié. L'évaluation de toxicologie des PE dans l'air extérieur et l'air intérieur fera également l'objet d'un article.

Enfin, l'ensemble des résultats en chimie et en biologie seront intégrés et confrontés dans le cadre d'un article pluridisciplinaire. Au total, six publications de rang A seront issues de ce contrat.

De plus une interview de Marc Chevreuil a été réalisée en 2010 pour le N°79 de la revue « Air Pur » (Association pour la protection de la pollution atmosphérique).

L'information du grand public fait par ailleurs l'objet d'une plaquette préparée en collaboration avec l'ANSES en 2012.

Valorisation

Publications de rang A

En cours de rédaction :

First overview of endocrine disruptor compounds in indoor air in France

Moreau-Guigon E, Alliot F, Blanchard M, Gaspéri J, Teil M-J, Mandin C, Chevreuil M.

Revue envisagée : Indoor air

En projet :

- Problématique : Contamination de l'air extérieur par les perturbateurs endocriniens en Ile-de-France

Teil M-J et al (Revue envisagée : Chemosphere)

- Problématique : Développement de protocoles d'échantillonnage et d'analyse de perturbateurs endocriniens dans l'air ambiant

Alliot F et al. (Revue envisagée : Talanta ou Analytica Chimica Acta)

- Problématique : Développement et évaluation de préleveurs passifs pour la caractérisation de perturbateurs endocriniens à l'état gazeux. Moreau-Guigon E et al. (Revue envisagée : Anal Bioanal Chem)

- Problématique : Evaluation du potentiel perturbateur endocrinien des matrices atmosphériques sur modèles cellulaires in vitro.

Oziol L et al. (Revue envisagée : Archives of Environmental Contamination and Health)

- Article de synthèse : Caractérisation chimique et biologique de la contamination de l'air ambiant en milieu ouvert et fermé.

Oziol L et al. (Revue envisagée : Environment International ou Science of the Total Environment).

Rapports scientifiques

- Moreau-Guigon E., Labadie P., Gaspéri J., Blanchard M., Cladière M., Teil M.-J., Tlili K., Desportes A., Bourges C., Alliot F., Lorgeoux C. et Chevreuil M. (2011) Diffusion de perturbateurs endocriniens par le compartiment atmosphérique et les amendements agricoles, contamination des sols et transferts hydriques : exemple des PCB, HAP, PBDE, alkylphénols, phtalates et du BPA. PIREN Seine Phase V, Rapport de synthèse 2007-2010, Paris, 13 p.

Colloques nationaux

- Chevreuil M. Caractérisation de la diffusion des perturbateurs endocriniens et des dangers sanitaires et environnementaux. Colloque "Perturbateurs endocriniens et biodiversité", Réseau Environnement santé/WWF, Paris (France) 28 avril 2011.

- Chevreuil M, Moreau-Guigon E, Labadie P, Gaspéri J, Blanchard M, Teil M-J, Tournebize J, Tlili K, Desportes A, Bourges C, Alliot F, Lorgeoux C. De l'atmosphère aux sols, transfert et exposition: composés organiques semi volatils et antibiotiques. Présentation Orale, Colloque PIREN-Seine Synthèse Phase V, Paris (France) 7-9 février 2011.

Colloques internationaux

Oziol L., Collin A., Alliot F., Bimbot M., Huteau V., Chevreuil M., Levi Y. *In vitro* endocrine-disrupting potential of particulate or gaseous phases of air extracts from indoor or outdoor Paris urban areas on the thyroid or estrogen receptor-mediated transcriptional activity. Poster au SETAC Europe 20-24 mai 2012.

Alliot F., Bourges C., Desportes A., Teil M.J., Moreau-Guigon E., Chevreuil M. Protocoles d'échantillonnage et d'analyse de perturbateurs endocriniens dans l'air ambiant intérieur et extérieur aux locaux. Poster Colloque PNRPE 10-11 décembre 2012.

Oziol L., Collin A., Souvannavong N., Alliot F., Jugan M.L., Bimbot M., Huteau V., Levi Y., Chevreuil M. Première caractérisation du potentiel perturbateur endocrinien de la contamination de l'air intérieur et extérieur en France. Poster Colloque PNRPE 10-11 décembre 2012.

Chevreuil M., Moreau-Guigon E., Alliot F., Teil M.J., Blanchard M., Oziol L., Levi Y., Gasperi J., Mandin C., Moukhtar S. Première caractérisation des perturbateurs endocriniens dans l'air intérieur et extérieur en France. Présentation orale Colloque PNRPE 10-11 décembre 2012.

Plaquette ANSES

« Endocrinair » Contamination de l'air ambiant par les perturbateurs endocriniens en Ile-de-France et caractérisation d'effets toxiques associés Chevreuil M. et Oziol L., 2p.

R2DS Eclairages

Chevreuil, M. Contamination de l'environnement francilien par les nouveaux micropolluants halogénés : impact sur la qualité de l'air, des sols et des écosystèmes aquatiques http://www.r2ds-ile-de-france.com/spip.php?article515&var_recherche=chevreuil%20marc

Interview de Chevreuil M réalisée en 2010 pour le N°79 de la revue Air Pur (Association pour la protection de la pollution atmosphérique). Contamination de l'air ambiant par les perturbateurs endocriniens et caractérisation de leur toxicité.

7. Partenariats

Les deux partenariats envisagés avec l'AASQA *Airparif* et le CSTB ont parfaitement été établis. *Airparif* a contribué dans un premier temps à l'installation et à la maintenance de nos équipements sur leurs trois stations de Paris 13^{ème}, Fontainebleau et Lognes. Ses ingénieurs ont ensuite collaboré à l'interprétation de nos résultats en nous procurant un rapport de synthèse sur leurs données PM10, NO₂ et météorologiques, spécifiques à nos épisodes d'échantillonnage.

De son côté, le CSTB a contribué à optimiser la réalisation nos campagnes de prélèvement d'air intérieur en y intégrant des informations concernant le bâtiment et les occupants, paramètres qui seront discutés dans la publication en cours de préparation.

8. Pour en savoir plus

- Chevreuil M., Blanchard M., Dargnat C., Gasperi J., Gourlay C., Lorgeoux C., Moilleron R., Moreau-Guigon E., Ollivon D., Teil M.J. et Mouchel J.M. (2009). La micropollution organique dans le Bassin de la Seine. Plaquette Piren-Seine n°9, 66 p.
- Qualité de l'air, qualité de vie. 10 ans de recherche pour mieux respirer. Ouvrage collectif, Séverine Kirchner. Observatoire de la qualité de l'air intérieur. CSTB édition, 2011.
- Chevreuil M. (2004) L'atmosphère vecteur de micropolluants organiques aux écosystèmes. L'Actualité chimique, n°277-278 : 40-48.
- Commission des Communautés Européennes, Bruxelles, le 11.6.2003. Communication de la commission au conseil, au parlement européen et au comité économique et social européen. Stratégie européenne en matière d'environnement et de santé, COM (2003) 338 final.
- Qualité de l'air intérieur : <http://www.quechoisir.org/document/pollution-air-interieur.pdf>

La contamination permanente du compartiment atmosphérique par de nombreux composés perturbateurs endocriniens (PE), soulève de nouvelles interrogations sociétales quant à l'ampleur de l'exposition de l'Homme à des mélanges à faibles doses et à la possibilité d'effets sur sa santé. Cette problématique étant actuellement peu documentée, il est nécessaire de parvenir à une meilleure connaissance des transferts de PE dans l'air ambiant intérieur ou extérieur et vers l'Homme. En parallèle, les dangers liés à leur absorption par la voie respiratoire *via* la phase gazeuse et/ou la phase particulaire, doivent être précisés. L'étude constitue une première approche de l'évaluation du risque sanitaire lié à l'inhalation des PE en milieu urbain, reposant sur la caractérisation des niveaux de contamination par huit groupes de PE halogénés ou non (PBDE/TBBPA/PCB/HCB et HAP/phtalates/bisphénol A/ alkylphénols) dans différents lieux de vie (extérieur et intérieur) intégrant trois types de bâtiment (appartement, bureau, crèche) Le danger sanitaire que peut représenter cette contamination atmosphérique a également été caractérisé *in vitro* en étudiant son potentiel PE sur l'activité transcriptionnelle dépendante des récepteurs nucléaires aux hormones œstrogéniques, androgéniques et thyroïdiennes, des perturbations au niveau de ces trois axes endocriniens ayant déjà été observées dans les populations animales ou humaines.

Tous les composés PE considérés : phtalates, alkylphénols, PCB, PBDE, TBBPA, HAP, HCB, PeCB et parabènes se sont révélés être ubiquistes dans l'air à l'extérieur comme à l'intérieur de locaux d'habitation ou d'activité collective. A l'exception des HAP, les autres COSV présentent des concentrations internes pouvant dépasser de 10 à 80 fois celle de l'air extérieur. Cet écart est à la fois lié au confinement, au matériaux et équipements des locaux ainsi qu'à leurs activités ou affectations. La présence d'équipements bureautiques, de revêtements et mobiliers en PVC, ainsi que l'emploi régulier de produits détergents ou désinfectants, semblent être respectivement à l'origine d'émissions internes de PCB/PBDE, DEHP, alkylphénols/parabènes.

De plus, contrairement à des *a priori* liés aux faibles pressions de vapeur des COSV, il ressort ici comme dans d'autres travaux précédemment réalisés à l'étranger, que l'exposition humaine par inhalation a lieu essentiellement à partir de la phase gazeuse.

Ces conclusions sont confirmées par la caractérisation du potentiel toxicologique PE de l'air intérieur et de l'air extérieur à partir des matrices gazeuse et particulaire. Les activités PE de l'air ambiant mises en évidence, essentiellement estrogéniques, (anti)-androgéniques et thyroïdiennes, sont en accord avec la présence ubiquiste de composés PE dans ce compartiment. Elles sont plus faibles à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitats, lieux peu ventilés où se situent diverses sources d'émissions de PE. La plus grande toxicité de la phase gazeuse par rapport à la phase particulaire est en accord avec la caractérisation chimique de ces phases et les résultats de la littérature.

L'exposition chronique de l'Homme à la contamination de l'air intérieur, notamment *via* la phase gazeuse, pourrait engendrer des effets sanitaires indésirables en rapport avec le potentiel PE de cette contamination. Dans ce contexte, il est nécessaire d'approfondir la connaissance des dangers sanitaires liés à la contamination atmosphérique, notamment à l'intérieur des locaux, compte tenu du fait qu'elle y est généralement plus importante qu'à l'extérieur et que les humains séjournent pour 80 à 90 % de leur temps de vie en milieu intérieur. Cette problématique de recherche doit ainsi être étendue à d'autres lieux de vie et molécules aux effets indésirables, dont les emplois tendent à s'étendre. Dans cet objectif, il serait utile de pouvoir identifier les molécules ou groupes chimiques responsables des effets biologiques des matrices atmosphériques par le couplage de techniques de fractionnement avec des essais toxicologiques *in vitro* sur cellules, ainsi que par le développement d'autres tests cellulaires, notamment sur cellules épithéliales bronchiques.

Mots clés

Composé organique semi volatil, habitat humain, air extérieur, air intérieur, phase gazeuse, phase particulaire, toxicologie, test cellulaire

Abstract

The continuous contamination of the atmosphere by a number of endocrine disrupting compounds involves new societal concerns about the importance of human exposure to low dose mixtures and subsequent effects upon health. Up to now, that question was poorly documented and knowledge improvements are needed about ED transfers in ambient air, both outdoor and indoor, and also, towards humans. In parallel, hazards arising from their intake by the respiratory tract (*via* gaseous or particulate phases) need to be specified. Our study constitutes a first approach for estimating the sanitary risk involved by ED inhalation in urban area, based upon the characterization of eight ED levels either halogenated or not (PBDEs/TBBPA/PCBs/HCB and PAHs/phthalates/bisphenol A/alkylphenols), in outdoor and indoor living places including three different habitats: flat, office, kindergarten). The sanitary hazard arising from atmospheric contamination was also characterized *in vitro* by the evaluation of its ED potential upon the transcriptional activity depending on the specific nuclear receptors to estrogens, androgens and thyroid hormones, since alterations of these endocrine systems were reported previously in animals and humans.

All ED compounds considered here: phthalates, alkylphenols, PCBs, PBDEs, TBBPA, PAHs, HCB, PeCB and parabens, appeared ubiquitous as well outdoor as indoor environments (individual or collective locals). These SVOCs, except PAHs, displayed indoor concentrations 10 to 80 times higher than those of outdoor air. That difference was related to confining, local materials and equipments and assigned activities. The occurrence of PVC desktop equipments, coverings and furniture as well as the regular use of detergents or sanitizers, might both involve indoor emissions of PCBs, PBDEs, DEHP, alkylphenols and parabens.

In addition, contrary to *a priori* ideas based upon the low SVOC vapour pressures, it appears that human exposure *via* the respiratory tract occurs mainly through the gaseous phase which is supported by international literature data.

These findings are confirmed by the characterization of indoor and outdoor air toxicological ED potency from gaseous and particulate matrix. The ED activities of ambient air highlighted here (estrogenic, (anti)-androgenic and thyroid-like) are consistent with the ubiquitous occurrence of ED compounds in that compartment. They were lower outdoor than indoor, obviously because of minor air exchanges and presence of various ED input sources in the latter case. The higher toxicity of the gaseous phase as compared to the particulate one is consistent with the chemical characterization of both phases and literature data.

The chronic human exposure to indoor air contamination, namely *via* the gaseous phase, might induce adverse sanitary events related to the toxic ED potency of that contamination.

In that context, knowledge improvements about sanitary hazards in relation with atmospheric contamination are needed, namely, investigation of other life places and other potentially toxic molecules, the use of which is growing. In that purpose, it should be useful to identify chemical groups or molecules involved in atmospheric matrix biological effects by coupling fractionation devices with *in vitro* toxicological investigations upon cell-based assays and also by developing other cellular assays, namely using bronchial epithelial cells.

Key words :

semi volatile organic compound, human habitat , outdoor air, indoor air, gaseous phase, particulate phase, toxicology, cell-based assay.