

ECHIBIOTEB – *Tâche 4, Outils bio-analytiques in vitro*

Réunion avancement 16 mai 2012, Paris

Objectif de la tâche 4:

- Dresser des profiles d'activités par **un panel de bioessais *in vitro*** ciblant différentes familles de toxiques, sans a priori sur les classes chimiques
- Identifier les sites/échantillons pour étude EDA (Tâche 5)

Batterie de tests in vitro

Nom du Test	Activité	Principe
MELN	(Anti)Œstrogénique	Activation/inhibition du récepteur des oestrogènes (ER)
MDA-kb2	(Anti)Androgénique/ Glucocorticoïdique	Activation/inhibition du récepteur des androgènes (ER) et des glucocorticoïdes (GR)
PC-DR-LUC	(Anti)Thyroïdienne	Activation/inhibition du récepteur de l'hormone thyroïdienne (TR)
PLHC-1	Dioxin-like/HAP-like	Induction EROD via le récepteur de la dioxine (AhR) en 4h (HAP-like) ou 24h (dioxin-like)
SOS Chromotest	Génotoxique	Induction du système de réparation de l'ADN (gène <i>sfiA-βGal</i>) dans <i>E.</i>
MicroTox	Toxicité générale	Inhibition de luminescence de <i>Vibrio fischeri</i>

Campagne préliminaire (1^{er} semestre 2011)

Type	STEP	Echant.	ER	ER	AR	AR	TR	TR	AhR	AhR	SOS (Sans S9)		SOS (Avec S9)		Microto x
			Ago	Antago	Ago	Antago	Ago	Antago	HAP-like	Dioxin- like	Genotox	Cytotox	Genotox	Cytotox	
Entrée (F)	MSL	02-LL	+	0	0	+	0	0	+/-	0	0	0	0	0	±
	MSL	02-SPE	+	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	+	0	±
Sortie (F)	MSL	03-LL	+	0	0	+/-	0	0	+/-	0	0	±	0	0	++
	MSL	03-SPE	+	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	±
Evian	MSL	04-LL	0	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	+	+	0
	MSL	04-SPE1	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0	0
	MSL	04-SPE2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Entrée (NF)	BSM	05-NF-LL	+	0	+	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0
Entrée (F)	BSM	05-F-LL	+	0	+	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0
	BSM	05-F-SPE	0	0	+	0	0	0	+/-	0	nd	0	0	0	nd
Sortie (NF)	BSM	06-NF-LL	+	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	±
Sortie (F)	BSM	06-F-LL	+	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0
	BSM	06-F-SPE	0	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0
Evian	BSM	07-LL	+	0	0	0	0	0	+/-	0	0	0	0	0	0
	BSM	07-SPE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 : aucune activité détectée; +/-, +, ++: activité détectée. On distinguera deux échantillons différents par le nombre de signes « + » au sein d'un même test.

A cette date, il n'y a pas eu de coordination sur l'homogénéisation de l'expression des résultats inter-essais. Le code couleur est arbitraire et n'a a priori pas de signification statistique uniforme d'un test à l'autre.

Campagne ASE1-PA4 (Pilote CA/0₃ BSM)

Type	Echantillons	Androgen	Anti-Androgen	HAP-like Dioxin-like		SOS (Sans S9)		SOS (Avec S9)	
		DHT-Eq (ng/L)	Flu-Eq (µg/L)	BaP-Eq (µg/L)	TCDD-Eq (ng/L)	Genotox	Cytotox	Genotox	Cytotox
Evian	ECH-08-SPE	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	0	0
Entrée CA / Sortie Ozoneur	AMQ-039-SPE	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	+	0
Sortie CA	AMQ-040-SPE	18	n.d.	<LOQ	n.d.	+	+	+	0
Entrée Ozoneur	AMQ-041-SPE	14	n.d.	<LOQ	n.d.	+	+	+	+
LD		6	9	0,4	6				

À compléter par les activités ER et TR

Campagnes ASE3-PA2 et 3 : activités PE

	Androgen	Anti-androgen	HAP-like	Dioxin-like	Estrogen
	DHT-Eq	Flu-Eq	BaP-Eq	TCDD-Eq	E2-Eq
EAUX	(ng/L)	(µg/L)	(µg/L)	(ng/L)	(ng/L)
Blc ECH-100	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
ECH-100	n.d	n.d	0,88	n.d	3,2
Blanc ECH-101	n.d	n.d	n.d	n.d	21,2
ECH-101	n.d	n.d	0,58	n.d	n.d
Blanc AMQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
AMQ-118	n.d	n.d	n.d	n.d	3,2
AMQ-119	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
AMQ-120	n.d	n.d	3,17	n.d	4,4
AMQ-121	n.d	n.d	0,61	n.d	n.d
<i>LD</i>	<i>6,94</i>	<i>9,46</i>	<i>0,45</i>	<i>6,15</i>	<i>1,0</i>
SPMD	(ng/g triol)	(µg/g triol)	(µg/g triol)	(ng/g triol)	(ng/g triol)
ASE PA ech1 amont blc	n.d	n.d	0,57	n.d	n.d
ASE PA ech1 amont bio	n.d	3,59	1,24	n.d	1,03
ASE PA ech1 aval blc	n.d	n.d	0,51	n.d	n.d
ASE PA ech1 aval bio	n.d	3,60	0,53	n.d	0,49
<i>LD</i>	<i>0,30</i>	<i>0,41</i>	<i>0,02</i>	<i>0,27</i>	<i>0,04</i>

Campagnes ASE3-PA2 et 3 : SOS Chromotest (LPTC)

Nomenclature	Echantillon	Génotoxique Direct (sans S9)	Cytotoxicité	Génotoxique indirect (Avec S9)	Cytotoxicité
Blanc AMQ 118, 119, 120, 121	Extrait SPE eau evian (protocole eau entrée)	-	-	-	-
AMQ-118	Extrait SPE-Entrée Peroxone 1/1 Code STEP OLL	+	+	+	+
AMQ-119	Extrait SPE-Sortie Peroxone 1/1 Code STEP OLL	-	+	-	-
AMQ-120	Extrait SPE-Entrée UV/Peroxyde 1 et2 Code STEP OLL	-	-	-	-
AMQ-121	Extrait SPE-sortie UV/Peroxyde 1 Code STEP OLL	-	+	-	-
Blanc ECH-100	Extrait SPE eau evian (protocole eau entrée)	-	-	-	-
ECH-100	Extrait SPE-Eau Industrielle/Amont charbon actif Code STEP BSM	+	+	+	+
Blanc ECH-101	Extrait SPE eau evian (protocole eau sortie)	-	-	-	-
ECH-101	Extrait SPE-Aval charbon actif Code STEP BSM	-	-	-	-

Synthèse campagnes eaux BSM

Bioessais	Camp. Prelim.	ASE1 PA4	ASE3 PA2/3
Androgen	✓	✓	0
Anti-Androgen	0	0	0
Estrogen	✓	?	✓
HAP-like	✓	✓	✓
Dioxin-like	0	0	0
Thyroid	0	?	?
Genotox	0	✓	✓

Conclusion

Eaux : profils potentiellement intéressants (AR, ER) mais échantillons globalement assez peu chargés.

- ☞ Augmenter la concentration des extraits (reconcentrer les extraits MeOH ou augmenter volume d'échantillon départ) ?

- ☞ Travailler plus en amont ? Efficacité d'abattement des activités.

- ⇒ Efficacité d'abattement des activités

- ⇒ Echantillons plus intéressants pour identifier les composés à cibler (approche EDA)

SPMD : profils anti-androgènes et HAP-like (ligands plutôt apolaires)
TR ?

Reste à faire: POCIS, boues