



HAL
open science

Caractérisation de l'exposition pulmonaire aux perturbateurs endocriniens adsorbés sur des particules atmosphériques urbaines de différentes tailles granulométriques : approches chimique et biologique in vitro

Diane Le Bayon

► To cite this version:

Diane Le Bayon. Caractérisation de l'exposition pulmonaire aux perturbateurs endocriniens adsorbés sur des particules atmosphériques urbaines de différentes tailles granulométriques : approches chimique et biologique in vitro. Biochimie [q-bio.BM]. Université Paris sciences et lettres, 2022. Français. NNT : 2022UPSLP023 . tel-04057711

HAL Id: tel-04057711

<https://theses.hal.science/tel-04057711>

Submitted on 4 Apr 2023

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.



THÈSE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITÉ PSL

Préparée à l'École Pratique des Hautes Études

**Caractérisation de l'exposition pulmonaire
aux perturbateurs endocriniens adsorbés
sur des particules atmosphériques urbaines
de différentes tailles granulométriques :
approches chimique et biologique *in vitro***

Par

Diane LE BAYON

Soutenue le 24 juin 2022

École doctorale n° 472

**École doctorale de l'École
Pratique des Hautes Études**

Spécialité

Chimie, environnement et santé

Composition du jury :

Armelle BAEZA Professeur, Université Paris Cité	<i>Rapporteur</i>
Sylvain BILLET Maître de Conférences Université du Littoral Côte d'Opale	<i>Rapporteur</i>
Sylvie DERENNE Directrice de Recherche, CNRS	<i>Invitée</i>
Philippe GARRIGUES Directeur de Recherche, Université de Bordeaux	<i>Président du jury</i>
Lucie OZIOL Maître de Conférences, Université Paris Saclay	<i>Encadrante</i>
Gaëlle UZU Directrice de Recherche, IRD	<i>Examinatrice</i>
Elodie MOREAU-GUIGON Maître de Conférences, EPHE	<i>Directrice de thèse</i>

Remerciements

Je tiens à remercier les membres de ce jury de thèse : **Madame Armelle Baeza** et **Monsieur Sylvain Billet**, qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce travail, ainsi que, **Madame Gaëlle Uzu** et **Monsieur Philippe Garrigues** qui ont accepté d'en être les examinateurs. Je les remercie pour le temps consacré à évaluer ce travail de thèse, pour l'intérêt qu'ils y ont porté, ainsi que pour la qualité des échanges que nous avons eu lors de la soutenance. Je remercie également mes encadrantes de thèse, **Sylvie Derenne**, **Elodie Guigon** et **Lucie Oziol**. Merci infiniment pour votre accompagnement qui m'a permis de mener à bien ce doctorat, merci de vos conseils avisés et de m'avoir fait bénéficier de votre grande expérience.

Je remercie également les membres du comité de thèse, **Gilles Foret**, **Aurore Gely-Pernot** et **Sara Karolak**. Merci pour les échanges que nous avons eu lors des comités, et pour le suivi de mon travail lors de cette thèse.

Je tiens également à remercier toutes les personnes avec qui j'ai travaillé pendant ces 3 années et demie de thèse. Lors de ce travail, j'ai eu la chance de bénéficier de l'accompagnement de deux laboratoires, l'UMR METIS et l'UMR ESE.

Tout d'abord pour l'UMR METIS, un grand merci à l'équipe EPHE : **Fabrice Alliot**, **Annie Desportes**, **Hélène Blanchoud**, **Aurélié Goutte**, **Thomas Thiebault** et **Sira Traoré**. Merci d'être une équipe aussi dynamique et pour tous vos conseils. Je tiens à remercier plus particulièrement Fabrice, merci pour tes explications, ta patience et de m'avoir accompagné à de multiples reprises sur le terrain. Merci également à Annie pour ton aide précieuse au laboratoire. Un grand merci également à **Jean-Marie Mouchel**, **Bénédicte Sabatier**, **Valérie Girard**, **Aurélien Baro** pour votre accueil au sein de l'UMR METIS.

Pour l'UMR ESE, je tiens à remercier le groupe Santé Publique Environnement : **Maya Bimbot**, **Sara Karolak** et **Yves Lévi**. Merci pour votre accueil au sein de l'équipe (et ça depuis

le M2 !), pour toutes les discussions et la bonne ambiance qui a régné dans cet étage de la tour B. Un merci très appuyé à Maya, fidèle binôme depuis plusieurs années, merci infiniment pour ton investissement, ta pédagogie et ton aide si précieuse dans tout ce travail. Ça a été un vrai plaisir de travailler avec toi. Merci également à **Léa Lefebvre** pour ta participation à ce travail dans le cadre de ton stage. Merci à **Jane Lecomte** pour l'accueil au sein de l'UMR.

Merci à Monsieur **Christophe Ampe** et à **Airparif**, pour nous avoir permis d'installer ces deux préleveurs sur les sites Airparif, merci du temps consacré à ce que l'on puisse mener à bien nos prélèvements.

Un grand merci également à tous mes collègues de couloir, qui faisaient si bien l'effort d'essayer de s'intéresser à mon sujet de thèse, même s'il détonnait un peu dans ce couloir d'hydro ! **Alexandre D, Alexandre P, Audrey, Danièle, Elijah, Etienne, Gurpreet, Ludovic, Marc, Maxime, Mohamed, Mounir, Ningxin, Noëlie, Pedro, Pierre, Salma, Sylvain, Thibault, Thomas P, Thomas V, Vincent, Xingcheng...** Merci pour tous ces moments au coin convivialité, que cela soit pour rigoler à de bonnes blagues, pour discuter de sujets scientifiques, pour boire un « momojito »... Merci pour les belles soirées au « science », je m'y suis construit des souvenirs inoubliables et...on s'est franchement bien marré. Ces moments ont été de vraies soupapes, et ça a été un plaisir de découvrir chacun d'entre vous ces dernières années.

Merci à mes grandes amies, mes « rocs » tout au long de cette thèse, **Hélène** et **Noëlie**. Sans votre soutien si précieux pendant toutes ces années, tout aurait été beaucoup plus dur ! Merci infiniment Hélène pour tous tes conseils avisés, nos verres, nos (longues !) discussions et nos franches rigolades. Merci Noëlie d'avoir été une confidente hors pair, une oreille toujours attentive. J'ai adoré toutes nos conversations scientifiques et je te suis énormément reconnaissante d'avoir mis à ma disposition toutes tes compétences en statistiques, tu as été d'une très grande aide. Vous êtes des amies en or !

Enfin, un immense merci (mais j'ai bien l'impression que ce mot n'est pas suffisant à exprimer toute ma gratitude) à la personne la plus importante, celle qui m'a supporté pendant toutes ces années, **Baptiste**. Tu as été un vrai supporter, d'un soutien infaillible, que cela soit dans les hauts ou les bas. Je mesure chaque jour la chance que j'ai de t'avoir à mes côtés. Merci.

Table des matières

Table des figures	IV
Table des tableaux	VIII
Abréviations	XI
Introduction	1
Chapitre 1 - Contexte général.....	9
I. Les particules atmosphériques	11
1. Origine, formation et classification des particules atmosphériques	12
2. Devenir des particules atmosphériques dans l'arbre respiratoire	15
3. Effets sur la santé des PM.....	25
II. Perturbateurs endocriniens	26
1. Système endocrinien humain.....	27
2. Mode d'action des perturbateurs endocriniens	35
3. Effets suspectés ou avérés des perturbateurs endocriniens	36
4. Perturbateurs endocriniens dans l'air	37
5. Voies d'action des composés PE étudiés.....	41
Chapitre 2 - Matériels et méthodes	45
I. Sites urbains d'étude	47
1. Sélection des sites urbains	47
2. Echantillonnage	48
3. Plan d'échantillonnage	51
4. Tests préliminaires.....	53
5. Validation des mesures de pollution des sites choisis (d'après la base de données Airparif)	54
6. Préparation des extraits particulières	58
II. Analyse chimique des extraits particulières	64

1. Analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS)	64
2. Analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).....	66
3. Expression et traitement des résultats obtenus par l'analyse chimique.....	67
III. Analyse biologique des extraits particulaires	72
1. Mesure du potentiel oestrogénique sur cellules T47D-KBLuc	72
2. Mesure du potentiel anti-androgénique sur cellules AIZ-AR	74
3. Mesure du potentiel dioxin-like sur cellules AZ-AhR	75
4. Mesure de la viabilité cellulaire.....	76
5. Mesure de l'activité transcriptionnelle	77
Chapitre 3 - Détermination des teneurs en COSV dans les particules	89
I. Contamination globale des particules	92
1. Contamination en COSV des particules en saison froide.....	94
2. Contamination en COSV des particules en saison chaude	97
II. Contamination des particules par familles de composés	100
1. Phtalates.....	100
2. HAP	105
3. Autres familles de composés	109
III. Particularité selon les sites.....	114
Chapitre 4 - Caractérisation des effets biologiques.....	119
I. Potentiel œstrogénique des extraits de PM	123
1. Potentiel œstrogénique des extraits de PM rapporté au µg de particules	123
2. Potentiel œstrogénique des extraits de PM rapporté au m ³ d'air.....	134
3. Calcul des EEQbio.....	137
4. Voie d'action des extraits de PM.....	140
5. Effets hormono-compétitifs des extraits de PM	143
6. Cas particulier DRNM.....	145

II.	Potentiel anti-androgénique des extraits de PM	149
III.	Potentiel <i>dioxin-like</i> des extraits de PM	152
1.	Potentiel <i>dioxin-like</i> des extraits de PM rapporté au μg de particules.....	152
2.	Potentiel <i>dioxin-like</i> des extraits de PM rapporté au m^3 d'air	164
3.	Calcul des TEQbio.....	167
Chapitre 5 - Activité biologique en lien avec la contamination chimique		173
I.	Influence de la contamination chimique sur les effets biologiques <i>in vitro</i> observés. 176	
1.	Approche globale.....	176
2.	Familles de composés identifiées comme diminuant les effets biologiques	178
3.	Echantillons à haut niveaux d'activité biologique.....	191
II.	Approche théorique de mise en relation de la contamination chimique et des effets biologiques.....	193
1.	Potentiel œstrogénique EEQchim.....	193
2.	Potentiel <i>dioxin-like</i> TEQchim	196
Conclusion et perspectives		201
Références bibliographiques		211
Annexes		235

Table des figures

Figure 1 : Représentation schématique des liens entre les classes de particules étudiées en fonction de leur diamètre et des teneurs dans l'air (non à l'échelle).....	6
Figure 2 : Schéma simplifié de la structure d'une particule atmosphérique.	13
Figure 3 : Répartition en pourcentage des différents composants des PM _{2,5} et PM ₁₀ sur le site de Paris Les Halles (Airparif, 2008).	13
Figure 4 : Contribution des différents secteurs aux émissions totales de PM ₁₀ et PM _{2,5} (European Environment Agency, 2009).	14
Figure 5 : Structure des voies respiratoires et lieu de dépôt selon la taille des particules.	15
Figure 6 : Illustration de la zone d'alvéoles pulmonaires (Özilgen <i>et al.</i> , 2020).	16
Figure 7 : Mécanismes de dépôt des particules inhalées dans les poumons (Darquenne, 2020).....	17
Figure 8 : Schéma simplifié des voies aériennes et des lieux de dépôt des particules, l'épaisseur des zones oranges représentent la quantité de COSV associés aux particules (Liu, Zhang et Weschler, 2017).. .	19
Figure 9 : Illustration de l'épithélium des voies respiratoires (Bustamante-Marín et Ostrowski, 2017).	22
Figure 10 : Modèle de clairance macrophagique de particules atmosphériques et cascade réactionnelle (Li <i>et al.</i> , 2020).....	23
Figure 11 : Système endocrine humain (Bergman, United Nations Environment Programme, et World Health Organization, 2013).	28
Figure 12 : Profils d'inductions des ligands (Coll, 2013).....	30
Figure 13 : Structure des hormones stéroïdiennes sexuelles.	31
Figure 14 : Voies d'activation des récepteurs nucléaires aux œstrogènes, ER α/β (<i>Estrogen Receptor</i>) (adaptée de Khan, Cowan et Ahmed, 2012).....	32
Figure 15 : Voie d'activation du récepteur aux androgènes, AR (Héquet <i>et al.</i> , 2017).....	33
Figure 16 : Voie d'activation du récepteur d'aryl hydrocarbonés AhR (Pineau, Martin et Calleja, 2003).	34
Figure 17 : Modulation de la signalisation des récepteurs ER et AhR (Matthews et Gustafsson, 2006).	35
Figure 18 : Localisation des trois sites (<i>l'étoile rouge indique l'emplacement des préleveurs</i>).	48
Figure 19 : Systèmes de prélèvements utilisés	49
Figure 20 : Variations des teneurs en PM _{2,5} et PM ₁₀ (en $\mu\text{g}/\text{m}^3$) sur 3 jours	52
Figure 21 : Evolution des teneurs en NO ₂ sur les sites d'études en fonction du temps, selon les données Airparif.	56
Figure 22 : Graphique de Bland et Altman comparant les teneurs en particules moyennes mesurées par Airparif et les teneurs en particules moyennes calculées expérimentalement dans cette étude, sur une même période.	57

Figure 23 : Filtre PM ₁₀ après 3 jours de prélèvement d'air à un débit de 500 L/min avec le Digital DH-77 (ici prélèvement Hiv9).....	58
Figure 24 : Découpe d'un filtre chargé en particules selon l'usage (analyse chimique ou biologique).	59
Figure 25 : Taux de recouvrement (en %) des phtalates sur les filtres QMA.	68
Figure 26 : Taux de recouvrement (en %) des HAP sur les filtres QMA.....	68
Figure 27 Exemple d'un mécanisme de transactivation cellulaire pour le récepteur aux androgènes (AR) (S Sun et al., 2016).	77
Figure 28 : Exemple d'un plan de plaque 96 puits.....	78
Figure 29 : Paramètres de régression non linéaire de Hill considérés pour la sigmoïde dose-réponse d'un composé agoniste (GraphPad Prism).....	80
Figure 31 : Illustration de la situation idéale pour le calcul d'EEQ selon le modèle ECx : parallélisme entre la courbe de l'échantillon (B) et la courbe du composé de référence (A) (Villeneuve et al., 2000).	83
Figure 31 : Boxplot de la contamination globale en COSV (en pg/μg) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et les saisons (été, hiver).....	93
Figure 32 : Proportion en concentration massique (en %) des familles de contaminants quantifiés en saison froide (tout type de particules confondues).	94
Figure 33 : Analyse en composantes principales des PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP collectés en saison froide et des teneurs en familles de COSV (variables actives) et conditions climatiques (variables supplémentaires).	95
Figure 34 : Proportion en concentration massique (en%) des familles de contaminants quantifiés en saison chaude (tout type de particules confondues).	97
Figure 36 : Analyse en composantes principales des PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP collectés en saison chaude et des teneurs en familles de COSV (variables actives) et conditions climatiques (variables supplémentaires).....	98
Figure 36 : Boxplot des teneurs en phtalates (en pg/μg) selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et des saisons (froide en bleu, chaude en rouge).	100
Figure 37 : Origine et transfert des phtalates entre les différentes matrices environnementales(Ghosh et Sahu, 2022).....	101
Figure 38 : Boxplot des concentrations en phtalates (en ng/m ³) selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et des saisons (été, hiver)	103
Figure 39 : Concentrations (en ng/m ³) en phtalates, individuelles et sommées entre congénères, selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP _t) et des saisons (hiver, été).....	104
Figure 40 : Sources, transport et dépôt des HAP par l'atmosphère (Hussain <i>et al.</i> , 2018).....	105
Figure 41 : Boxplot des teneurs (en pg/μg) en HAP légers (à gauche) et en HAP lourds (à droite) selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et des saisons (froide, chaude).	106

Figure 42 : Boxplot des concentrations (ng/m ³) en HAP légers et HAP lourd selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et la saison (été, hiver).	108
Figure 43 : Concentration moyennes (en ng/m ³) en HAP individuelles et sommées entre congénères, selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et la saison (hiver, été).	109
Figure 44 : Boxplot de la contamination particulaire globale en COSV (en pg/μg) selon les sites P13, P15, Champigny.	114
Figure 45 : Potentiels œstrogénique des extraits de TSP (en μg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	125
Figure 46 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM ₁₀ (en μg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	128
Figure 47 : Potentiel œstrogénique induits par les extraits de PM _{2,5} (en μg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	130
Figure 48 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à E2 (en μg de particules) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.	132
Figure 49 : Histogramme des TOP induits (en % d'E2) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.	133
Figure 50 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à E2 (en m ³ d'air extrait) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.	136
Figure 51 : Boxplot des valeurs EEQbio relatives à E2 (en pg d'E2 par m ³ d'air extrait) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.	139
Figure 52 : Mécanisme d'action du Fulvestrant (F) sur le récepteur ERα (ER) ; ERE : <i>estrogen response element</i> (Osborne, Wakeling et Nicholson, 2004).	140
Figure 53 : Potentiel œstrogénique (en % d'E2) des extraits de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) prélevées en saisons froide et chaude sur les sites de P13, P15 et Champigny.	142
Figure 54 : Potentiel œstrogénique (en % d'E2) des extraits de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) prélevées en saisons froide (en haut) et chaude (en bas) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	144
Figure 55 : Potentiel œstrogénique (en %E2) des échantillons Hiv5, Hiv6 et Hiv7 (en μg de particules extraites) de PM prélevées sur le site de P15 présentant un profil DRNM.	147
Figure 56 : Courbes dose-réponse complètes obtenues pour l'effet anti-androgénique selon les échantillons.	151
Figure 57 : Histogramme des TOP induits (en % de la TCDD) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en fonction des saisons froide.	154
Figure 58 : Potentiels dioxin-like des extraits de TSP (en μg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	155
Figure 59 : Potentiels <i>dioxin-like</i> des extraits de PM ₁₀ (en μg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.	158

Figure 60 : Potentiel dioxin-like des extraits de PM _{2,5} (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny.....	161
Figure 61 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à la TCDD (en µg de particules) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.....	162
Figure 62 : Boxplot des TOP induits (en % de la TCDD) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.....	163
Figure 63 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à la TCDD (en m ³ d'air extrait) selon les types de particules (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) en saisons froide et chaude.....	166
Figure 64 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% E2) calculés pour l'effet œstrogénique et la somme des phtalates quantifiées dans les particules.....	178
Figure 65 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet dioxin-like et la somme des phtalates quantifiées dans les particules.....	179
Figure 66 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) calculés pour l'effet dioxin-like et la somme des teneurs en phtalates quantifiées dans les particules.	181
Figure 67 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet dioxin-like et la somme des teneurs en PCB quantifiées dans les particules.....	182
Figure 68 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% E2) calculés pour l'effet oestrogénique et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules.....	184
Figure 69 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet dioxin-like et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules	186
Figure 70 : Analyse en composantes principales entre les teneurs en HAP et les EEQbio et TEQbio (pg/µg).....	187
Figure 71 : Régression linéaire entre les EC50 (µg de particules extraites) calculés pour l'effet oestrogénique et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules	190
Figure 72 : EEQchim oestrogénique en pg/µg et en pg/m ³ pour les PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP	195
Figure 73 : Comparaison des EEQchim et EEQbio en fonction des fractions granulométriques	196
Figure 74 : EEQchim en pg/µg et en pg/m ³ pour les effets <i>dioxin-like</i>	197
Figure 75 : Comparaison des EEQchim et EEQbio en pg/m ³ pour les effets <i>dioxin-like</i>	198

Table des tableaux

Tableau 1 : Détails des composés étudiés, sources et propriétés chimiques	39
Tableau 2 : Voies d'actions biologique des familles de composés étudiés, adapté de INSERM, (2013) et de Laborie, (2015)	42
Tableau 3 : Données de prélèvements par type de particules en moyenne pour 3 jours de prélèvements	49
Tableau 4 : Comparaison des teneurs moyennes en PM ₁₀ dans l'air (en µg/m ³) obtenues en 2019 entre les protocoles de prélèvements en continu et en discontinu, sur 3 périodes de prélèvement de 3 jours sur le site de Bobigny (données Airparif)	52
Tableau 5 : Teneurs en particules (PM ₁₀ et PM _{2,5}) dans l'air (µg/m ³)	53
Tableau 6 : Matrice de corrélation de Pearson et p-value associées entre les polluants de type NO ₂ , PM _{2,5} et PM ₁₀	56
Tableau 7 : Composition de la solution d'étalons internes utilisée pour l'imprégnation des pièces de filtres dédiées à l'analyse chimique.....	60
Tableau 8 : Caractéristiques des extraits particulaires dédiés aux analyses biologiques : nom d'échantillon, concentration d'extrait (en mg/µL de DMSO), teneurs des PM dans l'air (en µg/m ³), en rouge concentration < 25 mg d'extraits particulaires/µL de DMSO	63
Tableau 9 : Composés recherchés dans les extraits particulaires par GC-MS/MS.....	65
Tableau 10 : Composés recherchés dans les extraits particulaires par LC-MS/MS	66
Tableau 11 : Moyenne des masses de particules en µg et de m ³ par pièce, selon les types de particules	67
Tableau 12 : Taux de recouvrement par la méthode multi-contaminants (en%) des composés quantifiés sur la matrice NIST PM ₁₀ et TSP	71
Tableau 13 : Caractéristiques climatiques et concentrations en particules dans l'air moyennes des deux périodes étudiées (saison chaude et froide).....	91
Tableau 14 : Contamination globale quantifiée, tout type de particules confondues (en pg/µg)	92
Tableau 15 : Teneurs moyennes en famille de COSV (en pg/µg) sur les PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP collectés en saison froide	94
Tableau 16 : Matrice de corrélation de Pearson entre les teneurs en familles de COSV (en pg/µg) des particules et les paramètres climatiques en saison froide	96
Tableau 17 : Teneurs moyennes en COSV en saison chaude (en pg/µg).....	98
Tableau 18 : Matrice de corrélation de Pearson entre les teneurs en familles de COSV (pg/µg) et des variables climatiques en saison chaude.	99
Tableau 19 : Teneurs moyennes (pg/µg) en chaque phtalates selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et des saisons (hiver, été).....	102

Tableau 20 : Teneurs moyennes (pg/μg) en chaque HAP selon le type de PM (PM _{2,5} , PM ₁₀ , TSP) et des saisons (hiver, été).....	107
Tableau 21 : Concentration des PCB, PBDE, pesticides, parabènes et alkylphénols sur les PM selon les saisons (pg/ μg)	109
Tableau 22 : Concentrations moyennes (en ng/m ³) des parabènes, selon la saison (chaude et froide) et le type particulaire (PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP)	110
Tableau 23 : Concentrations moyennes (en ng/m ³) en alkylphénols et alkylphénols éthoxylés, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP)	111
Tableau 24 : Concentrations moyennes (en ng/m ³) en PBDE, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP)	111
Tableau 25 : Concentrations moyennes (en ng/m ³) des PCB, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP)	112
Tableau 26 : Concentrations moyennes (en ng/m ³) des pesticides, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM _{2,5} , PM ₁₀ et TSP)	112
Tableau 27 : Contamination moyenne des particules selon les familles de composés, selon les sites (en pg/μg)	115
Tableau 28 : Valeurs EC50 (en μg de particules) des extraits TSP.....	124
Tableau 29 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits PM ₁₀	127
Tableau 30 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits PM _{2,5} p	129
Tableau 31 : EEQbio calculés pour les échantillons (en pg d'E2/m ³ d'air extrait)	138
Tableau 32 : Valeurs IC50 (en μg de particules) et BOTTOM (en % de DHT) des extraits de TSP (Hiv12) et de PM ₁₀ (Ete2, Ete10)	150
Tableau 33 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits TSP	153
Tableau 34 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits PM ₁₀	156
Tableau 35 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits PM _{2,5}	160
Tableau 36 : Récapitulatif des valeurs EC50 pour les effets dioxin-like (moyenne ± écart-type) p ...	167
Tableau 37 : Valeurs TEQbio (en pg de TCDD/m ³ d'air extraits)	169
Tableau 38 : Matrice de corrélation de Pearson entre la somme des teneurs des composés par famille (en ng/g) et les valeurs d'EC 50 et TOP	176
Tableau 39 : Matrice de corrélation de Pearson entre les activités œstrogéniques EEQbio et les PCB	183
Tableau 40 : Matrice de corrélation de Pearson considérant la température, les teneurs en HAP et les effets biologiques	188
Tableau 41 : Matrice de corrélation avec attribution d'une valeur de diamètre par fraction particulaire testée.....	189

Tableau 42 : Comparaison des sommes moyennes de la contamination des échantillons à haut niveaux d'activité biologique par rapport aux autres échantillons saison froide de la fraction correspondante (ng/m ³).....	192
Tableau 43 : Valeurs moyennes des EEQbio et EEQchim pour les effets oestrogéniques.	194
Tableau 44 : Valeurs moyennes des TEQbio et TEQchim pour les effets <i>dioxin-like</i> en fonction des fractions granulométriques	197

Abréviations

AhR : *Aryl Hydrocarbon Receptor*

AP : Alkylphénol(s)

APEO : Alkylphénols éthoxylates

AR : *Androgen Receptor*

ASE : *Accelerated Solvent Extraction*

BA : Bleu Alamar

BaP : Benzo(a)Pyrène

COSV : Composés Organiques Semi-Volatils

COV : Composés Organiques Volatils

DHT : Dihydrotestostérone

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DRNM : Dose Réponse Non Monotonique

E2 : 17 β -œstradiol

EC50 : *Effective Concentration 50 %*

EPA : *Environmental Protection Agency*

ER : *Estrogen Receptor*

GC-MS/MS : *Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry*

HAP : Hydrocarbure(s) Aromatique(s)
Polycyclique(s)

IC50 : *Inhibition Concentration 50 %*

LC-MS/MS : *Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry*

LD : Limite de Détection

LQ : Limite de Quantification

NP : Nonylphénol(s)

NPEO : Nonylphénol(s) éthoxylé(s)

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBDE : Polybromodiphényléther(s)

PCB : Polychlorobiphényle(s)

PCB-DL : Polychlorobiphényle(s) *Dioxin-Like*

PE : Perturbateur(s) Endocrinien(s)

PM : *Particulate Matter*

RLU : *Relative Luminescence Unit*

TCDD : 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine

TSP : *Total Suspended Particles*

INTRODUCTION

L'émission dans l'air, sous forme gazeuse ou particulaire, de molécules d'origine naturelle mais aussi, d'origine anthropique modifie la qualité de l'atmosphère et de l'environnement en général. Le lien entre l'exposition à des polluants atmosphériques et de nombreuses pathologies (bronchite, asthme, cancer du poumon, athérosclérose...) est maintenant avéré (Farmer *et al.*, 2014). Selon l'OMS, les principales causes de mortalité liées à la pollution de l'air ambiant (intérieur/extérieur) seraient les accidents vasculaires cérébraux, les cardiopathies ischémiques, les maladies pulmonaires avec la broncho-pneumopathie chronique obstructive, le cancer du poumon et, également les maladies respiratoires de l'enfant, lequel représente une population particulièrement sensible à la pollution de l'air. Ces pathologies résulteraient principalement d'une exposition pulmonaire de l'Homme aux particules atmosphériques (Cohen *et al.*, 2017).

La pollution particulaire est une problématique mondiale. Et, elle est notamment aggravée dans les grandes villes, telle que Paris, sous certaines conditions météorologiques comme lors de périodes de vent faible et d'inversion thermique, avec pour conséquence une faible hauteur de mélange de la couche limite atmosphérique. Les particules atmosphériques présentent diverses origines d'émissions et de formations. En Ile-de-France, les particules sont principalement émises par le secteur industriel, le trafic routier et le secteur résidentiel et tertiaire en lien avec le chauffage, et en particulier le chauffage au bois (Airparif, 2008).

Ces particules, appelées PM (*Particulate Matter*), sont classées et réglementées selon leur taille granulométrique. Les PM_{2,5} représentent la fraction des particules dont le diamètre aérodynamique est équivalent ou inférieur à 2,5 µm ; les PM₁₀ correspondent à la fraction des particules dont le diamètre aérodynamique est équivalent ou inférieur à 10 µm. Lorsque les particules sont considérées dans leur globalité, sans distinction de taille, ce sont les TSP (*Total Suspended Particle*). Les potentiels effets sanitaires induits par les PM sont liés notamment à leur taille, mais aussi à leur composition.

La taille des particules influencerait la zone de dépôt dans les poumons de celles-ci ; les PM₁₀ peuvent atteindre la partie thoracique du système respiratoire (Lippmann, Yeates et Albert, 1980) et les PM_{2,5} peuvent aller jusqu'aux alvéoles pulmonaires (Xing *et al.*, 2016). Les alvéoles pulmonaires sont une zone d'échange. En effet, chaque sac alvéolaire est recouvert d'un réseau capillaire important lui permettant un échange avec la circulation sanguine. Le contact des particules avec cette zone, peut ainsi amener des molécules transportées à passer dans la circulation systémique (Zhang *et al.*, 2018) et à atteindre des organes cibles (Duan *et al.*, 2017) autres que les poumons, comme le cerveau, le foie, les reins, les organes

reproducteurs... La taille des particules conditionne leur lieu de dépôt, et de ce fait, leur capacité à induire de potentiels effets biologiques dans l'organisme.

Concernant la composition, les particules de l'air sont constituées en proportions variables d'une fraction minérale (métaux, sels) et d'une fraction carbonée (carbone élémentaire et organique), pouvant adsorber du matériel d'origine biologique (endotoxines, pollen) ou non. La fraction organique peut adsorber une large gamme de composés organiques semi-volatils (COSV). Parmi les COSV quantifiés dans les phases gazeuse et particulaire de l'air ambiant, nombreux appartiennent à des familles de composés à effet perturbateur endocrinien (PE) suspecté ou avéré (Rudel et Perovich, 2009 ; Laborie *et al.*, 2016 ; Teil *et al.*, 2016). Parmi ces composés COSV, l'hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) benzo(a)pyrène est surveillé dans l'air en regard de la réglementation pour ses effets cancérigènes. En absence de mesures réglementaires et/ou de seuils limites définis, l'exposition humaine aux composés PE reste peu documentée, pour une population générale qui s'avère être davantage exposée en milieu urbain (Pascal *et al.*, 2013).

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des xénobiotiques capables d'interférer avec le fonctionnement du système hormonal chez l'Homme et l'animal (Kabir, Rahman et Rahman, 2015). Même si l'alimentation reste à ce jour considérée comme un vecteur majeur d'exposition aux PE, cette contamination de l'air ambiant par des PE serait à l'origine de perturbations hormonales observées chez l'Homme (Annamalai et Namasivayam, 2015). Ainsi, les composés PE adsorbés sur la phase particulaire en proportions variables peuvent, individuellement ou en mélange, contribuer au potentiel PE intrinsèque de l'air (Novák *et al.*, 2014 ; Oziol *et al.*, 2017 ; Nováková *et al.*, 2020).

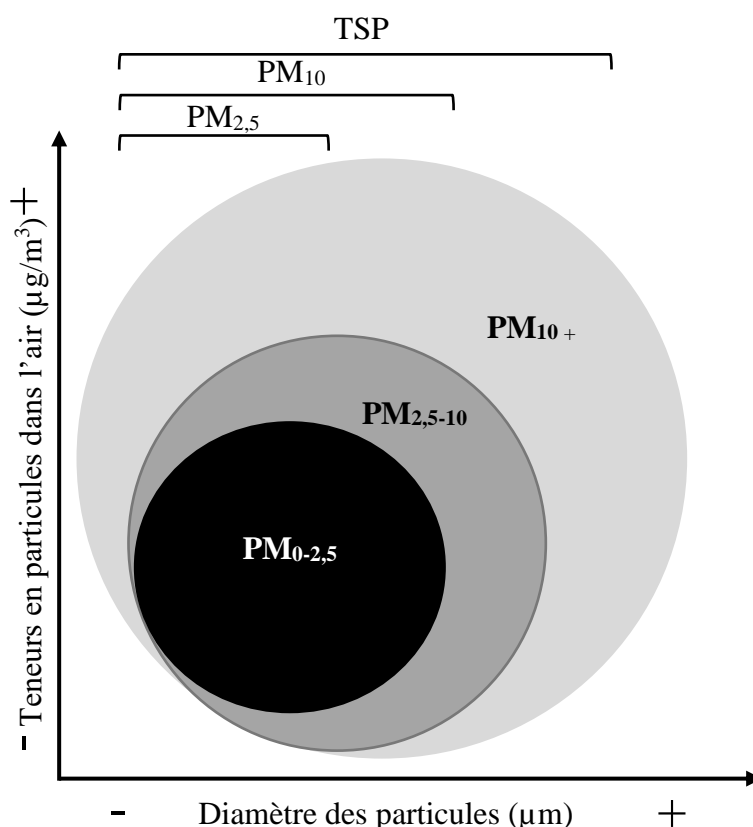
L'air serait une source d'exposition aux composés PE non négligeable, en raison des perturbations hormonales pouvant être induites par ces composés transportés par la phase gazeuse et particulaire (Darbre, 2018). Dans les études caractérisant ce risque d'exposition, la difficulté réside dans l'identification des PE inhalés comme étant la source formelle de perturbation endocrinienne, tant l'exposition dans l'environnement à ces composés se fait via plusieurs matrices environnementales (pulmonaire, orale, cutané...). Cependant, des études ont montré que les composés contenues dans la fumée de cigarette induisait des effets sur le système hormonal humain (Kapoor et Jones, 2005 ; Tweed *et al.*, 2012).

Des études portant sur les HAP ou les phtalates transportés par les particules, tendent à montrer que la fraction fine (PM_{2,5}) supporterait la majorité de la contamination en micropolluants

particulaires (Ma *et al.*, 2014 ; Hassanvand *et al.*, 2015). Ainsi la fraction pouvant atteindre les alvéoles pulmonaires serait la plus contaminée en composés PE. Ces connaissances sur la contamination chimique des particules selon leur taille, restent à approfondir et à compléter sur une plus large gamme de familles de composés organiques à effet PE avéré ou suspecté, les études multi-contaminants sur le sujet étant rares (Degrendele *et al.*, 2014).

Ainsi, il est nécessaire d'acquérir des connaissances sur les risques sanitaires liés à l'exposition aux particules de l'air urbain, en tenant compte de leur taille et de leur composition en PE. Ainsi ce doctorat s'est attaché à caractériser l'exposition pulmonaire à la multi-contamination en PE des principales classes granulométriques de particules par une double approche chimie-biologie.

La première étape a été l'échantillonnage de trois classes particulières sélectionnées (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP), prélevées en environnement urbain. Une représentation graphique en Figure 1 illustre le positionnement des fractions étudiées les unes par rapport aux autres en fonction de leur diamètre et des teneurs dans l'air. Cela a été réalisé sur trois sites en région parisienne étant connus pour leur pollution de type « fond ». Les prélèvements se sont passés sur deux saisons contrastées, afin de tenir compte de l'impact de la saisonnalité dans l'interprétation des résultats. Par la suite, à l'aide de méthodes précédemment validées (Alliot *et al.*, 2014 ; Laborie *et al.*, 2016), 59 molécules de type COSV, connues pour leur présence dans l'air et leurs propriétés PE suspectées ou avérées, ont été recherchées dans les extraits organiques des fractions de particules. Cela a permis de caractériser chimiquement cette fraction organique selon la taille des particules et la saisonnalité. Cette étape est détaillée dans le chapitre 3.



La seconde étape de ce travail a été de caractériser les effets biologiques des extraits particulaires, sur trois voies d'action potentielles. Les effets œstrogénique, anti-androgénique et *dioxin-like* ont été étudiés par le biais de tests cellulaires *in vitro*. Le choix de ces tests s'est appuyé sur des travaux antérieurs (Oziol *et al.*, 2017), ayant mis en évidence une contamination en PE des particules et notamment un potentiel œstrogénique et anti-androgénique, de la phase particulaire (TSP) de l'air extérieur en centre urbain à Paris. L'effet *dioxin-like* a également été mis en évidence dans plusieurs études s'intéressant aux effets de la fraction organique des particules (Novák *et al.*, 2014 ; Nováková *et al.*, 2020). L'ensemble des effets biologiques, ainsi que les paramètres des relations dose-réponses obtenus pour les extraits particulaires ont été comparés aux effets des composés de références (témoins positifs) pour chacun des tests cellulaires réalisés, afin d'estimer le potentiel d'effet induit pour chaque extrait particulaire testé. Ce travail est décrit dans le chapitre 4.

La dernière étape de ce travail a été de mettre en regard la contamination chimique des particules étudiées, selon leur taille et la saison, et les effets biologiques induits. Cette mise en

relation a été réalisée par des calculs théoriques du potentiel biologique des effets considérés, en lien avec leur contamination chimique déterminée précédemment. En effet, l'US Environmental Protection Agency (US EPA) a répertorié les niveaux d'effets biologiques induits par des composés purs étudiés ici, testés sur cellules *in vitro* (œstrogénique, anti-androgénique et *dioxin-like*). La concentration en composés chimiques obtenue précédemment, a donc pu être mise en relation avec cette base de données et ainsi, un potentiel effet biologique a pu être estimé pour chaque échantillon. Ce potentiel biologique calculé selon la contamination chimique a été comparé à celui estimé à l'aide des tests cellulaires *in vitro*. Pour compléter cette mise en relation de la concentration en COSV des extraits particulaires et les effets biologiques, des tests statistiques ont été réalisés afin d'observer les corrélations éventuelles entre la présence de certaines familles de contaminants recherchés et les effets biologiques induits observés pour ces mêmes échantillons (ici, œstrogénique et *dioxin-like*). Ces résultats sont présentés dans le chapitre 5.

Pour mettre en perspective la contamination chimique des particules et l'induction d'effets biologiques, une étude du transfert des COSV transportés par les particules vers les cellules pulmonaires avait initialement été prévue. Cette étude permettait d'appréhender la bioaccessibilité de ces composés au niveau pulmonaire et d'amener ainsi des informations supplémentaires sur l'exposition potentielle aux COSV présents sur les particules. La réalisation de cette étude ayant été prévue en avril 2020, elle n'a pu être menée à bien, en raison des restrictions de déplacement liées à la période de pandémie de Covid-19. Il aurait été cependant intéressant d'étudier cet aspect. En effet, le transfert de ces polluants associés aux particules est décrit dans la littérature, néanmoins, aucune étude ne s'intéresse spécifiquement aux COSV transportés. Cette information sur l'exposition potentielle relie la contamination chimique aux effets biologiques induits, de ce fait ces informations sur les transferts de polluants sont décrites dans le contexte général.

CHAPITRE 1 - CONTEXTE GENERAL

Les émissions de molécules retrouvées dans les phases gazeuse ou particulaire atmosphériques, modifient la qualité de l'environnement. Ces molécules peuvent être d'origine naturelle mais aussi, anthropique. Depuis le développement industriel, ces émissions se sont diversifiées, entraînant une exposition croissante de l'Homme à une pollution complexe (Farmer *et al.*, 2014). La pollution atmosphérique est définie comme la présence de toute substance dans l'air pouvant nuire aux humains, aux animaux, à la végétation ou aux matériaux (Kampa et Castanas, 2008). Or, le lien entre pollution atmosphérique et de nombreuses pathologies est maintenant avéré. Ainsi, selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) « *Ambient Air Pollution* » (OMS, 2016), la pollution atmosphérique serait le risque environnemental le plus important pour la santé humaine. L'OMS estime qu'environ 7 millions de personnes dans le monde en meurt chaque année. Les émissions de particules dans l'air sont particulièrement préoccupantes, de nombreuses études (Cohen *et al.*, 2013 ; Cohen *et al.*, 2017 ; Cooke *et al.*, 2007) suggèrent qu'elles sont la principale cause des problèmes de santé liés à la pollution atmosphérique.

I. Les particules atmosphériques

Les particules atmosphériques, aussi appelées PM (*Particulate Matter*), sont des particules en suspension dans l'atmosphère. Elles peuvent être d'origine naturelle, comme lors de tempêtes de sable, d'éruptions volcaniques, de l'érosion naturelle ; elles sont alors constituées de la matière déplacée, plutôt minérale dans ces cas-ci. Elles peuvent également être d'origine anthropique : leur présence dans l'atmosphère est alors liée aux activités humaines. Dans ce cas, elles peuvent être émises lors de la cuisson d'aliments, par le chauffage, par le tabagisme, par les véhicules à moteurs thermiques, par le secteur agricole et industriel. A l'échelle mondiale, l'émission de PM d'origine anthropique est en augmentation depuis deux siècles, l'entrée dans l'ère industrielle marquant le début de l'augmentation de cette pollution atmosphérique à l'origine d'une grande quantité des particules émises via diverses sources.

1. Origine, formation et classification des particules atmosphériques

Les particules atmosphériques présentes dans l'air sont d'origine et de variétés extrêmement différentes. Les espèces chimiques retrouvées dans les particules peuvent être de la matière inorganique (comme des sulfates, des silicates, des métaux, des minéraux, des sels...) et de la matière carbonée. Au sein de la matière carbonée composant les particules, on distingue le carbone élémentaire, partie composée uniquement de carbone, et le carbone organique : l'élément carbone est alors associé à d'autres éléments comme l'oxygène, l'hydrogène. De nombreuses espèces chimiques complexes y sont retrouvées. De plus, du matériel d'origine biologique peut y être retrouvé (de Rooij *et al.*, 2019).

De ce fait, les particules sont des polluants particulièrement complexes qui peuvent être directement émis dans l'atmosphère, elles sont alors considérées comme des particules primaires. Ou alors, elles peuvent venir de la transformation, des interactions avec des polluants gazeux présents dans l'atmosphère : elles sont alors appelées particules secondaires. Après leur émission, elles peuvent interagir avec des composés organiques volatils (COV) ou des COSV présents dans la phase gazeuse. Les COV sont des substances volatiles organiques qui se transforment de l'état liquide à l'état gazeux, à température ambiante. Les COSV sont des substances moins volatiles que les COV, qui dans certaines conditions, peuvent se répartir entre la phase gazeuse et la phase particulaire. A température ambiante (20°C), leur pression de vapeur saturante se situe entre 10^{-2} et 10^{-8} kPa.

Ainsi, les particules dites primaires sont majoritairement composées d'éléments de la matrice terrestre dont elles proviennent. Par exemple, les particules retrouvées dans les zones désertiques sont composées de minéraux, d'argile, issues de l'action mécanique de l'érosion du sol et du vent qui soulève ces particules, la fraction la plus fine restant en suspension. Un autre type de particules primaires sont les suies. Ces particules primaires sont directement issues des processus de combustion, qui vont former des hydrocarbures, de type hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Une partie de ces HAP va perdre de l'hydrogène pour former du carbone élémentaire, qui va constituer un agglomérat en chapelet, recouvert de carbone organique et de sulfates se condensant sur sa surface (Figure 2).

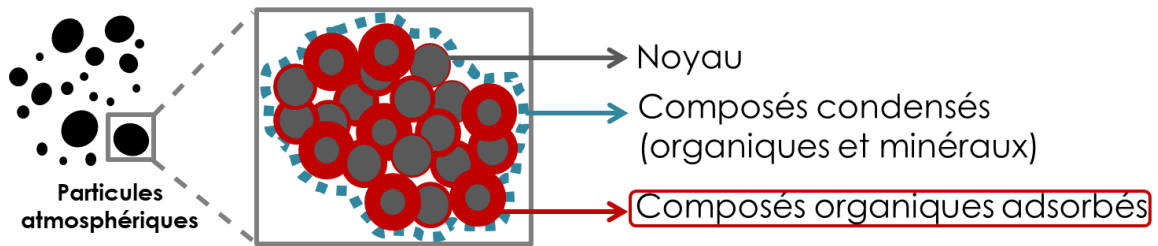


Figure 2 : Schéma simplifié de la structure d'une particule atmosphérique.

Les particules dites secondaires résultent, elles, de réactions chimiques, transformant les espèces gazeuses présentes dans l'atmosphère en particules. Elles sont issues de la chimie atmosphérique. Leur composition va varier en fonction des espèces chimiques présentes dans l'air avec lesquelles elles vont interagir. Elles sont chimiquement très hétérogènes.

De plus, plusieurs études ont montré que la composition des PM, notamment la fraction organique qu'elles transportent, diffère en fonction de leur taille granulométrique (Borgie, [s d] ; Liu, Zhang et Weschler, 2014 ; Okonski *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2015). Ainsi, il existe des différences de composition selon les fractions granulométriques (Figure 3). Il est également admis que la zone géographique et la saison sont des facteurs qui peuvent impacter cette composition organique des particules atmosphériques.

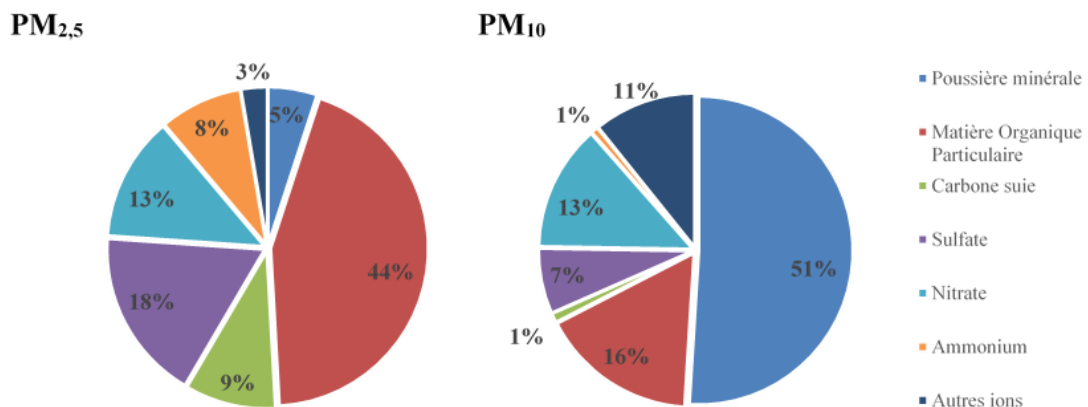


Figure 3 : Répartition en pourcentage des différents composants des PM_{2,5} et PM₁₀ sur le site de Paris Les Halles (Airparif, 2008).

Les particules atmosphériques sont classées selon leur granulométrie. En France, actuellement, seules celles d'un diamètre inférieur à 10 µm (PM₁₀) et 2,5 µm (PM_{2,5}) sont réglementées (objectifs de qualité, seuils d'alerte et valeurs limites), selon le décret n° 2010-1250 du 21 octobre 2010 relatif à la qualité de l'air. L'OMS, dans ses lignes directrices relatives à l'air de 2021, recommande un seuil de teneurs dans l'air à ne pas dépasser de 45 µg/m³ pour les PM₁₀ et de 15 µg/m³ pour les PM_{2,5}, en moyenne sur 24 heures. Ces seuils ont été revus à la baisse par l'OMS, en comparaison avec les lignes directrices précédemment publiées en 2005, en raison de l'augmentation significative d'articles scientifiques associant l'exposition humaine aux particules atmosphériques à un grand nombre de maladies.

Les activités humaines sont en grande majorité à l'origine de ces particules atmosphériques PM_{2,5}, et PM₁₀. Dans la Figure 4, l'Agence Européenne de l'Environnement, en 2009, a montré que la majorité des sources de la pollution aux PM était domestique (chauffage...), industrielle, et liée aux transports routiers.

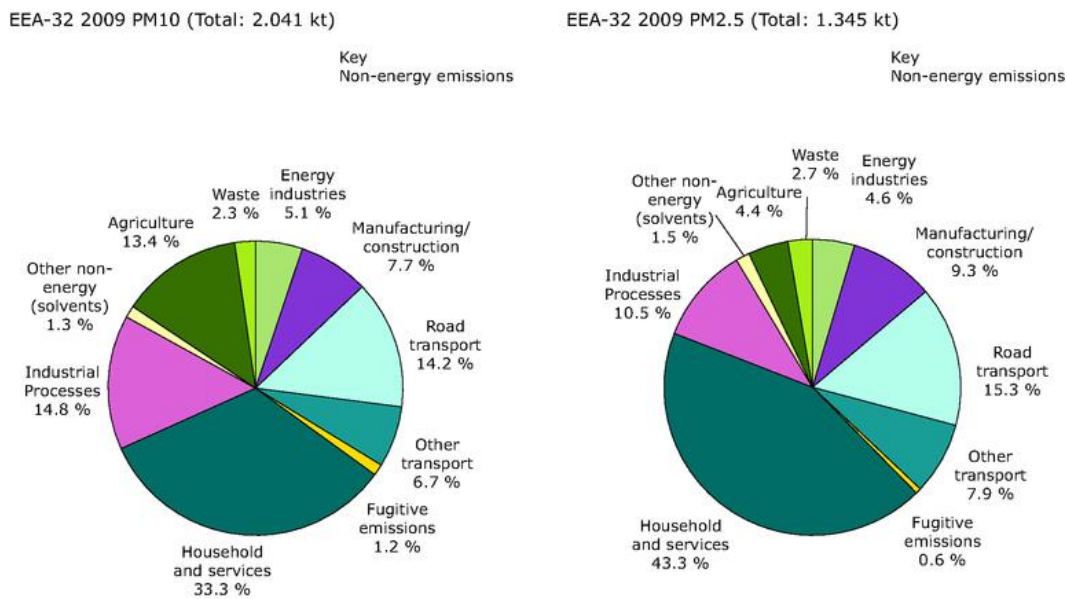


Figure 4 : Contribution des différents secteurs aux émissions totales de PM₁₀ et PM_{2,5} (European Environment Agency, 2009).

2. Devenir des particules atmosphériques dans l'arbre respiratoire

Les effets des particules atmosphériques sont influencés par plusieurs paramètres notamment, la taille des particules. Ce paramètre influence leur lieu de dépôt dans l'appareil respiratoire. Ainsi, les PM_{10} peuvent atteindre la partie thoracique du système respiratoire (Lippmann, Yeates et Albert, 1980) et les $PM_{2,5}$ peuvent elles, aller jusqu'aux alvéoles pulmonaires (Xing *et al.*, 2016), partie du tractus respiratoire étant considérée comme la zone d'échange.

a. Structure des voies respiratoires et devenir des PM selon leur taille

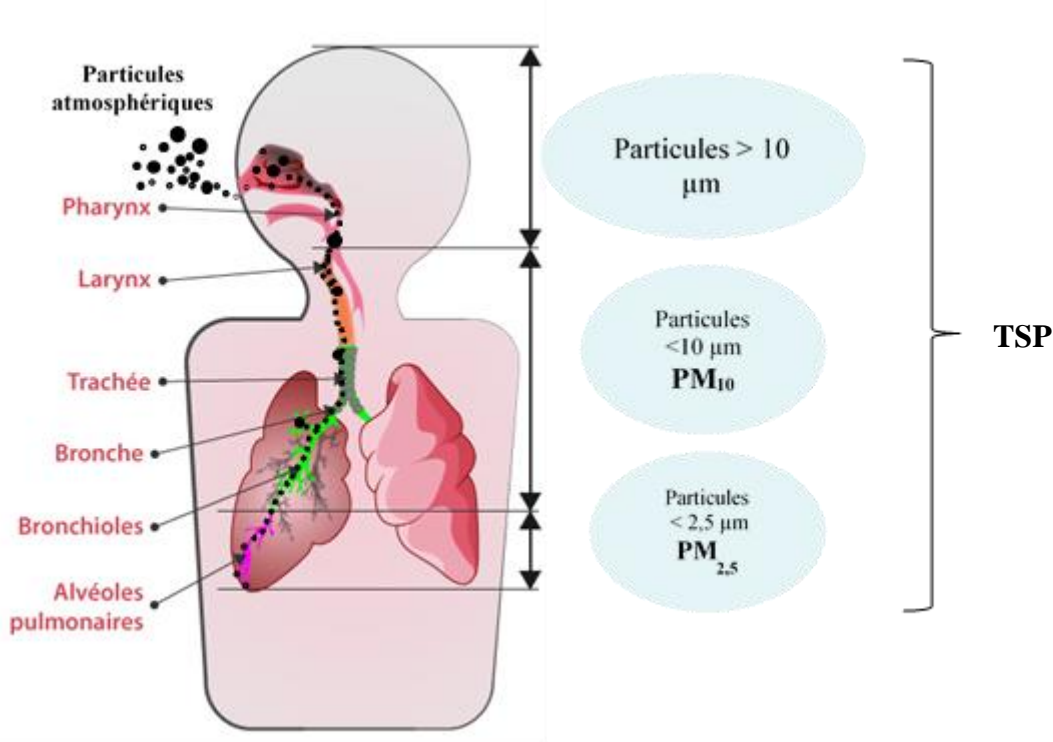


Figure 5 : Structure des voies respiratoires et lieu de dépôt selon la taille des particules.

Les voies respiratoires commencent par la trachée, qui se divise par la suite en 2 branches, qui vont devenir les bronches (poumon droit et poumon gauche), ces bronches ont de plus en plus de branches, se ramifient en bronchioles (Figure 5). Ces bronchioles vont se finir en alvéoles, minuscules sacs aériens, situés à l'extrémité des bronchioles terminales. Chaque bronchiole donne une dizaine de canaux alvéolaires qui eux-mêmes vont donner environ 5 à 6 sacs alvéolaires. Il s'agit de la zone d'échange gazeux du poumon avec la circulation sanguine, chaque alvéole étant en contact avec un très vaste réseau de capillaires sanguins (Figure 6). Les poumons contiennent environ 300 millions d'alvéoles, chaque alvéole étant enveloppée dans une maille de capillaires. La surface totale des alvéoles pulmonaires représente environ 75 m².

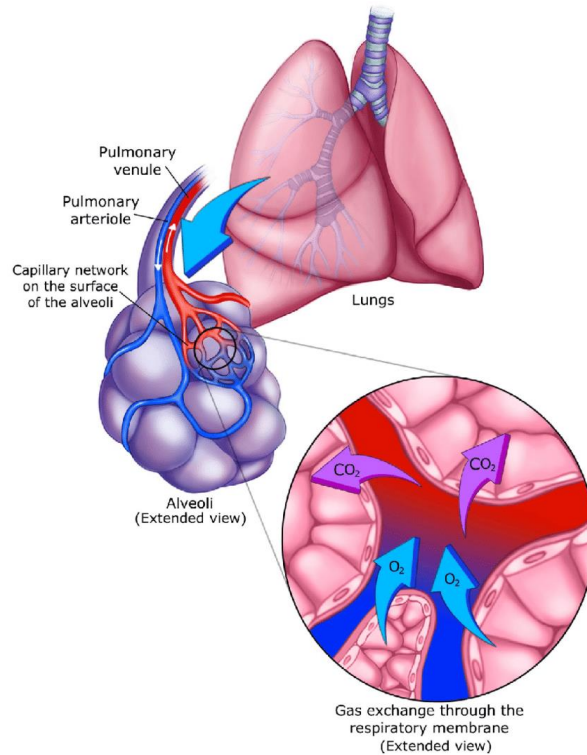


Figure 6 : Illustration de la zone d'alvéoles pulmonaires (Özilgen *et al.*, 2020).

b. Mécanismes de dépôt des particules atmosphériques

Une fois inhalées, les particules atmosphériques vont avoir un devenir différent dans les voies respiratoires selon leur taille. Ce paramètre est le déterminant principal de leur zone de dépôt. Les différents mécanismes possibles de dépôt des particules dans les poumons sont : la diffusion, la sédimentation et l'impaction. Ils sont exposés en Figure 7. Néanmoins, outre la taille des particules, il faut aussi noter que l'âge et la capacité respiratoire de la population exposée peuvent aussi influencer le lieu de dépôt des particules (Sturm, 2020) : la fonction respiratoire des adultes permet aux particules de pénétrer plus profondément par rapport à celle des enfants (de 5 à 15 ans).

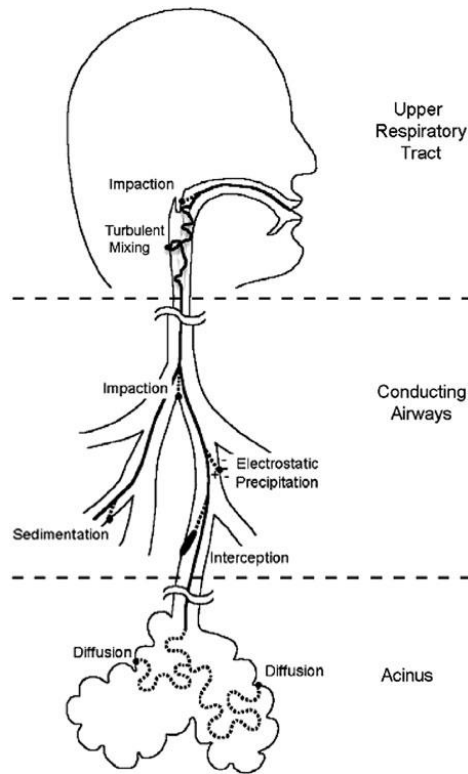


Figure 7 : Mécanismes de dépôt des particules inhalées dans les poumons (Darquenne, 2020).

DIFFUSION

La diffusion est le principe d'un dépôt des particules qui concerne plutôt des particules de plus petites tailles ($< 0,5 \mu\text{m}$). Elle a lieu en raison d'une collision avec les molécules de l'air. Ce mécanisme s'appuie sur le mouvement brownien. Cette diffusion peut amener les particules à se coller contre les parois des voies aériennes. Plus les particules sont petites, plus le débit d'air est important, plus le dépôt par diffusion sera important. Ce mécanisme est particulièrement important pour le dépôt des particules au niveau des bronchioles terminales et des alvéoles.

SEDIMENTATION

La sédimentation est le second type de dépôt des particules atmosphériques dans les voies aériennes. Elle est directement liée à la gravité et associe l'impact de la force de traînée de l'air et la force de gravité. Ce mécanisme concerne plus particulièrement les particules ayant des diamètres plus importants, supérieurs à $0,5 \mu\text{m}$. Plus le diamètre des particules est grand, plus le débit d'air est faible, plus ce phénomène est important.

IMPACTION

L'impaction concerne les particules de plus grande taille, qui ne suivent pas le mouvement de l'air en raison de leur plus grande inertie et qui se déposent directement sur les parois des voies aériennes. L'impaction est prépondérante pour les particules d'un diamètre supérieur à 1 μm . Ce type de dépôt augmente si la taille des particules et le débit d'air augmente. Ce type de dépôt est plus spécifique de la région naso-pharyngée et des voies aériennes supérieures.

c. Devenir des composés transportés par les PM

À la suite des dépôts des particules dans les voies aériennes, un phénomène de désorption de molécules, telles que les COSV, transportées par les particules peut se produire (Figure 8). Ce phénomène est contré par des mécanismes de clairance pulmonaire. Cependant une fraction de ces COSV sera bioaccessible ou biodisponible. La bioaccessibilité définit la fraction maximale d'un composé qui est disponible dans un fluide (par exemple, dans le surfactant pour les poumons), par rapport à sa fraction adsorbée sur PM, pour être absorbée par la suite, suivant les définitions de Collins *et al.* (2015) et Rostami et Juhasz (2011). La biodisponibilité concerne une molécule qui a déjà passé des membranes et qui a été absorbée dans la circulation systémique, et définit donc la fraction disponible pour la circulation sanguine, par rapport à la fraction inhalée, aussi selon les définitions de Collins *et al.* (2015) et de Rostami et Juhasz (2011). Ces différents mécanismes permettent donc à une partie des polluants transportés par les particules d'accéder à la circulation sanguine et *in fine* à des organes cibles autres que les poumons, et ainsi engendrer potentiellement des effets systémiques.

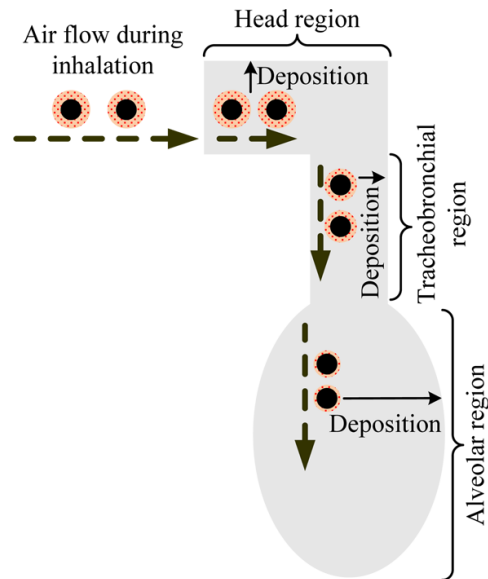


Figure 8 : Schéma simplifié des voies aériennes et des lieux de dépôt des particules, l'épaisseur des zones oranges représentent la quantité de COSV associés aux particules (Liu, Zhang et Weschler, 2017). Les COSV adsorbés sur les PM se désorbent au fur et à mesure de la pénétration dans l'arbre respiratoire.

INFLUENCE DES MECANISMES DE DESORPTION DES COSV

La répartition des COSV dans la phase gazeuse et la phase particulaire de l'air est fonction de leur volatilité, de leurs propriétés physico-chimiques, du coefficient de partage octanol/air des molécules ($\log K_{oa}$), de la température ambiante et de la quantité de particules présentes dans l'air (Pankow, 1994 ; May *et al.*, 2013 ; Yamasaki, Kuwata et Miyamoto, 1982). Pour les particules, les molécules adsorbées ont la capacité de se désorber suivant plusieurs mécanismes. Considérant l'exemple de la nicotine adsorbée sur les particules issues de la fumée de cigarette, Pankow (2001) considère que plusieurs mécanismes peuvent survenir pour que cette désorption ait lieu :

- les molécules se désorbent dans un premier temps des particules puis elles se déposent dans les tissus (*Evaporated Gas Deposition, EGD*)
- les particules se déposent, les molécules se désorbent et par la suite passent dans les tissus (*Particle Deposition and Evaporated Gas Deposition, PDEGD*)
- les particules se déposent, et les molécules se dissolvent directement dans les tissus, par contact avec les fluides pulmonaires (*Particle Deposition and Diffusion, PDD*)

Pour les molécules qui ont une volatilité élevée et qui sont adsorbées sur les particules, leur dépôt dans les voies aériennes est majoritairement fait par le mécanisme de type EGD (Pankow, 2001). L'étude de Liu, Zhang et Weschler (2017), montre que les COSV véhiculés par la phase particulaire de l'air se déposent profondément dans les voies respiratoires. Plus les particules

pénètrent loin dans les voies respiratoires, plus les COSV transportés diminuent, en raison du mécanisme de type EGD, qui entraîne une évaporation des composés tout au long du transport des particules dans l'arbre respiratoire.

Ces paramètres peuvent influencer la désorption des molécules transportées (Bernstein, 2004 ; Robinson et Yu, 2001). Afin de mieux comprendre ce phénomène de désorption des molécules depuis les particules, des études ont été menées. Ainsi, le modèle que Liu, Zhang et Weschler, (2017) ont développé (pour les PM de zones urbaines et suburbaines) prédit que dans la région alvéolaire, plus de 92 % des COSV associés aux particules qui se sont déposées sur les tissus, sont la conséquence du dépôt des PM_{2,5}. Ce modèle suggère également que les particules ultrafines (diamètre inférieur à 0,1 µm) contribuent à hauteur de 15 à 25 % au dépôt pulmonaire des COSV. De plus, il est estimé que les particules ultrafines sont associées au dépôt des COSV dans les alvéoles, à hauteur de 6 à 11 %. Ces estimations concernant le dépôt des COSV adsorbés sur PM ultrafines sont en accord avec les données d'une autre étude (Kawanaka *et al.*, 2009) portant sur la contribution des particules ultrafines dans le dépôt des HAP dans les poumons. Les conclusions de ces différents modèles montrent bien qu'en dépit du fait que les particules ultrafines ne contribuent qu'à environ 2,3 % de la masse des particules totales (Kawanaka *et al.*, 2009), leur implication dans le dépôt des COSV au niveau des poumons est environ 10 fois plus élevée que pour les particules ayant un diamètre plus élevé (Liu, Zhang et Weschler, 2017 ; Kawanaka *et al.*, 2009). Ces modèles concluent que les particules fines (diamètre < 2,5 µm) contribuent à plus de 90 % dans le dépôt des COSV dans les poumons, mais qu'au-delà de cela encore, les particules ultrafines jouent le rôle le plus important pour le transport et le dépôt de ces molécules dans les voies respiratoires (Liu, Zhang et Weschler, 2017 ; Kawanaka *et al.*, 2009).

INFLUENCE DU TEMPS DE RETENTION DES PARTICULES

Comme évoqué précédemment, un facteur important au dépôt des COSV amenés par les particules est le temps de rétention de ces particules au sein des voies respiratoires. Ce temps de rétention a été étudié en utilisant des particules radio-marquées (Mills *et al.*, 2006 ; Möller *et al.*, 2008). Les études menées sur les rongeurs ont montré que les temps de rétention des particules étaient de 24 à 48 h, mais une étude menée sur les chiens a montré que ce temps était prolongé pour les particules atmosphériques (Kreyling *et al.*, 1999). De plus, des études (Brown, Zeman et Bennett, 2002 ; Möller *et al.*, 2008 ; Gehr, Mühlfeld et Rothen-Rutishauser, 2010) menées sur les voies respiratoires humaines montrent également que le temps de rétention des microparticules et nanoparticules est supérieur à 48 heures, avec la probabilité que plus les

particules sont de petit diamètre, plus le temps de rétention sera long. Par conséquent, on peut considérer qu'une rétention longue des particules au niveau pulmonaire permettrait de laisser d'autant plus de temps aux COSV de se désorber des PM, notamment les plus fines, pour se déposer au niveau des tissus environnants, via les différents mécanismes présentés précédemment.

INFLUENCE DES MECANISMES DE PROTECTION DU SYSTEME RESPIRATOIRE

Dans les processus de désorption des COSV de la matrice particulaire, l'influence des mécanismes de protection du système respiratoire est également à considérer. En effet, il existe des mécanismes de protection de l'organisme face à une exposition pulmonaire à divers stress environnementaux (gaz, particules, bactéries, virus, allergènes...).

Au niveau des voies aériennes supérieures, la première barrière de protection envers les agents exogènes est représentée par les poils nasaux, qui vont capturer les plus grosses particules, et le réflexe d'éternuement va les expulser. Le mucus présent au niveau de cette zone va également empêcher les particules d'entrer plus profondément dans les voies aériennes. Néanmoins, ce mécanisme sera inefficace pour les particules les plus fines et, d'autres mécanismes de protection vont devoir entrer en jeu. En effet, certaines particules vont passer la zone nasale et vont entrer plus profondément dans les voies respiratoires, au niveau de la trachée, des bronches, bronchioles et alvéoles. Leur capacité d'atteindre les voies aériennes plus ou moins profondes est conditionnée par leur taille, mais aussi par leur solubilité (Bernstein, 2004 ; Geiser, Schürch et Gehr, 2003). En effet, l'épithélium est recouvert de mucus, et les particules solubles peuvent s'y dissoudre, tandis que les particules insolubles seront expulsées des voies respiratoires par le mouvement des cils et le mucus (Figure 9).

Toujours au niveau des voies aériennes supérieures, mais plus particulièrement de la zone du pharynx, les temps de résidence sont courts mais le dépôt des particules y est très important (Lippmann, Yeates et Albert, 1980). Le fait que les PM se retrouvent en grandes quantités dans cette zone induit un dépassement des capacités de leur élimination.

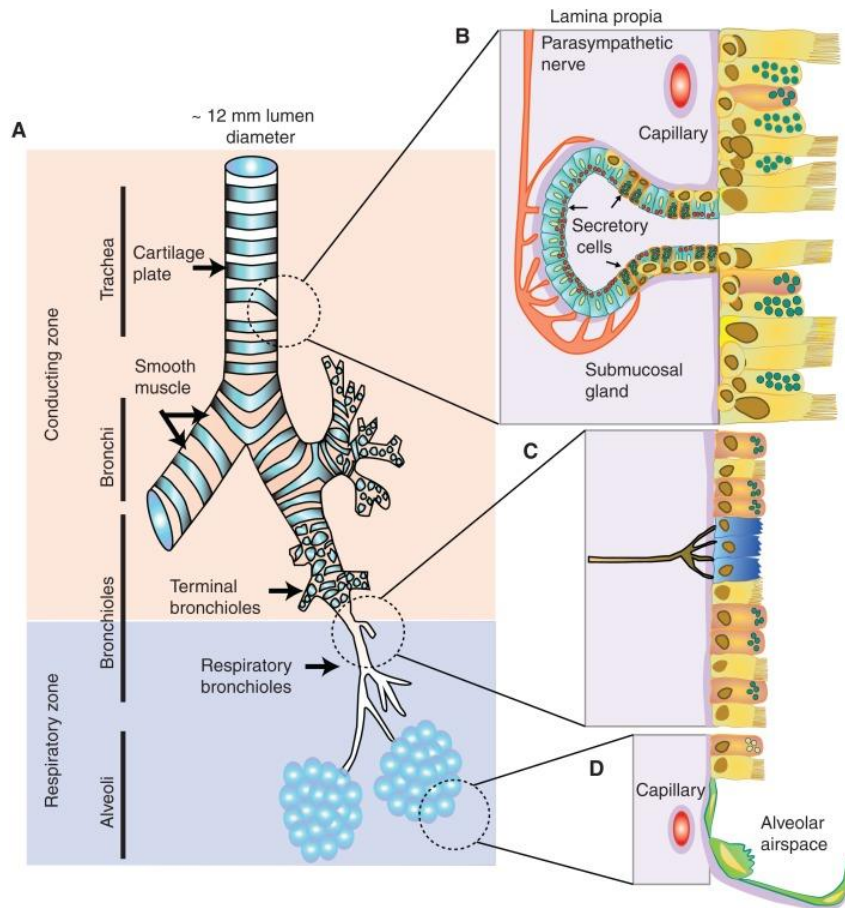


Figure 9 : Illustration de l'épithélium des voies respiratoires (Bustamante-Marin et Ostrowski, 2017).

Pour éliminer les particules, un des principaux mécanismes de protection est la clairance muco-ciliaire. Ce mécanisme se situe le long de l'épithélium respiratoire. Les cellules pulmonaires sont recouvertes d'un liquide de surface périciliaire et de mucus produits par des cellules sécrétrices de surface et des glandes. Cela forme un filtre à l'interface épithélium/air, et constitue une barrière pour les agents extérieurs qui s'y trouvent piégés. De plus, tout au long des voies respiratoires, de la trachée aux bronchioles terminales, l'épithélium est constitué d'un épithélium respiratoire cilié (Hall et Guyton, 2011), les cils sont des structures à base de microtubules, situées au pôle apical des cellules. Chaque cellule possède environ 200 cils, qui ont un rythme de battement d'environ 10 à 20 fois/seconde. Ces cellules régulent le contenu en eau et en ions du fluide respiratoire via des canaux ioniques situés au niveau de leur pôle apical, et grâce aux battements de leurs cils elles participent à l'évacuation du mucus, c'est l'épuration muco-ciliaire. Outre sa protection mécanique, ce mucus a également des propriétés de défense anti-bactérienne, anti-oxydante, anti-protéasique, anti-inflammatoire... Une autre ligne de défense des voies aériennes sont les complexes de jonctions intercellulaires qui permettent à

l'épithélium pulmonaire d'être étanche. Ces jonctions sont situées du côté apical des cellules, latéralement. Elles servent à l'imperméabilité de l'épithélium aux agents extérieurs.

En plus de la clairance muco-ciliaire et du rôle des jonctions serrées, un autre mécanisme de défense est la clairance macrophagique. Outre l'action mécanique et rhéologique assurée par la clairance muco-ciliaire, cette clairance macrophagique complète la ligne de défense en se chargeant d'éliminer les agents extérieurs. Si un agent extérieur n'est pas éliminé, des macrophages tissulaires vont les prendre en charge. En conditions normales, chez des individus sains, la clairance muco-ciliaire va prendre en charge les particules d'un diamètre supérieure à 6 μm dans les 24 heures suivant leur dépôt dans les voies aériennes (Möller *et al.*, 2004). Dans le cas d'une pathologie (maladies respiratoires chroniques de type asthme ou BPCO), d'un tabagisme ou d'une exposition prolongée à des teneurs élevées de particules, les PM peuvent rester dans les voies respiratoires plus longtemps que 24 heures. De plus, selon Möller *et al.* (2004), le temps de clairance et donc de résidence des particules dans les voies respiratoires est également influencé par leur taille : plus les particules sont d'un petit diamètre, plus une grande fraction de particules ne sera pas éliminée en 24 heures. Or ce temps de résidence influence les effets sur la santé liés aux particules. Une seconde ligne de défense contre les particules va donc intervenir, ce sont les macrophages : leur mécanisme est illustré en Figure 10.

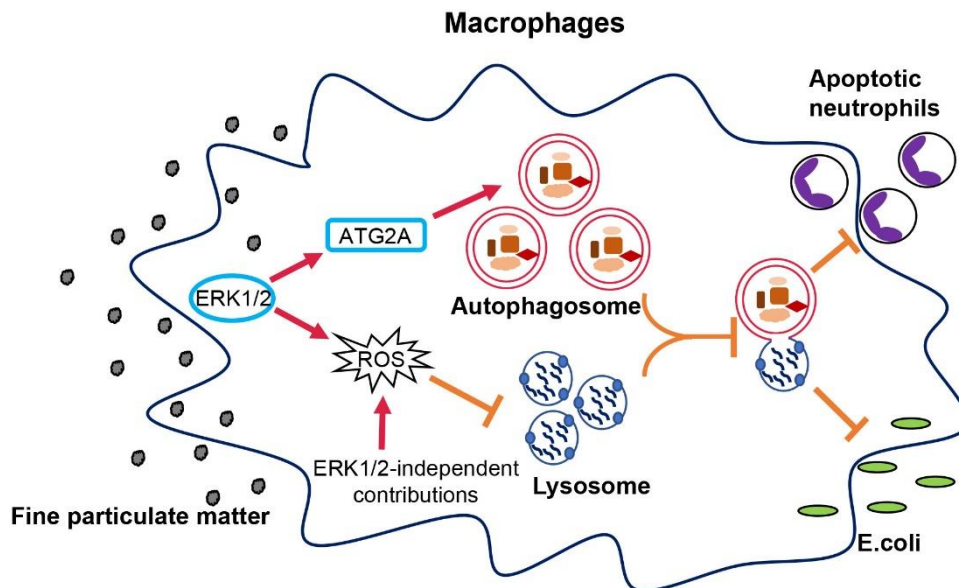


Figure 10 : Modèle de clairance macrophagique de particules atmosphériques et cascade réactionnelle (Li *et al.*, 2020). Les particules fines activent la voie de signalisation ERK1/2, ce qui favorise l'expression d'ATG2 et la production d'ERO/ROS (ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène/ROS : *Reactive Oxygen Species*). Les ROS peuvent entraver la fusion entre autophagosomes et lysosomes.

Selon la localisation dans les voies respiratoires, les macrophages ont des phénotypes et des fonctions différentes (Geiser, 2010). Les macrophages pulmonaires sont de type interstitiels, intravasculaires, pleuraux et de surface, ils font partie de la catégorie des phagocytes. La phagocytose s'appuie sur un phénomène d'endocytose (mécanisme de transport des particules vers l'intérieur de la cellule), les macrophages doivent alors subir un réarrangement de leur cytosquelette qui va alors former un phagosome. Une fois le phagosome formé, il va fusionner avec des lysosomes et des endosomes. Cette fusion va entraîner une acidification du milieu, le contact avec des enzymes hydrolytiques et la production d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO ou ROS pour *Reactive Oxygen Species*) qui permettent de détruire la cible (Conner et Schmid, 2003). Cependant, les particules peuvent échapper aux mécanismes de défense présents dans l'organisme.

INFLUENCE DU TRANSFERT VERS D'AUTRES ORGANES

Si les particules atmosphériques réussissent à échapper aux différents modes de défense de l'organisme, il y a une possibilité de translocation des particules ultrafines vers d'autres organes par le biais de la circulation systémique, mais aussi, de transfert des COSV vers d'autres organes après leur désorption des PM. Diverses études utilisant des particules radio-marquées ont ainsi pu mettre en évidence la présence de particules dans d'autres zones que les poumons. Ainsi, l'étude de Delfino *et al.* (2008) a montré que, chez des hamsters auxquels des particules ultrafines radio-marquées ont été instillées par voie intra-trachéale, les particules d'un diamètre < 80 nm passaient dans leur circulation sanguine en moins de 5 minutes. L'étude d'Oberdörster *et al.* (2004) a montré que des particules ultrafines pouvaient être retrouvées au niveau du système nerveux central chez le rat après une exposition de 6 heures. Le mécanisme de ce dépôt peut en fait être expliqué par une translocation d'environ 20 % des particules de la muqueuse olfactive vers le bulbe olfactif.

Ces quelques exemples d'étude montrent le potentiel des particules ultrafines à passer dans la circulation sanguine, la muqueuse olfactive, et ainsi atteindre d'autres organes. Mais, il est également possible qu'une partie des composés transportés par les PM, tels que les COSV, se désorbent et atteignent les mêmes cibles potentielles que les particules ultrafines, et entraînent à eux seuls des effets sur l'organisme. La plausibilité d'un tel scénario pour les COSV est étayée notamment par des études sur les métaux. Par exemple, une étude portant sur les métaux transportés par les particules (Wallenborn *et al.*, 2007) a montré qu'après instillation intra-trachéale chez des rats, il y avait une translocation de ces métaux dans la circulation systémique, et ainsi passage au niveau des organes extra-pulmonaires.

3. Effets sur la santé des PM

Ass Cela représente 7,6 % des morts dans le monde en 2015. Selon Southerland *et al.* (2022), environ 86% des habitants en zones urbaines, vivent dans des lieux où les concentrations annuelles moyennes de PM_{2,5} dans l'air dépassent les recommandations de l'OMS. Cette étude estime qu'en 2019, ce dépassement en zones urbaines, aurait entraîné de 1 à 8 millions de morts.

De plus, de nombreuses études épidémiologiques, cliniques et animales montrent une association positive entre l'exposition aux PM et des pathologies respiratoires (Xing *et al.*, 2016) ou cardiovasculaires (Polichetti *et al.*, 2009). D'autres études pointent également la responsabilité de cette pollution dans d'autres pathologies, potentiellement avec un impact cognitif (Volk *et al.*, 2013), sur le métabolisme (Shengzhi Sun *et al.*, 2016), sur le système reproductif (Iodice *et al.*, 2021) et sur la fonction thyroïdienne (Zhang *et al.*, 2021).

Or, les effets sanitaires engendrés par les particules sont conditionnés à leur taille, mais aussi à leur composition. La matière particulaire atmosphérique est constituée d'une fraction minérale et d'une fraction organique, pouvant adsorber du matériel d'origine chimique comme des polluants organiques. Dans la fraction organique, de nombreux contaminants semi-volatils appartiennent à des familles de composés à effet perturbateur endocrinien suspecté ou avéré. Cette multi-contamination serait potentiellement à l'origine de perturbations hormonales observées chez l'Homme ou l'animal (Annamalai et Namasivayam, 2015). Individuellement ou en mélange, les COSV présents au niveau des particules atmosphériques pourraient contribuer au potentiel perturbateur endocrinien de l'air.

II. Perturbateurs endocriniens

Dans ce doctorat, nous avons étudié la contamination de PM d'origine urbaine en COSV de la famille des PE, avérés ou suspectés. En 2002, l'OMS a défini un perturbateur endocrinien comme « une substance ou un mélange de substances, qui altère les fonctions du système endocrinien et de ce fait induit des effets néfastes dans un organisme intact, chez sa progéniture ou au sein de (sous)-populations » (Bergman, United Nations Environment Programme, et World Health Organization, 2013). Parmi d'autres définitions, il s'agit à l'heure actuelle de celle qui est la plus consensuelle au niveau de la communauté scientifique. Ces molécules peuvent donc interagir avec de nombreuses fonctions humaines : la reproduction, le comportement, le métabolisme, la croissance (Kabir, Rahman et Rahman, 2015)... Des études scientifiques montrent des associations positives entre l'exposition humaine à des xénobiotiques d'origine environnementale et certains impacts sanitaires de type perturbateur endocrinien, notamment sur :

- Le système de reproduction féminine, avec des anomalies génitales et infertilité (ovaires polykystiques, endométriose), une puberté précoce, des cas de cancers hormono-dépendants (ovaires, seins) (Caserta *et al.*, 2007 ; Sifakis *et al.*, 2017)
- Le système de reproduction masculin (cryptorchidie, hypospadias, cancer du testicule ou de la prostate, altération de la qualité spermatique) (Sifakis *et al.*, 2017)
- Le sex-ratio (Safe, 2000)
- La fonction thyroïdienne (Hofmann, Schomburg et Köhrle, 2009)
- Le neuro-développement (déficits cognitifs...) (Martina, Weiss et Swan, 2012)
- Le métabolisme (Marraudino *et al.*, 2019)
- Le système immunitaire (Bansal, Henao-Mejia et Simmons, 2018)

L'origine de ces molécules PE est multiple, elle peut être naturelle (phyto-œstrogènes...) ou industrielle (plastifiants, retardateurs de flammes...), mais on peut noter qu'elles sont de plus en plus présentes dans notre environnement depuis l'industrialisation (Kumar *et al.*, 2020). Ainsi, les zones industrialisées sont caractérisées par une contamination hétérogène par les PE dans les différentes matrices environnementales, ces mélanges de polluants se retrouvant dans la chaîne alimentaire, les eaux, l'air, les sols (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009).

1. Système endocrinien humain

Le système endocrinien humain est un ensemble de glandes, de cellules qui produisent des hormones, molécules considérées comme des messagers chimiques (Figure 11). Les glandes endocrines vont avoir le rôle de déverser leur produit (hormone) dans la circulation sanguine, elles forment le système endocrinien, les structures constituant ce système étant disséminées dans l'organisme. Certaines glandes ont uniquement ce rôle endocrine, tandis que d'autres glandes vont être intégrées aux tissus d'autres organes. Les hormones sont des molécules chimiques, qui lorsqu'elles sont sécrétées, vont communiquer une information à l'organisme. Elles contrôlent de nombreuses fonctions dans le corps humain et notamment les fonctions de reproduction, croissance sexuelle, développement, sommeil, faim, métabolisme et humeur. Le lieu de l'intégration du système endocrinien est l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cet axe va jouer un rôle de rétro-contrôle. L'hypothalamus réagit en fonction de stimuli reçus du corps humain, et par sécrétion d'hormones va agir sur l'hypophyse. L'hypophyse va agir sur les glandes endocrines du corps humain, par le biais d'hormones qui vont entraîner un rétrocontrôle négatif (diminution du taux d'hormone) ou positif (augmentation du taux d'hormone) (Sloper, 1958).

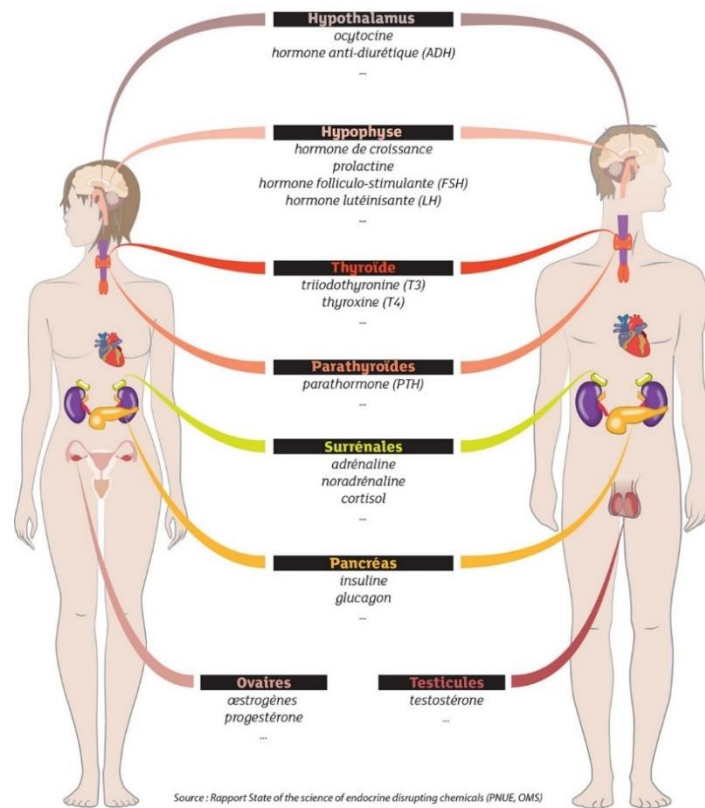


Figure 11 : Système endocrinien humain (Bergman, United Nations Environment Programme, et World Health Organization, 2013).

Le système endocrinien se régule de façon à maintenir l'homéostasie, qui correspond à l'équilibre dynamique du système hormonal du corps. Face à des situations spécifiques telles qu'un stress, une infection, un traumatisme ou une hémorragie, des réponses compensatrices régulées par les hormones endocrines contribuent à maintenir un état de stabilité de l'homéostasie.

L'ensemble des fonctions régulées par ces messagers hormonaux, repose essentiellement sur leur implication de la transcription de gènes clés, avec synthèse de protéines clés. Les hormones endocrines engendrent donc la majorité de leurs effets via la voie d'action des récepteurs nucléaires, dont l'activité transcriptionnelle est hormono-dépendante. Les récepteurs aux hormones endocrines sont des facteurs de transcription dépendant des hormones et qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires. Selon l'axe endocrinien concerné, la régulation transcriptionnelle va être différente selon les types de récepteurs, qu'ils soient aux œstrogènes (*Estrogen Receptor*, ER), aux androgènes (*Androgen Receptor*, AR), aux glucocorticoïdes (*Glucocorticoid Receptor*, GR) ou aux hormones thyroïdiennes (*Thyroid Receptor*, TR) ...

L'expression des gènes cibles via les récepteurs nucléaires est modulée par divers paramètres, notamment le système « clé-serrure » d'affinité d'un ligand pour son récepteur, et donc dépend du type de ligand qui s'y lie, mais aussi de la concentration de celui-ci. En fonction, la réponse cellulaire ne sera pas la même. L'induction de l'expression génique, appelée également transactivation, se produit classiquement en trois grandes étapes principales : la fixation du ligand à son récepteur, la transformation du récepteur en forme active et la transcription génique. Pour les ligands de type hormonal, l'interaction avec le récepteur se caractérise par des liaisons réversibles de type électrostatique ou des forces de Van der Waals (Tanenbaum *et al.*, 1998 ; Tazibt, 2016).

Plusieurs ligands peuvent se lier au même récepteur mais la liaison d'un ligand à son récepteur dépendra de son affinité pour celui-ci. Cependant, l'affinité n'est pas le seul paramètre qui influence le niveau de réponse transcriptionnelle. En effet, le niveau d'efficacité vis-à-vis de l'activation d'un récepteur nucléaire varie également d'un ligand à l'autre ; une efficacité élevée correspondant à un niveau d'induction d'expression génique élevée. Le potentiel de transactivation d'une molécule dépend donc de ces deux paramètres : son affinité pour le récepteur et son niveau d'efficacité.

Ces paramètres qui conduisent une activation de l'activité transcriptionnelle sont intégrés dans la mesure de l'EC50 (*half maximal Effective Concentration*) ou concentration efficace médiane d'un composé agoniste, c'est-à-dire la concentration qui engendre 50 % de sa réponse maximale. Dans le cas d'une inhibition de l'activité transcriptionnelle hormono-dépendante, c'est l'IC50 (*half maximal Inhibitory Concentration*) qui est mesurée, c'est-à-dire la concentration inhibitrice médiane d'un composé antagoniste, soit la concentration qui engendre 50 % de sa réponse maximale. Pour ces deux paramètres, une courbe dose-réponse permet de les établir.

Dans le cadre d'un phénomène de transactivation cellulaire, les profils de relation dose-réponse peuvent varier selon le type de ligand susceptible d'avoir une affinité pour un récepteur donné, et la présence ou non d'un ou plusieurs autres ligands potentiels.

En fonction, divers profils de relation dose-réponse peuvent se présenter : ils sont regroupés dans la Figure 12, qui montre qu'une molécule peut être considérée comme un :

- **Agoniste complet**, quand elle induit une réponse biologique maximale, ou effet inducteur maximal, (100 %), par comparaison à la réponse du ligand endogène
- **Agoniste partiel**, si la molécule induit une réponse biologique inférieure à 100 % par comparaison au ligand endogène ; l'efficacité est alors considérée comme plus ou moins modérée
- **Antagoniste total**, inhibition totale de la réponse biologique (aussi appelé agoniste inverse total)
- **Antagoniste partiel**, inhibition partielle de la réponse biologique (aussi appelé agoniste inverse partiel)

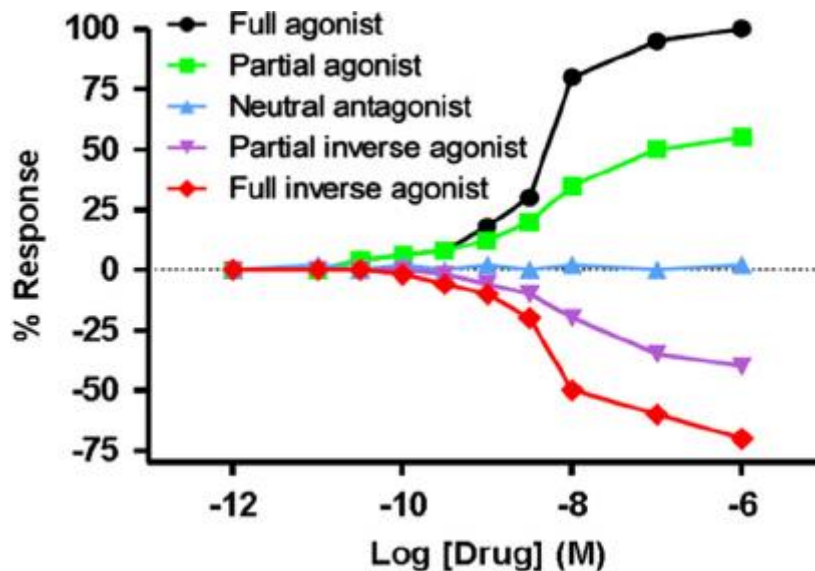


Figure 12 : Profils d'inductions des ligands (Coll, 2013).

a. Hormones stéroïdiennes sexuelles

Les hormones stéroïdiennes, dérivant de la structure du cholestérol, jouent un rôle dans le développement des caractères sexuels primaires et secondaires ainsi que la régulation de l'activité sexuelle, tout au long de la vie.

Chez la femme, les œstrogènes (l'œstriol et l'œstrone et surtout le 17 β -œstradiol, abrégé E2 par la suite) et la progestérone représentent les hormones sexuelles. Leur synthèse se fait au niveau des ovaires (Figure 11). Les œstrogènes jouent un rôle dans la reproduction, tandis que la progestérone est impliquée dans le cycle menstruel, la grossesse et le développement embryonnaire.

Chez l'homme, la testostérone faisant partie du groupe des androgènes, est l'hormone sexuelle principale. Elle joue un rôle clé dans le développement de certaines caractéristiques physiques masculines, mais aussi dans le fonctionnement sexuel. Elle est sécrétée essentiellement par les gonades.

Les différentes structures de ces hormones sont montrées en Figure 13.

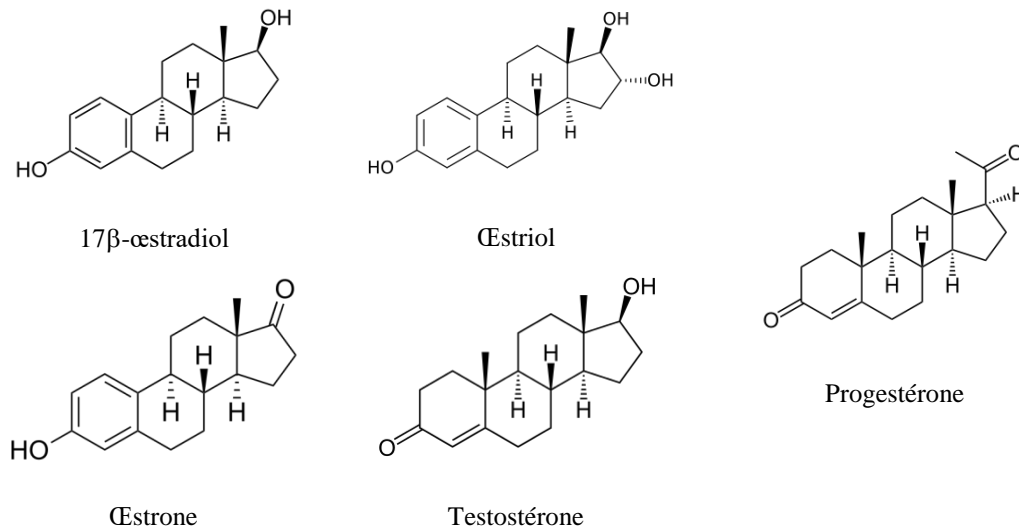


Figure 13 : Structure des hormones stéroïdiennes sexuelles.

b. Récepteur aux œstrogènes, ER

Les récepteurs nucléaires aux œstrogènes existent sous deux formes : la forme ER α et la forme ER β (Mosselman, Polman et Dijkema, 1996). Ces deux formes possèdent des similarités de structure, mais le récepteur de type ER β possède une séquence d'acides aminés plus courte que celle d'ER α . Ces isoformes d'ER vont induire des niveaux d'activité transcriptionnelle variables selon les ligands qui les activent (Escande *et al.*, 2006). Ces récepteurs ont été trouvés au niveau du système reproducteur féminin (ovaires), masculin (testicules, prostate), des cellules épithéliales, du cerveau, du colon et de la moelle épinière (Dahlman-Wright *et al.*, 2006).

La voie de signalisation classique des récepteurs des œstrogènes se fait par l'entrée d'E2 dans la cellule, sa translocation du cytoplasme dans le noyau, son interaction avec le récepteur nucléaire (ER α ou ER β), avec une dimérisation du complexe ligand-récepteur, la fixation de celui-ci à une séquence œstrogène-réglée sur l'ADN (appelée élément de réponse aux hormones) et l'activation transcriptionnelle des gènes cibles répondant aux œstrogènes. Il s'agit de la voie principale d'activation de facteurs de transcription dépendante des œstrogènes. Ce

mécanisme de signalisation cellulaire, appelée voie génomique, se déroule habituellement sur plusieurs heures. L'autre voie possible de signalisation cellulaire des œstrogènes, est appelée voie membranaire. En effet, pour cette voie d'action non génomique, des récepteurs ER membranaires déclenchent des systèmes de signalisation cellulaires, notamment la voie des MAP-kinases, impliqués dans des effets biologiques plus rapides que ceux passant par la voie génomique. Ces deux mécanismes sont décrits dans la Figure 14.

L'activité transcriptionnelle hormono-dépendante correspond à un effet agoniste du récepteur d'un ligand hormonal, pouvant être appelée par la suite potentiel hormonal. Ainsi, le potentiel œstrogénique d'un composé hormonal correspond au niveau d'activité transcriptionnelle que celui-ci est capable d'induire. E2 est le ligand agoniste principal des récepteurs ER, mais d'autres molécules peuvent se fixer et induire ou bloquer les récepteurs ER.

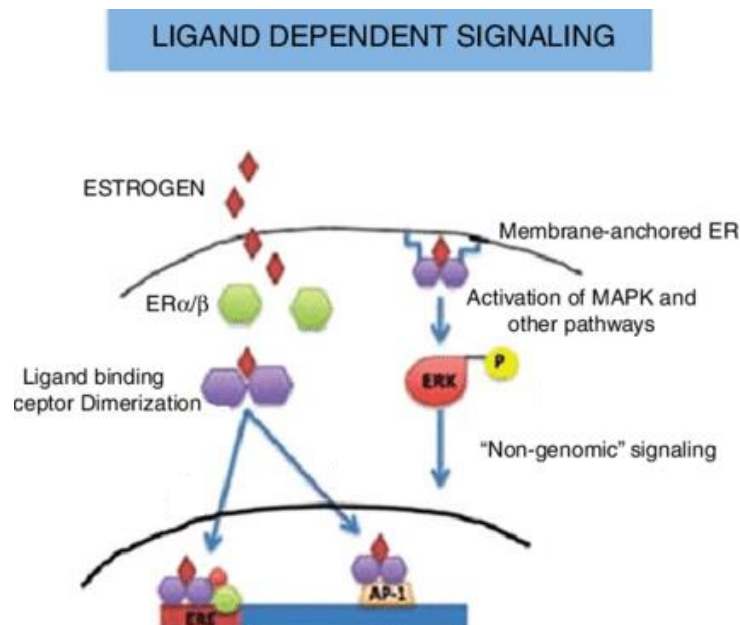


Figure 14 : Voies d'activation des récepteurs nucléaires aux œstrogènes, ER α/β (*Estrogen Receptor*) (adaptée de Khan, Cowan et Ahmed, 2012). Illustration de la voie dépendante du ligand : les œstrogènes se lient à leur récepteur, qui se dimérise, se transloque dans le noyau, se lie à l'élément de réponse aux œstrogènes et régule les gènes sensibles aux œstrogènes. Les ER activés peuvent également interagir avec d'autres molécules de signalisation et facteurs de transcription pour se lier à des sites non ERE pour réguler l'expression des gènes. Il peut également y avoir une signalisation par l'activation de MAPK ou d'autres voies de signalisation cytoplasmique.

c. Récepteur aux androgènes, AR

Le récepteur AR aux androgènes est un récepteur nucléaire, composé de 6 domaines fonctionnels. Lorsqu'il est inactivé le récepteur AR est associé à des protéines de choc thermique (*Heat Shock Protein*, HSP). Lorsqu'un ligand se fixe, le récepteur se dimérise, passe du cytoplasme dans le noyau, puis se fixe au niveau des séquences spécifiques androgéno-régulées sur l'ADN ; comme pour le récepteur ER, un domaine de liaison à l'ADN est impliqué

dans la reconnaissance et la liaison du récepteur AR à l'élément de réponse aux androgènes, qui correspond à la zone promoteur en amont de la séquence codante pour les gènes cibles (Figure 15). Les récepteurs AR se trouvent au niveau de la peau, des follicules pilo-sébacés, des gonades, de la prostate et du cerveau (Davey et Grossmann, 2016).

Le récepteur AR est activé par la dihydrotestostérone (DHT), une molécule dérivée de la testostérone. La testostérone est transformée par une enzyme cytoplasmique (la 5 alpha-réductase) en DHT, qui est l'hormone active (Gao, Bohl et Dalton, 2007).

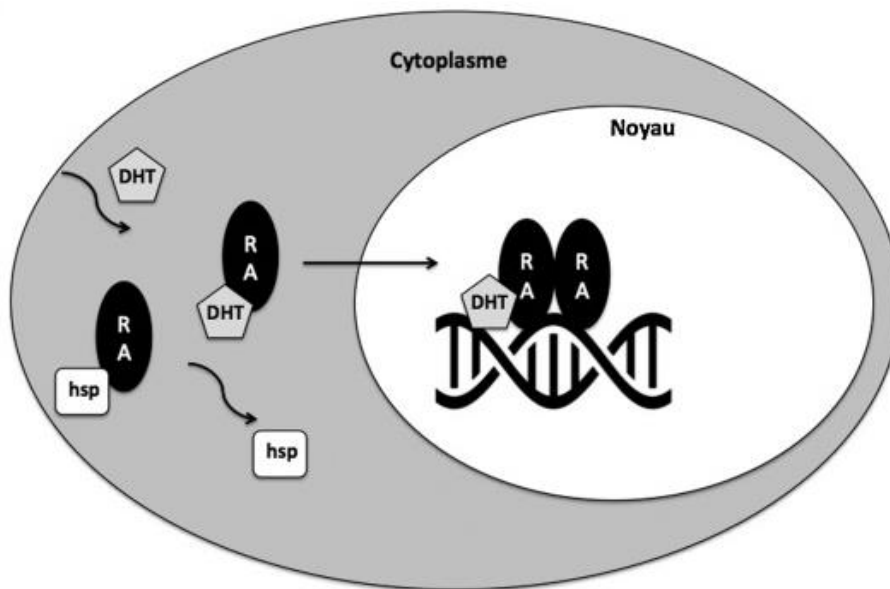


Figure 15 : Voie d'activation du récepteur aux androgènes, AR (Héquet *et al.*, 2017). Les étapes sont : liaison du complexe récepteur-ligand (DHT : Dihydroxytestostérone/RA : Récepteur aux Androgènes) dans le cytoplasme, translocation dans le noyau, fixation du complexe sur des séquences spécifiques d'ADN et régulation de la transcription de gènes cibles. Le RA peut également interagir avec les protéines de choc thermique (*heat shock protein*, *hsp*).

d. Cas particulier du récepteur d'aryl hydrocarbonés, AhR

Le récepteur nucléaire d'aryl hydrocarbonés, également appelé récepteur aux hydrocarbures aromatiques ou récepteur à la dioxine, est un facteur de transcription régulant certains gènes. Plus simplement, il sera noté récepteur AhR (*Aryl hydrocarbon Receptor*).

Il est présenté dans cette partie sur les perturbateurs endocriniens, car l'action cellulaire de certains PE peut être médiée par ce récepteur. De nombreuses études montrent une activation du récepteur AhR par la contamination atmosphérique (Vogel *et al.*, 2020 ; Nováková *et al.*, 2020), en raison de la capacité de COSV à se lier à ce récepteur. En effet, les COSV présents dans l'air sont capables d'induire des effets sensibles aux dioxines (dits *dioxin-like*) ou génotoxiques (Novák *et al.*, 2014). Les effets *dioxin-like* passent par la voie de signalisation du récepteur AhR, impliqué dans les effets toxicologiques des dioxines (notamment la 2,3,7,8-

tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine, appelée TCDD), mais aussi de divers HAP ou polychlorobiphényles (PCB). Il est un médiateur majeur des réponses aux composés toxiques de l'air ambiant (Forman et Finch, 2018). Ce récepteur joue également un rôle dans la génotoxicité et la cancérogénicité (Nakatsuru *et al.*, 2004) et dans les effets indésirables sur le développement. L'AhR interagit donc avec différentes voies de signalisation (détoxification, inflammation, prolifération cellulaire, apoptose...), dont celle dépendante des hormones et, par conséquent, les composés capables d'activer ce récepteur peuvent agir indirectement comme PE, comme cela a été démontré pour les récepteurs aux œstrogènes (Safe et Wormke, 2003).

Concernant sa voie d'activation, à l'état inactif, le récepteur AhR est dans le cytoplasme cellulaire et associé à des protéines chaperonnes (HSP90, XAP2...). Quand un ligand se fixe sur le récepteur AhR, il relargue la protéine à laquelle il est associé, et le complexe ligand/récepteur AhR passe dans le noyau, par association avec un translocateur nucléaire (ARNT) (Figure 16). Ce complexe ARNT/AhR régule l'expression de gènes, par liaison à l'ADN au niveau des éléments de réponse à la dioxine. Les gènes cibles de ce récepteur sont nombreux : cytochromes, enzymes de détoxification, cytokines... Il a en effet un rôle bien défini dans la réponse aux toxines environnementales, mais aussi dans l'immunité (Sonnenberg, Fouser et Artis, 2011). Le récepteur AhR est présent dans l'organisme de façon ubiquiste, mais principalement dans le foie en raison de son rôle dans la détoxification.

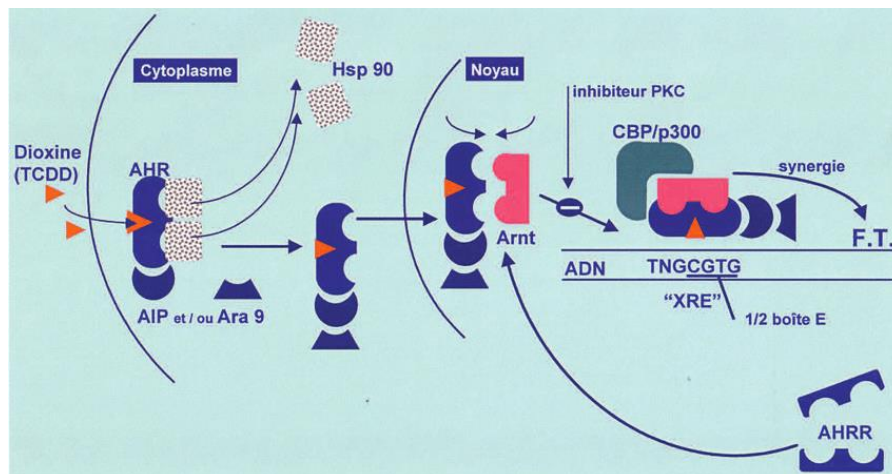


Figure 16 : Voie d'activation du récepteur d'aryl hydrocarbures AhR (Pineau, Martin et Calleja, 2003). Les étapes sont : fixation de la dioxine sur le site du récepteur AhR dans le cytosol, dimérisation avec l'Arnt, reconnaissance dans la région régulatrice des gènes cibles de la séquence d'interaction (XRE), transactivation du gène et à la production augmentée d'ARNm correspondant. Un des gènes régulé positivement par la dioxine est un répresseur (AHRH), il a la capacité de produire une protéine s'opposant au fonctionnement de la voie de signalisation, il exerce un rétro-contrôle.

Les dioxines peuvent être considérées comme des composés ayant une action PE. Mais le mécanisme de cet effet PE induit par les dioxines est plus complexe que celui des hormones stéroïdiennes. Les dioxines agissent sur le récepteur AhR, mais il semble également qu'une action œstrogénique peut être induite (Krishnan *et al.*, 1995). Il y aurait un croisement entre les voies de signalisation du récepteur AhR et ER (Matthews et Gustafsson, 2006 ; Gjernes, Schlenk et Arukwe, 2012). Selon Matthews et Gustafsson (2006), le récepteur ER α serait impliqué en tant que modulateur de l'activité du récepteur AhR ce qui explique l'action potentiellement œstrogénique des agonistes du récepteurs AhR (Figure 17).

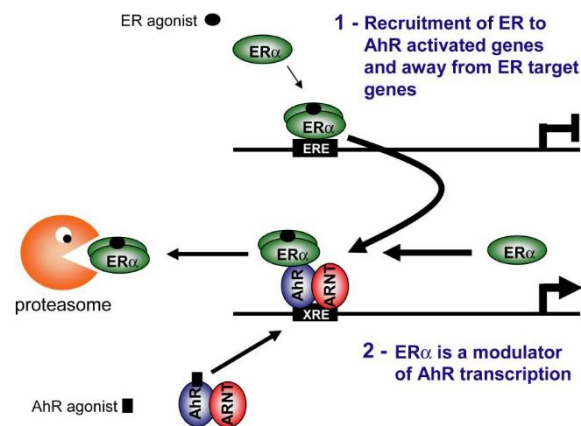


Figure 17 : Modulation de la signalisation des récepteurs ER et AhR (Matthews et Gustafsson, 2006). L'étape 1 correspond au recrutement du ER α avec ou sans ligand par AhR activé, l'amenant des gènes régulés par ER vers ceux régulés par AhR. L'étape 2 est la modulation de la transcription dépendante d'AhR par ER α , ce qui suggère qu'ER α est un régulateur de l'activité d'AhR.

2. Mode d'action des perturbateurs endocriniens

Les composés PE peuvent perturber divers axes endocriniens par plusieurs mécanismes, en induisant (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009) :

- Un effet hormono-mimétique (effet agoniste du récepteur hormonal), en imitant l'action d'une hormone naturellement présente dans l'organisme
- Un effet hormono-compétitif de type antagoniste, empêchant ou limitant la fixation de l'hormone à son récepteur, bloquant ainsi son action agoniste
- Une perturbation de la synthèse hormonale ou de la régulation d'hormones ou de leurs récepteurs (INSERM, 2013)
- Une perturbation du transport hormonal dans l'organisme, par le biais de la perturbation de la liaison des hormones aux protéines plasmatiques

Dans l'ensemble, ces mécanismes potentiels de perturbations endocriniennes peuvent avoir pour conséquence une perturbation de l'homéostasie hormonale.

Parmi les divers mécanismes d'action possibles des PE, seuls les modes de perturbation de l'activité transcriptionnelle hormono-dépendante sont présentés ici, puisque c'est la voie d'action principale des hormones endocrines.

3. Effets suspectés ou avérés des perturbateurs endocriniens

Les PE peuvent être à l'origine d'effets sur les fonctions reproductives, neurologiques, sur le développement et le métabolisme. Ils induisent des perturbations pouvant être à l'origine de malformations, de cancer hormono-dépendant, de troubles de la reproduction, de troubles métaboliques. Le rapport de l'OMS sur le sujet (*State of the science of endocrine disrupting chemicals*, United Nations Environment Programme, et World Health Organization, 2013), a établi que ces molécules pouvaient avoir un impact non négligeable sur la santé, notamment en raison d'une augmentation des troubles reproductifs à l'échelle mondiale dans lesquels les PE semblent avoir un rôle important.

Un rapport d'expertise collective de l'INSERM (2013), étudiant le lien entre les composés de types perturbateurs endocriniens présents dans l'environnement et les troubles de la reproduction a été réalisé. Ce rapport a notamment étudié les propriétés PE de composés de la famille des phtalates, polybromés et parabènes investigués dans ce doctorat. Pour l'exposition *in utero* masculine, les composés de types phtalates et polybromés étaient notamment décrits pour leur effet possible sur le développement des testicules (cryptorchidisme). Plus spécifiquement, les phtalates étaient cités pour leur effet sur la distance ano-génitale et leur probable relation avec des hypospadias (trouble du développement entraînant un urètre non refermé). A l'âge adulte, chez l'homme, ces composés sont susceptibles d'entraîner des perturbations des taux d'hormones et ont un effet possible sur les caractéristiques spermatiques (Watanabe et Oonuki, 1999). Chez la femme, le rapport de l'INSERM a relié la puberté précoce aux phtalates et l'augmentation du délai de conception aux composés polybromés.

Mais, si les troubles de la reproduction induits par des composés perturbateurs endocriniens sont très documentés, d'autres effets sont de plus en plus étudiés. Leur impact sur le métabolisme a notamment été étudié. La revue de la littérature portant sur ces effets sur modèle animal et réalisée par Maradonna et Carnevali (2018) a notamment montré que des études ont mis en évidence un impact métabolique des composés perturbateurs endocriniens via

l'interaction avec les récepteurs nucléaires, de tous types (récepteurs aux hormones stéroïdes, récepteurs aux hormones thyroïdiennes, récepteurs du foie...). Cette revue a relevé que ces composés avaient un impact sur le rythme circadien et pouvaient être impliqués dans l'accumulation de lipides.

Au-delà des troubles reproductifs, métaboliques, ces composés ubiquitaires dans l'environnement sont de plus en plus étudiés pour leur éventuel lien avec l'apparition de troubles cognitifs et neuro-développementaux (Martina, Weiss et Swan, 2012). Ainsi, le rapport publié par Seralini et Jungers, (2021) a identifié les possibles impacts neurologiques rapportés dans la littérature, induits par la liste des 176 composés perturbateurs endocriniens identifiés par l'OMS. Cette étude a identifié une à plusieurs références d'article pour chaque composé étudié suggérant une neuro-modulation, de façon directe ou indirecte. Et, 79,1 % des composés étudiés ont été identifiés comme des perturbateurs neurologiques. Notamment, une étude citée, réalisée en Corée, a lié la concentration de phtalates dans les urines d'enfants âgés de 6 à 11 ans et des troubles sociaux, de l'attention (Won *et al.*, 2016).

La variété d'effets biologiques, de perturbations, induites par ces composés et rapportés dans la littérature serait liée à leur non-spécificité, leur capacité d'interagir avec plusieurs récepteurs nucléaires, et ainsi avoir un impact sur la communication intra-cellulaire, mais également inter-cellulaire (Seralini et Jungers, 2021).

4. Perturbateurs endocriniens dans l'air

De nombreux composés PE sont quantifiés dans l'air intérieur et extérieur (Rudel et Parovich, 2009, Blanchard et al. 2014). Ils sont émis depuis des sources multiples, et par leurs propriétés physico-chimiques, ils ont la capacité de se volatiliser et peuvent être présents dans la phase gazeuse ou particulaire de l'atmosphère. Une sélection de composés PE a été réalisée lors de précédents travaux sur la région parisienne (Teil *et al.*, 2016 ; Laborie *et al.*, 2016). Les détails des sources et propriétés chimiques des composés PE sélectionnés sont présentés dans le Tableau 1. Ainsi, dans l'air, les composés ayant été quantifiés et identifiés pour leur propriété PE sont issus de combustion ou sont utilisés en tant que plastifiants, conservateurs, détergents, parfums, retardateurs de flammes, pesticides....

La répartition des contaminants de l'air sur la phase particulaire est classiquement étudiée en utilisant des dispositifs de prélèvement des particules en mode TSP, PM₁₀ ou plus récemment PM_{2,5}. Or il existe peu d'études collectant plusieurs fractions en parallèle. Celles-ci observent que la fraction fine (PM_{2,5}) supporterait la majorité de la contamination organique particulaire

pour les phtalates (Ma *et al.*, 2014), les PCB (Zhu *et al.*, 2017) et les HAP (Hassanvand *et al.*, 2015). De plus, les études s'intéressant à plusieurs familles de composés PE simultanément sont encore plus rares (Landlova *et al.* 2014, Degrendele *et al.* 2014).

Les propriétés physico-chimiques des COSV influencent leur devenir dans l'air. Leur répartition entre les phases atmosphériques, gazeuse et particulaire semble être influencée par leur pression de vapeur saturante et leur poids moléculaire (Pankow, 1994 ; Fernández, Grimalt et Vilanova, 2002 ; Cincinelli *et al.*, 2014). La pression de vapeur saturante est un paramètre expliquant la tendance d'une molécule à passer de l'état liquide à gazeux. Plus la pression de vapeur saturante d'une molécule sera élevée, plus celle-ci sera susceptible de se volatiliser et être présente en phase gazeuse. Les COSV ayant une pression de vapeur supérieur à 10^{-3} Pa sont plus de 80% en phase gazeuse (Moreau-Guigon *et al.*, 2016).

De plus, par exemple, Shimmo *et al.* (2004) ont mis en évidence à Helsinki que les HAP dont le poids moléculaire était inférieur ou égal à 202 g/mol, tel que le pyrène et fluoranthène étaient davantage associés à la phase gazeuse de l'air, et que ceux de plus de 202 g/mol étaient principalement associés à la phase particulaire (Shimmo *et al.*, 2004). Les HAP peuvent être divisés en deux catégories : des HAP de faibles poids moléculaires, dits « légers » et des HAP de haut poids moléculaire, dits « lourds ».

Tableau 1 : Détails des composés étudiés, sources et propriétés chimiques (adapté de Laborie, 2015)

Familles	Composés	Utilisations/Sources de rejets	Propriétés physico-chimiques			
			Masse molaire (g/mol)	Solubilité dans l'eau (mg/l)	Log K _{ow}	Pression de vapeur (Pa)
<i>PCB</i>	PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153, PCB-180	Fluides diélectriques dans les transformateurs et condensateurs, lubrifiant pour les turbines et les pompes	256 – 391,8	0,014 – 0,65	5,5 – 7,1	$0,13 \cdot 10^{-3}$ – $54 \cdot 10^{-3}$
<i>HAP</i>	Acénaphène, Acénaphylène, Phénanthrène, Anthracène, Fluorène, Fluoranthène, Pyrène, Benzo(a)anthracène, Chrysène, Benzo(b)fluoranthène, Benzo(k)fluoranthène, Benzo(a)pyrène, Dibenzo(a,h)anthracène, Benzo(g,h,i)pérylène, Indéno(c,d)pyrène	Issus de la combustion incomplète de matières organiques (charbon, pétrole, essence et bois)	128,2 – 276,3	$8 \cdot 10^{-4}$ – 32 à 25°C	3,3 – 6,58	$1,1 \cdot 10^{-12}$ – 33
<i>Phtalates</i>	Diméthyl phtalate : DMP, Diéthyl phtalate : DEP, Di-n-butyl phtalate : DnBP, Di-iso-butyl phtalate : DiBP, Butylbenzyl phtalate : BBP, Di(2-ethyl-hexyl)phtalate : DEHP, Di-n-octyl phtalate : DnOP	Utilisés principalement en tant que plastifiants, ils confèrent une résistance, malléabilité et résilience aux matériaux. Ils sont également utilisés dans un large éventail de produits de consommation courante (colle, lubrifiants, produits cosmétiques, contenant alimentaire, ...)	194,2 – 446,7	$<1 \cdot 10^{-3}$ – $4,2 \cdot 10^3$	1,6 – 9	$1,3 \cdot 10^{-3}$ – 270

<i>PBDE</i>	PBDE-28, PBDE-47, PBDE-99, PBDE-100, PBDE-153, PBDE-154	Retardateurs de flammes utilisés dans les mousses de polyuréthane, plastiques, rembourrage de meubles, tapis, textiles non destinés à l'habillement, isolants électriques, ordinateurs, téléphones et téléviseurs	564,7 – 959,2	0,013 – 1.10^{-4} à 25°C	4 – 10	$4,63.10^{-6}$ – $4,6.10^{-3}$
<i>Organo-chlorés</i>	Pentachlorobenzène : PeCB, Hexachlorobenzène : HCB, Lindane : γ -HCB, 4,4' DDE	Utilisés principalement comme insecticides pour des applications domestiques, commerciales et agricoles.	290,8 – 416,3	0,004 – 8,52	3,7 – 6,6	$1,9.10^{-7}$ – $3,83.10^{-3}$
<i>Pyréthri-noïdes</i>	N,N-Diéthyl-m-toluamide : DEET, Bifenthrine, Permethrine, Phénothrine, Cyfluthrine, Cyperméthrine, Fenvalerate, Deltaméthrine					
<i>Alkylphénols et alkylphénols étoxylates</i>	Octylphénol, Nonylphénol, Octylphénol monoéthoxylate, Octylphénol diéthoxylate, Nonylphénol monoéthoxylate, Nonylphénol diéthoxylate	Fabrication NPEO (Nonylphénol Ethoxylate), détergents, plastiques (Nonylphénol), résines phénoliques ou de formaldéhyde (Octylphénol)	206 – 308	3,02 – 13,2 à 20°C	4 – 4,48	$4,55.10^{-3}$ – $4,7.10^{-3}$
<i>Parabènes</i>	Methylparabène, Ethylparabène, Propylparabène, Butylparabène	Antifongiques et antimicrobiens dans les cosmétiques et l'alimentaire	152,1 – 194,1	207 – 2500	1,96 – 3,57	0,025 – 0,8

Références : PubChem, 2022 ; ADEME, 2020 ; Braekevelt, Tittlemier et Tomy, 2003 ; Cousins, Mackay et Parkerton, 2003 ; Pichard et Nomine, 2003 ; Weeks, Guiney et Nikiforov, 2012

5. Voies d'action des composés PE étudiés

Le Tableau 2 recense les données issues de la littérature sur l'impact des composés PE présents dans l'air étudié dans ce doctorat, sur les voies d'actions œstrogénique, androgénique et *dioxin-like*. Le + correspond à un effet agoniste observé pour des congénères de la famille étudiée, le - à un effet antagoniste observé pour des congénères de la famille étudiée. Si les deux signes (+/-) sont renseignés, cela correspond à un effet qui peut être soit agoniste, soit antagoniste, selon les congénères de la famille étudiée.

Tableau 2 : Voies d'actions biologique des familles de composés étudiés, adapté d'Inserm, (2013) et de Laborie, (2015)

Composés	Œstrogénique	Androgénique	Dioxin-Like	Références bibliographiques
Phtalates	+	-	+	(Jobling <i>et al.</i> , 1995 ; Zacharewski <i>et al.</i> , 1998 ; Nishihara <i>et al.</i> , 2000 ; Okubo <i>et al.</i> , 2004 ; Fang <i>et al.</i> , 2003 ; Takeuchi <i>et al.</i> , 2005 ; Tamura <i>et al.</i> , 2006 ; Krüger, Long et Bonefeld-Jørgensen, 2008 ; INSERM, 2013 ; Mankidy <i>et al.</i> , 2013)
HAP	+ / -	+ / -	+	(Tran <i>et al.</i> , 1996 ; Santodonato, 1997 ; J. H. Clemons <i>et al.</i> , 1998 ; Navas et Segner, 1998 ; Arcaro <i>et al.</i> , 1999 ; Vinggaard, Hnida et Larsen, 2000 ; van Lipzig <i>et al.</i> , 2005 ; Tamura <i>et al.</i> , 2006 ; Nováková <i>et al.</i> , 2020 ; Vondráček <i>et al.</i> , 2020)
Parabènes	+	+	<i>Pas d'études</i>	(Routledge <i>et al.</i> , 1998 ; Okubo <i>et al.</i> , 2001 ; Morohoshi <i>et al.</i> , 2005 ; Satoh <i>et al.</i> , 2005 ; Chen <i>et al.</i> , 2007)
Alkylphénols et alkylphénols éthoxylates	+ / -	-	<i>Pas d'études</i>	(White <i>et al.</i> , 1994 ; Nishihara <i>et al.</i> , 2000 ; Jung, Ishida et Nishihara, 2004 ; Satoh <i>et al.</i> , 2005 ; Bonefeld-Jørgensen <i>et al.</i> , 2007 ; Krüger, Long et Bonefeld-Jørgensen, 2008)
PBDE	+ / -	+/-	+	(I. A. Meerts <i>et al.</i> , 2001 ; Siddiqi, Laessig et Reed, 2003 ; Ceccatelli <i>et al.</i> , 2006 ; Hamers <i>et al.</i> , 2006 ; Hamers <i>et al.</i> , 2006 ; Damerud, 2008 ; Kojima <i>et al.</i> , 2009 ; Christen <i>et al.</i> , 2010 ; Su <i>et al.</i> , 2012 ; Wong <i>et al.</i> , 2017)
PCB	+ / -	+ / -	+/- (+ : DL-PCB ; - : autres PCB)	(Soto <i>et al.</i> , 1995 ; Nesaretnam <i>et al.</i> , 1996 ; Gierthy, Arcaro et Floyd, 1997 ; Bonefeld-Jørgensen <i>et al.</i> , 2001 ; Portigal <i>et al.</i> , 2002 ; Schrader et Cooke, 2003 ; Siddiqi, Laessig et Reed, 2003 ; Svobodova <i>et al.</i> , 2009 ; Bovee <i>et al.</i> , 2011 ; Odermatt <i>et al.</i> , 2006)
Pesticides	+	- <i>(Effets faibles)</i>	+	(Okubo <i>et al.</i> , 2004 ; Xu <i>et al.</i> , 2008 ; Takeuchi <i>et al.</i> , 2008 ; L'Héritier <i>et al.</i> , 2014)

CHAPITRE 2 - MATERIELS ET METHODES

I. Sites urbains d'étude

1. Sélection des sites urbains

Dans le cadre de ces travaux, trois sites de prélèvements ont été sélectionnés, en collaboration avec Airparif. Airparif est une association agréée par le ministère de l'Environnement, de surveillance de la qualité de l'air. Les stations sélectionnées sont urbaines et de type pollution atmosphérique de « fond ». Une station est considérée de type « fond » lorsque « les niveaux de concentrations (en polluants atmosphériques) ne sont pas influencés de manière significative par une source particulière (ex : émetteur industriel, voirie...), mais plutôt par la contribution intégrée de multiples sources » (LCSQA, 2015; Mathe, 2010). Le choix de stations de fond permet d'être plus représentatif de l'exposition moyenne d'une population vivant en milieu urbain à la contamination atmosphérique en particules.

Les trois sites sélectionnés sont indiqués en Figure 18 : un site dans le 13^{ème} arrondissement de Paris, à proximité du parc de Choisy, noté « P13 », un site dans le 15^{ème} arrondissement de Paris situé au sein du parc Suzanne Lenglen, noté « P15 », et enfin un site à Champigny-sur-Marne, près des cours de Tennis Nelson Mandela, noté « Champigny ». Les trois sites se situent dans des zones de loisirs en extérieur : des parcs et des zones sportives pour les sites P15 et Champigny. Toutefois, ces sites présentent des différences. Le site P13 est à proximité de la place d'Italie, et le site P15 est à une grande proximité du périphérique parisien. Ces routes sont respectivement un axe de croisement et un axe routier très fréquentés. Le site Champigny est situé au milieu d'une zone résidentielle mais l'autoroute A4 se situe à environ 1 km au nord du site (Figure 18).

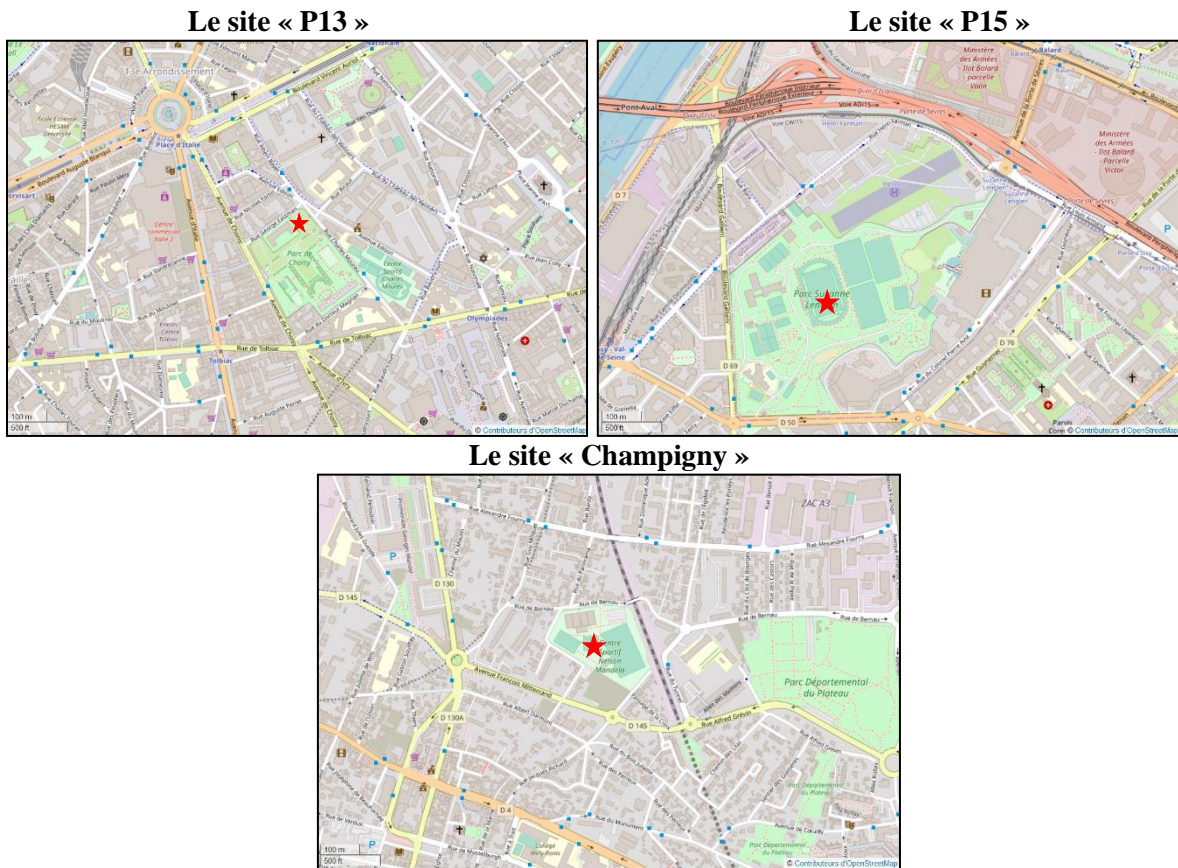


Figure 18 : Localisation des trois sites (l'étoile rouge indique l'emplacement des prélèvements).

2. Echantillonnage

a. Systèmes de prélèvements

Les appareils utilisés pour le prélèvement des particules étaient des préleveurs actifs, à haut débit où l'air, aspiré par une pompe à vibreur, traverse un dispositif constitué d'un filtre retenant les particules. Suivant le dispositif, les particules sont sélectionnées selon leur taille granulométrique ou non. Ces appareils à haut débit, permettent de concentrer sur un filtre de grands volumes d'air et ainsi de recueillir de grandes quantités de particules dans un temps court (Tableau 3). En effet, pour mener les analyses chimiques et biologiques, il était nécessaire d'obtenir des particules en suffisamment grande quantité pour réaliser toutes les expériences, particulièrement sur le plan biologique où les échantillons sont obligatoirement dilués lors de l'exposition sur cellules. Le fait de pouvoir collecter une grande quantité de particules dans un temps relativement court (ici 3 jours) permet aussi de mieux comparer les différences de contamination d'une période restreinte à une autre, et ainsi de pouvoir potentiellement voir un effet d'un changement rapide des conditions de prélèvements (pic de pollution, travaux à proximité...), ce paramètre aurait été moins accessible sur des périodes de prélèvements plus longues.

Tableau 3 : Données de prélèvements par type de particules en moyenne pour 3 jours de prélèvements.

Type	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
Volume prélevé par filtre (m ³)	2133,402	2150,130	1642,755
Teneurs en particules (µg/m ³)	14,062	25,020	30,365
Particules par filtre (mg)	30,000	53,796	49,882

b. Prélèvement des TSP

Pour les prélèvements de particules sans distinction de taille (TSP, *total suspended particles*), l'appareil de la marque TISCH appelé VFC+ a été utilisé. Cet appareil a un débit fixe de 44 CFM (*Cubic Feet per Minute*), soit environ 1246 L d'air/min, ce qui correspond à un haut débit. Néanmoins, à la suite d'un exercice de calibration et vérification du débit par un débitmètre à bille (Annexe 1), il a été remarqué que cet appareil prélevait, de façon constante, seulement environ 66 % du volume d'air annoncé par l'appareil. Les volumes d'air prélevés pour estimer les teneurs atmosphériques en TSP ont donc été pondérés par ce biais de mesure, en multipliant par 0,66 la valeur de volume d'air prélevé, initialement affichée par l'appareil. Pour ce système de prélèvement, les particules sont retenues sur un filtre en fibre de verre (GF/A) rectangulaire de 20,32 x 25,4 cm. Chaque filtre est préalablement calciné à 400 °C pendant une nuit et est conservé dans un dessiccateur après prélèvement, dans le but de réduire au maximum le taux d'humidité.



Figure 19 : Systèmes de prélèvements utilisés : le Digital DH-77 pour la collecte des PM_{2,5} et PM₁₀ (à gauche) et le TISCH VFC+ pour la collecte des TSP (à droite).

c. Prélèvement des $PM_{2,5}$ et des PM_{10}

Pour les prélèvements de particules $PM_{2,5}$ et PM_{10} , l'appareil de la marque Digitel de type DH-77 a été utilisé (Figure 19). Cet appareil possède deux têtes de prélèvements au choix, chacune ayant des caractéristiques spécifiques pour la sélection des particules selon leur taille ($< 2,5$ ou $< 10 \mu\text{m}$). L'air est aspiré par le Digitel DH-77 et, lorsque les particules passent dans la tête de prélèvement, son degré d'ouverture va permettre de sélectionner les particules selon leur taille. Ce système de prélèvement correspond à un collecteur de type impacteur à un étage. Grâce à un débitmètre intégré, le débit a été fixé à 500 L/min, débit optimal pour l'utilisation des têtes de prélèvement. De plus, à chaque déplacement de l'appareillage entre sites, ce débit a été systématiquement calibré à nouveau (vérifications avec ajustements si nécessaire). Avec le Digitel DH-77, les particules sont concentrées sur un filtre rond de 15 cm de diamètre (filtre Whatman en fibre de quartz, QMA). Comme pour les TSP, chaque filtre est préalablement calciné à 400 °C pendant une nuit et est conservé dans un dessiccateur après prélèvement, dans le but de réduire au maximum le taux d'humidité.

3. Plan d'échantillonnage

Les prélèvements sur les appareils Digital DH-77 (de $PM_{2,5}$ ou PM_{10}) et TISCH VFC+ (de TSP) ont été réalisés en parallèle sur un même site donné.

Les prélèvements concomitants TSP/ PM_{10} ou TSP/ $PM_{2,5}$ ont ainsi été effectués, permettant une comparaison des classes granulométriques deux à deux. Étant donné que les prélèvements de $PM_{2,5}$ et de PM_{10} se font sur le même appareil (changement de la tête de prélèvement en fonction de la granulométrie choisie pour rappel), il a été décidé d'alterner, tous les 3 jours, le type de PM prélevées. La campagne de prélèvement sur les 3 sites (P13, P15 ou Champigny) correspond à une période de prélèvement de 1 mois et demi par saison, en comptant par site : 2 semaines au total, soit 4 séries de 3 jours de prélèvements consécutifs. De plus, il a été choisi de faire deux campagnes de prélèvements : une en saison froide et l'autre en saison chaude. L'objectif était d'observer l'influence des températures et de la saisonnalité sur la contamination en COSV sur les particules, et sur les effets biologiques associés à leur multi-contamination organique.

Vu la différence de débit de prélèvement pour les deux systèmes de prélèvement (500 L/min pour l'appareil Digital DH-77 prélevant les $PM_{2,5}$ ou PM_{10} et environ 1246 L/min pour les TSP avant la vérification du biais de mesure (partie 2.b. *Prélèvement des TSP*), il a été décidé de faire des prélèvements discontinus pour les TSP afin d'avoir environ le même volume d'air entre $PM_{2,5}$ et TSP ou PM_{10} et TSP à la fin d'un prélèvement de 3 jours. Le prélèvement pour les TSP a donc été de 3 h 45 toutes les 9 heures, à partir du lancement de l'appareil.

Sachant qu'il existe des variations d'émissions de particules dans une journée (Figure 20), il a fallu vérifier si ce prélèvement discontinu sur l'appareil VFC+ n'influait pas la quantité finale de particules obtenue, par comparaison à un prélèvement continu. Pour vérifier ce point, les variations de teneurs en particules de $PM_{2,5}$ et de PM_{10} sur une station Airparif (site Bobigny, un site de fond urbain), avec des données horaires ont été utilisées. Ces données ne portaient certes pas sur les TSP, mais donnent néanmoins une estimation des variations globales des teneurs atmosphériques en particules au cours d'une journée et ont donc servi d'indicateur pour la comparaison d'un prélèvement de particules en continu versus en discontinu selon le protocole défini pour les TSP (Figure 20).

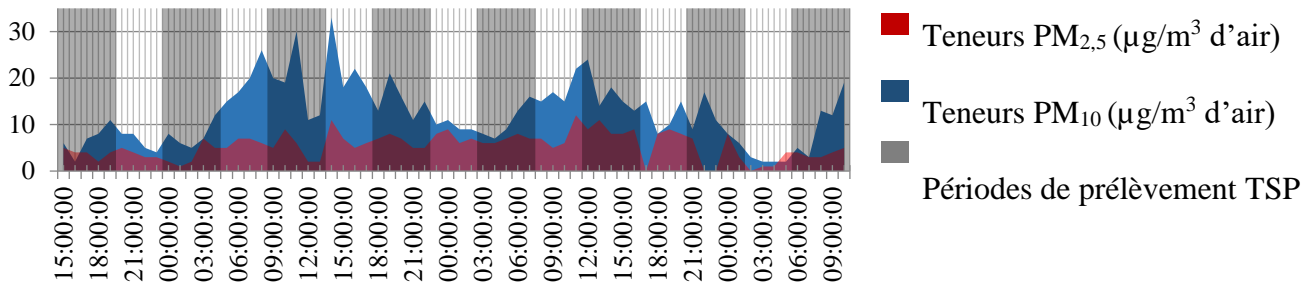


Figure 20 : Variations des teneurs en PM_{2,5} et PM₁₀ (en µg/m³) sur 3 jours (du 04/03 au 07/03/2019 sur le site de Bobigny, données Airparif) en fonction du plan de prélèvement choisi pour les TSP (3 h 45 toutes les 9 heures).

Ainsi, le Tableau 4 montre les teneurs moyennes en PM₁₀ calculées en prenant les valeurs correspondant aux périodes d'un prélèvement sur 3 jours, soit en mode discontinu (environ 3 h 45 toutes les 9 heures), soit en mode continu. Il ressort que la différence de teneurs en particules PM par m³ d'air entre un prélèvement sur 3 jours en mode continu versus en mode discontinu était inférieure à 5 %, estimation réalisée sur les 3 périodes de prélèvements (Tableau 4). De ce fait, par extrapolation et considérant que les PM₁₀ qui sont incluses dans les TSP, étaient représentatives des TSP, nous avons estimé que le protocole de prélèvement discontinu des TSP était représentatif d'un prélèvement continu sur 3 jours.

Tableau 4 : Comparaison des teneurs moyennes en PM₁₀ dans l'air (en µg/m³) obtenues en 2019 entre les protocoles de prélèvements en continu et en discontinu, sur 3 périodes de prélèvement de 3 jours sur le site de Bobigny (données Airparif)

Période de prélèvement sur 3 jours sur le site de Bobigny (données Airparif)	Teneurs moyennes en PM ₁₀ (µg/m ³) Prélèvement continu	Teneurs moyennes en PM ₁₀ (µg/m ³) Prélèvement discontinu	Différences des teneurs en PM ₁₀ (en %) Prélèvements discontinu / continu
25/02 – 28/02	55,1	57,1	+ 3,59 %
01/03 – 04/03	16,1	15,3	- 4,90 %
04/03 – 07/03	12,3	12,2	- 1,14%

4. Tests préliminaires

Avant de procéder à l'échantillonnage d'air sur les 3 sites sélectionnés, des tests préliminaires ont été réalisés sur le toit de l'un des bâtiments de Sorbonne Université sur le campus Pierre et Marie Curie (Jussieu), dans le 5^{ème} arrondissement (nommé « toit de Jussieu »). L'objectif était de vérifier le fonctionnement de l'appareillage Digital DH-77 pour le prélèvement des PM_{2,5} et PM₁₀, ainsi que de comparer les données de teneurs atmosphériques en particules obtenues, par rapport à celles mesurées par la station d'Airparif (Paris 4^{ème} arrondissement) la plus proche et présentant des caractéristiques équivalentes au site de Jussieu : ce sont dans les deux cas des sites urbains, de type fond (Tableau 5). Le second appareil, un « VFC + » de la marque TISCH n'a pas été testé sur le site du toit de Jussieu, en raison d'une limite de voltage sur les prises électriques de la station.

Tableau 5 : Teneurs en particules (PM₁₀ et PM_{2,5}) dans l'air (µg/m³)
Mesurées soit avec l'appareil Digital DH-77, soit selon les conditions de mesure d'Airparif, sur des périodes de 3 jours (du 14/12/18 au 17/12/18) pour les PM₁₀ et du 17/12/18 au 20/12/18 pour les PM_{2,5})

<i>Type de particule</i> <i>Période de prélèvement</i>	Teneur en particules dans l'air (µg/m ³)	
	Mesure sur Digital DH-77 (site : toit de Jussieu)	Mesure d'Airparif (site : Paris 4)
PM₁₀ 14/12/18 - 17/12/18	19,7	19,6
PM_{2,5} 17/12/18 - 20/12/18	10,7	10,3

Les teneurs en particules dans l'air ont été calculées en masse de particules en fonction du volume d'air. Ces résultats préliminaires (Tableau 5) ont permis de mettre en évidence des teneurs PM_{2,5} et PM₁₀ mesurées avec le protocole développé sur l'appareil Digital DH-77, très proches de celles mesurées par Airparif, avec moins de 5 % de différences entre les deux approches. Ces données ont permis de valider la calibration et la méthode utilisée pour l'appareil DH-77.

5. Validation des mesures de pollution des sites choisis (d'après la base de données Airparif)

La sélection des trois sites urbains étudiés a d'abord été validée quant à leurs caractéristiques représentatives d'une pollution de fond. En effet, bien que nos sites possèdent théoriquement les mêmes caractéristiques de « fond » définies par le Laboratoire central de surveillance de la qualité de l'air (LCSQA), des différences de zones géographiques et d'environnement subsistent (Figure 18). L'environnement de chaque site pouvant influencer les teneurs en particules atmosphériques, ainsi que leur contamination, il s'avérait important de savoir si elles s'inscrivent dans la moyenne de la pollution atmosphérique de la zone parisienne surveillée par Airparif.

Les données de mesure de la qualité de l'air fournies par Airparif ont donc été utilisées. En effet, cette association possède environ 70 stations de mesure de polluants atmosphériques en région parisienne, et récolte de façon automatique des données horaires (une mesure moyenne par heure par polluant) sur de nombreux polluants atmosphériques tels que les PM, le dioxyde d'azote (NO₂), l'ozone (O₃) ... Certains polluants sont mesurés de façon automatique (notamment ceux décrits ci-après), tandis que d'autres font partie de campagnes de mesures spécifiques nécessitant un échantillonnage spécifique (HAP, dioxines...) (Site internet Airparif, 2022). Parmi les polluants mesurés de façon automatique sur les différentes stations du réseau de mesure, sont retrouvés les teneurs en PM_{2,5} ou PM₁₀. Dans le but de faire une comparaison entre les mesures gravimétriques de particules dans l'air quantifiées sur les trois sites, les données Airparif ont été recueillies et agrégées dans une base de données, décrite ci-après.

a. Base de données Airparif

Les données récoltées de la base de données Airparif correspondent aux stations de mesure de qualité de l'air en région parisienne répondant aux deux critères de pollution suivants : de type fond et urbain. Les indicateurs de pollution de l'air d'Airparif ont été pris en compte aux dates et heures correspondant à celles des prélèvements des particules atmosphériques utilisées pour ce doctorat.

Ainsi, les données Airparif du 29/01/19 au 11/03/2019 et du 04/06/2019 au 15/07/2019 ont été sélectionnées pour correspondre aux dates de prélèvements réalisés dans cette étude. Au total, 28 stations ont été intégrées dans la base de données créée, (via les logiciels Excel et Access), toutes situées en Ile-de-France et représentatives d'une pollution de fond urbaine.

Les types de polluants atmosphériques mesurés par Airparif diffèrent d'une station à une autre et comprennent : le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de soufre (SO₂), NO₂, l'O₃, les PM₁₀ et/ou les PM_{2,5}. Au total, 57 434 lignes d'informations ont été renseignées, une ligne correspondant à une mesure horaire d'un ou plusieurs polluants à une station.

b. Validation en utilisant l'indicateur NO₂

Même si chaque station du réseau Airparif ne mesure pas les mêmes paramètres atmosphériques, la base de données renseigne sur la pollution atmosphérique globale à l'échelle de l'Ile-de-France. Ainsi, les sites sélectionnés pour notre étude, P13, P15 et Champigny, correspondent à des stations de mesures intégrées dans la base de données, mais les teneurs en PM_{2,5} et PM₁₀ (à l'exception du site P15 qui mesure les PM₁₀) n'y sont pas surveillées. Cela empêche la comparaison directe avec les teneurs relevées dans notre étude et la vérification/validation directe de l'homogénéité des trois sites en tant que sites urbains de fond pour ces paramètres.

Ainsi, les paramètres qui ont pu être recueillis de la base de données Airparif pour les trois sites d'études sélectionnés sont :

- P13 : NO₂ et O₃
- P15 : NO₂ et PM₁₀
- Champigny : NO₂ et O₃

De manière générale, sur la totalité des 28 stations constituant la base de données, le paramètre NO₂ est en grande majorité mesuré sur les sites Airparif ; ce paramètre est renseigné pour 83 % des données recueillies et est commun à 24 stations sur les 28 stations, de type fond et urbain, sélectionnées. L'indicateur de qualité de l'air NO₂ est d'ailleurs renseigné pour nos trois sites urbains : P13, P15 et Champigny. Il s'avère donc être un paramètre intéressant pour comparer les trois sites entre eux quant à leur caractère urbain de fond.

De ce fait, le NO₂ a servi d'indicateur d'homogénéité de pollution urbaine de fond (considéré alors comme un « proxy ») entre les trois sites d'étude. Pour les PM collectées dans le cadre de ce doctorat, des mesures de corrélation deux à deux ont été réalisées entre les couples de variables NO₂/PM_{2,5} ou NO₂/PM₁₀ pour chaque période et site de prélèvements. Quelles que soient les variables comparées, une corrélation positive significative (en rouge, $p < 0,001$, Tableau 6) est mise en évidence. Lorsque les concentrations en NO₂ augmentent dans l'air, les

concentrations en particules de type PM_{2,5} et PM₁₀ augmentent également. Cette relation est en accord avec une étude menée à Hangzhou en Chine (Wu *et al.*, 2016), mais elle n'est pas toujours observée. En effet, l'article de Eeftens *et al.* (2012) explique que ces corrélations peuvent se produire mais sont dépendantes de l'environnement du site et de la période.

Tableau 6 : Matrice de corrélation de Pearson et p-value associées entre les polluants de type NO₂, PM_{2,5} et PM₁₀ correspondant à la période du 29/01/19 au 11/03/19 et du 04/06/19 au 15/07/19

Variables	NO ₂	PM _{2,5}	PM ₁₀
NO ₂	1	0,783	0,793
PM _{2,5}	0,783	1	0,936
PM ₁₀	0,793	0,936	1

La Figure 21 montre que les profils de contamination en NO₂ sont similaires entre les sites P15, P13 et Champigny, suivant les dates de prélèvements des PM collectées et les saisons (froide et chaude).

De l'ensemble, il ressort donc que la dynamique de la pollution urbaine de fond semble bien homogène entre les trois sites sélectionnés pour le NO₂, et en s'appuyant sur les corrélations observées, pour les particules atmosphériques.

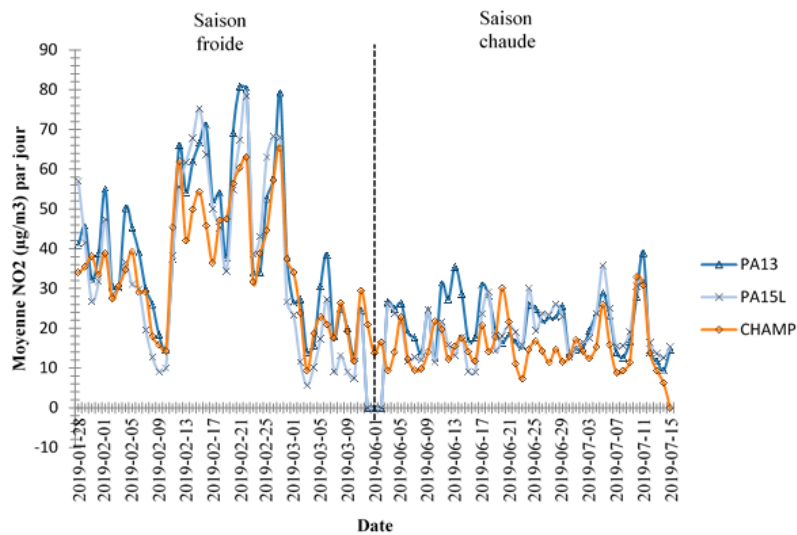


Figure 21 : Evolution des teneurs en NO₂ sur les sites d'études en fonction du temps, selon les données Airparif.

c. Validation en comparant les concentrations mesurées en PM

Les teneurs en PM collectées sur les trois sites P13, P15 et Champigny, selon le protocole défini en I.6. *Préparation des extraits particulaires* et calculées par mesure gravimétrique, ont pu être comparées à celles issues de la base de données Airparif, incluant 28 stations. Dans cette dernière, les teneurs en PM_{2,5} étaient renseignées pour 20 % dans la base de données et à hauteur de 40 % pour les PM₁₀. Les TSP n'ont pu être intégrées dans cette comparaison, étant donné que cet indicateur de pollution atmosphérique n'est pas surveillé par Airparif.

Ainsi, un test de Bland et Altman a été réalisé (Figure 22), pour observer la comparabilité entre la méthode de calcul des teneurs en particules dans l'air utilisée dans ce doctorat (*I.6. Préparation des extraits particulaires*) et la méthode de mesure Airparif. Les teneurs moyennes mesurées (sur les sites de l'étude pour 3 jours) et les teneurs moyennes sur les périodes correspondantes, issues des données Airparif ont été renseignées. Pour les teneurs en particules (PM_{2,5} et PM₁₀), le test de Bland et Altman montre que les valeurs sont comparables : l'hypothèse qu'il y ait 0 différence entre le calcul des teneurs par gravimétrie dans cette étude et les teneurs mesurées par Airparif sur les différents sites, n'est pas rejetée.

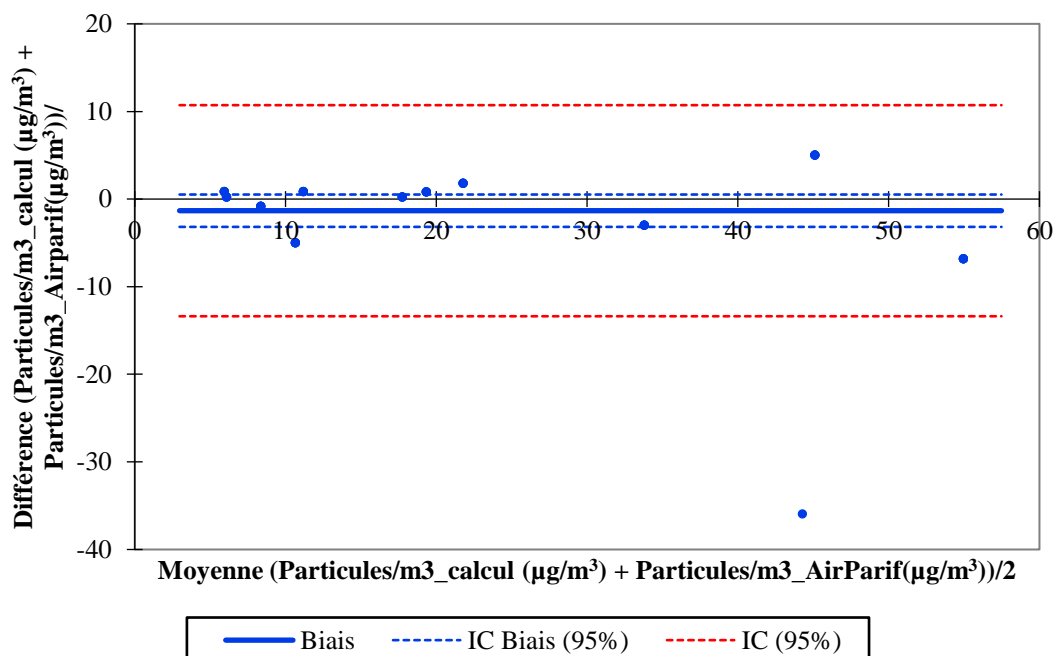


Figure 22 : Graphique de Bland et Altman comparant les teneurs en particules moyennes mesurées par Airparif et les teneurs en particules moyennes calculées expérimentalement dans cette étude, sur une même période.

Ces résultats montrent que les teneurs en particules PM_{2,5} et PM₁₀ (en µg/m³ d'air) collectées pour notre étude sont comparables à celles mesurées par Airparif sur la même période de prélèvement, et en prenant en compte plusieurs stations urbaines et périurbaines dans le secteur de l'Ile-de-France, comme vu précédemment sur une courte période dans le Tableau 5.

De l'ensemble de ces données, il ressort que notre protocole de prélèvement et de mesure de teneurs en particules atmosphériques (PM_{2,5} et PM₁₀) obtient des teneurs calculées en PM_{2,5} et PM₁₀ comparables à celles obtenues par la méthode utilisée par Airparif, la structure de référence en matière de surveillance de la qualité de l'air en Ile-de-France. Cette comparaison n'a pu être réalisée pour les particules de types TSP, car les informations sur les teneurs en particules totales ne sont pas renseignées par l'association Airparif.

6. Préparation des extraits particulaires

a. Récupération et découpe des filtres

Les particules récoltées sur les filtres ont été extraites pour leur contenu en une large gamme de molécules organiques selon des protocoles précédemment validés (Laborie *et al.*, 2016 ; Alliot *et al.*, 2014). Un même filtre permet d'obtenir des extraits particulaires similaires dédiés aux analyses chimiques et biologiques, afin de pouvoir comparer les résultats de ces deux approches pour étudier la contamination organique de PM d'origine urbaine.



Figure 23 : Filtre PM₁₀ après 3 jours de prélèvement d'air à un débit de 500 L/min avec le Digitel DH-77 (ici prélèvement Hiv9).

Après 3 jours de prélèvement, les filtres sont récupérés (Figure 23), enveloppés dans de l'aluminium, et mis dans un dessiccateur pendant 24 heures, afin d'éliminer l'eau et d'avoir une mesure gravimétrique fiable. La mesure gravimétrique s'appuie sur la pesée des filtres sur une balance de précision (Mettler Toledo), se faisant immédiatement suite à leur recueil sur les sites, puis, une mesure après dessiccation. Cette durée de 24 heures a été déterminée par une mesure test préalable qui a permis de suivre l'évolution du poids d'un filtre une fois mis dans le dessiccateur, et qui a déterminé que cette durée était optimale pour enlever l'humidité du filtre.

À la suite de ces 24 heures de dessiccation les filtres sont pesés, et le poids des particules collectés est obtenu par soustraction du poids du filtre blanc avant prélèvement. Ce poids est rapporté au volume d'air prélevé pour calculer la teneur en particule moyenne en m^3 d'air sur les trois jours de prélèvement.

Par la suite, chaque filtre est découpé avec un emporte-pièce de 2,4 cm de diamètre et 4 « pièces » sont utilisées pour les analyses chimiques, le reste étant dédié aux analyses biologiques (Figure 24). Chaque pièce est pesée sur la balance de précision afin de pouvoir ramener la contamination chimique à la masse de particules extraites, le poids des pastilles sans particules est estimé en fonction de la surface d'une pastille et le poids du filtre total sans particules. Pour les effets biologiques, le filtre est de nouveau pesé et le pourcentage de surface restante des filtres à la suite du prélèvement des 4 pastilles pour l'analyse chimique est calculé, et ramené au poids du filtre blanc initial, pour être soustrait et ainsi connaître le poids de particules restantes, qui vont être extraites pour les échantillons biologique.

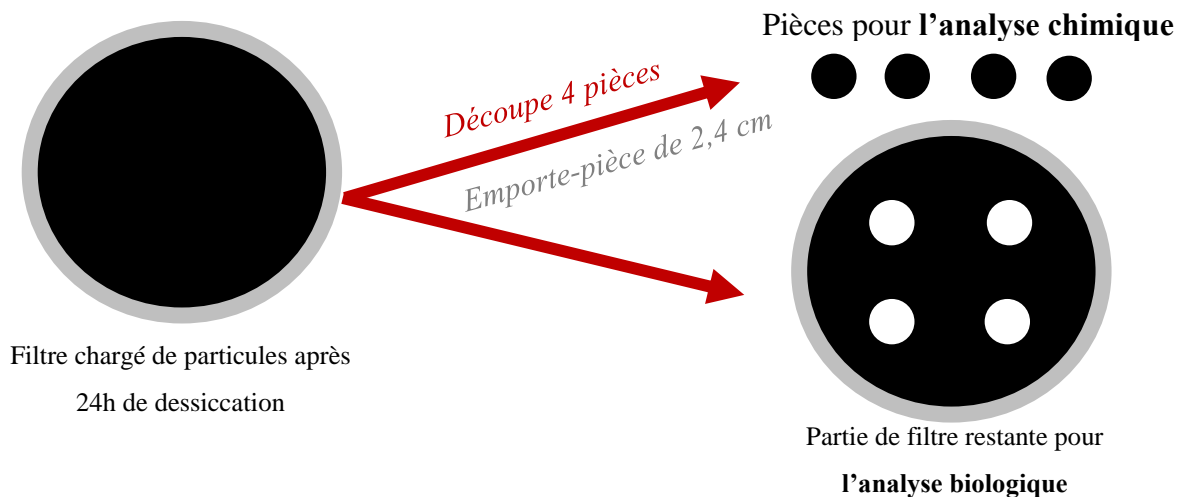


Figure 24 : Découpe d'un filtre chargé en particules selon l'usage (analyse chimique ou biologique)

Les quatre pièces dédiées à l'analyse chimique ont été prélevées à différents endroits du filtre, et espacées de façon similaire sur chaque filtre. Ce choix de découpe de plusieurs pastilles par filtre a été fait afin d'être le plus représentatif possible de la contamination globale des PM atmosphériques lors de la période du prélèvement, d'analyser chimiquement plusieurs zones sur filtre. N'ayant pas connaissance à ce jour d'éléments de la littérature quant à l'homogénéité de la répartition des contaminants associés aux particules sur la surface d'un filtre, chaque pièce a été analysée séparément pour la contamination en COSV. Pour l'analyse biologique, le reste du filtre est utilisé car, en raison des dilutions réalisées lors de l'exposition cellulaire (détaillées ci-après), il est nécessaire d'avoir la plus grande quantité de particules possibles pour pouvoir réaliser toutes les expériences prévues sur cellules.

b. Traitement des pièces pour l'analyse chimique

En parallèle de chaque étape de traitement des pièces découpées dans les filtres pour l'analyse chimique, des blancs laboratoires ont été réalisés selon la même méthode, de la dessiccation, l'étalonnage interne, en passant par l'extraction, à l'analyse chimique et biologique.

ETALONNAGE INTERNE DES PIÈCES

À la suite de la découpe à l'emporte-pièce du filtre, chaque pièce destinée à l'analyse chimique est ensuite imprégnée, durant une nuit, d'une solution d'étalons internes. Les composés et leurs quantités contenus dans cette solution sont détaillés dans le Tableau 7.

L'étalonnage interne est une méthode d'analyse quantitative, qui permet de quantifier les composés contenus dans les échantillons en tenant compte des composés de référence de quantité connues.

Tableau 7 : Composition de la solution d'étalons internes utilisée pour l'imprégnation des pièces de filtres dédiées à l'analyse chimique.

Composés	Quantité par pièce de filtre découpée (en ng)
HAP Mix: Phenanthrène-d10 ; Pyrène-d10 ; Benzo(a)anthracene-d12	33,3
Phtalates: DEP-d4 et DEHP-d4	200,0
Lindane-d6	50,0
Cis-permethrine 13 C	100,0
PCB 30/107	10,0
BDE Mix	4,9

PREPARATION DES EXTRAITS PARTICULAIRES

L'extraction des pièces de filtre où les particules sont concentrées va donc permettre d'obtenir des extraits particuliers concentrés en une large gamme de composés organiques. Ils sont préparés par extraction accélérée par solvant, aussi appelée ASE (*Accelerated Solvent Extraction*). Cette technique consiste à faire une extraction solide-liquide qui utilise des solvants sous haute pression et température (Thermo-Dionex, ASE 350). Ces paramètres se situent au-dessus du point d'ébullition des solvants (Kaufmann et Christen, 2002). L'association de température et de pression élevées donnent un processus d'extraction efficace, rapide et reproductible car maîtrisé. La phase statique correspond au moment où le solvant et la matrice sont en contact pendant un temps imparti. Cette phase permet la désorption des molécules de la matrice vers le solvant. Il y a plusieurs cycles, pour augmenter le gradient de concentration entre la matrice et le solvant, et qui permet d'extraire d'autant plus les molécules contenues dans la matrice échantillon.

Pour préparer les extraits particuliers par ASE, les solvants utilisés sont un mélange de dichlorométhane (DCM)/méthanol (MeOH) (2/1 ; v/v), selon la méthode de Laborie *et al.* (2016). Les solvants utilisés étaient de qualité chromatographique (Merck Suprasolv). L'extraction s'est faite par trois cycles statiques de cinq minutes, à la température de 100 °C et à la pression de 100 bar. Chaque extrait particulière, correspondant à une pièce de filtre (soit 4 échantillons indépendants d'extraits particuliers par filtre, correspondant à une période et un type de particules prélevé), est ensuite récupéré dans un flacon individuel.

Les extraits particuliers obtenus sont ensuite évaporés dans un système de centrifugation-évaporation, pour éliminer le plus grand volume de solvants issus de l'extraction, par une méthode basse pression (EZ-2, BTF), pendant 35 minutes puis évaporés à sec sous flux d'azote, à 62 °C. A sec, ils sont rapidement remis en solution dans de l'hexane (solvant utilisé par la suite pour l'analyse GC-MS/MS) pour être ensuite transférés en flacon ambré de 2 mL, dans un insert de 250 µL pour être de nouveau évaporés sous flux d'azote jusqu'à un volume d'environ 100 µL.

À la suite de leur analyse chimique par GC-MS/MS, les extraits particuliers sont à nouveau évaporés à sec, puis immédiatement remis en solution dans 200 µL de méthanol, puis de nouveau évaporés pour les concentrer dans environ 100 µL. Ce transfert de solvant dans le méthanol permet par la suite l'analyse des extraits en LC-MS/MS.

c. Traitement des filtres pour l'analyse biologique

Le reste des filtres concentrés en particules est dédié à l'analyse biologique (c'est-à-dire, sans les 4 pièces dédiées l'analyse chimique). Les extraits particuliers sont préparés de la même façon que ceux préparés à partir des pièces destinées à l'analyse chimique (ASE puis EZ-2), mais il n'y a pas ici d'étape d'imprégnation des filtres par une solution d'étalons internes.

Ces extraits destinés à l'analyse biologique sont ensuite évaporés presque à sec sous flux d'azote, dans le but de ne pas assécher l'échantillon, et sont mis en solution dans de l'acétate d'éthyle. Ensuite, ils sont de nouveau évaporés presque à sec pour être mis en solution dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) de qualité HPLC (Sigma-Aldrich). Mis en solution dans le DMSO, l'acétate d'éthyle résiduel est ensuite évaporé. Le DMSO est un cryo-conservateur qui va être toléré par les cellules jusqu'à 0,1 % (0,2 % dans certains cas) dans le volume d'exposition auquel elles vont être en contact. De ce fait, les extraits particuliers, dissous dans 100 % de DMSO, doivent être dilués au moins au 1000^{ème} ou au 500^{ème} dans le milieu de culture des cellules pour respecter ces pourcentages finaux en DMSO dans le puits de culture.

Tenant compte de la teneur maximale en DMSO tolérable par les cellules sans engendrer de cytotoxicité et de la nécessité d'avoir des extraits particuliers suffisamment concentrés en contaminants organiques pour obtenir des niveaux d'activité mesurables sur des gammes de dilutions, l'étude préliminaire sur le toit de Jussieu a permis d'estimer que les extraits particuliers devaient être concentrés en faisant en sorte d'avoir l'équivalent de 25 mg de particules pour 100 μ L de DMSO. Avoir dans la mesure du possible des extraits particuliers de concentrations en particules équivalentes a permis une comparaison plus aisée entre eux. Cependant, dans les cas où la quantité de particules retenues sur le filtre était trop faible, il a été décidé de conserver un volume de dissolution de l'extrait de 100 μ L de DMSO, malgré une masse de particules correspondante inférieure à 25 mg. En effet, afin de pouvoir mener à bien toutes les répétitions d'expérience sur les différents types cellulaires, il était nécessaire d'avoir un volume de 100 μ L pour chaque extrait particulier. Les caractéristiques des extraits particuliers utilisés pour l'analyse biologique sont présentées dans le Tableau 8. En rouge sont indiquées les concentrations d'extraits inférieures à 25 mg de particules/100 μ L de DMSO. Cela concerne davantage les échantillons prélevés en saison chaude qu'en saison froide, car les concentrations en particules dans l'air ont tendance à être plus faibles à cette saison.

Tableau 8 : Caractéristiques des extraits particulaires dédiés aux analyses biologiques : nom d'échantillon, concentration d'extrait (en mg/μL de DMSO), teneurs des PM dans l'air (en μg/m³), en rouge concentration < 25 mg d'extraits particulaires/μL de DMSO.

Identifiant échantillon	Type de particules prélevées	Saison	Site de prélèvement	Dates de prélèvement (en 2019)	Extrait de PM _{2,5} ou PM ₁₀ (mg/μL DMSO)	Extrait de TSP (mg/μL DMSO)	Teneurs des PM _{2,5} ou PM ₁₀ (en μg/m ³)	Teneurs des TSP (en μg/m ³)
Hiv1	PM _{2,5} /TSP	Hiver	P13	29/01 au 01/02	0,2500	0,2500	8,8	25,9
Hiv2	PM ₁₀ /TSP			01/02 au 04/02	0,2500	0,2500	18,9	36,3
Hiv3	PM ₁₀ /TSP	Hiver	P13	04/02 au 07/02	0,2500	0,2500	17,6	25,8
Hiv4	PM _{2,5} /TSP			08/02 au 11/02	0,0718	0,2500	5,5	34,1
Hiv5	PM _{2,5} /TSP	Hiver	P15	11/02 au 14/02	0,2500	0,2500	20,9	50,7
Hiv6	PM ₁₀ /TSP			15/02 au 18/02	0,2500	0,2500	42,6	55,9
Hiv7	PM _{2,5} /TSP	Hiver	P15	18/02 au 21/02	0,2500	0,2500	25,0	42,0
Hiv8	PM ₁₀ /TSP			22/02 au 25/02	0,2500	0,2500	35,3	52,9
Hiv9	PM ₁₀ /TSP	Hiver	Champigny	25/02 au 28/02	0,2500	0,2500	58,4	45,6
Hiv10	PM _{2,5} /TSP			01/03 au 04/03	0,1740	0,1995	13,2	17,4
Hiv11	PM ₁₀ /TSP	Hiver	Champigny	04/03 au 07/03	0,1694	0,2243	10,7	16,6
Hiv12	PM _{2,5} /TSP			08/03 au 11/03	0,0913	0,2500	6,0	21,5
Ete1	PM _{2,5} /TSP	Eté	P15	04/06 au 07/06	0,1017	0,1382	7,8	11,6
Ete2	PM ₁₀ /TSP			07/06 au 10/06	0,1855	0,1013	12,0	11,2
Ete3	PM _{2,5} /TSP	Eté	P15	10/06 au 13/06	0,0702	0,0475	5,9	6,0
Ete4	PM ₁₀ /TSP			13/06 au 16/06	0,1466	0,2500	10,1	19,5
Ete5	PM ₁₀ /TSP	Eté	Champigny	17/06 au 20/06	0,2500	0,2500	15,6	21,2
Ete6	PM _{2,5} /TSP			21/06 au 24/06	0,1614	0,1869	10,7	18,0
Ete7	PM ₁₀ /TSP	Eté	Champigny	24/06 au 27/06	0,2500	0,2500	25,5	33,6
Ete8	PM _{2,5} /TSP			28/06 au 01/07	0,2188	0,2500	15,2	30,0
Ete9	PM _{2,5} /TSP	Eté	P13	01/07 au 04/07	0,2500	0,2500	20,1	66,4
Ete10	PM ₁₀ /TSP			05/07 au 08/07	0,2500	0,2500	28,6	30,2
Ete11	PM _{2,5} /TSP	Eté	P13	08/07 au 11/07	0,2500	0,2500	29,8	29,6
Ete12	PM ₁₀ /TSP			12/07 au 15/07	0,2500	0,2500	24,8	26,7

II. Analyse chimique des extraits particuliers

Toute l'analyse chimique présentée ci-dessous a été réalisée en suivant un protocole précédemment validé au sein du laboratoire de Chimie des Contaminants, au sein de l'UMR METIS (Alliot *et al.*, 2014 ; Laborie *et al.*, 2016). Les molécules recherchées dans les extraits particuliers, ont été sélectionnées en raison de leur caractère perturbateur endocrinien suspecté ou avéré et, de leur présence potentielle dans l'air ambiant extérieur à l'état adsorbé sur des particules atmosphériques. Suivant leurs caractéristiques physico-chimiques (Tableau 1) et à l'appui de la méthode précédemment validée, les composés ont été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) ou par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

1. Analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS)

Les extraits particuliers ont été analysés par GC-MS/MS, avec une séparation chromatographique des composés d'intérêt sur le système GC 7890 (Agilent Technologies, France) avant quantification par spectrométrie de masse en tandem de type Triple Quadripôle 7000B (Agilent Technologies, France). Le GC-MS/MS en tandem minimise les interférences et le bruit de fond sur les chromatogrammes, permettant ainsi une détection des composés améliorée. Les détails des paramètres du GC-MS/MS sont présentés en Annexe 3.

La méthode d'analyse par GC-MS/MS s'applique aux phtalates, HAP, pesticides (pyréthrinoïdes, organochlorés et DEET), aux PCB, ainsi qu'aux PBDE. Les détails des composés quantifiés dans cette étude par GC-MS/MS sont présentés par famille dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Composés recherchés dans les extraits particulaires par GC-MS/MS.

Familles	Composés recherchés
HAP 16 congénères recherchés	HAP légers* : Naphthalène, Acénaphène, Acénaphtylène, Phénanthrène, Anthracène, Fluorène HAP lourds** : Pyrène, Fluoranthène, Benzo(a)anthracène, Chrysène, Benzo(b)fluoranthène, Benzo(k)fluoranthène, Benzo(a)pyrène, Dibenzo(a,h)anthracène, Benzo(g,h,i)pérylène, Indéno(1,2,3-c,d)pyrène
Phthalates 7 congénères recherchés	Diméthyl phtalate : DMP , Diéthyl phtalate : DEP , Di-n-butyl phtalate : DnBP , Di-iso-butyl phtalate : DiBP , Butylbenzyl phtalate : BBP , Di(2-ethyl-hexyl) phtalate : DEHP , Di-n-octyl phtalate : DnOP
PCB 7 congénères recherchés	PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153, PCB-180
PBDE 7 congénères recherchés	PBDE-28, PBDE-47, PBDE-99, PBDE-100, PBDE-153, PBDE-154
Pesticides 12 congénères recherchés	Organo-chlorés : Pentachlorobenzène : PeCB, Hexachlorobenzène : HCB, Lindane : γ -HCB, 4,4' DDE N,N-Diéthyl-m-toluamide : DEET Pyréthrinoïdes : Bifenthrine, Perméthrine, Phénothrine, Cyfluthrine, Cyperméthrine, Fenvalerate, Deltaméthrine

*correspond aux HAP dont la structure contient 3 cycles ou moins

**correspond aux HAP dont la structure contient 3 cycles ou plus

2. Analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)

À la suite de l'analyse par GC-MS/MS, les extraits particuliers sont analysés par la méthode LC-MS/MS. L'appareil utilisé est un système Agilent 1200 pour la chromatographie liquide, en interface avec un système de spectrométrie de masse de type Triple Quadropole 6410B (MS/MS, Agilent Technologies), associé à une ionisation de type électrospray (ESI) avec une source négative. Les détails des différents paramètres associés à cette méthode sont présentés en Annexe 4.

La méthode d'analyse par LC-MS/MS permet la détection et la quantification des parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylés. Les détails des composés quantifiés dans cette étude par LC-MS/MS est présenté par famille dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Composés recherchés dans les extraits particuliers par LC-MS/MS.

Familles	Composés
<i>Alkylphénols et alkylphénols éthoxylates</i> 6 congénères recherchés	Octylphénol OP, Nonylphénol NP, Octylphénol monoéthoxylate, Octylphénol diéthoxylate, Nonylphénol monoéthoxylate, Nonylphénol diéthoxylate
<i>Parabènes</i> 4 congénères recherchés	Methylparabène, Ethylparabène, Propylparabène, Butylparabène

3. Expression et traitement des résultats obtenus par l'analyse chimique

a. Limites de détection et de quantification

Pour fixer nos limites de quantification et de détection, inhérentes à la méthode utilisée, la méthode du dopage a été utilisée. Cette méthode consiste à ajouter sur des pièces de filtres découpés une quantité de composés connus en solution. Ces pièces sont imprégnées toute une nuit et sont ensuite traitées avec la même méthode que pour les échantillons :

- Imprégnation par la solution d'étalons internes
- Extraction par ASE
- Evaporation par EZ-2
- Reconcentration sous flux d'azote
- Remise en solution dans l'hexane (GC-MS/MS) puis le méthanol (LC-MS/MS)

Le détail des masses des différents composés pour le dopage est présenté en Annexe 2. Les quantités choisies sont identiques à celles utilisées dans la validation de méthode faite par Laborie *et al.* (2016). Cela a permis d'avoir un point de comparaison avec les valeurs trouvées précédemment, avec la même méthode. Les concentrations ont été déterminées en considérant la quantification des pièces de filtres dopées, qui avaient un signal/bruit supérieur à 3. Puis, ces quantités ont été transformées en concentrations exprimées en ng/m^3 ou $\text{pg}/\mu\text{g}$, selon que les résultats servent à une comparaison de la contamination chimique selon la masse de particules ou en fonction du volume d'air.

Pour exprimer les concentrations en ng/m^3 , les quantités en ng de chaque composé quantifié sur les filtres dopés ont été multipliées par la concentration en particules calculée par pastille pour chaque prélèvement et par type de particules ($\text{PM}_{2,5}$, PM_{10} et TSP). Pour exprimer les teneurs en $\text{pg}/\mu\text{g}$, les quantités en masse ont été divisées par le poids moyen de particules par pièce, selon le type de particules. Ces valeurs moyennes sont détaillées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Moyenne des masses de particules en μg et de m^3 par pièce, selon les types de particules.

	<i>Moyenne μg de particules/pièce</i>	<i>Moyenne de m^3 d'air/pièce</i>
<i>PM_{2,5}</i>	1,30	56,96
<i>PM₁₀</i>	2,25	58,52
<i>TSP</i>	1,29	38,00

Le détail des LD et LQ calculées est présenté en Annexe 5, Annexe 6, Annexe 7, Annexe 8, Annexe 9, Annexe 10, Annexe 11.

Cette méthode du dopage a également permis de calculer les taux de recouvrement propres à chaque composé étudié, après application de la méthode utilisée sur les échantillons. Un exemple du taux de recouvrement pour les phtalates et les HAP sur les filtres QMA est présenté en Figure 25 et Figure 26. Le détail des taux de recouvrement est présenté en Annexe 12.

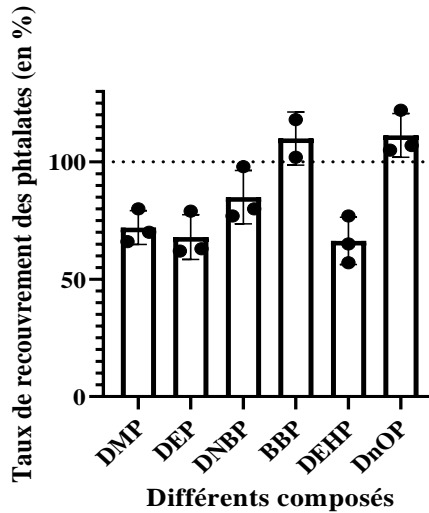


Figure 25 : Taux de recouvrement (en %) des phtalates sur les filtres QMA.

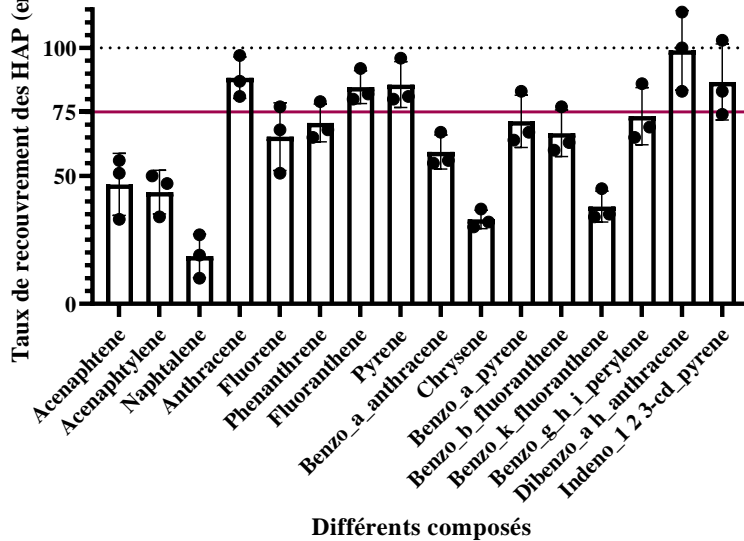


Figure 26 : Taux de recouvrement (en %) des HAP sur les filtres QMA.

Les taux de recouvrement sont calculés par le rapport entre la masse expérimentale quantifiée et la masse théorique qui a été ajoutée sur chaque pièce de filtre. Pour les HAP, on peut notamment remarquer que les HAP « légers » ont les taux de recouvrement les plus faibles, cela peut s'expliquer par leur grande volatilité et leur propension, de ce fait, à se volatiliser pendant le processus de traitement des échantillons. Pour les HAP comme le chrysène et le benzo-k-

fluoranthène, leur volatilité ne peut expliquer leur faible taux de rendement d'extraction, cela peut être lié à une mauvaise quantité de départ au moment du dopage, car ce phénomène est également observé sur les filtres en fibre de verre.

b. Prise en compte de la contamination environnementale

En raison du caractère semi-volatile et ubiquiste des composés étudiés, constituant alors une contamination dite « bruit de fond », la contamination de l'environnement de travail doit être prise en compte. De ce fait, des blancs laboratoires ont été réalisés, parallèlement au traitement des échantillons, afin d'estimer la contamination ambiante au moment de l'extraction et de l'analyse des échantillons correspondants. Les concentrations des composés dans les blancs sont exprimées soit en pg/m^3 , soit en $\text{pg}/\mu\text{g}$, selon la façon dont vont être exprimées les concentrations de composés dans les échantillons. Pour obtenir ces valeurs en $\text{pg}/\mu\text{g}$ ou en pg/m^3 , les quantités de COSV mesurés sont divisées par la quantité de particules moyenne obtenue, suivant les types de particules, ou le volume d'air moyen prélevé. Ces blancs correspondent à une pastille découpée dans un filtre non exposé, calciné de la même façon que les filtres échantillons et ayant été mis en dessiccation. Leur diamètre est le même que pour les échantillons, soit 2,4 cm, ils ont été découpés avec le même emporte-pièce que les pastilles d'échantillons avec particules. Pour les blancs correspondant au type $\text{PM}_{2.5}$ et PM_{10} , ces pastilles ont été découpées dans des filtres en fibres de quartz QMA, pour les blancs correspondant aux TSP, les pastilles ont été découpées dans des filtres en fibre de verre. A l'exception des blancs du prélèvement « Hiv2 », les pastilles de blanc analysées sont au moins au nombre de 2.

Pour les résultats des blancs, comme pour les échantillons, au moment de la quantification, les concentrations des composés mesurées dans les blancs sont retenues si elles ont un rapport signal/bruit supérieur à 3, et si elles sont au-dessus de la limite de détection fixée par la méthode du dopage vu précédemment.

Afin de tenir compte de ce paramètre dans les résultats finaux, une méthode précédemment publiée et décrite (Blanchard *et al.*, 2014) a été appliquée : si la concentration du composé étudié n'est pas au moins quatre fois supérieure à celle retrouvée dans le blanc correspondant, une soustraction de la concentration du blanc est réalisée. Si le composé a une concentration au moins quatre fois supérieure au blanc dans l'échantillon, aucune correction n'est réalisée.

Par la suite, chaque composé analysé dans les extraits particuliers a été comparé pour sa valeur de quantification à la limite de détection précédemment déterminée par la méthode du dopage et toutes les valeurs en dessous de cette limite ont été indiquées comme « <LD ». Pour les valeurs se situant entre la limite de détection et la limite de quantification (LQ), les valeurs ont été mises en italiques.

c. Evaluation de la performance analytique par comparaison avec des standards particuliers NIST

En plus du taux de recouvrement des composés calculé par la méthode du dopage, la méthode d'analyse chimique a aussi été testée avec la quantification de particules urbaines obtenues par le *National Institute of Standards & Technology* (NIST). Des particules dont les teneurs en plusieurs composés étudiés étaient connues, ont pu être quantifiées par la méthode utilisée dans cette étude. Ce procédé a permis d'évaluer un paramètre jusque-là inconnu sur notre méthode, l'effet matrice. En effet, la méthode du dopage vu précédemment, permet de vérifier la quantification réelle par rapport à une quantité de composé théorique. Néanmoins, ce procédé ne tient pas compte de l'effet matrice, ici les particules, pouvant influencer le processus de traitement et d'analyse chimique de nos échantillons. Plusieurs types de particules ont été testées sur notre méthode, des particules urbaines de types PM₁₀ (Fine Atmospheric Particulate Matter, Standard Reference Material® 2787) et des particules urbaines de type TSP (Urban Particulate Matter, Standard Reference Material® 1648a). Les teneurs des composés indiqués par le NIST sont issues d'une méthode de validation inter-laboratoire.

Pour faire ce test, les particules NIST de type PM₁₀ ont été déposées sur trois filtres en fibres de quartz QMA (type pièce), à une quantité d'environ 1 mg, et ont eu le même traitement que les échantillons de l'étude. Les particules NIST de type TSP ont été déposées sur une pièce de filtre en fibre de verre (afin de correspondre aux filtres utilisés dans ce doctorat pour les particules de type TSP), également à une quantité d'environ 1 mg et ont eu le même traitement et la même analyse que les échantillons TSP prélevés.

Les taux de recouvrement ont été déterminés comme acceptables lorsqu'ils se situent entre 50 et 150 %. En effet, dans le standard NIST donné, les différences entre laboratoires se situaient dans cette gamme de valeurs. De plus, les méthodes d'extraction ont été différentes de celles

présentées dans les standards NIST. Pour le standard NIST PM₁₀, les composés dont les valeurs sortent de cette gamme sont le fluorène, le benzo-k-fluoranthène et le PBDE-154 (Tableau 12). Le benzo-k-fluoranthène tend à être sous-estimé dans notre méthode, comme pour la méthode du dopage. Le fluorène et le PBDE-154 tendent eux à être sur-estimés.

Tableau 12 : Taux de recouvrement par la méthode multi-contaminants (en%) des composés quantifiés sur la matrice NIST PM₁₀ et TSP.

	<i>% recouvrement NIST PM₁₀</i>	<i>% recouvrement NIST TSP</i>	
<i>HAP</i>	Acenaphène	-	36
	Acenaphthylène	140	76
	Naphtalène	126	84
	Anthracène	111	77
	Fluorène	200	75
	Phenanthrène	122	111
	Fluoranthène	-	74
	Pyrène	-	123
	Benzo[a]anthracène	-	79
	Chrysène	-	38
	Benzo[a]pyrène	-	68
	Benzo[b]fluoranthène	124	111
	Benzo[k]fluoranthène	47	65
	Benzo[g,h,i]pérylène	93	102
	Dibenzo[a,h]anthracène	107	180
Indeno[1,2,3-cd]pyrène	76	106	
<i>BDE</i>	PBDE-47	63	-
	PBDE-100	90	-
	PBDE-153	103	-
	PBDE-154	213	-
<i>Pestic</i>	HCB		369
	Lindane		1044
	44'-DDE		204
	PCB-28		494
<i>PCB</i>	PCB-52		746
	PCB-101		435
	PCB-138		111
	PCB-153		132
	PCB-118		101
	PCB-180		77

Pour le standard de type TSP NIST, les valeurs sont sous-estimées pour l'acénaphène, cela est cohérent avec ce qui a été observé lors de la méthode de dopage. Et les valeurs sont surestimées pour l'HCB, le lindane, les PCB-28,-52 et -101.

III. Analyse biologique des extraits particuliers

Toutes les analyses biologiques ont été faites dans l'équipe PEPA de l'UMR ESE 8079, au sein du groupe Santé Publique Environnement basé à la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris-Saclay.

Le potentiel perturbateur endocrinien de type (anti)-oestrogénique et anti-androgénique des extraits particuliers a été évalué sur des tests cellulaires *in vitro*, ainsi que leur potentiel *dioxin-like*. Rappelons que les extraits particuliers analysés ici ont été préparés à partir des mêmes filtres chargés en particules atmosphériques qui ont été analysés chimiquement. Pour rappel, le protocole de préparation des extraits était commun pour les deux approches analytiques afin de pouvoir comparer et mettre en regard les teneurs des particules atmosphériques urbaines en COSV avec le potentiel d'activité biologique de leur contamination organique, selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et selon la saison (froide, chaude).

La seule différence quant à la préparation des extraits est que ceux dédiés à l'analyse biologique n'ont pas subi d'imprégnation par une solution d'étalons internes, utile uniquement pour la quantification en analyse chimique, et qui pourrait au contraire interférer sur les niveaux de réponse en analyse biologique. Les tests de transactivation cellulaire utilisés, ainsi que les conditions d'exposition aux extraits particuliers sont décrits ci-après. Les parties « mesure de la viabilité » et « mesure de l'activité transcriptionnelle » sont communes aux trois tests cellulaires utilisés : les cellules T47D-KBLuc (potentiel perturbateur oestrogénique), les cellules AIZ-AR (potentiel anti-androgénique) et les cellules AZ-AhR (potentiel *dioxin-like*).

1. Mesure du potentiel oestrogénique sur cellules T47D-KBLuc

a. Caractéristiques des cellules T47D-KBLuc

Les cellules T47D-KBLuc (ATCC®) sont des cellules cancéreuses du sein humain possédant les récepteurs nucléaires aux œstrogènes α et β (ER α et ER β). Elles sont transfectées de manière stable avec le gène rapporteur de la luciférase dont l'expression est sous contrôle d'un élément de réponse aux hormones telles que le 17 β -œstadiol, symbolisé E2 pour rappel. Ce test cellulaire permet donc de détecter les perturbations de l'activité transcriptionnelle des isoformes α et β du récepteur aux œstrogènes selon le principe d'un bio-essai de transactivation cellulaire décrit en Figure 27.

b. Conditions de culture des cellules T47D-KBLuc

Les cellules T47D-KBLuc sont cultivées dans du milieu RPMI-1640 (Gibco ATCC-30-2001) contenant 4,5 g/L de glucose, de la L-glutamine, 2,383 g/L d'Hepes, 110 mg/L de pyruvate de sodium et 1,5 g/L de bicarbonate de sodium. Dans ce milieu contenant du rouge de phénol, sont ajoutés 10 % de sérum fœtal bovin, 1 % de pénicilline/streptomycine et de l'insuline bovine (appelé milieu de culture complet). Elles sont cultivées dans un incubateur à 37 °C sous une atmosphère humide contenant 5 % de CO₂.

c. Conditions d'exposition des cellules T47D-KBLuc aux extraits particuliers

Pour mesurer les effets agonistes (potentiel œstrogénique) des extraits particuliers (ou des échantillons blancs correspondants) sur les cellules T47D-KBLuc, celles-ci ont été ensemencées dans des plaques de culture cellulaire de 96 puits à fond plat, à une densité de 1×10^4 cellules par puits dans du milieu de culture complet. Après leur adhésion durant 24 h dans l'incubateur, les cellules ont été exposées pendant 22 h dans du milieu de culture complet (contenant du sérum déprivé d'hormones (10 %) et dépourvu de rouge de phénol, composé ayant un effet potentiellement perturbateur endocrinien - appelé milieu blanc) à une gamme de dilutions d'extraits particuliers (ou des échantillons blancs correspondants), à raison de 4 répétitions de puits d'expérience par condition (Figure 28). Une gamme du ligand hormonal à ER de référence, l'agoniste E2, a été réalisée en parallèle pour chaque expérience. Jusqu'à trois répétitions d'expérience indépendantes ont été réalisées pour les extraits particuliers. Les extraits particuliers ont tous été testés à des dilutions non cytotoxiques, avec finalement une teneur maximale en DMSO de 0,1 % dans chaque puits de culture. Le pourcentage final de DMSO dans le puits de culture a cependant dû être doublé (jusqu'à 0,2 % en vérifiant sa non-cytotoxicité) pour des répétitions d'expériences (N=2 et N=3) pour certains échantillons nécessitant de tester les extraits à une concentration 2 fois plus importante afin d'obtenir une courbe dose-réponse complète. Pour chaque plaque de culture, des puits contrôles ont été effectués : les cellules ont été exposées à du milieu blanc seul (appelé « témoin cellules ») ou en présence d'une teneur maximale en DMSO (0,1 ou 0,2 %, appelé « témoin solvant » ou « témoin DMSO »). Les paramètres dose-réponse utilisés pour exploiter les résultats, dont la concentration efficace médiane EC50, c'est-à-dire la concentration qui induit 50 % de la réponse maximale, sont présentés dans le *Chapitre 4 - I. Potentiel œstrogénique des extraits de PM* et en Annexe 42, Annexe 43, Annexe 44. Le calcul des paramètres de la courbe pour chaque échantillon a été réalisé avec le logiciel GraphPad Prism.

Pour mesurer les effets hormono-compétitifs des extraits particuliers vis-à-vis de l'activité d'E2, les cellules T47D-KBLuc ont étéensemencées comme précédemment décrit. Après leur adhésion, les cellules ont été exposées pendant 22 h à chaque extrait particulière (à une dilution proche de sa valeur EC50), seul ou en co-exposition à E2 à la concentration 10^{-10} M (concentration saturante d'ER). L'objectif est d'étudier la compétitivité éventuelle des extraits de PM vis-à-vis d'une réponse maximale d'E2.

Afin d'appréhender la voie d'action cellulaire des extraits particuliers induisant un potentiel oestrogénique, les cellules T47D-KBLuc ont été exposées à chaque extrait de PM (à une dilution proche de l'EC50) seul ou en co-exposition à l'antagoniste compétitif de ce récepteur, l'ICI 182, 780, aussi appelé « Fulvestrant », à la concentration de 10^{-9} M.

2. Mesure du potentiel anti-androgénique sur cellules AIZ-AR

a. Caractéristiques des cellules AIZ-AR

Les cellules AIZ-AR (ABM©) sont des cellules cancéreuses épithéliales humaines issues d'un carcinome humain de la prostate possédant le récepteurs nucléaire aux androgènes (AR)(Bartonkova, Novotna et Dvorak, 2015). Elles sont transfectées de manière stable avec le gène rapporteur de la luciférase dont l'expression est sous contrôle d'un élément de réponse aux androgènes telles que la dihydrotestostérone, symbolisée DHT pour rappel. Ce test cellulaire permet de détecter les perturbations de l'activité transcriptionnelle du récepteur aux androgènes selon le principe d'un bio-essai de transactivation cellulaire. La Figure 27 illustre le mécanisme de ce test cellulaire.

b. Conditions de culture des cellules AIZ-AR

Les cellules AIZ-AR sont cultivées dans du milieu RPMI-1640 (Dutscher L0498-500) contenant 2 g/L de glucose, de la L-glutamine, 2 g/L de bicarbonate de sodium, sans sodium pyruvate. Dans ce milieu contenant du rouge de phénol, sont ajoutés 10 % de sérum fœtal bovin, 1 % de pénicilline/streptomycine. Elles sont cultivées dans un incubateur à 37 °C sous une atmosphère humide contenant 5 % de CO₂.

c. Conditions d'exposition des cellules AIZ-AR aux extraits particuliers

Comme les cellules T47D-KBLuc, les cellules AIZ-AR ont étéensemencées dans des plaques de culture cellulaire de 96 puits à fond plat, mais à une densité de 2×10^4 cellules par puits dans du milieu de culture complet. Après leur adhésion durant 24 h dans l'incubateur, les cellules ont été exposées pendant 22 h dans du milieu de culture complet blanc à une gamme de dilutions d'extraits particuliers (ou des échantillons blancs correspondant), à raison de 4 répétitions de

puits d'expérience par condition (Figure 28). Les extraits particuliers ont tous été testés à des dilutions non cytotoxiques, avec une teneur maximale en DMSO de 0,1 % à 0,2% (en vérifiant la non cytotoxicité). Comme pour les cellules T47D-KBLuc, pour chaque plaque de culture, des puits contrôles ont été effectués : « témoin cellules » et « témoin DMSO ». Les paramètres de la courbe pour chaque échantillon ont été calculés avec le logiciel GraphPad Prism. Dans le cas ici du test d'un effet anti-androgénique, les gammes de concentrations d'échantillons ont été réalisées en présence de DHT dans le milieu à une concentration saturante des récepteur AR (3×10^{-10} M). L'objectif est d'observer si les échantillons testés à des concentrations croissantes, induisent une chute de l'effet de la DHT. Dans ce test, le composé de référence utilisé est la flutamide, composé antagoniste du récepteur AR.

3. Mesure du potentiel dioxin-like sur cellules AZ-AhR

a. Caractéristiques des cellules AZ-AhR

Les cellules AZ-AhR (ABM ©) sont des cellules cancéreuses issues d'une tumeur hépatique possédant le récepteur aryl aux hydrocarbonés (AhR). Elles sont transfectées de manière stable avec le gène rapporteur de la luciférase dont l'expression est sous contrôle de l'induction dose-dépendante de divers ligands aux AhR. Le composé de référence est la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD, dioxine de Seveso). Ce test cellulaire permet donc de détecter les perturbations de l'activité transcriptionnelle du récepteur AhR. Le principe est le même que les tests de mesure des potentiels œstrogénique et anti-androgénique vu en Figure 27.

b. Conditions de culture des cellules AZ-AhR

Les cellules AZ-AhR sont cultivées dans du milieu DMEM (Dutscher L0103-500) contenant 4,5 g/L de glucose, de la L-glutamine, du pyruvate de sodium et 3,7 g/L de bicarbonate de sodium. Dans ce milieu contenant du rouge de phénol, sont ajoutés 10 % de sérum fœtal bovin, et 1 % de pénicilline/streptomycine. Elles sont cultivées dans un incubateur à 37 °C sous une atmosphère humide contenant 5 % de CO₂.

c. Conditions d'exposition des cellules AZ-AhR aux extraits particuliers

Les cellules AZ-AhR ont étéensemencées dans des plaques de culture cellulaire de 96 puits à fond plat, à une densité de 2×10^4 cellules par puits dans du milieu de culture complet. Après leur adhésion durant 24 h dans l'incubateur, les cellules ont été exposées pendant 22 h dans du milieu de culture complet blanc à une gamme de dilutions d'extraits particuliers (ou des échantillons blancs correspondant), à raison de 4 répétitions de puits d'expérience par condition

(Figure 28). Les extraits particuliers ont tous été testés à des dilutions non cytotoxiques, avec une teneur maximale en DMSO de 0,1 % à 0,2%, selon les concentrations d'exposition des extraits de particules nécessaires pour obtenir une courbe dose-réponse complète (en vérifiant la non-cytotoxicité). Des puits contrôles ont été effectués : « témoin cellules » et « témoin DMSO ». Les paramètres de la courbe pour chaque échantillon ont été calculés avec le logiciel GraphPad Prism. A chaque exposition des cellules aux extraits particuliers, une gamme du composé de référence, la TCDD, a été réalisée en parallèle.

4. Mesure de la viabilité cellulaire

Pour contrôler la non cytotoxicité des extraits particuliers, la viabilité cellulaire a été mesurée pour chaque condition testée à l'aide d'un test au bleu Alamar (Nakayama *et al.*, 1997), le nombre de cellules vivantes est considéré comme proportionnel à la fluorescence émise par la résorufine rose issue de la réduction de résazurine bleue par l'activité métabolique cellulaire. Après 20 h d'exposition, le milieu de culture est remplacé par 100 μ L d'une solution de Bleu Alamar à 1 μ M dissous dans du milieu de culture cellulaire. L'activité métabolique est mesurée par fluorescence à $t(0)$ (longueur d'onde d'excitation de 530 nm et longueur d'onde d'émission de 590 nm) à l'aide d'un fluorimètre (Fluostar Optima de BMG Labtech), avant que les plaques soient replacées à l'incubateur à 37 °C. Après 2 h d'incubation supplémentaire, l'activité métabolique est à nouveau mesurée à $t(2)$ par fluorescence dans les mêmes conditions que pour le $t(1)$. Chaque valeur obtenue à $t(0)$ a été soustraite à celle obtenue à $t(2)$. Ces valeurs de fluorescence ainsi corrigées pour chaque condition testée ont été comparées avec celles du témoin DMSO, considéré comme le 100 % de viabilité cellulaire, correspondant à activité métabolique intacte. Pour chaque expérience, la saponine (à 1 %) a été utilisée comme témoin positif de toxicité cellulaire. Les résultats ont d'abord été exprimés en unités de fluorescence relative au témoin DMSO, puis en pourcentage de viabilité par rapport à ce témoin solvant (viabilité 100 %). La non cytotoxicité de chaque condition a été vérifiée par comparaison avec le témoin solvant correspondant (0,1 ou 0,2 % de DMSO) par un test de t de Student. En cas de différence significative, les niveaux d'activité transcriptionnelle n'étaient alors pas considérés comme recevables, sauf en cas de viabilité supérieure à 100 % observée pour certaines conditions pouvant induire une prolifération cellulaire.

5. Mesure de l'activité transcriptionnelle

Une fois la viabilité mesurée, l'activité transcriptionnelle induite suite à l'exposition cellulaire aux extraits particuliers ou aux ligands de référence a été mesurée, d'après le principe d'un bio-essai de transactivation cellulaire (Figure 27).

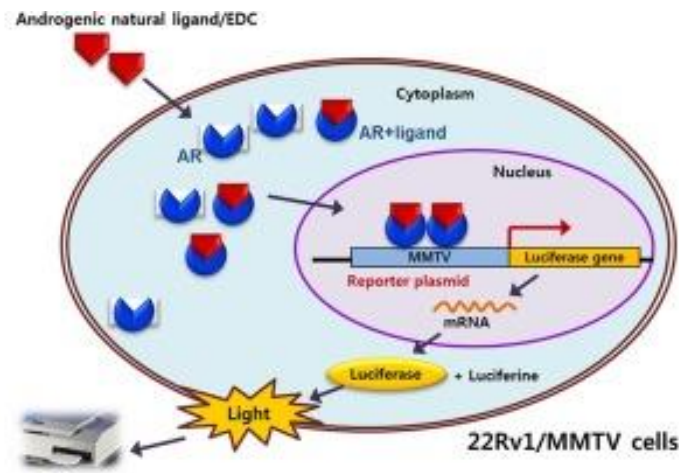


Figure 27 : Exemple d'un mécanisme de transactivation cellulaire pour le récepteur aux androgènes (AR) (S Sun *et al.*, 2016).

En résumé, la luciférase synthétisée est le reflet de l'activité transcriptionnelle hormono-dépendante. Cette protéine a été mesurée par luminescence à l'aide d'un kit de test du gène rapporteur de la luciférase selon le protocole du fabricant (kit Luciférase Roche RGA high sensitivity). Après lyse cellulaire, la plaque de culture est insérée dans un luminomètre (Centro LB 960, Berthold) où 50 μ L de luciférine sont injectés par puits. L'activité transcriptionnelle est considérée comme proportionnelle à l'intensité de luminescence émise.

a. Choix de la méthode d'exploitation des données d'activité transcriptionnelle

En raison de la grande variabilité des méthodes d'exploitation des valeurs d'activité transcriptionnelle retrouvée dans la littérature, il a été décidé d'effectuer au préalable une comparaison des principales méthodes existantes, afin de déterminer laquelle était la plus adaptée à nos données. Ce travail a été fait en collaboration avec Léa Lefebvre, dans le cadre d'un stage de 5^{ème} année de pharmacie.

Cette optimisation s'est basée sur les recommandations issues de l'essai 455 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE, 2012). Elle a été mise en œuvre pour les mesures d'activité œstrogénique sur cellules T47D-KBLuc, avant d'être appliquée aux deux autres modèles cellulaires, AIZ-AR et AR-AhR.

EXPRESSION DES DONNEES D'ACTIVITE TRANSCRIPTIONNELLE

La valeur brute de l'activité transcriptionnelle correspond à une unité de luminescence. Chaque activité est exprimée en unité de luminescence relative à un témoin négatif (RLU, *Relative Luminescence Unit*) en étant pondérée par la valeur brute moyenne correspondant aux 4 puits (quadruplas), soit du témoin solvant (DMSO), soit du témoin cellules. Afin d'écarter toute valeur aberrante entre les quadruplas réalisés pour chaque condition testée, le test de Dixon a été appliqué. Ce test permet de déterminer si les valeurs extrêmes sont aberrantes.

Plusieurs témoins DMSO ont été placés sur chaque plaque de culture, en début, fin et parfois au milieu, comme le montre l'exemple suivant de plan de plaques pour une expérience donnée (Figure 28).

		PLAN DE PLAQUE											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PM10 PM2,5	A	Cellules				DMSO				P4 Blc PM2,5 0,898µg			
	B	P4 Blc PM2,5 1,797µg				P4 Blc PM2,5 3,594µg				P4 Blc PM2,5 7,187µg			
	C	P4 Blc PM2,5 14,375µg				P4 PM2,5 0,898µg				P4 PM2,5 1,797µg			
	D	P4 PM2,5 3,594µg				P4 PM2,5 7,187µg				P4 PM2,5 14,375µg			
	E	P3 Blc PM10 3,125µg				P3 Blc PM10 6,25µg				P3 Blc PM10 12,5µg			
	F	P3 Blc PM10 25µg				P3 Blc PM10 50µg				P3 PM10 3,125µg			
	G	P3 PM10 6,25µg				P3 PM10 12,5µg				P3 PM10 25µg			
	H	P3 PM10 50µg				DMSO				Saponine			
PMtot	A	Cellules				DMSO				P3 Blc PMtot 3,125µg			
	B	P3 Blc PMtot 6,25µg				P3 Blc PMtot 12,5µg				P3 Blc PMtot 25µg			
	C	P3 Blc PMtot 50µg				P3 PMtot 3,125µg				P3 PMtot 6,25µg			
	D	P3 PMtot 12,5µg				P3 PMtot 25µg				P3 PMtot 50µg			
	E	P4 Blc PMtot 3,125µg				P4 Blc PMtot 6,25µg				P4 Blc PMtot 12,5µg			
	F	P4 Blc PMtot 25µg				P4 Blc PMtot 50µg				P4 PMtot 3,125µg			
	G	P4 PMtot 6,25µg				P4 PMtot 12,5µg				P4 PMtot 25µg			
	H	P4 PMtot 50µg				DMSO				Saponine			
Gamme	A												
	B	Cellules				DMSO gamme				1E-15			
	C	1E-14				3E-14				1E-13			
	D	3E-13				1E-12				3E-12			
	E	1E-11				3E-11				1E-10			
	F	Saponine											
	G	DMSO plein P13 P1/P2				DMSO vide P13 P1/P2				Cellules			
	H	cellules				DMSO plein P13 P1/P2				DMSO vide P13 P1/P2			

Figure 28 : Exemple d'un plan de plaque 96 puits.

Pour exprimer les résultats en RLU, il existe plusieurs méthodes de pondération des témoins négatifs. Dans certaines études, les résultats sont exprimés par rapport au DMSO, en divisant ou soustrayant celui-ci aux données (Alvarez *et al.*, 2013 ; Conley *et al.*, 2016). D'autres études expriment leurs résultats par rapport au témoin cellules, et, souvent, les résultats sont exprimés en fonction de la gamme d'E2 (Conley *et al.*, 2017). C'est une pondération par rapport à la valeur brute moyenne correspondant aux quadruplas de la valeur maximale plateau de la gamme d'E2 (valeur TOP).

Dans l'essai N°455, *Ligne directrice axée sur la performance pour les essais in vitro de transactivation par transfection stable visant la détection des substances agonistes et antagonistes des récepteurs des œstrogènes* (OCDE, 2012), il est conseillé de normaliser les données brutes par la soustraction du véhicule témoin et d'exprimer les résultats en % d'E2, même s'il y est spécifié que d'autres traitements mathématiques équivalents sont aussi acceptables. En accord avec la ligne directrice et en utilisant nos données expérimentales, nous avons conclu que la méthode de correction des données brutes entraînant le moins d'incertitude est la correction par soustraction, pour chaque puits d'expérience, de la moyenne du témoin solvant rapporté en pourcentage par rapport à l'activité maximale du standard hormonal calculée pour chaque essai. Il s'agit donc d'une pondération des valeurs brutes de luminescence en RLU par soustraction du témoin solvant (notée RLU-DMSO), pour ensuite être exprimé en % d'E2.

En ce qui concerne l'expression des données en % d'E2, c'est la gamme d'E2 correspondant à chaque essai qui est utilisée, les paramètres de celle-ci pouvant varier d'un essai à l'autre. Dans l'essai de l'OCDE N°455, il est préconisé de calculer la moyenne des valeurs correspondant à la concentration d'E2 ayant le maximum d'effet afin d'utiliser cette valeur pour exprimer les résultats en % d'E2. Le paramètre sigmoïdal (TOP) obtenu à partir de la régression non linéaire de l'équation de Hill a été ici choisi comme valeur correspondant à l'effet maximal d'E2. En effet, comme les paramètres de toute courbe dose-réponse seront obtenus grâce à cette régression non linéaire de Hill, il est donc pertinent que le TOP soit aussi calculé de cette façon. Cette méthode a de plus l'avantage de tenir compte de la variation d'une expérience à l'autre de la concentration d'E2 entraînant l'activité œstrogénique maximale.

Paramètres de régression non linéaire de Hill

Les paramètres des sigmoïdes dose-réponse ont donc été obtenus à partir de la régression non linéaire de Hill à l'aide du logiciel GraphPad Prism. Les paramètres clés sont les valeurs correspondant au TOP, Bottom, à la pente (HillSlope) et à l'EC50 ; ils sont présentés en Figure 29. L'EC50 est la concentration efficace médiane, c'est la concentration qui induit 50 % de l'effet maximum. Le TOP correspond à l'effet maximum tandis que le Bottom correspond à l'effet minimum. La HillSlope est la pente de la courbe dose-réponse.

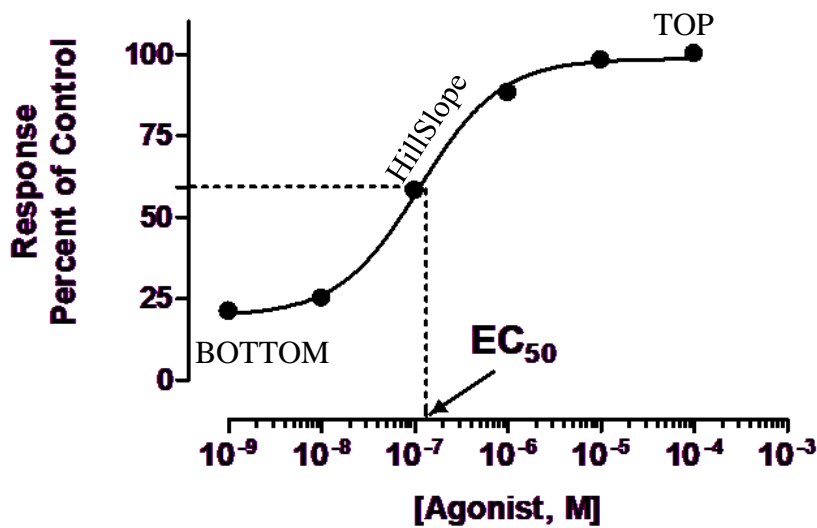


Figure 29 : Paramètres de régression non linéaire de Hill considérés pour la sigmoïde dose-réponse d'un composé agoniste (GraphPad Prism).

Le calcul de l'EC50 n'est possible que sur une courbe dose-réponse complète, ou sur son estimation par le logiciel Graphpad Prism si suffisamment de points de gamme sont disponibles pour modéliser la relation dose-réponse.

Si l'équation logistique de Hill est applicable aux données dose-réponse, l'EC50 est calculée par l'Équation 1 :

$$Y = Bottom + \frac{Top - Bottom}{1 + 10^{(logEC50 - X) \times HillSlope}}$$

Où : X est le logarithme de la concentration d'extraits particuliers (ici en µg de particules)

Y est la réponse (en % du composé de référence), mesurée entre la base et le sommet de la courbe sigmoïde.

Il a été choisi d'appliquer une fonction logistique à 4 paramètres (TOP, Bottom, EC50 et la pente *HillSlope*) parmi les nombreuses fonctions disponibles (Scholze *et al.*, 2001). Celle-ci est décrite juste après.

QUANTIFICATION DES ACTIVITES TRANSCRIPTIONNELLES EN EQUIVALENTS HORMONAUX (EEQ)

Les activités transcriptionnelles sont *in fine* quantifiées en équivalents hormonaux. Les dénominations des bio-équivalents par rapport à l'activité d'E2 diffèrent d'une étude à l'autre. On peut trouver E2-eq (Vandermarken *et al.*, 2019), EQ-E2 (Pesci Pereira *et al.*, 2018), EEQ (Ting *et al.*, 2017) et bien d'autres. Nous avons choisi la nomenclature de Wagner *et al.* (2013) pour dénommer l'équivalent œstradiol, EEQ. Les trois types de méthode permettant d'exprimer l'activité œstrogénique en EEQ selon Wagner *et al.* (2013), sont présentés ci-après : le modèle linéaire, le modèle non linéaire et le modèle ECx.

CALCUL D'EEQ SELON LE MODELE LINEAIRE

Pour le modèle linéaire, la plage linéaire de la courbe dose-réponse est estimée pour effectuer une régression linéaire sur cette partie. Les bio-équivalents de l'échantillon d'intérêt sont interpolés à partir de cette zone de données d'activité. L'ajustement d'une régression linéaire le long d'une courbe sigmoïde contredit la nature non linéaire des relations dose-réponse observées dans les essais biologiques. Considérant les incertitudes liées à cette méthode, il a été choisi de ne pas la retenir.

CALCUL D'EEQ SELON LE MODELE NON-LINEAIRE

Pour l'interpolation non linéaire, l'effet du composé de référence est tracé en fonction de sa concentration sur une échelle logarithmique. La fonction logistique à quatre paramètres est utilisée. La régression non linéaire estime les meilleures valeurs d'ajustement pour les effets minimum et maximum, la concentration effective médiane (EC50) et la pente. Afin d'interpoler les EEQ, la fonction logistique est inversée et les paramètres de la courbe de meilleur ajustement du composé de référence sont insérés dans l'Équation 2. Ainsi, les concentrations d'EEQ (X) peuvent être dérivées d'après l'Équation 2.

$$\text{Équation 2}$$

$$X = 10^{\log EC50 - \frac{\log\left(\frac{Top-Y}{Y-Bottom}\right)}{HillSlope}}$$

Le modèle non linéaire extrapole donc les EEQ en reportant chaque valeur expérimentale mesurée sur la courbe dose-réponse de l'E2, en utilisant l'équation de régression non linéaire de Hill. Ce modèle repose donc sur la prise en compte de valeurs ponctuelles de l'échantillon

et non de l'ensemble de la relation dose-réponse. Selon Wagner *et al.* (2013), une estimation ponctuelle ne peut pas être extrapolée avec certitude, en effet, elle reflète exclusivement la quantité d'échantillon analysée dans l'essai biologique. Elle pourrait résulter d'un artefact de mesure. Cependant, cette méthode peut être intéressante lorsqu'il est impossible d'obtenir ou d'extrapoler une courbe dose-réponse complète. Des courbes dose-réponse complètes ont été obtenues pour beaucoup d'extraits particuliers, sur une plage de concentrations testées plus ou moins large selon les répétitions d'expérience. Celles-ci ont permis de fournir une estimation de l'incertitude des EEQ extrapolés par le modèle non linéaire. Un ensemble de valeurs d'EEQ a ainsi pu être généré, appelée plage d'EEQ. L'étendue de la plage d'EEQ est conditionnée par le parallélisme entre la courbe du composé de référence (E2) et la courbe de l'échantillon testé : un faible écart entre les EEQ minimums et maximums indique que l'on est proche du parallélisme d'après Wagner *et al.* (2013). Cette notion de parallélisme est illustrée Figure 31.

CALCUL D'EEQ SELON LE MODELE ECX

Le modèle ECx est basé sur le concept de puissance relative par rapport à E2 (*Relative Estrogenic Potency*, REP). Les REP sont utilisés pour comparer l'activité d'une molécule (ou d'un mélange de molécules) avec l'activité d'un composé de référence dans un essai biologique. Chaque substance possède une valeur REP spécifique pour chaque type de bio-essai cellulaire. Dans le cas de mélanges de molécules (ex. les extraits de PM), le REP correspond au rapport entre les doses efficaces égales d'un composé de référence (ici EC50 E2) et celles de la substance (EC50 substance) ou mélange de substances (EC50 échantillon). Ce modèle ne repose pas sur des estimations ponctuelles pour calculer les EEQ, comme le modèle non linéaire, mais considère plus le niveau d'effet de l'échantillon. Il est basé sur un plan d'expérience qui donne la relation dose-réponse complète de l'échantillon. Selon le modèle ECx, l'EEQ se calcule selon l'Équation 3.

$$\text{EEQ} = \frac{\text{Équation 3} \quad EC50 \text{ E2}}{EC50 \text{ échantillon}}$$

Généralement, une seule valeur d'ECx est considérée, l'EC50 dans la plupart des cas. Cette exploitation reste valable tant que les pentes des courbes dose-réponse entre l'échantillon et le composé de référence sont les mêmes. Mais, dans le cas de courbes dose-réponse non parallèles entre l'échantillon et l'E2, la relation entre les deux décrite à l'EC50 (rapport d'ECx) serait différente de celle considérée à une autre valeur ECx, même si celle-ci est comprise dans la

zone de linéarité de l'échantillon ou d'E2. Une estimation ponctuelle unique des EEQ à l'EC50 peut donc conduire à des interprétations trompeuses et inexactes.

Ainsi, les estimations à partir d'une seule valeur d'ECx d'un composé ou d'un échantillon par rapport à un composé de référence (E2) peuvent être discutables si les courbes dose-réponse comparées ne sont pas statistiquement parallèles (Villeneuve, Blankenship et Giesy, 2000). La Figure 30 illustre la situation idéale pour le calcul de l'ECx : la courbe de l'échantillon et la courbe du composé de référence sont parallèles. Les deux courbes possèdent les mêmes TOP, Bottom, et surtout la même pente HillSlope.

Villeneuve *et al.* (2000) présentent une alternative à ce modèle ECx. Ils proposent une

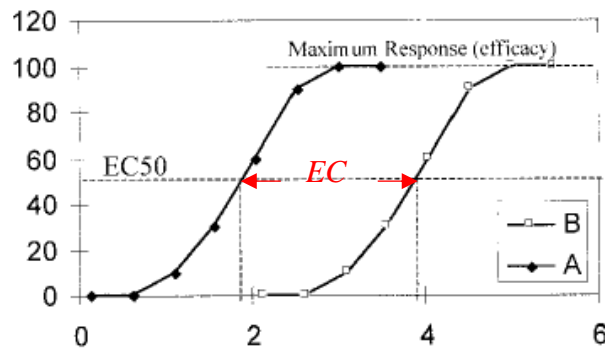


Figure 30 : Illustration de la situation idéale pour le calcul d'EEQ selon le modèle ECx : parallélisme entre la courbe de l'échantillon (B) et la courbe du composé de référence (A) (Villeneuve *et al.*, 2000).

estimation des puissances relatives basée sur les EC20 (REP20), EC50 (REP50) et EC80 (REP80). Une plage d'EEQ est ainsi calculée en se plaçant à 3 valeurs d'ECx, l'EC20, EC50 et EC80, ce qui permet de réduire l'incertitude liée à l'estimation ponctuelle unique basée sur l'EC50. Pour les échantillons dont la courbe dose-réponse n'est pas complète, il peut arriver que l'EC50 ou l'EC80 tombent en dehors de la courbe expérimentale ; il est donc parfois nécessaire d'extrapoler au-delà de la plage de réponse connue afin de calculer une plage EEQ20-80. Nous avons donc choisi de suivre cette plage EEQ20-80, en considérant non seulement l'EEQ calculée à l'EC20 et à l'EC80, mais aussi celle à l'EC50.

COMPARAISON DES MODELES NON-LINEAIRE ET ECX POUR LE CALCUL D'EEQ

Pour comparer les deux modèles, non linéaire et ECx, nous avons pris les valeurs s'étalant de MIN/MAX de la plage d'EEQ calculée avec la méthode non linéaire et la plage d'EEQ20-80 calculée avec le modèle ECx. Rappelons que le modèle non linéaire prend en compte uniquement les points expérimentaux (correspondant aux dilutions d'extraits de PM testées), mais pas les points théoriques extrapolables par régression de Hill, alors que le modèle ECx intègre les points modélisés par régression à partir des points expérimentaux. La plage d'EEQ EC20/EC50/EC80 calculée avec la méthode ECx peut être relativement étendue, 2 à 3 fois plus que la plage d'EEQ MIN/MAX calculée avec le modèle non linéaire (données non montrées) ; cela peut s'expliquer par le fait que la plage calculée avec le modèle ECx prend en compte des points de sigmoïde extrapolés par régression non linéaire de Hill à partir de courbes souvent incomplètes. Afin d'aller plus loin dans la comparaison des méthodes, la plage d'EEQ20-80 a été estimée avec la méthode non linéaire, en calculant l'EEQ pour les concentrations théoriques EC20, EC80, mais aussi EC50, extrapolées par régression de Hill sur les points expérimentaux pour chaque extrait de PM.

Il ressort que les deux modèles, non linéaire et ECx, ne donnent pas les mêmes valeurs d'EEQ. Le modèle ECx donne des valeurs d'EEQ 2 à 3 fois plus élevées que le modèle non linéaire. Pour l'EC20, nous avons le moins de différences entre les deux modèles. Les mêmes niveaux de différences d'EEQ entre les deux approches a été aussi faite par Wagner et al. (2013). L'hypothèse fondamentale de l'équivalence des effets est qu'une dilution d'un échantillon se comporte comme une série de dilutions du composé de référence. Ainsi, le parallélisme des courbes dose-réponse de l'échantillon et du composé de référence est donc une condition préalable aux calculs des EEQ avec la méthode ECx, comme déjà évoqué (Figure 31).

Mais le parallélisme est rarement atteint avec des échantillons complexes (c'est-à-dire des mélanges, des échantillons environnementaux), et même avec des échantillons simples (Villeneuve, Blankenship et Giesy, 2000). L'estimation des EEQ avec la méthode ECx présente donc une limitation majeure : en se basant uniquement sur une estimation ponctuelle des valeurs ECx, l'effet maximum de l'échantillon et la pente de la courbe dose-réponse sont négligés. Un manque de parallélisme entraîne une mauvaise estimation des EEQ. La plage d'EEQ20-80 calculée avec la méthode ECx permet néanmoins de réduire l'incertitude liée à cette estimation ponctuelle lorsque les courbes ne sont pas parallèles.

METHODE CHOISIE POUR LE CALCUL D'EEQ

Pour quantifier les activités transcriptionnelles (exprimées en % d'E2) en EEQ, il a été choisi d'appliquer le modèle non-linéaire, qui globalement présente un risque moindre de surestimation des EEQ, d'après nos observations et en accord avec la littérature.

En résumé, les données d'analyse biologique ont été exploitées de la façon suivante pour les tests cellulaires, T47D-KBLuc et AZ-AhR : une expression de chaque activité transcriptionnelle rapportée en % de l'activité plateau TOP du composé de référence (respectivement en % d'E2 et en % de TCDD) à partir de valeurs RLU calculées en soustrayant la valeur brute moyenne du contrôle solvant (DMSO) de chaque valeur brute de luminescence ; une quantification de ces activités transcriptionnelles en bio-équivalents calculés par rapport aux courbes dose-réponse des composés de référence (respectivement EEQ, et l'équivalent toxique TEQ par rapport à la dioxine) en considérant les valeurs moyennes de la plage MIN/MAX du modèle non linéaire de quantification. Les bio-équivalents calculés seront appelés par la suite EEQbio et TEQbio, respectivement pour les potentiels œstrogénique et *dioxin-like*.

b. Calcul de bio-équivalents à partir des données d'analyse chimique

Afin d'évaluer dans quelle mesure les COSV quantifiés dans les extraits de PM peuvent contribuer au potentiel œstrogénique, anti-androgénique ou *dioxin-like* de ces extraits, des valeurs de bio-équivalents ont été estimés à partir des données d'analyse chimique, en considérant l'ensemble des REP relatifs aux composés de référence (E2, flutamide ou dioxine) pour les COSV d'intérêt quantifiés, pondérés de leur concentration dans l'extrait particulaire.

En prenant l'exemple du potentiel œstrogénique des extraits particuliers, afin d'estimer la contribution éventuelle de COSV analysés dans les activités EEQ quantifiées, des EEQchim ont été estimés à partir des REP relatifs à E2 (E2-REP) connus pour chaque composé quantifié, pondérés de leur concentration dans l'extrait.

Les EEQchim ont été calculés selon l'Équation 4 :

$$\text{Équation 4} \\ EEQ_{chim} = \sum E2 REP_i \times C_i \times \frac{MW_{rc}}{MW_i}$$

où pour un composé *i*, *C_i* est la concentration mesurée, E2-REPi est la puissance relative par rapport à E2 (EC50E2/EC50i), notée « AC50 » dans la base de données ToxCast de

l'*Environmental Protection Agency* (EPA), MW (molecular weight) est la masse molaire et rc correspond au composé de référence (E2 ici).

Les EEQchim ont ainsi été calculés selon l'approche d'addition de la concentration pour considérer la toxicité du mélange. Les COSV quantifiés dans les extraits de PM peuvent présenter des interactions d'effet de type additif, synergique ou antagoniste. Cet effet cocktail peut non seulement se produire entre les COSV recherchés, mais aussi avec l'ensemble des contaminants organiques présents dans les extraits particulaires. L'hypothèse par défaut est donc de considérer une simple additivité d'effet entre les composés considérés dans le calcul d'EEQchim. L'objectif *in fine* est de comparer entre elles les valeurs d'EEQ et d'EEQchim, le rapport EEQchim/EEQ permettant d'avoir une estimation de la proportion de composés cibles à effet œstrogénique contribuant au potentiel œstrogénique global d'un extrait particulaire donné.

Cette comparaison entre potentiel biologique mesuré par des bio-essais *in vitro* et potentiel biologique estimé à partir de données de contamination chimique est une approche qui reste complémentaire des deux autres approches de la caractérisation de la contamination particulaire : l'analyse chimique, de composés ciblés à défaut de pouvoir être exhaustive, et l'analyse biologique, qui permet d'intégrer les potentiels effets cocktail mais qui ne renseigne pas sur les composés impliqués dans l'effet observé.

Pour tous les COSV ciblés, leurs valeurs REP pour chaque type d'effet (œstrogénique, anti-androgénique ou *dioxin-like*) ont été recherchées dans la base de données ToxCast de l'US-EPA. Les données de bioactivité d'une large gamme de molécules peuvent y être consultées, comme celles issues d'essais de transactivation *in vitro*. Il a été choisi de considérer les valeurs de la base de données pour les tests cellulaires de transactivation au gène rapporteur à la luciférase, les plus proches de ceux réalisés dans cette étude : sur les cellules de type VM-7 pour l'effet œstrogénique, MDA-kb2 pour l'effet anti-androgénique et CALUX-AhR pour l'effet *dioxin-like*.

Le détail des extractions de données sélectionnées selon les types cellulaires dans la base ToxCast est présenté en Annexe 13, Annexe 14 et Annexe 15.

CHAPITRE 3 - DETERMINATION DES TENEURS EN COSV DANS LES PARTICULES

Les prélèvements de particules se sont déroulés sur deux saisons, en période froide et chaude. Ceux de la saison froide ont eu lieu du 29/01/2019 au 11/03/2019 et ceux de la saison chaude ont eu lieu du 04/06/2019 au 15/07/2019 (Tableau 8). Les prélèvements de particules ont eu lieu sur les trois sites, les détails des sites sont décrits précédemment (*Chapitre 2 – Matériel et méthode, I.*). Les caractéristiques climatiques et concentrations en particules moyennes sont détaillées dans le Tableau 13. En saison froide, les conditions climatiques moyennes étaient de 14,1°C pour la température de l'air et 2,2 mm pour les précipitations. En saison chaude, ces valeurs étaient respectivement de 27,6°C et 1,2 mm. Ainsi seule la température a changé entre les deux périodes, de près d'un facteur 2.

Concernant les particules, les concentrations dans l'air en PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP sont respectivement de 13,2, 30,6 et 35,4 µg/m³ en saison froide et de 14,9, 19,4 et 25,3 µg/m³ en saison chaude, en moyenne pour les prélèvements sur les trois sites. En moyenne, on estime que, sur les périodes de prélèvement, les PM_{2,5} représenterait environ 43% des PM₁₀ et 37% des TSP en hiver et respectivement, 77% et 59% en été. Ainsi, en saison chaude les PM_{2,5} représentent la fraction majoritaire des particules. Quant au pourcentage des PM₁₀ dans les TSP il est estimé à 86% en hiver et 77 % en été. Les détails des analyses chimiques réalisées sont présentés pour les TSP de l'Annexe 16 à Annexe 25, pour les PM₁₀ de l'Annexe 26 à Annexe 30 et pour les PM_{2,5} de l'Annexe 31 à l'Annexe 35.

Tableau 13 : Caractéristiques climatiques et concentrations en particules dans l'air moyennes des deux périodes étudiées (saison chaude et froide).

Paramètres (en moyenne sur les 3 sites)	Chaude	Froide
Pression (hPa)^a	944,8	934,5
Température (°C)^a	27,6	14,1
Vent maximal (km/h)^b	22,3	23,5
Précipitations totales (mm)^b	1,2	2,2
Teneurs en PM_{2,5} (µg/m³)^c	13,2	14,9
Teneurs en PM₁₀ (µg/m³)^c	30,6	19,4
Teneurs en TSP (µg/m³)^c	35,4	25,3

^a Mesures Digital DH-77, ^b Mesures Météo-France Montsouris, ^c Calcul gravimétrique

Les résultats des analyses de COSV sont présentés en pg/µg de particules extraites dans un premier temps. Ce choix a été motivé pour effectuer une comparaison massique des fractions granulométriques étudiées, afin de comprendre si pour la même quantité de particules extraites, une différence de contamination chimique existe entre les particules, selon la fraction étudiée. Puis les résultats ont été exprimés en pg/m³ afin de prendre en compte les différences de concentrations en particules dans l'air et de comparer les résultats avec la littérature.

Les résultats de quantification des différents composés sont aussi présentés par famille de composés : Σ **Phtalates** regroupe les congénères DnOP, DMP, BBP, DiBP, DnBP, DEHP, DEP ; Σ **HAP** regroupe la Σ **HAP légers** (Naphtalène, Acenaphtène, Acenaphtylène, Anthracène, Phenanthrène, Fluorène) et la Σ **HAP lourds** (Pyrène, Indeno[1,2,3-cd]pyrène, Fluoranthène, Dibenzo[a,h]anthracène, Benzo[b]fluoranthène, Benzo[a]anthracène, Benzo[a]pyrène, Benzo[b]fluoranthène, Benzo[g,h,i]pérylène, Benzo[k]fluoranthène, Chrysène). Σ **PCB** regroupe les PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153, PCB-180. Σ **PBDE** regroupe les congénères PBDE-28, PBDE-47, PBDE-99, PBDE-100, PBDE-153, PBDE-154. Σ **Pesticides** regroupe le PeCB, l’HCB, le lindane, le 4,4’-DDE, la bifenthrine, la perméthrine, la phénothrine, la cyfluthrine, la cyperméthrine, le fenvalérate, la deltaméthrine. Σ **AP/APEO** regroupe l’octylphénol, le nonylphénol, l’octylphénol monoéthoxylate, l’octylphénol diéthoxylate, le nonylphénol monoéthoxylate, le nonylphénol diéthoxylate. Et enfin, Σ **parabènes** regroupe le méthylparabène, l’éthylparabène, le propylparabène, le butylparabène.

Comme précisé dans le Chapitre 2 - Matériel et méthode (3. *Expression et traitement des résultats obtenus par l’analyse chimique*), seuls les résultats supérieurs à la LD ont été retenus.

I. Contamination globale des particules

La contamination globale des particules correspond à la somme des teneurs de tous les COSV recherchés. Elle a été caractérisée pour chaque type particulaire en pg/ μ g de particules pour la saison froide, et pour la saison chaude. Elle varie de 44 pg/ μ g à 8786 pg/ μ g quel que soit la saison et le type de particule (Tableau 14).

Tableau 14 : Contamination globale quantifiée, tous types de particules confondues (en pg/ μ g).

	<i>Saison froide</i>	<i>Saison chaude</i>
<i>Moyenne \pm Ecart-type</i>	479,193 \pm 416,650	1504,076 \pm 1585,832
<i>Minimum quantifié</i>	44,067 (TSP)	234,281 (TSP)
<i>Maximum quantifié</i>	2650,433 (PM _{2,5})	8786,557 (TSP)
<i>Médiane</i>	398,154	1014,415

Dans le Chapitre 2 et la partie I. *Sites urbains d’étude* nous avons conclu que les trois sites sélectionnés étaient représentatifs de la pollution de fond de la région parisienne et comparable entre eux vis-à-vis des concentrations en particules dans l’air. Pour des raisons de puissances statistiques et pour pouvoir étudier la contamination globale au niveau de la région parisienne,

les résultats des trois sites ont été regroupés pour étudier la contamination selon le type de particules. En effet les trois sites étant classifié de la même manière, sites de type fond et urbain, une approche globale a été privilégiée. Les données ont eu une transformation log-normale, avant d’être testée par Anova ($\alpha=0,05$). Seules les relations significatives sont présentées sur les graphiques et correspondent à * $p < 0,05$ et *** $p < 0,0001$.

Des différences de niveaux de concentrations en COSV totaux semblent exister entre les saisons et entre les différents types particulaires. Ainsi, la contamination globale des TSP et celle des PM_{10} sont significativement différente entre saisons ($p < 0,001$ et $p= 0,016$, respectivement), plus élevée en saison chaude qu’en saison froide (Figure 31). Concernant les $PM_{2,5}$, ces différences saisonnières tendent à s’observer, même si elles ne sont pas significatives. Ces observations sont en accord avec certaines études de la littérature (Baulig *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2013 ; Dèdelè et Miškinytė, 2019) indiquant que la contamination atmosphérique dépend de la saisonnalité. Cette différence saisonnière de la contamination en COSV étant observée pour les TSP et PM_{10} , il a été choisi d’approfondir l’étude des résultats en séparant les deux saisons.

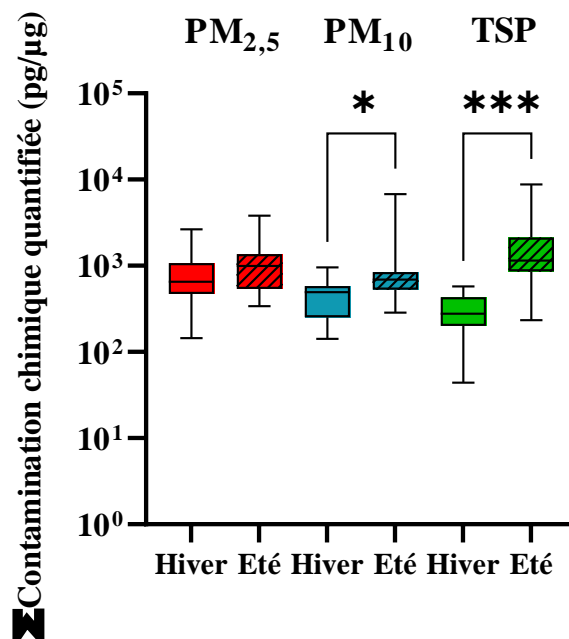


Figure 31 : Boxplot de la contamination globale en COSV (en pg/μg) selon les types de particules ($PM_{2,5}$, PM_{10} , TSP) et les saisons (été, hiver). Transformation log-normale des données, test d’Anova ($\alpha=0,05$) avec * $p < 0,05$ et *** $p < 0,0001$. Seules les relations significatives sont présentées sur les graphiques.

1. Contamination en COSV des particules en saison froide

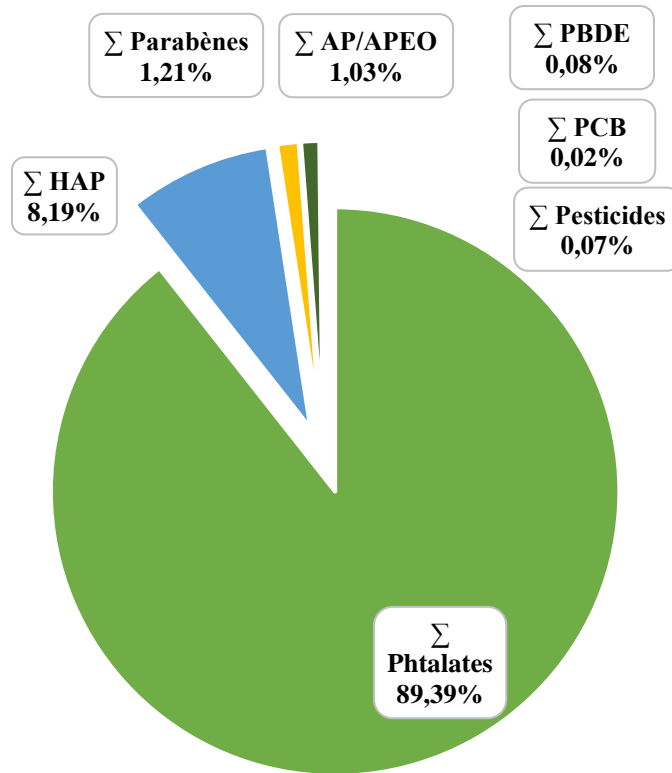


Figure 32 : Proportion en concentration massique (en %) des familles de contaminants quantifiés en saison froide (tout type de particules confondues).

En saison froide, la contamination globale en COSV varie entre 44,067 pg/μg (quantifié sur un échantillon TSP) à 2650,433 pg/μg (quantifié sur un échantillon PM_{2,5}) (Tableau 14). Quelle que soit le type de particules, les phtalates représentent la famille de COSV majoritaire sur les particules, représentant 89% de la quantité des composés quantifiés (Figure 32), suivis par les HAP (8,19%), puis les parabènes (1,21%) et les alkylphénols et alkylphénols éthoxylés (AP-APEO, 1,03%), ensuite les PBDE (0,08%), les PCB (0,02%) et les pesticides (hors DEET, 0,07%), Tableau 15.

Tableau 15 : Teneurs moyennes en famille de COSV (en pg/μg) sur les PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP collectés en saison froide.

	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
	n=48	n=48	n=96
Σ Phtalates	662,8	343,1	230,9
Σ HAP	37,7	49,0	26,6
Σ Parabènes	7,0	5,4	4,4
Σ AP/APEO	5,4	2,6	6,3
Σ PBDE	0,4	0,2	0,5
Σ PCB	0,1	0,1	0,1
Σ Pesticides	0,6	0,2	0,2
DEET*	92,8	20,5	5,0

*Composé non pris en compte dans les représentations graphiques

La comparaison des trois types de PM selon leur contamination en familles de COSV en tenant compte des variables climatiques a été réalisée en Analyse en Composantes Principales (ACP), Figure 33. Celle-ci, explicative à hauteur de 49,25%, semble ne pas montrer un motif de contamination propre à chaque fraction granulométrique étudiée. En effet, la répartition des fractions granulométriques au niveau des axes ne montre pas de distinction chimique nette entre les différents types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

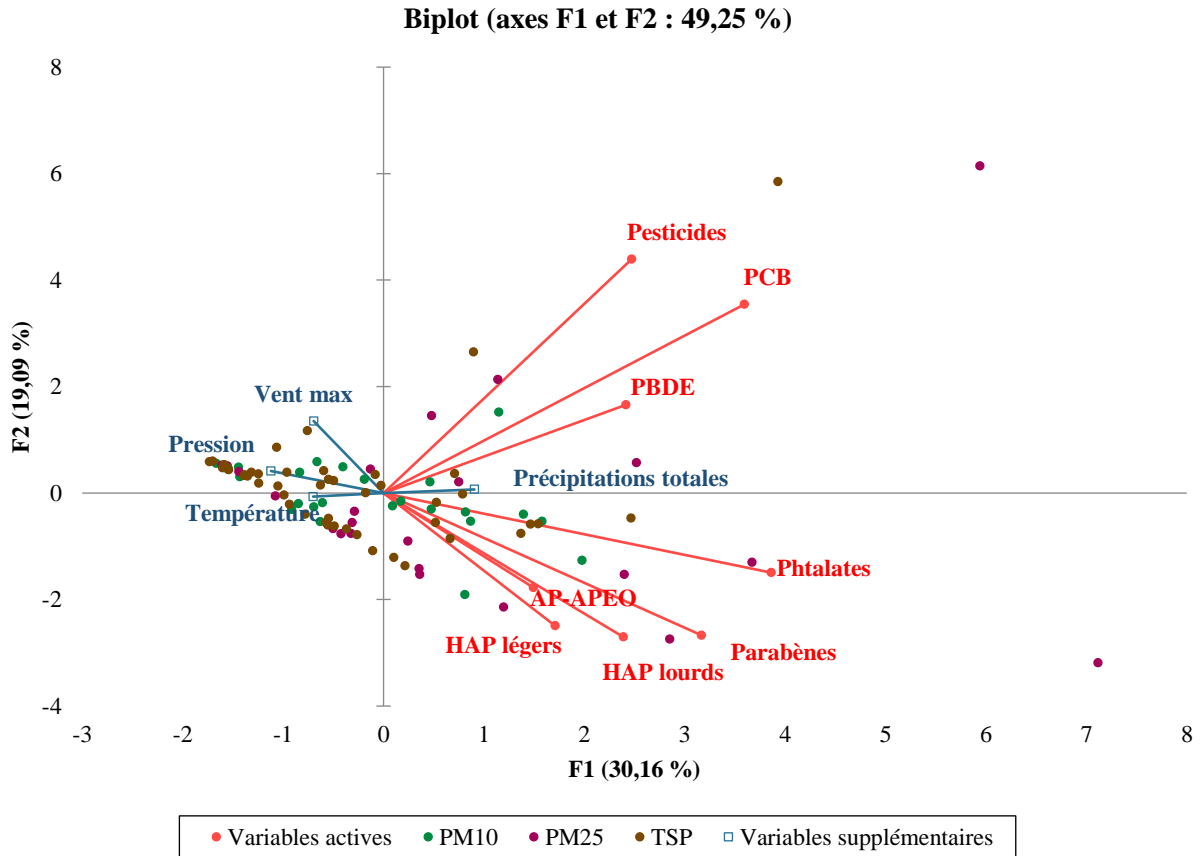


Figure 33 : Analyse en composantes principales des PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP collectés en saison froide et des teneurs en familles de COSV (variables actives) et conditions climatiques (variables supplémentaires).

Cette ACP permet néanmoins de mettre en évidence des relations entre les familles de COSV (Tableau 16). Les HAP légers et lourds sont corrélés entre eux ($r = 0,336$). Aussi, on peut noter que les phtalates, les parabènes et les PCB sont corrélés entre eux, ils pourraient provenir d'une source ou d'un processus d'émission similaire.

Chapitre 3 – Détermination des teneurs en COSV dans les particules

Tableau 16 : Matrice de corrélation de Pearson entre les teneurs en familles de COSV (en pg/ μ g) des particules et les paramètres climatiques en saison froide. Les valeurs de corrélation r en gras sont différentes de 0, avec un niveau de signification $\alpha=0,05$.

<i>Variables</i>	Σ Phtalates	Σ HAP légers	Σ HAP lourds	Σ PCB	Σ PBDE	Σ Pesticides	Σ AP- APEO	Σ Parabènes
Σ Phtalates	1							
Σ HAP légers	0,206	1						
Σ HAP lourds	0,257	0,336	1					
Σ PCB	0,427	-0,050	0,090	1				
Σ PBDE	0,170	-0,014	0,249	0,321	1			
Σ Pesticides	0,131	0,162	-0,021	0,647	0,255	1		
Σ AP-APEO	0,144	0,152	0,097	-0,071	0,305	0,025	1	
Σ Parabènes	0,634	0,127	0,250	0,327	-0,018	-0,069	0,166	1
<i>Pression moyenne</i>	-0,191	-0,074	0,183	-0,114	-0,031	-0,082	-0,246	-0,387
<i>Température moyenne</i>	-0,284	0,163	0,164	-0,263	0,102	0,118	0,298	-0,411
<i>Vent maximal moyen</i>	-0,003	-0,197	-0,576	0,013	-0,113	0,063	0,045	0,015
<i>Précipitations totales</i>	0,324	-0,201	-0,365	0,246	-0,139	-0,033	-0,037	0,548

2. Contamination en COSV des particules en saison chaude

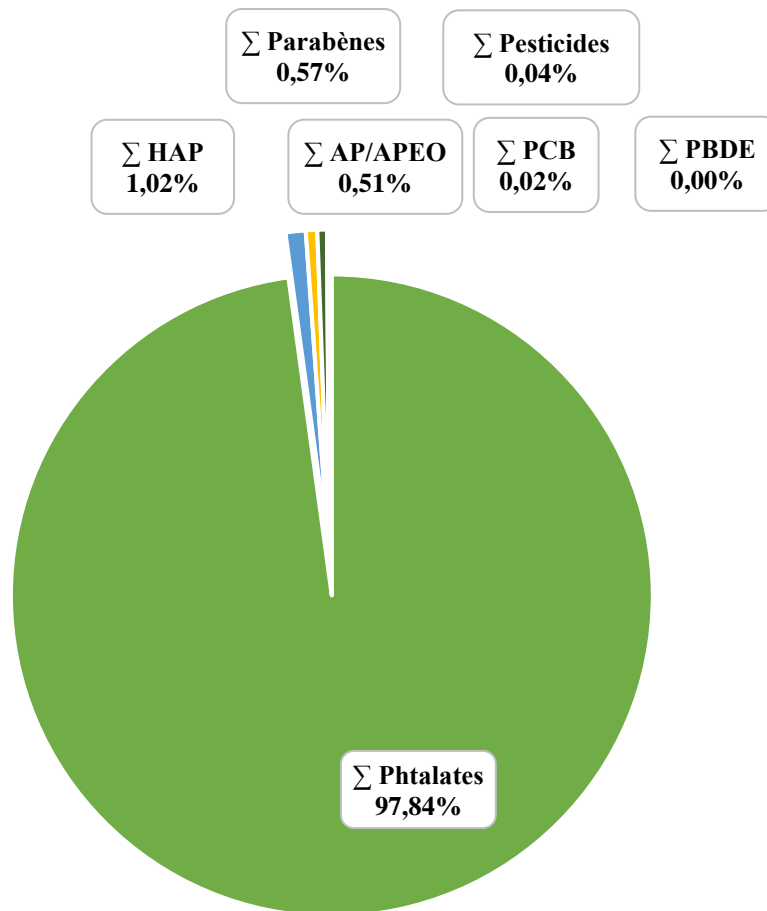


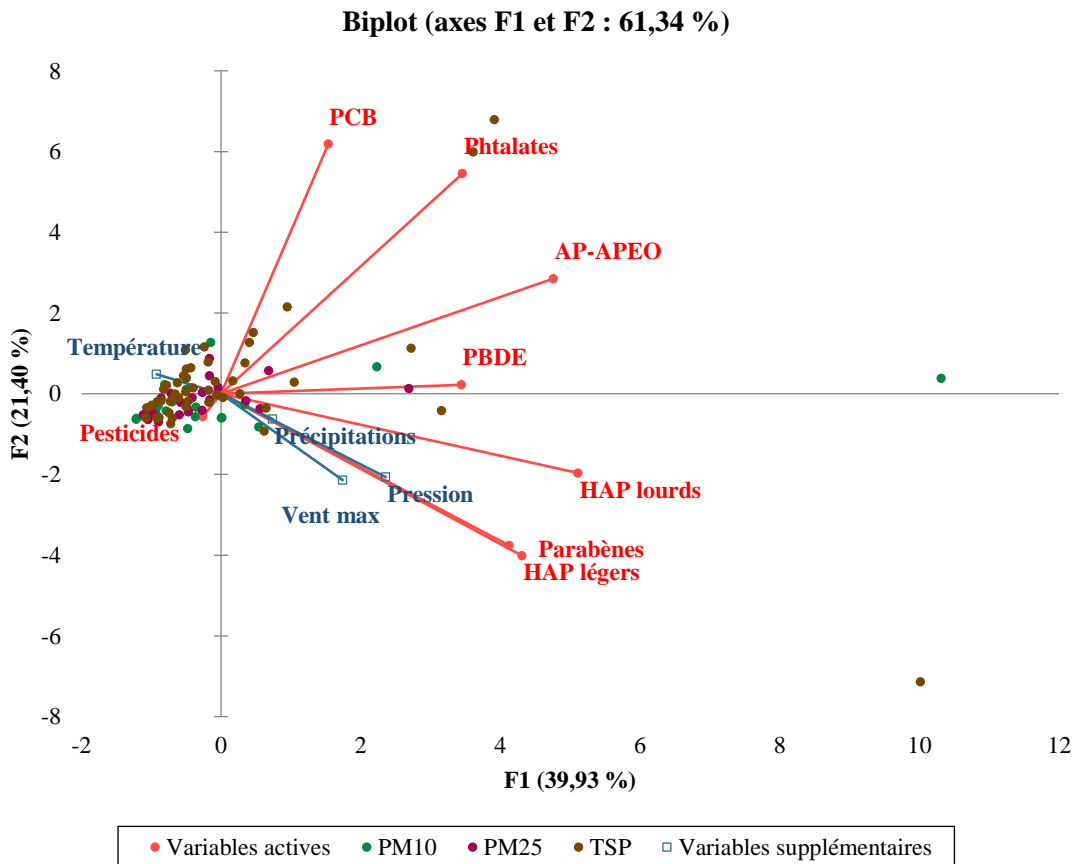
Figure 34 : Proportion en concentration massique (en%) des familles de contaminants quantifiés en saison chaude (tout type de particules confondues).

En saison chaude, la contamination globale varie de 234,281 (quantifié sur un échantillon TSP) à 8 786,557 (quantifié sur un échantillon PM_{2,5}) en pg/μg (Tableau 14), et est donc supérieure à celle observée en saison froide. Néanmoins, la hiérarchisation des familles de COSV reste similaire entre les deux saisons (Tableau 17), la répartition des composés quantifiés étant la suivante : Phtalates (97,84%) >> HAP (1,02%) > Parabènes (0,57%) > AP/APEO (0,51%) > PCB (0,02%) > Pesticides (sans DEET, 0,04%) > PBDE (0,002%) (Figure 34).

Tableau 17 : Teneurs moyennes en COSV en saison chaude (en pg/ μ g).

	<i>PM</i> _{2,5}	<i>PM</i> ₁₀	<i>TSP</i>
	n=48	n=48	n=96
Σ <i>Phtalates</i>	1088,8	1086,8	1813,8
Σ <i>HAP</i>	11,3	17,3	12,8
Σ <i>Parabènes</i>	6,9	7,4	9,1
Σ <i>AP-APEO</i>	5,5	5,9	9,2
Σ <i>PBDE</i>	0,0	0,1	0,0
Σ <i>PCB</i>	0,3	0,3	0,4
Σ <i>Pesticides</i>	0,5	1,1	0,0
<i>DEET</i>	12,9	8,7	8,0

L'Analyse en composante principale des types de particules en fonction des familles de contaminants étudiés et des variables climatiques en saison chaude est explicative à hauteur de 61,34% (Figure 35). Les résultats de cette ACP semblent ne pas montrer un profil de contamination propre à chaque fraction granulométrique étudiée, elles sont réparties de façon homogène au niveau des axes.



Comme pour la saison froide, les HAP légers et lourds sont corrélés positivement entre eux ($r = 0,630$).

Tableau 18 : Matrice de corrélation de Pearson entre les teneurs en familles de COSV (pg/μg) et des variables climatiques en saison chaude. Les valeurs de corrélation r en gras sont différentes de 0, avec un niveau de signification $\alpha=0,05$.

<i>Variables</i>	Σ Phtalates	Σ HAP légers	Σ HAP lourds	Σ PCB	Σ PBDE	Σ Pesticides	Σ AP- APEO	Σ Parabènes
Σ Phtalates	1							
Σ HAP légers	0,055	1						
Σ HAP lourds	0,326	0,630	1					
Σ PCB	0,506	-0,039	-0,052	1				
Σ PBDE	0,299	0,155	0,775	0,064	1			
Σ Pesticides	-0,031	-0,019	-0,009	-0,041	-0,023	1		
Σ AP-APEO	0,704	0,467	0,536	0,419	0,264	-0,033	1	
Σ Parabènes	0,126	0,812	0,541	-0,041	0,130	-0,008	0,412	1
<i>Pression moyenne</i>	0,023	0,383	0,495	-0,163	0,367	0,051	0,261	0,249
<i>Température moyenne</i>	-0,111	-0,122	-0,246	0,275	-0,081	0,041	-0,282	0,104
<i>Vent maximal moyen</i>	-0,024	0,281	0,416	-0,295	0,258	-0,086	0,253	0,157
<i>Précipitations totales</i>	0,067	0,041	0,177	-0,199	0,003	0,078	0,221	0,075

II. Contamination des particules par famille de composés

1. Phtalates

Les phtalates sont la famille de contaminants dont les teneurs sont les plus élevées, que cela soit en saison froide, comme chaude. Leurs teneurs moyennes varient entre 230,9 à 1813,8 pg/μg avec des teneurs moyennes plus élevées en saison chaude (Figure 36).

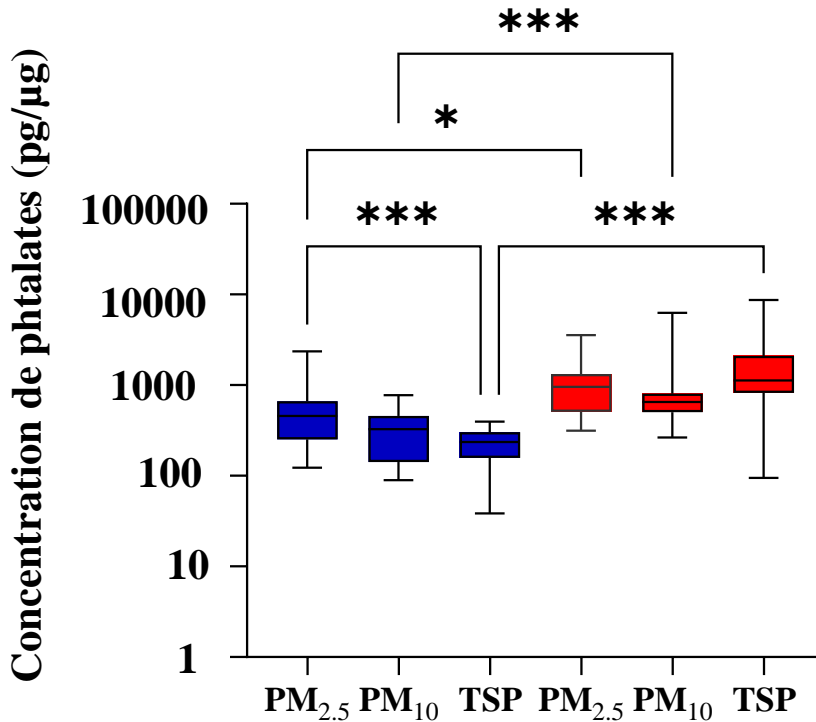


Figure 36 : Boxplot des teneurs en phtalates (en pg/μg) selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et des saisons (froide en bleu, chaude en rouge).

Il n'y a pas de différences significatives entre les différentes fractions particulaires étudiées, que cela soit en saison chaude ou en saison froide (Figure 36), à l'exception des PM_{2,5} et TSP en saison froide ($p < 0,001$). En saison froide, les classes de particules tendent à suivre l'ordre décroissant suivant quant à leur teneur en phtalates : PM_{2,5} > PM₁₀ > TSP, avec respectivement 663, 343 et 231 pg/μg. Ainsi, la contamination par les phtalates semble être majoritairement supportée par les PM_{2,5}.

Pour la comparaison entre les saisons, toutes les fractions particulaires testées en saison froide sont significativement moins contaminées en phtalates que les fractions identiques prélevées en saison chaude. Une des hypothèses pouvant expliquer cette différence porte sur l'origine des

phtalates. Les phtalates sont utilisés comme plastifiants, comme précurseurs polymériques, et sont retrouvés dans divers produits d'usage domestique : des cosmétiques, des parfums, des tissus... (Schettler, 2006). Leur origine en air intérieur est bien documentée dans la littérature, en revanche, en air extérieur elle est moins documentée (Ali *et al.*, 2021). Cependant, en raison des multiples sources pouvant être à l'origine de leur présence dans l'environnement, et de leur caractère ubiquiste, il semblerait que nombreuses de ces sources de phtalates soient communes entre l'air intérieur et extérieur. Ghosh et Sahu (2022) ont d'ailleurs établi un schéma de transfert des phtalates dans l'environnement (Figure 37). Ils ont identifié la volatilisation depuis les plastiques et polymères comme le processus à l'origine de leur présence dans l'atmosphère. Les phtalates sont par la suite adsorbés sur la matière carbonée. Ce mécanisme serait ainsi à l'origine de leur présence sur les particules atmosphériques (Ghosh et Sahu, 2022) et expliquerait la variabilité saisonnière observée.

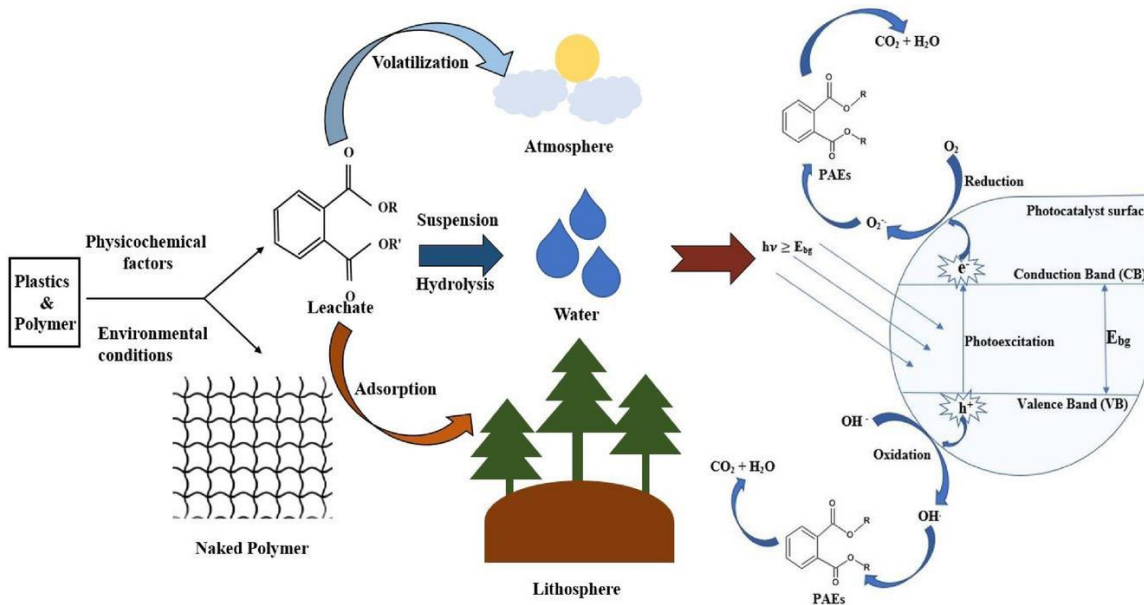


Figure 37 : Origine et transfert des phtalates entre les différentes matrices environnementales (Ghosh et Sahu, 2022).

Les composés majoritaires quantifiés dans les particules sont le DiBP et le DnBP (réunis, ils peuvent être considérés comme le « DBP »), le DEHP, le DEP, le BBP, le DMP et le DnOP (Tableau 19).

Tableau 19 : Teneurs moyennes (pg/μg) en chaque phtalates selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et de la saison (froide, chaude).

Type particulaire	PM _{2,5}		PM ₁₀		TSP	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
Saison						
DiBP	304,222	279,094	127,003	244,219	66,400	533,830
DnBP	192,481	242,572	126,153	259,511	35,602	440,104
DEHP	125,483	359,700	75,836	318,530	115,879	569,823
DEP	24,711	165,937	6,603	236,539	10,197	251,450
BBP	14,294	35,670	6,698	24,166	1,588	13,090
DMP	0,972	1,188	0,394	1,554	0,428	3,910
DnOP	0,659	4,655	0,408	2,280	0,847	1,597

Pour mettre en perspective ces résultats vis-à-vis des quantités de phtalates présentes dans un volume d'air susceptible d'être inhalé et pour les comparer avec les données issues de la littérature, ces résultats ont été transformés en ng/m³ (unité d'expression de la contamination chimique la plus utilisée). La Figure 38 montre que, rapportées en ng/m³, les concentrations en phtalates sont significativement différentes entre les saisons pour un même type de particules, pour les PM_{2,5} ($p < 0,05$) et pour les TSP ($p < 0,001$), à l'exception des PM₁₀. Les tendances restent les mêmes que les concentrations en phtalates soient rapportées au μg de particules ou au m³ d'air : des teneurs en phtalates plus élevées en été qu'en hiver pour chaque type de particules. Les différences de concentration sont d'un facteur 2 environ pour les PM_{2,5} et PM₁₀ (en moyenne sur les deux types de PM, 8,4 ng/m³ en hiver *versus* 14,8 ng/m³ en été), et même d'un facteur 5 pour les TSP (8,9 ng/m³ en hiver *versus* 45,1 ng/m³ en été).

On observe aussi qu'il n'y a pas de différence significative de contamination entre les fractions granulométriques de particules analysées, en dépit du fait que les PM_{2,5} soient les particules ayant les concentrations atmosphériques les plus faibles quelle que soit la saison en moyenne d'un facteur allant de 1,3 comparé aux PM₁₀ en été à un facteur 2,6 comparé aux TSP en hiver (Tableau 13). Ce résultat semble conforter le fait que les phtalates sont principalement adsorbés aux PM_{2,5}. Ces résultats vont dans le sens de l'étude de Kong *et al.* (2013) qui montre une corrélation positive entre les PM_{2,5} et les phtalates dans l'air, suggérant que ces composés se concentreraient préférentiellement sur les particules les plus fines.

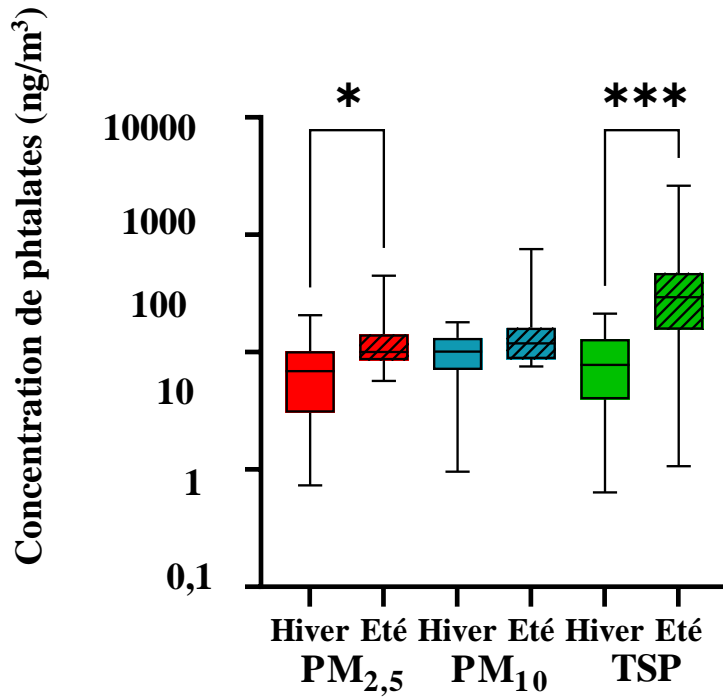


Figure 38 : Boxplot des concentrations en phtalates (en ng/m³) selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et des saisons (été, hiver) .

La Figure 39 présente les concentrations cumulées en chaque phtalate quantifié, exprimées en ng/m³ selon les classes de PM et les saisons étudiées. Peu importe la saison ou le type particulaire, les phtalates majoritairement retrouvés sont le DiBP, le DnBP et le DEHP. Ces résultats vont dans le sens des conclusions de précédentes études, ayant montré que le DEHP, le DiBP et le DnBP sont les composés majoritairement retrouvés dans la phase particulaire de l’atmosphère (Teil, Blanchard et Chevreuil, 2006 ; Salgueiro-González *et al.*, 2013 ; Ma *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2019). Une étude portant sur les phtalates retrouvés dans l’atmosphère en région parisienne (Teil, Blanchard et Chevreuil, 2006) a quantifié la somme des phtalates retrouvés sur des TSP issus de prélèvements s’étalant de 2002 à 2003 : elle était en moyenne annuelle de 8,2 ng/m³. Dix ans plus tard, la même équipe a mis en évidence des différences saisonnières de concentrations en phtalates sur TSP , toujours en région parisienne : la somme des phtalates était de 8,1 ng/m³ en hiver et de 14,9 ng/m³ en été (Teil *et al.*, 2016). Ces données sont très proches de la somme de phtalates quantifiée dans ce doctorat en saison froide sur les TSP en hiver (8,9 ng/m³). Mais une différence subsiste avec les résultats de saison chaude (45,1 ng/m³). Cela peut être attribuable au fait que la première étude n’a pas quantifié le DiBP, congénère majeur dans la contamination aux phtalates dans ce doctorat, et également que les prélèvements ont été réalisés mensuellement sur une année.

Une étude réalisée en Chine, se concentrant uniquement sur la contamination aux phtalates des PM_{2,5} a également quantifié en majorité le DEHP, et le DBP (DiBP+DnBP). Les résultats ont aussi montré que les concentrations de phtalates étaient significativement plus élevées en saison chaude, et que les plages de concentrations dépendaient beaucoup des villes d'où les PM_{2,5} provenaient (Zhang *et al.*, 2019). Par exemple, à Shanghai, les concentrations en somme de phtalates sur les PM_{2,5} s'étaient entre 8,02-107 ng/m³, avec une moyenne de 43,8 ng/m³. Ces concentrations sont bien plus élevées que celles observées sur nos trois sites urbains, mais cela peut s'expliquer par des différences de niveau de pollution atmosphérique entre villes étudiées, selon les sources de phtalates et habitudes de vie des populations locales. L'étude de Ma *et al.*, 2014 montre également que les phtalates les plus retrouvés sont également le DiBP, le DnBP et le DEHP, et que le DEHP a tendance à être retrouvé en plus grande quantité sur la fraction totale de particules (TSP). Aussi, il est à noter que la concentration moindre de phtalates en ng/m³ des TSP en hiver, par rapport aux PM₁₀ en hiver, est explicable par le prélèvement discontinu des TSP lié à l'appareil les prélevant, comme expliqué dans le *Chapitre 2 – Matériels et Méthodes*.

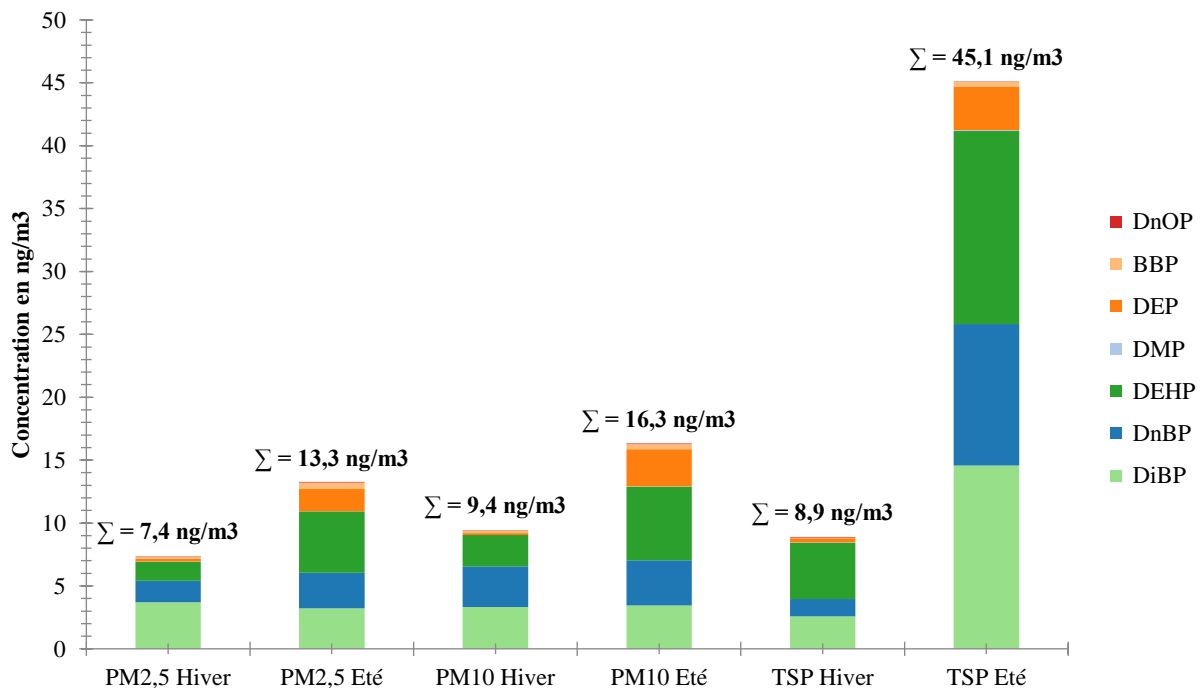


Figure 39 : Concentrations (en ng/m³) en phtalates, individuelles et sommées entre congénères, selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP_i) et des saisons (hiver, été).

2. HAP

La seconde famille de composés présentant des teneurs élevées sur les particules, peu importe la fraction granulométrique analysée, sont les HAP. Cette famille de contaminants est très étudiée dans le cadre de la pollution particulaire, car ils ont été parmi les premiers polluants à être suivis dans le cadre de la pollution atmosphérique (Sheu *et al.*, 1997). De nombreuses sources sont à l'origine des émissions d'HAP (processus de combustion : chauffage au bois, moteurs à combustion thermique, industrie...), Figure 40.

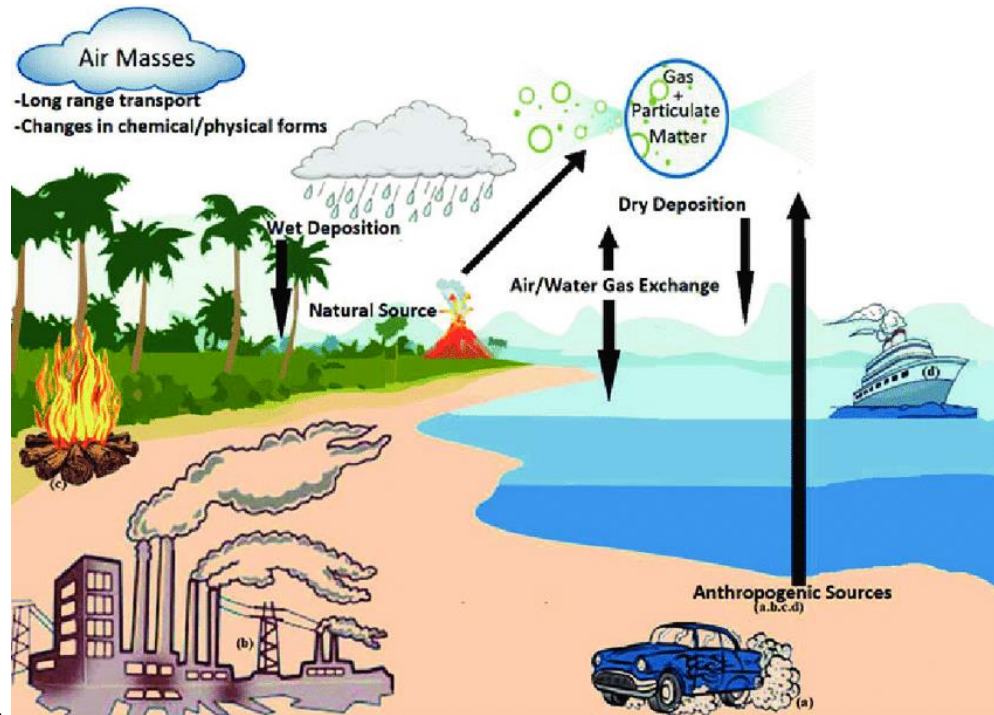


Figure 40 : Sources, transport et dépôt des HAP par l'atmosphère (Hussain *et al.*, 2018).

Les HAP entrent dans deux catégories, suivant leurs propriétés physico-chimiques : les HAP de haut poids moléculaire (ou dit « lourds »), ayant plus de 3 cycles dans leur structure et les HAP de bas poids moléculaire (ou dit « légers ») ayant 3 cycles ou moins dans leur structure. Suivant leurs propriétés physico-chimiques, leur comportement dans l'atmosphère va différer, ils auront davantage tendance à être retrouvés en phase gazeuse (HAP légers) ou en phase particulaire (HAP lourds).

Comme pour les phtalates, les teneurs en HAP légers et lourds (pg/μg) ne sont pas significativement différentes d'une fraction granulométrique à l'autre (Figure 41). Cependant, les teneurs en HAP des PM_{2,5} et des PM₁₀ tendent à être plus élevées que celles des TSP (Tableau 20), excepté pour les HAP légers en saison chaude. Sachant que les PM_{2,5} sont incluses dans les

autres fractions, la contamination en HAP semble être portée par la fraction la plus fine, PM_{2,5}, mais la fraction PM_{2,5-10} semble aussi y contribuer pour les HAP lourds. Ces résultats sont en accord avec la littérature, ainsi, Sheu *et al.* (1997) ont mis en évidence que les HAP avaient tendance à être associés aux particules de petits diamètres granulométriques, surtout lorsque la source est proche du trafic routier.

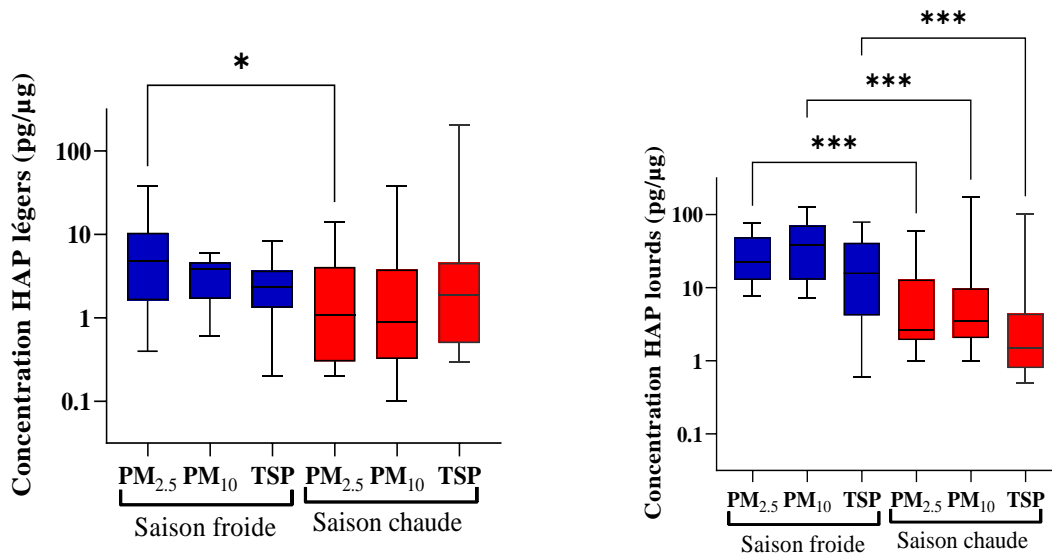


Figure 41 : Boxplot des teneurs (en pg/μg) en HAP légers (à gauche) et en HAP lourds (à droite) selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et des saisons (froide, chaude).

Concernant l'effet saisonnier, pour les HAP légers, il n'y a pas de différences significatives entre la saison chaude et froide, à l'exception des PM_{2,5}, significativement plus chargé en HAP légers en saison froide ($p < 0,05$). Alors que pour les HAP lourds, les PM_{2,5}, PM₁₀ et les TSP les concentrent significativement plus en saison froide ($p < 0,001$). Ce résultat peut être en lien avec l'augmentation des émissions dans l'air des HAP en saison froide, observation déjà vue dans l'étude Mugica *et al.* (2010) à Mexico.

Les teneurs moyennes en HAP varient de 11,3 pg/μg (PM_{2,5}, été) à 48,9 pg/μg (PM₁₀, hiver).

Tableau 20 : Teneurs moyennes (pg/μg) en chaque HAP selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et la saison (froide, chaude).

Type	PM _{2,5}		PM ₁₀		TSP	
	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide
Saison						
Σ HAP	11,364	37,907	17,347	48,897	12,726	26,483
Σ HAP légers	2,745	7,517	3,852	3,380	6,750	2,691
<i>Naphtalène</i>	0,165	0,872	0,097	0,120	0,809	0,228
<i>Acénaphène</i>	0,015	0,196	0,004	0,002	0,000	0,018
<i>Acénaphylène</i>	0,036	0,397	0,134	0,096	0,008	0,019
<i>Anthracène</i>	0,168	0,659	0,350	0,354	0,154	0,159
<i>Phénanthrène</i>	2,173	2,708	3,064	2,673	5,687	2,035
<i>Fluorène</i>	0,188	2,685	0,203	0,135	0,093	0,232
Σ HAP lourds	8,619	30,39	13,495	45,517	5,975	23,792
<i>Pyrène</i>	2,160	3,899	2,783	3,550	3,284	2,709
<i>Indéno[1,2,3-cd]pyrène</i>	1,007	4,257	1,763	7,831	0,256	3,783
<i>Fluoranthène</i>	1,807	2,149	2,435	3,402	0,939	1,584
<i>Dibenzo[a h]anthracène</i>	0,116	0,671	0,217	1,464	0,032	0,674
<i>Benzo[a]anthracène</i>	0,374	2,875	0,434	3,660	0,366	1,645
<i>Benzo[a]pyrène</i>	0,273	2,995	0,532	5,785	0,195	2,617
<i>Benzo[b]fluoranthène</i>	0,868	4,588	1,530	8,784	0,223	4,480
<i>Benzo[g,h,i]pérylène</i>	1,184	3,501	2,242	5,297	0,284	3,002
<i>Benzo[k]fluoranthène</i>	0,138	1,640	0,450	2,267	0,074	1,164
<i>Chrysène</i>	0,692	3,815	1,109	3,477	0,322	2,134

Comme pour les phtalates, cette contamination des particules a également été exprimée en ng/m³, afin de comparer les données de cette étude avec les données issues de la littérature. La Figure 42, montre que pour les concentrations en HAP légers, il n'y a pas de différence significative, entre les fractions granulométriques. Cependant, on peut remarquer que les PM₁₀ sont significativement plus concentrées en HAP légers en saison froide qu'en saison chaude ($p < 0,05$). De manière générale, les PM tendent à concentrer plus de HAP légers en hiver qu'en été.

Concernant les HAP lourds, toutes les fractions granulométriques sont significativement plus concentrées en saison froide, par rapport à la saison chaude ($p < 0,001$). Et, en saison froide, les PM₁₀ sont la fraction la plus concentrée en HAP lourds, notamment par rapport aux PM_{2,5} ($p < 0,05$). Sachant que les teneurs en HAP (pg/μg) ne sont pas statistiquement différentes entre les PM₁₀ et PM_{2,5}, la différence de concentration dans l'air peut s'expliquer par la moindre concentration en PM_{2,5} dans l'air par rapport aux PM₁₀. Hassanvand *et al.* (2015) ont également observé que les concentrations en HAP sur les PM₁₀ étaient supérieures à celles sur les PM_{2,5} (et les PM₁).

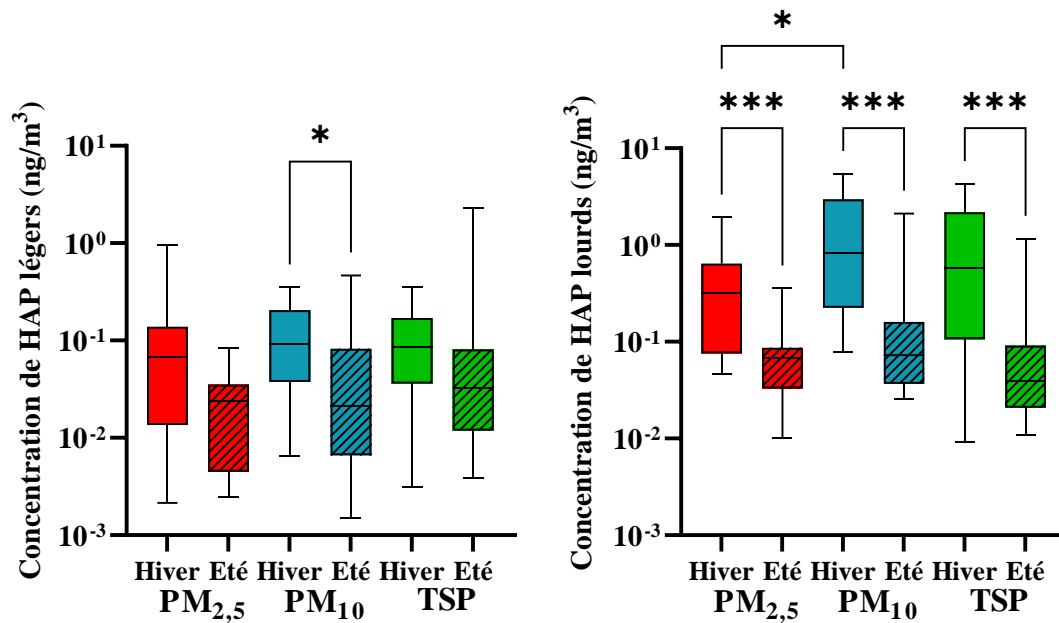


Figure 42 : Boxplot des concentrations (ng/m³) en HAP légers et HAP lourds selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et la saison (été, hiver).

Les concentrations moyennes en somme des 16 HAP recherchés sur les PM_{2,5} est de 0,6 ng/m³ en saison froide et de 0,1 ng/m³ en saison chaude. Ces valeurs sont en accord avec l'étude de Sei *et al.* (2021) qui ont quantifié la somme de 18 HAP dans un ordre de grandeur de 0,492 à 3,60 ng/m³, sur des prélèvements de PM_{2,5} réalisés de janvier à février 2020 au Japon.

Les résultats présentés en Figure 43 montrent la grande diversité des HAP quantifiés dans les extraits particulaires. Les composés majoritaires sont des HAP lourds : benzo(b)fluoranthène, indéno(cd)pyrène, benzo(a)pyrène et le benzo(ghi)pérylène. Ces concentrations sont en accord avec les précédentes études dans la région (Laborie *et al.*, 2016 ; Teil *et al.*, 2016). Ce résultat est cohérent avec les études de Hassanvand *et al.* (2015) et Li *et al.* (2019), montrant une prévalence de composés dits « lourds » sur les PM_{2,5}.

En particulier, il est à noter que la concentration moyenne du benzo(a)pyrène sur les PM₁₀ est de 0,23 ng/m³ en saison froide et est inférieure à la valeur cible de 1 ng/m³. On peut noter que, comme pour les phtalates, la concentration moindre d'HAP en ng/m³ des TSP, par rapport aux PM₁₀, est également explicable par le prélèvement discontinu des TSP lié à l'appareil, comme expliqué dans le *Chapitre 2 – Matériels et Méthodes*.

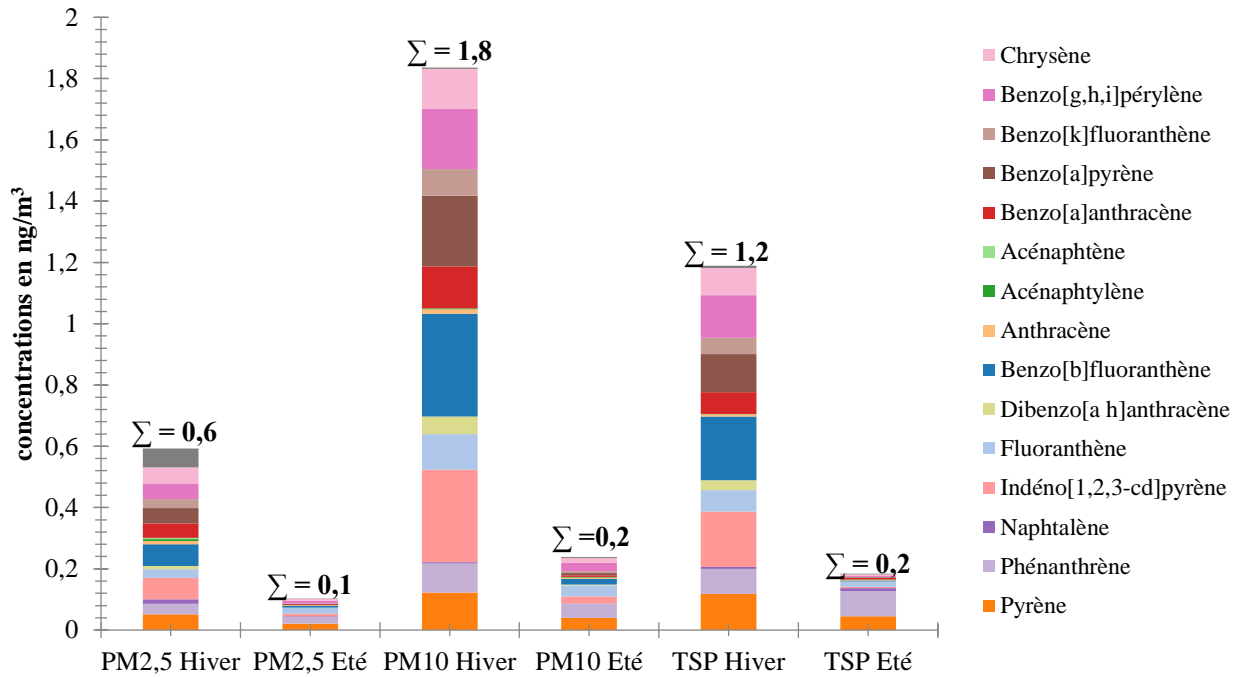


Figure 43 : Concentrations moyennes (en ng/m³) en HAP individuelles et sommées entre congénères, selon le type de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et la saison (hiver, été).

3. Autres familles de composés

Tableau 21 : Concentrations en PCB, PBDE, pesticides, parabènes et alkylphénols des PM selon les saisons. (pg/μg)

Type	PM _{2,5}		PM ₁₀		TSP	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
Saison						
Σ Parabènes	7,034	6,922	5,361	7,371	4,445	9,140
Σ AP/APEO	5,449	5,482	2,622	5,859	6,331	9,236
Σ Pesticides	0,650	0,478	0,166	1,136	0,157	0,010
Σ PBDE	0,354	0,000	0,188	0,130	0,549	0,016
Σ PCB	0,101	0,284	0,087	0,256	0,065	0,442

L'analyse de la contamination globale a montré que la contamination des particules par les autres familles de composés recherchés était la moins importante. Après les phtalates et les HAP, les familles de COSV ayant des teneurs élevées sont les alkylphénols et les parabènes, celles-ci varient entre 2,9 et 9,2 pg/μg. Enfin, les pesticides, les PBDE et PCB sont quantifiés à des concentrations plus faibles, proches ou inférieures à 1 pg/μg.

PARABENES

Les parabènes sont des composés de type conservateurs pouvant être retrouvés dans divers produits d'usage domestique : cosmétiques, shampoing, médicaments... Les teneurs varient entre les différents types particulaires et les saisons. En somme de parabènes, les quantités les plus élevées mesurées sont au niveau des TSP en saison chaude (9,1 pg/μg). Les plus faibles sont quantifiées pour les TSP en saison froide (4,44 pg/μg).

Tableau 22 : Concentrations moyennes (en ng/m³) des parabènes, selon la saison (chaude et froide) et le type particulaire (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

Type de composé	Et Parabène		Bu Parabène		Me Parabène		Pr Parabène	
	Saison Froide	Saison Chaude	Saison Froide	Saison Chaude	Saison Froide	Saison Chaude	Saison Froide	Saison Chaude
PM _{2,5}	0,001	0,012	0,000	0,004	0,072	0,072	0,000	0,002
PM ₁₀	0,014	0,014	0,000	0,009	0,151	0,086	0,001	0,001
TSP	0,004	0,038	<LD	0,015	0,152	0,136	0,002	0,011

Le composé majoritaire est le méthyl-parabène (Me Parabène), quelle que soit la saison de prélèvement ou le type de particules (Tableau 22). Sa concentration la plus élevée est retrouvée sur les TSP en saison froide, avec 0,152 ng/m³. Peu d'études renseignent la concentration de ces composés en air extérieur et dans la phase particulaire, mais, ce résultat est en accord avec l'étude de Chen *et al.*, 2021, menée en environnement urbain en Chine. En effet, dans cette étude, le méthyl-parabène est le composé majoritaire, et il a été retrouvé en moyenne à la concentration de 0,125 ng/m³ sur les TSP en air extérieur. Les faibles concentrations de ces composés décelées en phase particulaire et en air extérieur, peuvent s'expliquer par leurs sources. En effet, la présence de parabènes dans les produits d'usage quotidien et domestique induit que cette famille de composé est principalement quantifiée en air intérieur (Laborie et al., 2016). De plus, par leurs propriétés chimiques (Tableau 1), les parabènes sont plus retrouvés en phase gazeuse que particulaire.

ALKYLPHENOLS

Les alkylphénols et alkylphénols éthoxylés sont des composés de type tensio-actif et utilisés notamment pour leurs propriétés détergentes dans de nombreux produits domestiques (Rudel et Perovich, 2009). Ils peuvent également être utilisés comme précurseurs de polymères.

Tableau 23 : Concentrations moyennes (en ng/m³) en alkylphénols et alkylphénols éthoxylés, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

Type de composé	Nonylphénol		4-Nonylphénol Mono-éthoxylé		Octylphénol		4-Octylphénol Di-éthoxylé		4-Octylphénol Mono-éthoxylé	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
PM_{2,5}	0,044	0,020	<LD	<LD	0,009	0,036	0,010	0,006	<LD	<LD
PM₁₀	0,062	0,049	<LD	<LD	0,008	0,036	0,012	0,008	<LD	<LD
TSP	0,190	0,039	<LD	<LD	0,015	0,136	0,032	0,021	<LD	<LD

Le composé majoritaire pour les alkylphénols et les alkylphénols éthoxylés est le nonylphénol (NP), en saison froide et l’octylphénol (OP) en saison chaude. Les concentrations de nonylphénol et d’octylphénol les plus élevées sont mesurés sur les TSP, avec respectivement 0,190 ng/m³ (NP) en saison froide et 0,136 ng/m³ (OP) en saison chaude (Tableau 23). Ces résultats sont légèrement supérieurs (mais dans le même ordre de grandeur), à ceux renseignés dans l’étude de Xie *et al.*, (2006), réalisée en air extérieur sur des TSP collectées en Allemagne en environnement urbain. En effet, ces auteurs avaient mesuré des concentrations moyennes de nonylphénol dans une gamme de 0,010 à 0,120 ng/m³ et de 0,002 à 0,017 ng/m³ pour l’octylphénol.

PBDE

Les PBDE sont des composés de type retardateurs de flammes qui sont retrouvés dans les objets domestiques, pour leurs propriétés d’ignifugation. Ces composés sont retrouvés de manière ubiquiste dans l’environnement (Wu *et al.*, 2019).

Tableau 24 : Concentrations moyennes (en ng/m³) en PBDE, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

Composé	PBDE-28		PBDE-47		PBDE-99		PBDE-153		PBDE-100		PBDE-154	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
PM_{2,5}	0,000	<LD	0,000	0,000	0,001	<LD	0,001	<LD	0,000	<LD	<LD	<LD
PM₁₀	<LD	<LD	0,000	<LD	0,000	<LD	0,006	0,002	<LD	<LD	<LD	<LD
TSP	<LD	<LD	0,001	0,000	0,002	<LD	0,018	0,000	0,001	<LD	0,003	<LD

Les concentrations de PBDE quantifiées sur les particules sont très faibles, mais le congénère majoritaire est le PBDE-153, en saison froide, particulièrement sur les TSP (0,018 ng/m³). Ces valeurs sont légèrement plus élevés que les celles issues de la littérature, ainsi l'étude de Cincinelli *et al.* (2014) a estimé que, de juin à décembre 2012 sur un site urbain à Florence en Italie, le PBDE 153 était quantifié à la concentration de 0,00066 à 0,00123 ng/m³. Cependant, il existe des différences propres aux sites d'études qui peuvent influencer ces teneurs en PBDE.

PCB

Tableau 25 : Concentrations moyennes (en ng/m³) des PCB, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

Composé	PCB-101		PCB-180		PCB-153		PCB-118		PCB-138		PCB-28		PCB-52	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
PM _{2,5}	<LD	<LD	0,000	0,000	0,000	<LD	<LD	0,001	0,000	<LD	0,000	0,000	0,001	0,002
PM ₁₀	<LD	<LD	0,001	0,000	0,001	<LD	<LD	0,001	0,000	<LD	0,000	0,000	0,001	0,003
TSP	0,000	<LD	0,000	0,000	0,000	<LD	0,000	0,001	0,000	<LD	0,000	0,001	0,001	0,010

Les concentrations observées en PCB sont très faibles ($\leq 0,01$ ng/m³). Le PCB-52 est le composé présentant les plus fortes concentrations, principalement en saison chaude. Les concentrations mesurées sont en accord avec les précédentes études sur la région parisienne (Teil *et al.* 2016 ; Surchamps, 2016 ; Laborie *et al.* 2016). Ces molécules étaient utilisées comme fluides diélectriques dans les transformateurs avant leur interdiction en 1987 en raison de leur persistance dans l'environnement et de leur toxicité. En lien avec leurs propriétés physico-chimiques (Tableau 1), la présence de ces molécules dans l'atmosphère est liée à leur volatilisation à partir de sites anciennement contaminés. Il s'agit d'une contamination ancienne qui perdure et de type « bruit de fond » (Diamond *et al.* 2010 ; Shahpoury *et al.* 2015)

PESTICIDES

Tableau 26 : Concentrations moyennes (en ng/m³) des pesticides, selon la saison (froide et chaude) et le type particulaire (PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP).

Composés	Permethrine		Deltaméthrine		Bifenthrine		Cyfluthrine		Cyperméthrine		Phénothrine	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
PM _{2,5}	0,006	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,007	<LD	0,001
PM ₁₀	0,006	0,013	<LD	<LD	0,003	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,001	<LD
TSP	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Composés	44'-DDE		Fenvalérate		HCB		Lindane		PeCB		DEET	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude	Froide	Chaude
PM _{2,5}	0,000	0,000	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,442	0,210
PM ₁₀	0,001	0,000	<LD	<LD	0,000	<LD	0,000	<LD	0,000	<LD	1,423	0,155
TSP	0,005	0,000	<LD	<LD	0,000	<LD	<LD	<LD	0,000	<LD	0,166	0,249

Les concentrations en pesticides (hors DEET) sont très faibles ($<0,001 \text{ ng/m}^3$), Certains composés n'ont pas été détecté (inférieur à la LD) quel que soit le type de particules ou la saison, tels que la deltaméthrine, la cyfluthrine, le fenvalérate. Les concentrations sont plus faibles que celles précédemment mesurées, puisque Laborie (2015) avait observé une concentration moyenne pour la cyperméthrine sur TSP de $1,452 \pm 0,997 \text{ ng/m}^3$ en hiver à Paris (en air extérieur).

Les concentrations en DEET sont très variables que ce soit en saison froide ou chaude, celles-ci variant de $1,423 \text{ ng/m}^3$ (PM_{10} , hiver) à $0,155 \text{ ng/m}^3$ (PM_{10} , été). Le DEET est un répulsif, sa présence en hiver en air extérieur et la forte variabilité de ses concentrations devront être étudiés dans le futur afin d'en comprendre l'origine. En effet, il n'y a pas de données à ce jour dans la littérature sur la présence du DEET dans les particules.

III. Particularité selon les sites

Pour donner suite à l'analyse de la contamination globale par saison et par type de composés selon les fractions granulométriques, les différences inter-sites ont été étudiées. En effet, bien que les teneurs en particules soient équivalentes entre les sites, que ces sites semblent s'inscrire dans un type de pollution de type fond et urbain et qu'ils ont été classifiés comme tel, des différences entre sites de la contamination chimique globale des particules récoltées peuvent exister. Ainsi, une analyse statistique a été menée, après avoir réalisé une transformation des données (log) et éliminé des valeurs dites « *outliers* », afin de ne pas tenir compte des valeurs extrêmes pouvant potentiellement influencer ce résultat, refléter une contamination ponctuelle. Le but est ici de tenir compte d'une pollution aux COSV étudiés de type fond. Les résultats sont présentés dans la Figure 44. On observe que, seul le site de P15 se démarque significativement des deux autres sites, les sites P13 et Champigny ne présentant pas de différence statistique entre eux.

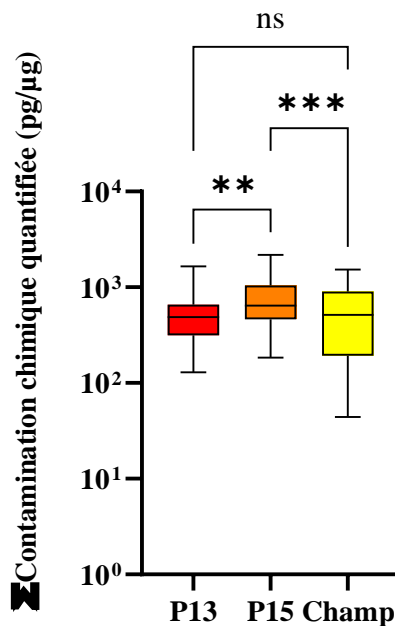


Figure 44 : Boxplot de la contamination particulaire globale en COSV (en $\text{pg}/\mu\text{g}$) selon les sites P13, P15, Champigny. Par site, chaque point correspond à un extrait particulaire donné (selon le type de PM, la saison, la date de prélèvement).

En observant les données du Tableau 27, en contamination globale, le site le plus contaminé est le site de P13 ($1110 \text{ pg}/\mu\text{g}$) et le site de Champigny est le moins contaminé ($666 \text{ pg}/\mu\text{g}$). Mais,

ces sites ont des contaminations élevées ponctuelles, car, en enlevant les valeurs extrêmes par l'identification des *outliers* (Figure 44), P15 semble un site globalement plus contaminé que les autres. Le détail de la contamination selon les familles de composés est indiqué dans le Tableau 27, on peut observer que ce site se distingue par une contamination aux HAP plus élevées que les autres. En effet, pour les HAP légers, leur concentration moyenne dans les particules collectées sur P15 est de 9,2 pg/μg contre 1,8 pg/μg et 2,5 pg/μg, respectivement pour Champigny et P13. Le site P15 concentre donc entre 3 à 5 fois plus de HAP légers que les autres. Cette observation est aussi marquée pour les HAP lourds, quantifiés en moyenne sur les particules issues de P15 à 39 pg/μg, contre 8,9 pg/μg et 11 pg/μg, respectivement pour Champigny et P13. Le site P15 concentre donc entre 3 et 4 fois plus de HAP lourds que les autres sites étudiés.

Cette observation peut être liée à la localisation de ce site : en effet, comme vu dans le Chapitre 2 *I.Sites urbains d'étude*, ce site est situé au niveau du parc Suzanne Lenglen, dans le 15^{ème} arrondissement de Paris, mais est à proximité immédiate du périphérique routier de Paris. Cet axe de circulation majeur pourrait être à l'origine de cette contamination plus forte sur ce site par les composés de type HAP.

Tableau 27 : Contamination moyenne des particules selon les familles de composés, selon les sites (en pg/μg).

<i>Site de prélèvement</i>	<i>P15</i>	<i>Champ</i>	<i>P13</i>
Σ <i>Phtalates</i>	998,213	643,460	1084,962
Σ <i>HAP légers</i>	9,274	1,847	2,520
Σ <i>HAP lourds</i>	39,033	8,966	11,084
Σ <i>Pesticides</i>	0,574	0,190	0,272
Σ <i>PBDE</i>	0,479	0,000	0,196
Σ <i>PCB</i>	0,132	0,275	0,246
Σ <i>AP-APEO</i>	8,256	5,140	5,559
Σ <i>Parabènes</i>	7,455	6,717	6,025
Σ <i>Contamination globale</i>	1063,416	666,596	1110,865

Points clés du chapitre sur la détermination des teneurs en COSV

Les phtalates sont les composés majoritaires sur les particules atmosphériques en région parisienne, particulièrement le DEHP, le DiBP et le DnBP. Après étude de la contamination en ces composés en pg/ μ g et en ng/m³, la contamination par les phtalates semble être amenée principalement par la fraction la plus fine, les PM_{2,5}. Ces composés sont également significativement plus présents en saison chaude qu'en saison froide.

Parmi les nombreux composés HAP quantifiés sur les particules, les HAP de haut poids moléculaire sont majoritaires. Par observation de la masse de particules (μ g), la contamination des particules semble être amenée en majorité par la fraction PM_{2,5}. Mais en raison des teneurs plus faibles de PM_{2,5} dans l'air, rapportées en m³ d'air, la fraction granulométrique amenant la majorité de la contamination dans l'air correspond à la fraction PM₁₀ (incluant les PM_{2,5}).

Malgré la classification des sites comme urbain de type fond, le site de P15 se distingue par une contamination aux HAP plus élevée que les autres, probablement en lien avec sa proximité avec le périphérique parisien.

CHAPITRE 4 - CARACTERISATION DES EFFETS BIOLOGIQUES

Les échantillons (correspondant aux extraits particulaires) des deux saisons étudiées (froide et chaude), des trois sites urbains de la région parisienne sélectionnés (P13, P15, Champigny), et des trois types particuliers (TSP, PM₁₀ et PM_{2.5}) ont été étudiés pour leur potentiel biologique. Basée sur un prélèvement commun et une extraction équivalente aux analyses chimiques pour la préparation des extraits dédiés aux analyses biologiques, ce protocole nous permet une mise en relation directe de la contamination chimique globale et du potentiel biologique *in vitro* de chaque échantillon. Cette caractérisation biologique s'est appuyée sur de précédentes études *in vitro* pour justifier nos choix d'effets biologiques à étudier : le potentiel perturbateur endocrinien au niveau des axes œstrogénique et androgénique, ainsi que le potentiel *dioxin-like*.

Ainsi, plusieurs études ont montré le potentiel perturbateur endocrinien associé aux particules atmosphériques. L'étude de van Drooge *et al.* (2017), a montré une inhibition de l'activité aromatasase d'échantillons de PM issus de zone urbaine, cette inhibition d'activité étant un marqueur de l'effet perturbateur endocrinien, suggérant bien l'impact de cette pollution sur le système endocrine. Le potentiel *dioxin-like* de la pollution atmosphérique a également été étudié par Nováková *et al.* (2020), qui ont montré que seule la phase particulaire de l'air ambiant induisait une activation du récepteur AhR, particulièrement en hiver.

Avant de présenter le potentiel biologique des extraits de PM sur les différents modèles cellulaires, il faut signifier que les extraits n'ont pas engendré de cytotoxicité, quelle que soit leur concentration testée. De plus, leurs blancs correspondants n'ont engendré aucun niveau d'activité significatif (tous < à 10 % de la réponse maximale d'E2). Le potentiel œstrogénique des extraits de PM est exprimé en % de la réponse maximale d'E2. Les résultats présentés sont ramenés au µg de particules extraites dans une première partie, mais aussi au m³ d'air dans une seconde partie.

Les courbes dose-réponse présentées dans cette partie sont un exemple d'une des répétitions d'expérience réalisées pour chaque échantillon, et les données en encarts des représentations graphiques correspondent aux courbes présentées. Les répétitions (dans les tableaux appelées N=1, pour la première répétition, N=2 pour la seconde et N=3 pour la troisième) sont considérées pour estimer les paramètres dose-réponse liés à chaque effet biologique de chaque échantillon (EC50 et TOP). Les tests statistiques réalisés dans ce chapitre sont des modèles mixtes, prenant en compte la répétition des données pour un même échantillon, avec $\alpha = 0,05$; les tests dont les résultats sont non significatifs seront notés « ns ». Alors que les courbes dose-réponse sont représentées selon les sites, les analyses statistiques ne tiendront pas compte de ce paramètre. En effet, pour un site donné, les échantillons par type de PM et de saison n'étaient

pas en nombre suffisant pour prendre en compte le paramètre site dans les calculs. Similairement aux analyses chimiques, nous avons choisi de comparer les fractions granulométriques entre elles, en tenant compte des saisons. Les résultats présentés intègrent uniquement les dilutions d'extraits particulières qui n'ont montré aucun impact sur la viabilité cellulaire et ceux dont les échantillons blancs de laboratoire correspondants n'ont engendré aucun effet biologique significatif.

I. Potentiel œstrogénique des extraits de PM

1. Potentiel œstrogénique des extraits de PM rapporté au µg de particules

a. TSP

La Figure 45 montre des exemples de courbes dose-réponse du potentiel œstrogénique mesuré pour tous les extraits de particules de type TSP. Il a été possible d'obtenir des courbes sigmoïdales complètes pour presque tous les échantillons, ces courbes permettant un calcul précis de valeur de concentration d'effet à 50 % (notée EC50, en µg de particules extraites) et de valeur maximale d'induction d'effet (notée TOP, en % d'E2). Selon la qualité des courbes dose-réponse incomplètes estimée dans GraphPad Prism, ces valeurs sont notées « NC » pour non calculables, ou en italique si les courbes sont considérées comme ambiguës, dans le Tableau 28. Le résultat indiqué en italique n'est pas retenu comme valeur fiable. Seuls deux échantillons présentent un TOP ne dépassant pas les 10 % de réponse maximale d'E2 (seuil de significativité) : les extraits TSP Ete1 et Ete 12 prélevés en saison chaude.

Les valeurs d'EC50 des extraits de particules en hiver tendent à être plus faibles que celles calculées en été : 26 µg en moyenne de particules extraites (23 µg en médiane) en saison froide contre 32 µg en moyenne (36 µg en médiane) en saison chaude (Tableau 28).

La quantité de particules extraites nécessaire pour atteindre 50 % d'effet, sera donc plus faible en saison froide qu'en saison chaude. Le potentiel œstrogénique des particules TSP semble de ce fait, être le plus élevé en saison froide.

Cependant, en raison de la variation de valeurs des EC50 au sein d'une même saison, les différences de moyenne d'EC50 entre saisons froide et chaude ne sont pas significatives ($p = 0,9174$). Néanmoins, le décalage vers la gauche des courbes dose-réponse d'extraits prélevés en hiver s'observe graphiquement, surtout pour le site de P15 (Figure 45), spécialement en hiver, mettant en évidence un potentiel œstrogénique induit à des quantités particulières plus faibles que pour les autres sites.

Tableau 28 : Valeurs EC50 (en µg de particules) des extraits TSP pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

TSP	EC50 (µg particules extraites)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
<i>Hiv3</i>	NC	50	58	54
<i>Hiv4</i>	30	46	65	47
<i>Hiv5</i>	11	11		11
<i>Hiv6</i>	5	6		6
<i>Hiv7</i>	11	10		11
<i>Hiv8</i>	22	28		25
<i>Hiv9</i>	8	9		8
<i>Hiv10</i>	23	23		23
<i>Hiv11</i>	54	28		41
<i>Hiv12</i>	9817	51185		NC
Moyenne Hiver				26
<i>Ete1</i>	57	6	8	6
<i>Ete2</i>	18	17		17
<i>Ete3</i>	NC	11	7	9
<i>Ete4</i>	NC	39	37	38
<i>Ete5</i>	36	27	34	32
<i>Ete6</i>	39	32	36	36
<i>Ete7</i>	NC	134	44	44
<i>Ete8</i>	24	25	25	25
<i>Ete9</i>	35	42	42	40
<i>Ete10</i>	68	2902	2580	68
<i>Ete11</i>	NC	NC	52	52
<i>Ete12</i>	NC	36	NC	36
Moyenne Été				32

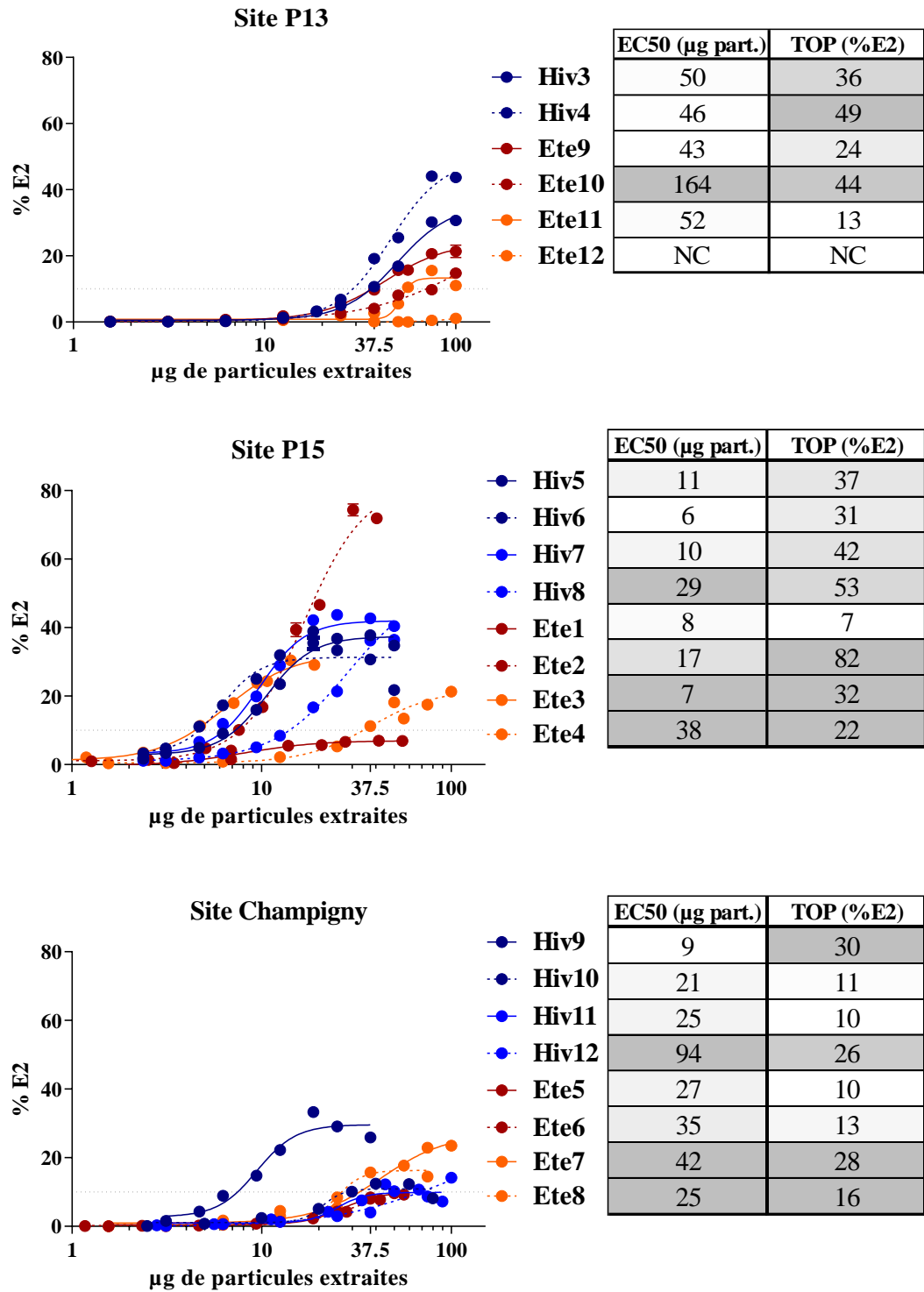


Figure 45 : Potentiels œstrogénique des extraits de TSP (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).
 Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes.

En plus de la concentration d'effet à 50 %, le deuxième paramètre important à considérer pour caractériser le potentiel œstrogénique des extraits particuliers est le niveau maximal d'effet induit pour chaque extrait de PM (TOP), et rapporté à la réponse maximale d'E2 (100 %). Cette valeur TOP permet d'estimer le niveau de potentiel agoniste des extraits particuliers. Les valeurs de TOP vont de 1,8 % (Ete12) à 98,9 % (Ete2) (Annexe 36), mais ce niveau maximal mesuré pour Ete2 correspond à une projection de la courbe. Les échantillons n'atteignent pas 100 % d'effet à leur plateau maximal, ce sont des extraits TSP présentant un potentiel agoniste partiel du récepteur nucléaire à l'E2 (à l'inverse de total si 100 % était atteint).

Cet effet œstrogénique maximum moyen tend à être plus élevé pour les extraits de TSP prélevés en saison froide (37,4 %) que pour ceux issus de la saison chaude (29,3 %), mais ces différences saisonnières entre valeurs moyennes de TOP ne sont pas significatives ($p=0,7395$). Les valeurs de TOP sont dans l'ensemble plus faibles pour le site de Champigny.

b. PM₁₀

La Figure 46 montre que tous les extraits de particules de type PM₁₀, à l'exception de l'échantillon Ete10, induisent un effet œstrogénique significatif, puisqu'ils présentent des valeurs de TOP toutes supérieures à 10 % d'E2. Les courbes dose-réponse des extraits de PM₁₀ prélevés en hiver montrent un décalage vers la gauche par rapport à ceux d'origine estivale, spécialement pour le site de Champigny.

Mais, les valeurs moyennes d'EC50 mesurées pour ces extraits ne sont pas significativement différentes ($p=0,2718$) entre les saisons, même si celles-ci sont plus faibles en saison froide, soit 13,9 µg de masse de particules extraites (12,6 µg en médiane), qu'en saison chaude, soit 38,1 µg (34,2 µg en médiane) (Tableau 29). En saison froide, un niveau d'effet œstrogénique donné est donc induit par une exposition cellulaire à une quantité de PM₁₀ extraites plus faible qu'en saison chaude, mais cette différence n'est pas significative.

Tableau 29 : Valeurs EC50 (en µg de particules) de tous les extraits PM₁₀ pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

<i>PM₁₀</i>	<i>EC50 (µg particules extraites)</i>			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
<i>Hiv3</i>	17,9	25,0		21,4
<i>Hiv6</i>	6,3	6,3		6,3
<i>Hiv8</i>	12,8	12,4		12,6
<i>Hiv9</i>	10,8	10,6		10,7
<i>Hiv11</i>	18,2	19,2		18,7
<i>Moyenne Hiver</i>				13,9
<i>Ete2</i>	21,6	14,6		18,1
<i>Ete4</i>	NC	36,7	20,5	28,6
<i>Ete5</i>	48,1	13,1	28,8	30,0
<i>Ete7</i>	NC	67,6	68,9	68,3
<i>Ete10</i>	NC	28,9	47,9	38,4
<i>Ete12</i>	NC	44,8	53,3	49,0
<i>Moyenne Été</i>				38,1

Concernant les niveaux d'induction d'effet œstrogénique maximaux, les valeurs TOP vont de 6 % (été 10, P13) à 65 % (Été 2, P15), montrant un potentiel agoniste partiel pour tous les extraits PM₁₀ (Annexe 37). En moyenne, en saison froide, les PM₁₀ induisent un effet maximum de 35,4 % d'E2, alors qu'il est de seulement 21,7 % en saison chaude. Cependant, cette différence saisonnière de valeurs moyennes de TOP ne ressort pas comme significative (p = 0,8868).

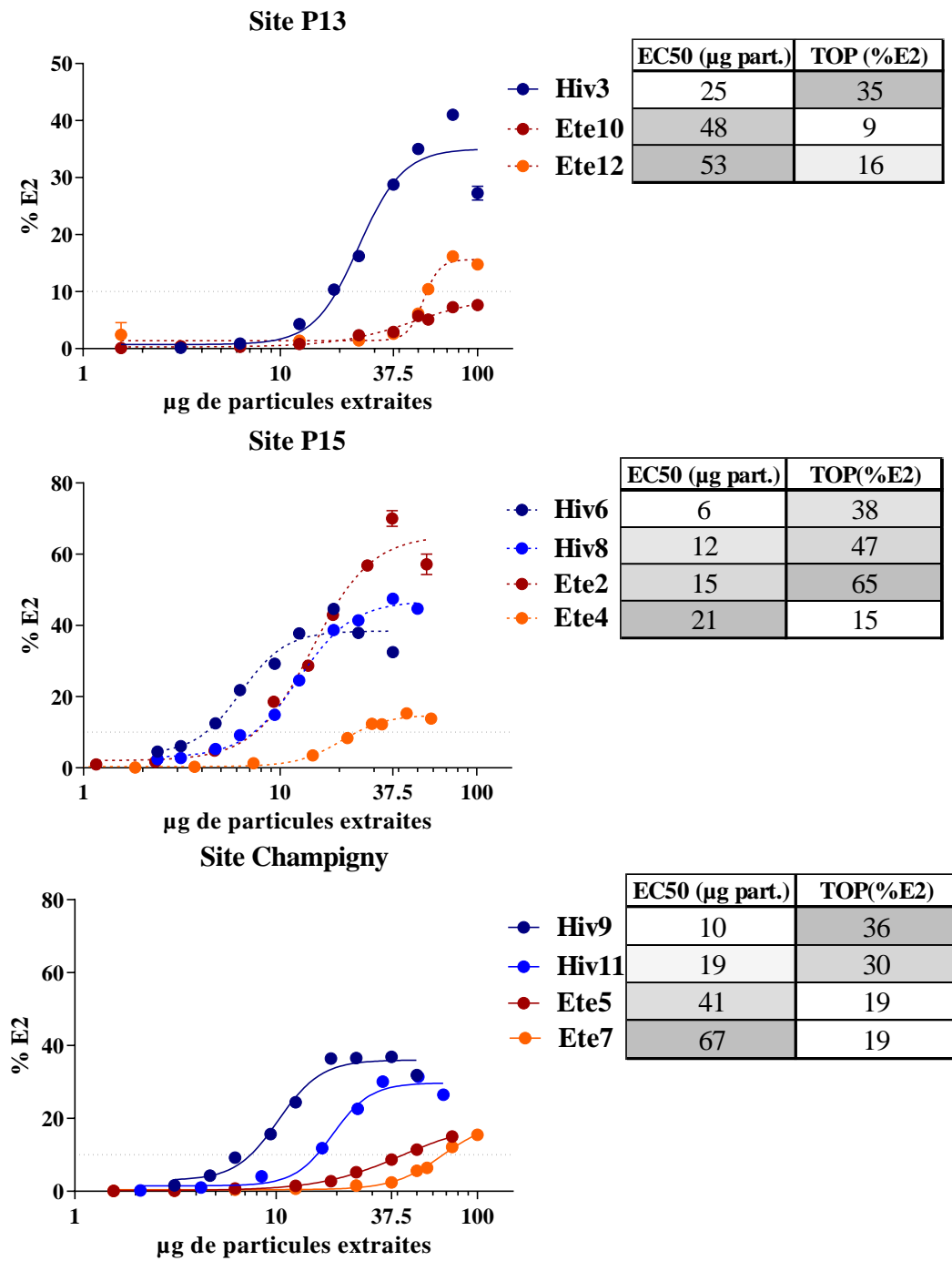


Figure 46 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM₁₀ (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris clair à foncé selon valeurs croissantes.

c. $PM_{2,5}$

La Figure 47 montre que tous les extraits de particules $PM_{2,5}$ induisent une réponse œstrogénique significative : tous les TOP des échantillons sont en effet supérieurs à 10 %. Les courbes sigmoïdes dose-réponse montrent un décalage des réponses vers les faibles teneurs en particules (à gauche) plus important pour les extraits prélevés en hiver que pour ceux en été, et ce, quel que soit le site considéré. Cette observation graphique est en accord avec les valeurs moyennes d'EC50 des $PM_{2,5}$ (Tableau 30), significativement plus faibles en hiver qu'en été ($p = 0,0205$), avec respectivement une moyenne de 15 μg (16 μg en médiane) et 31 μg (32,5 μg en médiane). Ainsi, la quantité d'extraits de $PM_{2,5}$ nécessaire pour atteindre 50 % d'effet est deux fois plus faible en saison froide qu'en saison chaude.

Tableau 30 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits $PM_{2,5}$ pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

$PM_{2,5}$	EC50 (μg particules extraites)			Moyenne
	n=1	n=2	n=3	
<i>Hiv4</i>	17	13	19	16
<i>Hiv5</i>	NC	5		5
<i>Hiv7</i>	6	6		6
<i>Hiv10</i>	24	22		23
<i>Hiv12</i>	29	3		16
Moyenne Hiver				15
<i>Ete1</i>	25	44		34
<i>Ete3</i>	NC	31	19	25
<i>Ete6</i>	NC	38	25	31
<i>Ete8</i>	NC	35	33	34
<i>Ete9</i>	28	30	18	25
<i>Ete11</i>	119	13	51	51
Moyenne Été				31

Concernant les niveaux d'induction d'effet œstrogénique maximaux, les valeurs TOP vont de 98 % (Hiv12) à 4 % (Ete8) (Annexe 38) montrant un potentiel agoniste partiel des extraits de $PM_{2,5}$, même s'il se rapproche de 100 % pour l'échantillon Hiv12 (site de Champigny). En moyenne, les $PM_{2,5}$ induisent au maximum un effet de 54 % d'E2 en saison froide, alors qu'il est de seulement 17 % en saison chaude. Cette différence saisonnière des valeurs TOP moyennes n'est pas significative ($p=0,2628$), même si les extraits de $PM_{2,5}$ prélevés en hiver semblent être ceux qui présentent le potentiel agoniste du récepteur nucléaire à E2 le plus élevé. En effet, les courbes dose-réponse des extraits de saison froide obtenues expérimentalement sont complètes (plateau haut et plateau bas), alors que ce n'est pas le cas pour tous les échantillons de saison chaude. Dans ce cas, les valeurs de TOP sont des projections obtenues avec le logiciel GraphPad Prism.

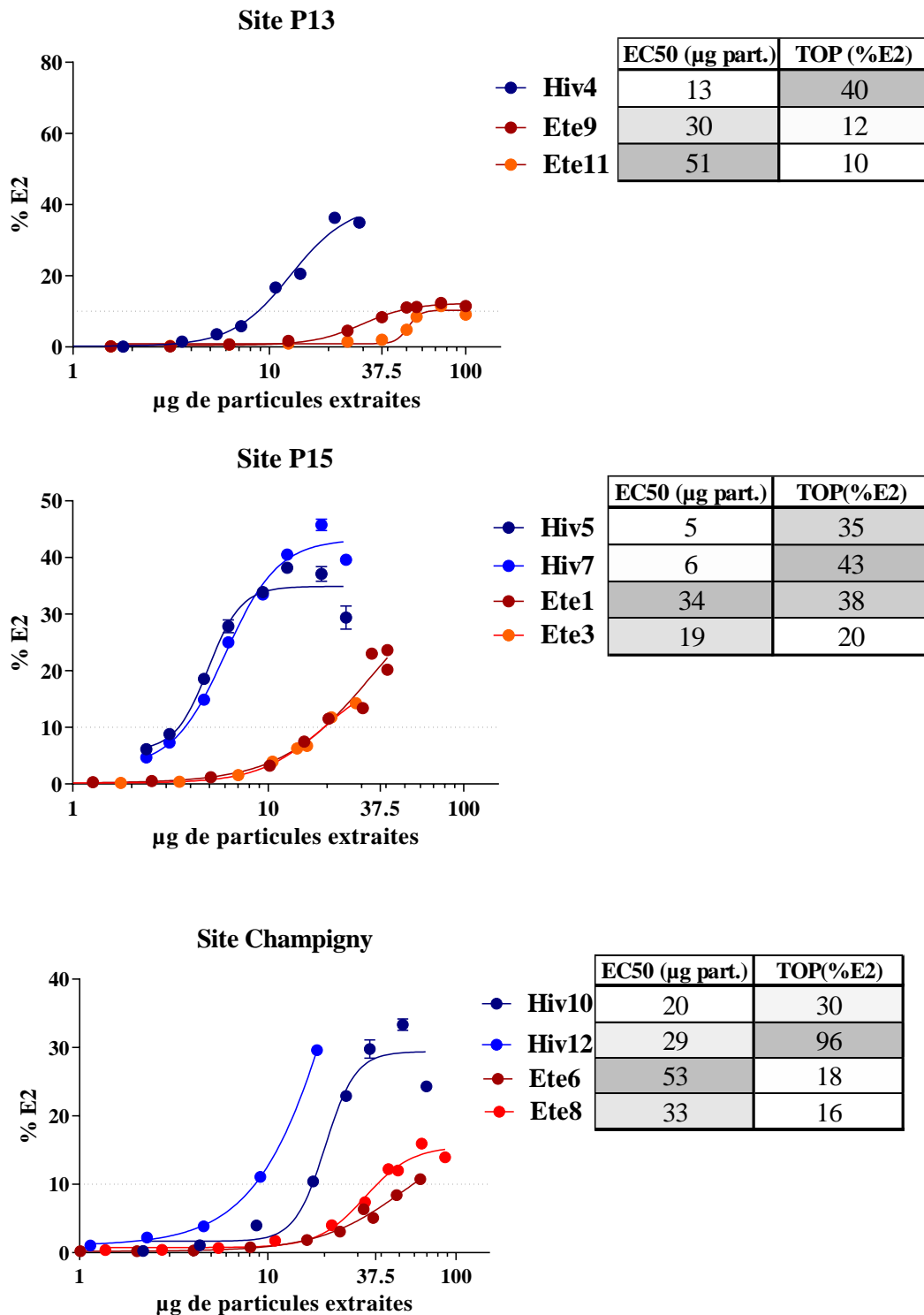


Figure 47 : Potentiel œstrogénique induit par les extraits de PM_{2,5} (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris clair à foncé selon valeurs croissantes.

De l'ensemble de ces données, il ressort que la contamination organique des TSP, PM₁₀ et PM_{2,5} collectées en air extérieur sur les trois sites urbains sélectionnés présente un potentiel agoniste partiel du récepteur nucléaire à l'E2. Ces données tendent aussi à montrer un potentiel œstrogénique plus important en hiver qu'en été.

d. Comparaison entre les types de particules

Au-delà de la mise en évidence de l'œstrogénicité *in vitro* de chaque classe de PM selon les saisons, la question de la différence de potentiel œstrogénique entre les différents types d'extraits particulaires (TSP, PM₁₀ et PM_{2,5}) doit être étudiée afin de mieux comprendre quelle fraction granulométrique supporte la contamination organique présentant le plus grand potentiel œstrogénique.

COMPARAISON DES EXTRAITS PARTICULAIRES D'APRES LEUR VALEUR EC50

Précédemment, il a été montré que pour les particules extraites de type PM₁₀ et PM_{2,5}, la saison exerçait une influence significative au moins sur la quantité d'extraits particulaires nécessaire pour atteindre 50 % de l'effet maximal (EC50). Et pour les PM_{2,5}, la saison s'avère également influencer le niveau du potentiel agoniste du récepteur ER (TOP). La comparaison du potentiel œstrogénique entre les différentes fractions granulométriques de PM a donc été faite selon les saisons. Les résultats présentés dans la Figure 48 montrent qu'il n'y a pas de différence significative de valeurs d'EC50 (en µg de particules extraites) entre les trois classes de particules, quelle que soit la saison considérée. La fraction PM_{2,5} présente un potentiel œstrogénique significatif et l'EC50 associé est similaire à celui des autres fractions (PM₁₀ et TSP). Sachant que les fractions PM₁₀ et TSP contiennent les PM_{2,5}, cette fraction fine des PM peut être en grande partie à l'origine de l'œstrogénicité associée aux PM₁₀ et TSP.

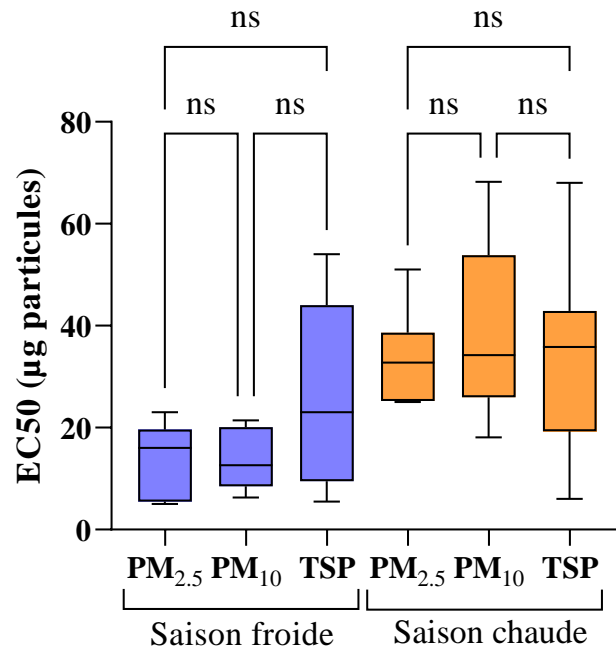


Figure 48 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à E2 (en µg de particules) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) en saisons froide et chaude.

COMPARAISON DES EXTRAITS PARTICULAIRES D'APRES LEUR VALEUR TOP

La Figure 49 montre les valeurs maximales d'effet œstrogénique (TOP, en % d'E2) induites par l'ensemble des extraits particulaires par chaque classe granulométrique et par chaque saison. Elle permet donc de comparer les fractions granulométriques entre elles pour leur potentiel agoniste du récepteur nucléaire aux œstrogènes, ainsi que les niveaux maximaux d'induction entre les saisons.

Que cela soit en saison froide ou chaude, il n'y a pas de différences significatives entre les fractions granulométriques quant à leurs valeurs TOP, avec des moyennes en saison froide de 37,4 % (TSP), 35,4 % (PM₁₀), 54 % (PM_{2,5}) et en saison chaude des moyennes de TOP de 29,3 % (TSP), 21,7 % (PM₁₀), 17 % (PM_{2,5}). On peut cependant noter que le niveau maximal induit est atteint par les PM_{2,5} en saison froide.

De plus, il n'y a pas de différence significative observée entre les saisons. Cela est notamment dû à quelques valeurs TOP qui s'écartent un peu de la moyenne, en saison chaude. Particulièrement, les échantillons « Été 1 » et « Été 2 », qui ont été prélevés à la suite, sur le site de P15, présentent un profil qui diffère énormément des autres échantillons prélevés en saison chaude, ces échantillons ont un niveau de réponse environ 5 fois plus élevé que les autres échantillons TSP et PM₁₀, et environ 3 fois plus élevés que les autres échantillons PM_{2,5}. Si on

exclut ces échantillons, le niveau de réponse maximale des extraits particulières tend à être plus élevé en saison froide qu'en saison chaude.

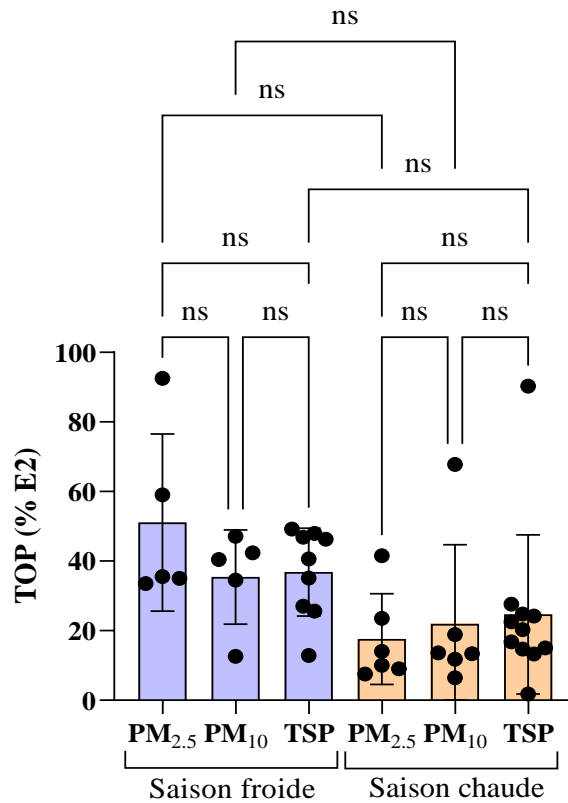


Figure 49 : Histogramme des TOP induits (en % d'E2) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) en saisons froide et chaude.

Puisque la fraction PM_{2,5} présente un potentiel agoniste significatif et que un TOP non significativement différent de celui des autres fractions (PM₁₀ et TSP qui contiennent les PM_{2,5}), cette fraction fine des PM peut contribuer en grande partie à l'œstrogénicité associée aux PM₁₀ et TSP, et ce quelle que soit la saison. Il semblerait que les PM_{2,5} induisent un effet œstrogénique et que celui-ci est augmenté ou réduit par les fractions PM_{2,5-10} ou PM_{2,5-TSP}.

Dans la littérature, une étude (Wenger *et al.*, 2009) a montré que des PM₁ récoltées en zone urbaine, en hiver, pouvaient induire une activité œstrogénique sur les cellules T47D-KBLuc, de l'ordre de 30 à 60 % de la réponse maximum à l'E2. Et l'étude de Clemons *et al.* 1998 a montré une induction de 20 à 50 % de la réponse maximum d'E2 par des extraits de PM₁₀ d'origine urbaines sur cellules MCF-7. Les résultats observés pour les fractions granulométriques étudiées ici se placent également dans cette gamme d'effet, et tendent à être plus élevés pour la fraction la plus fine les PM_{2,5}.

2. Potentiel œstrogénique des extraits de PM rapporté au m³ d'air

En considérant les résultats de l'induction œstrogénique rapportés au µg de particules extraites, l'activité amenée par 1 µg de chaque fraction granulométrique a pu être estimée. Afin d'être plus représentatif de l'exposition pulmonaire, il est aussi important de considérer le potentiel œstrogénique des extraits particulaires rapporté au m³ d'air, expression qui tient compte des concentrations des trois classes de particules dans l'air.

Rappelons que les concentrations atmosphériques des PM (en µg/m³) dépendent des sources d'émissions et sont très différentes selon la taille granulométrique des particules ainsi que la saison. Les particules les plus fines, PM_{2,5}, étant retrouvées en moindre quantité dans l'air que les PM₁₀ (Tableau 13). C'est donc un paramètre important dont il faut tenir compte pour estimer le potentiel œstrogénique portée par les différentes classes de PM en fonction de l'exposition aux particules. Les courbes dose-réponse pour chaque échantillon, représentant le niveau de % d'E2 induit en fonction des m³ d'air prélevés figurent en Annexe 39, Annexe 40, Annexe 41, respectivement pour les extraits de TSP, PM₁₀ et PM_{2,5}. Quel que soit le type particulaire (TSP, PM₁₀, PM_{2,5}), les courbes doses-réponses des extraits obtenues avec des dilutions d'extraits rapportées au m³ d'air montrent globalement un décalage vers la gauche des courbes issues des échantillons prélevés en hiver par rapport à ceux prélevés en été, en particulier pour le site de P15. Ainsi le m³ d'air prélevé en hiver sur ce site exposerait à une contamination particulaire en composés œstrogéniques « actifs » plus importante que le m³ d'air prélevé en été.

Les valeurs d'EC50 en m³ d'air extrait pour tous les échantillons sont présentées en Annexe 42, Annexe 43 et Annexe 44, respectivement pour les extraits de TSP, PM₁₀ et PM_{2,5}. Elles sont présentées ci-après pour chaque classe de particules.

Les valeurs TOP ne sont pas présentées, car elles ne diffèrent pas selon que les activités œstrogéniques soient données pour des dilutions d'extraits exprimées en µg de particules ou en m³ d'air extrait.

a. TSP

Les valeurs d'EC50 des extraits de TSP vont de 0,5 à 2,2 m³ d'air en été, et de 0,1 à 2,5 m³ d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 42). Même si l'EC50 moyen des TSP en hiver est de 1,0 m³ d'air alors qu'en saison chaude cette valeur monte à 1,4 m³ d'air, cette différence saisonnière n'est pas significative (p = 0,7472).

b. PM₁₀

Concernant les valeurs d'EC50 des extraits de PM₁₀, elles vont de 1,3 à 2,8 m³ d'air en été, et de 0,1 à 1,7 m³ d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 43). La moyenne des EC50 des PM₁₀ n'est pas significativement plus faible en saison froide qu'en saison chaude, même si les valeurs sont respectivement de 0,7 et 2,0 m³ d'air (p = 0,3749).

c. PM_{2,5}

Les valeurs d'EC50 des PM_{2,5} vont de 1,3 à 4,4 m³ d'air en été, et de 0,2 à 3,0 m³ d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 44). En saison froide, la moyenne des EC50 est de 1,9 m³ d'air contre 2,8 m³ d'air en saison chaude, néanmoins, ces différences saisonnières ne sont pas significatives (p = 0,8926).

d. Comparaison des effets œstrogéniques entre les fractions granulométriques

Les classes de particules ont cette fois été comparées entre elles, par saison, pour leur potentiel œstrogénique d'après les valeurs EC50 exprimées en m³ d'air, Figure 50.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes classes de particules quant à leurs valeurs d'EC50 exprimées en m³ d'air prélevé. En théorie, à volume d'air égal (1 m³ par exemple), une exposition pulmonaire aux PM_{2,5}, PM₁₀ ou TSP apporterait le même potentiel œstrogénique associé à leur contamination organique.

Les PM_{2,5} représentent la fraction granulométrique la moins présente dans l'air, au moins deux fois moins par rapport aux PM₁₀ ou aux TSP pour rappel (Tableau 13). Bien qu'il n'y ait pas de différences statistiques, une tendance semble se dégager avec une valeur moyenne d'EC50 exprimées en m³ d'air extrait deux fois plus élevée pour les PM_{2,5} que pour les PM₁₀ et TSP. Cela suggère qu'il faudrait inhaler deux fois plus de m³ d'air (contenant uniquement des PM_{2,5}) pour être exposé au même niveau de potentiel oestrogénique apporté par la contamination organique des TSP contenues dans 1 m³ d'air.

Tenant compte du fait que les PM_{2,5} sont incluses dans les PM₁₀ et les TSP, s'il n'y a pas de différence significative avec les classes particulières contenant des particules d'un diamètre

plus élevé, on peut supposer que l'effet œstrogénique est apporté par la classe la plus fine de particules, les $PM_{2,5}$. Concernant le potentiel œstrogénique des PM observés ici, il est en accord avec les observations de l'étude de Nováková *et al.* (2020) qui a montré que l'activité œstrogénique semblait être majoritairement apportée par la fraction la plus fine des particules (dans l'étude, $PM_{<1,5}$, en hiver).

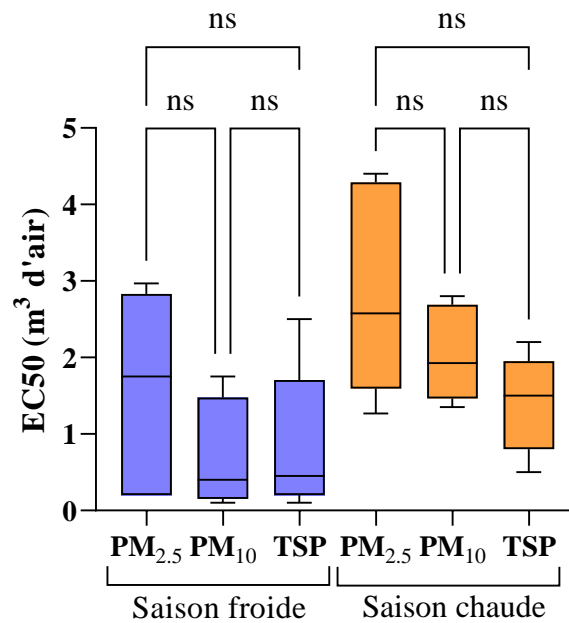


Figure 50 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à E2 (en m³ d'air extrait) selon les types de particules ($PM_{2,5}$, PM_{10} , TSP) en saisons froide et chaude.

Les données du potentiel œstrogénique des extraits de PM rapporté au m³ d'air donnent des conclusions similaires à celles des activités ramenées au µg de particules. Une seule différence est notable. Alors qu'un effet saison est significatif pour les $PM_{2,5}$ quant aux valeurs EC50 exprimées en µg de particules extraites, il ne l'est plus lorsque les valeurs EC50 exprimées en m³ d'air extrait sont considérées. Il ressort que les teneurs atmosphériques en $PM_{2,5}$, environ deux fois plus faibles que celles des PM_{10} ou TSP (en µg/m³), influent sur ces résultats.

3. Calcul des EEQbio

Les activités transcriptionnelles dépendantes du récepteur ER et induites par les extraits particuliers ont été présentées jusqu'ici en % de la réponse maximale d'E2 sous forme de courbe dose-réponse et selon deux paramètres : les valeurs EC50 et les valeurs TOP.

Ces activités transcriptionnelles ont été *in fine* quantifiées en équivalents E2 (EEQbio) par la méthode non linéaire, comme décrit dans le Chapitre 2 *III.5.a.Choix de la méthode d'exploitation des données d'activité transcriptionnelle*. Ces valeurs EEQbio permettent d'avoir une estimation du potentiel œstrogénique d'un échantillon donné ramené à l'activité du composé hormonal de référence, ici E2, en considérant l'ensemble de ses paramètres dose-réponse par régression non linéaire de Hill (Bottom, TOP, EC50, la pente Hillslope). Ces EEQbio sont présentés en pg d'E2/m³, afin de mettre en perspective cet effet avec l'exposition par inhalation. Par exemple, un extrait particulier de type PM_{2,5} dont la valeur EEQbio est de X pg d'E2/m³ signifie qu'inhaler 1 m³ de PM_{2,5} revient à être exposé à sa contamination organique dont le potentiel œstrogénique équivaut à celui de X pg d'E2. De plus, estimer les activités œstrogéniques des extraits particuliers en bio-équivalents par rapport à l'activité d'E2 permet de comparer les résultats avec les données de la littérature, qui utilisent majoritairement ces équivalents hormonaux pour quantifier le potentiel œstrogénique associé aux particules atmosphériques.

Les résultats de ces calculs sont présentés (valeur moyenne par échantillon) dans le Tableau 31.

Les valeurs d'EEQbio calculables vont de < 0,001 à 0,391 pg d'E2/m³, avec une valeur médiane sur l'ensemble des extraits particuliers de 0,016 pg d'E2/m³. Les valeurs médianes sur l'ensemble des saisons sont similaires entre les trois classes de particules, TSP (0,020 pg d'E2/m³), PM₁₀ (0,011 pg d'E2/m³) et PM_{2,5} (0,014 pg d'E2/m³).

Tableau 31 : EEQbio calculés pour les échantillons (en pg d'E2/m³ d'air extrait), gradient de couleur allant du vert (valeurs faibles) au rouge (valeurs fortes).

EEQ BIO HIVER et ÉTÉ (pg/m ³)				
Site	Echantillon	PM _{2,5} (pg/m ³)	PM ₁₀ (pg/m ³)	TSP (pg/m ³)
P13	Hiv3		0,007	0,008
	Hiv4	0,007		0,017
P15	Hiv5	0,210		0,252
	Hiv6		0,339	0,391
	Hiv7	0,177		0,200
	Hiv8		0,129	0,100
Champigny	Hiv9		0,002	0,001
	Hiv10	0,000		0,000
	Hiv11		0,006	0,002
	Hiv12	0,025		0,002
P15	Ete1	0,002		0,080
	Ete2		0,009	0,003
	Ete3	0,020		0,012
	Ete4		0,027	0,035
Champigny	Ete5		0,026	0,024
	Ete6	0,014		0,025
	Ete7		0,011	0,016
	Ete8	0,012		0,033
P13	Ete9	0,023		0,086
	Ete10		0,013	0,020
	Ete11	0,000		0,000
	Ete12		0,000	NC

Ces résultats sont du même ordre de grandeur que les EEQbio calculés dans d'autres études. Ainsi, Wenger *et al.* (2009) ont estimé des EEQbio pour des particules de type PM₁ en zone urbaine (Bern) qui se situent dans la gamme de 0,07-0,77 pg d'E2/m³. Dans l'étude de Croes *et al.*, (2016), des extraits de PM₁₀ d'un site urbain (Belgique) ont montré un potentiel œstrogénique de 0,036 pg d'E2/m³ (en médiane).

Concernant les valeurs d'EEQbio selon les saisons, elles sont plus élevées en moyenne en hiver qu'en été, que ce soit pour les TSP (0,097 *versus* 0,030 pg d'E2/m³), les PM₁₀ (0,097 *versus* 0,014 pg d'E2/m³) ou les PM_{2,5} (0,084 *versus* 0,012 pg d'E2/m³). Ces données montrent par ailleurs des EEQbio similaires entre classes de particules pour une même saison. En revanche, les valeurs médianes des EEQbio sont similaires entre saisons sur l'ensemble des échantillons.

Alors qu'en hiver et en été les valeurs sont respectivement de 0,094 et 0,021 pg d'E2/m³ en moyenne, elles sont de 0,013 et 0,016 pg d'E2/m³ en médiane (Tableau 31).

La comparaison des EEQbio (Figure 51) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les fractions granulométriques et les saisons testées ici. Ce résultat va dans le sens de ce qui a été observé précédemment. Compte-tenu que les PM_{2,5} sont contenues dans les autres fractions granulométriques et, en dépit du fait que cela soit la fraction la moins présente dans l'air, cette absence de différence significative d'EEQbio entre fractions laisse penser que la majorité du potentiel œstrogénique est apportée par les PM_{2,5}.

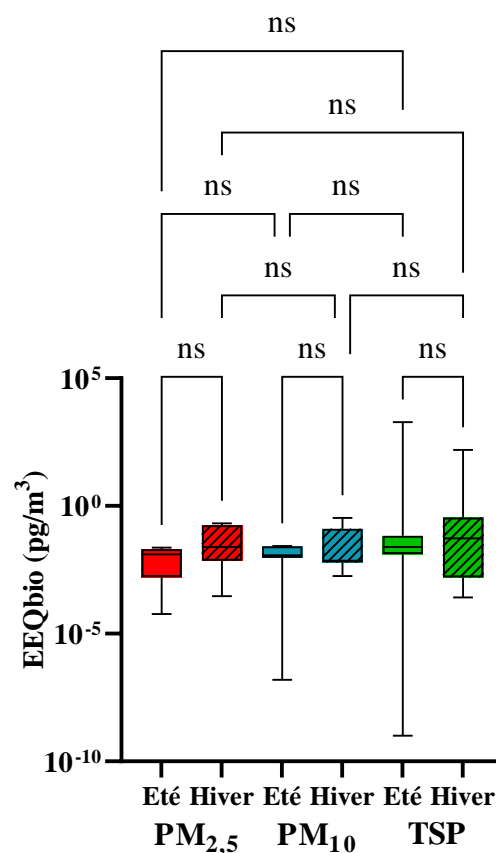


Figure 51 : Boxplot des valeurs EEQbio relatives à E2 (en pg d'E2 par m³ d'air extrait) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) en saisons froide et chaude.

4. Voie d'action des extraits de PM

L'induction du potentiel œstrogénique s'appuie sur l'activation des récepteurs aux œstrogènes, appelés ER pour rappel. Les récepteurs aux œstrogènes, sont des récepteurs nucléaires existant sous deux formes : la forme ER α et la forme ER β . Ces deux formes possèdent une similarité de structures, mais le récepteur de type ER β possède une séquence d'acides aminés plus courte que celle d'ER α .

Pour mieux comprendre la voie d'action œstrogénique impactée par les extraits de PM, une molécule a été utilisée : l'ICI 182, 780 (ICI), aussi appelé « Fulvestrant ». Cette molécule est un antagoniste compétitif total du récepteur α aux œstrogènes. Une fois liée au récepteur ER α , elle va le dégrader, ce qui va inhiber son action, et ainsi empêcher la transcription génique. C'est une molécule qui, par ses propriétés, peut être utilisée dans le cadre d'un traitement contre le cancer du sein ; elle fait partie de la classe des SERD (*Selective Estrogen Receptor Degradant*)(Carlson, 2005). Son mécanisme d'action est illustré par la Figure 52.

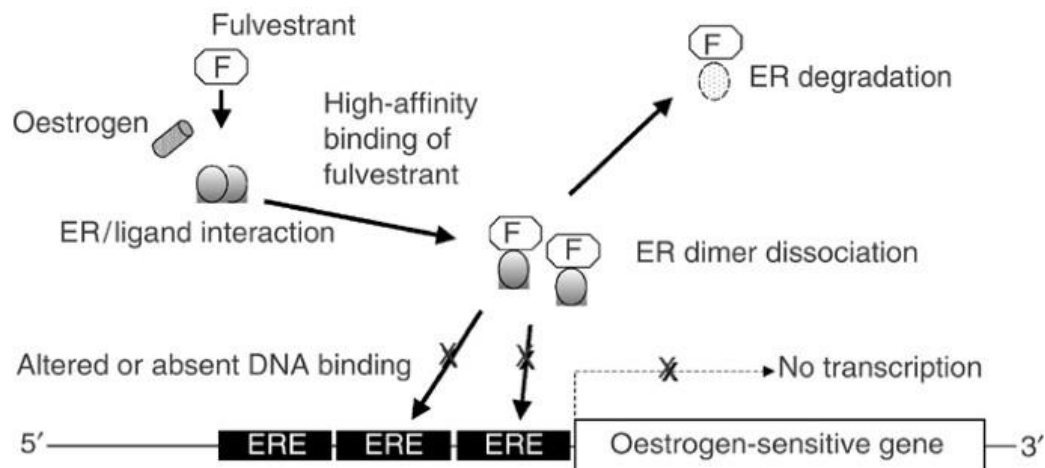


Figure 52 : Mécanisme d'action du Fulvestrant (F) sur le récepteur ER α (ER) ; ERE : *estrogen response element* (Osborne, Wakeling et Nicholson, 2004).

Afin d'estimer la part de la réponse œstrogénique qui passe par la voie génomique dépendante d'ER α , les cellules T47D-KBluc ont été exposées à chaque extrait de PM (à une dilution proche de l'EC50 ; détail des dilutions pour chaque échantillon en (Tableau 8) seul ou en co-exposition à l'antagoniste compétitif de ce récepteur, l'ICI (à 10⁻⁹ M).

La Figure 53 présente les niveaux d'induction œstrogéniques (en % d'E2) engendrés par chaque extrait particulaire en présence ou absence d'ICI. Que cela soit en saison froide ou en saison chaude, l'ajout d'ICI à 10⁻⁹ M induit une diminution significative ($p < 0,01$) du niveau de réponse œstrogénique engendré par chaque type de particules, quel que soit l'échantillon. De

plus, les niveaux de réponse obtenus en présence d'ICI sont systématiquement non significatifs (< 10 % de la réponse maximale d'E2), et majoritairement inférieurs à 1 % d'E2. Ainsi, ICI est donc capable d'inhiber quasiment 100 % de l'activité des extraits de PM. Les cellules T47D-KBLuc expriment les deux isoformes α et β d'ER, mais l'ICI n'est pas spécifique de l'isoforme β du récepteur ER.

Il ressort que la contamination organique des particules atmosphériques urbaines présente un potentiel œstrogénique qui semble passer exclusivement par la voie d'activation du récepteur ER α . A notre connaissance, il n'existe pas à ce jour de littérature renseignant sur le potentiel œstrogénique des extraits organiques de particules atmosphériques quant à leur spécificité d'action vis-à-vis des deux isoformes du récepteur ER.

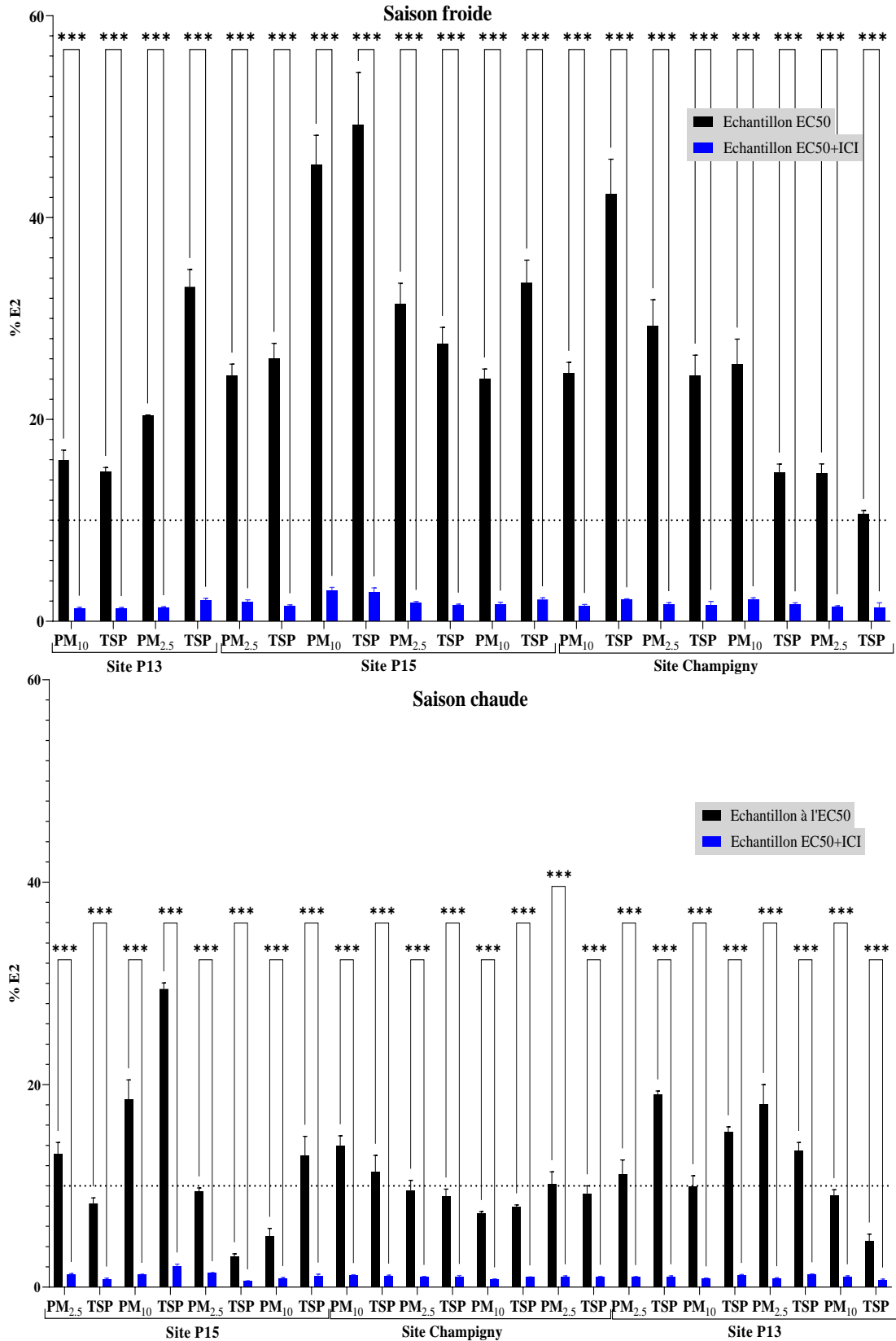


Figure 53 : Potentiel œstrogénique (en % d'E2) des extraits de PM (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) prélevées en saisons froide et chaude sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM). Testés à une dilution proche de l'EC50 (en µg de particules), seuls (Echantillon à l'EC50) ou en présence d'ICI à 10⁻⁹ M (Echantillon EC50 + ICI). Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2. Comparaison des échantillons avec le test d'ANOVA ($\alpha = 0,05$).

5. Effets hormono-compétitifs des extraits de PM

Au-delà du type de récepteur ciblé, une des questions possibles sur la modularité de la réponse aux œstrogènes est celle des effets hormono-compétitifs. En effet, nous avons observés via les analyses chimiques que les extraits de PM sont composés d'un mélange complexe de molécules. Ce mélange peut avoir une action inductrice ou inhibitrice sur le récepteur aux œstrogènes, entraîner une compétitivité pour le récepteur entre les molécules. Et, aussi plus particulièrement, les composés perturbateurs endocriniens sont des molécules connues pour induire des courbes dose-réponse non-monotones (DRNM), c'est-à-dire que ce sont des composés qui peuvent entraîner des niveaux de réponse n'augmentant pas forcément de façon proportionnelle avec des doses croissantes, engendrant des courbes dose-réponse en forme de U ou de U inversé.

EFFETS DES EXTRAITS DE PM EN PRESENCE D'E2

Les cellules T47D-KBluc ont été exposées à chaque extrait de PM (toujours à une dilution proche de l'EC50), avec ou sans E2 à 10^{-10} M (concentration saturante d'ER). L'objectif est d'étudier la compétitivité éventuelle des extraits de PM vis-à-vis d'une réponse maximale d'E2.

La Figure 54 présente les niveaux d'induction œstrogéniques (en % d'E2) engendrés par chaque extrait particulière en présence ou absence d'E2. Les résultats montrent, qu'à l'exception d'un échantillon PM_{2,5} en saison froide (site P15, correspondant à Hiver5) et un échantillon TSP en saison chaude (site P15, correspondant à Ete13), tous les échantillons co-exposés à une concentration saturante d'ER en E2 ont un niveau de réponse significativement plus faible que celui induit par l'E2 seul, à la même concentration (10^{-10} M). Ces résultats confirment que la contamination organique des particules atmosphériques urbaines présente une action hormono-compétitive vis-à-vis de l'activité d'E2. Puisque les extraits de PM étudiés semblent interagir avec le récepteur ER α des cellules T47D-KBluc, cet effet peut être lié à une compétition avec E2 au niveau de cet isoforme d'ER ou à un effet anti-œstrogénique uniquement visible lorsque les récepteurs ER sont saturés, et induit par certains composés contenus dans les extraits.

Il ressort que la contamination organique des particules atmosphériques urbaines présente un potentiel œstrogénique qui peut diminuer les effets d'E2 vis-à-vis du récepteur ER α , inhibant en partie son activité transcriptionnelle dépendante d'E2.

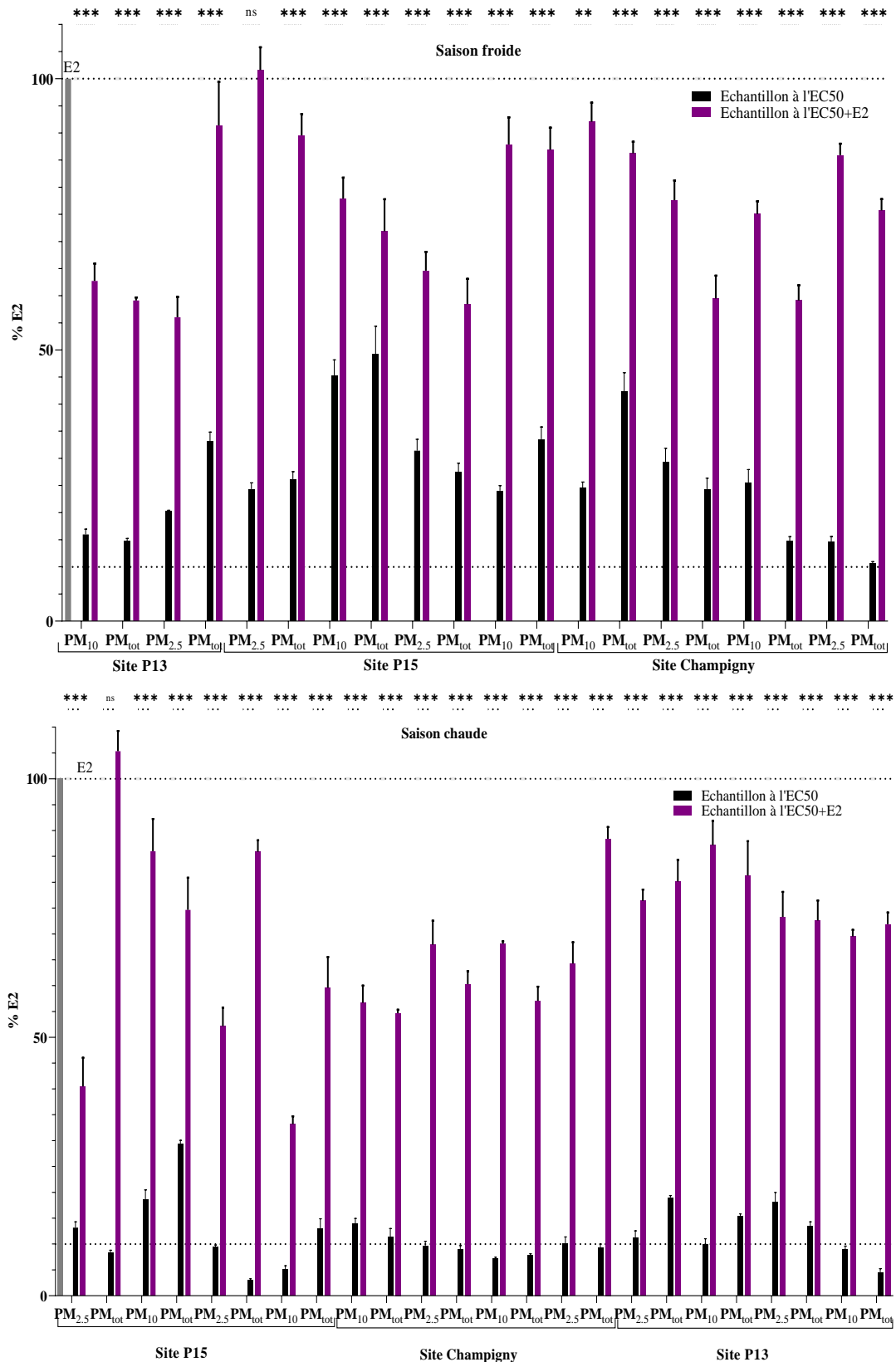


Figure 54 : Potentiel œstrogénique (en % d'E2) des extraits de PM (PM_{2.5}, PM₁₀, TSP) prélevés en saisons froide (en haut) et chaude (en bas) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM). Les extraits ont été testés à une dilution proche de l'EC50 (en µg de particules), seuls (Echantillon à l'EC50) ou en présence d'E2 à 10⁻¹⁰ M (Echantillon à l'EC50 + E2), par comparaison à l'E2 seul. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2. Comparaison des échantillons avec le test d'ANOVA (α = 0,05).

6. Cas particulier DRNM

Le cas des courbes DRNM, représente un défi pour les concepts fondamentaux de la toxicologie sur lesquels s'appuie la démarche d'évaluation des risques sanitaires. Celle-ci se base sur la comparaison entre la dose d'exposition réelle ou estimée à un toxique et la dose d'exposition acceptable à ce toxique, ramenée à une unité de temps d'exposition (journalière ou hebdomadaire en général). Une dose journalière acceptable pour un toxique correspond à sa valeur toxicologique de référence (VTR) en évaluation des risques, qui est calculée pour une voie d'exposition donnée (pulmonaire, orale ou cutanée), un type d'exposition donnée (aigu ou chronique) et un type d'effet donné (à seuil ou sans seuil). Concernant les toxiques qui répondent au principe de seuil d'effet, une dose critique est déterminée pour calculer la VTR à seuil : elle s'approche de la dose seuil de bascule entre la plus forte dose qui n'engendre pas d'effet significatif par rapport au témoin négatif (dose sans effet nocif observé) et la plus faible dose qui engendre un effet significatif (dose minimale avec effet toxique) ; au-delà de ce seuil de dose sans effet observable estimé chez l'Homme ou chez l'animal à partir des gammes de concentrations, l'effet augmente proportionnellement avec la dose d'exposition jusqu'à atteindre une limite, un niveau d'effet maximal, résultant en une courbe dose-réponse en forme de sigmoïde (Hill, Myers et Vandenberg, 2018).

Les courbes DRNM sont des profils d'effets qui ont déjà été observés pour des composés PE. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces profils de réponse non-monotonique (US EPA, 2016). En dehors de la cytotoxicité induite par le mélange de composés des extraits (hypothèse réfutée dans notre cas), l'hypothèse la plus fréquemment proposée pour expliquer les profils de DRNM est liée à l'induction d'effets opposés (agoniste contre antagoniste) évoluant selon la gamme de doses testées. Ces effets pourraient être déclenchés par plusieurs cibles (principalement des récepteurs) qui pourraient être activées de manière différenciée par la même substance à différents niveaux de concentration et dépendraient de l'affinité des cibles pour la substance (Lagarde *et al.*, 2015). Les substances contenues dans les échantillons pourraient donc produire des résultats biologiques différents selon leurs niveaux de concentration et leurs affinités aux récepteurs biologiques ciblés.

Certains échantillons testés ici ont montré un profil d'activité œstrogénique « non-monotonique », avec une diminution d'effet au-delà d'une certaine dose d'exposition donnant graphiquement une courbe dose-réponse en forme de « U inversé » (Figure 55). La chute d'activité observée ne correspond pas à une toxicité cellulaire. Ce type de profil DRNM en « U

inversé » a uniquement été observé sur les échantillons Hiv5, Hiv6 et Hiv7. Ces échantillons correspondent à des extraits de PM prélevés sur le site P15, en saison froide (fin février 2019).

A dilutions d'extraits équivalentes, ces échantillons ont montré un potentiel œstrogénique plus élevé que les autres (Figure 44, Annexe 39). Malgré le peu de courbes DRNM ayant pu être obtenues, il ressort des données de la Figure 55 que les courbes, et le point de bascule, sont extrêmement proches entre les échantillons PM_{2,5}/TSP et PM₁₀/TSP prélevés en même temps. Cela signifie que, même en prélevant des particules sur deux appareils différents, et en recueillant une fraction granulométrique sélectionnée (PM_{2,5} ou PM₁₀) et les particules totales, la courbe DRNM est observée dans les deux cas.

Ce type de réponse DRNM a été également observé par Wenger *et al.* (2009), sur des cellules de type ER-CALUX exposées à des extraits de PM₁ issus d'environnement urbain (Bern, Payerne). Mais, cette étude a attribué la chute de l'effet œstrogénique pour des doses d'extraits plus élevées à un effet cytotoxique. A notre connaissance, il n'existe pas à ce jour de références bibliographiques expliquant l'induction de DRNM par des extraits particulaires. La difficulté pour expliquer ces effets non monotones observés sur nos extraits de PM, réside dans le fait qu'ils résultent d'une exposition, non pas à une seule molécule, mais à mélange complexe de molécules organiques d'origine environnementale. Appréhender les effets mélanges entre composés (les effets cocktail) en évaluation des risques sanitaires reste un enjeu qui s'avère complexe à aborder, mais de plus en plus étudié (Mauderly et Samet, 2009 ; Delfosse *et al.*, 2015).

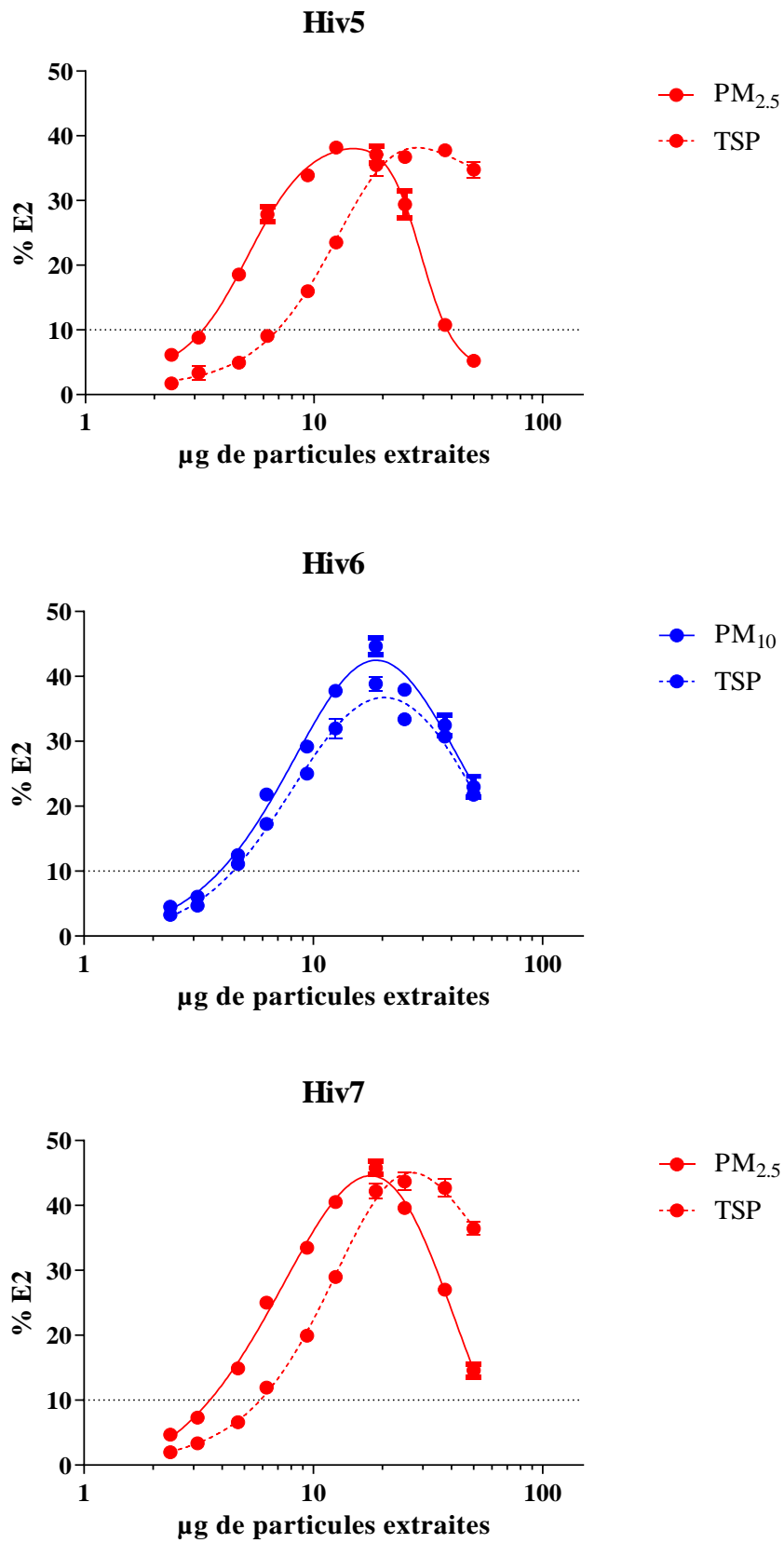


Figure 55 : Potentiel œstrogénique (en % E2) des échantillons Hiv5, Hiv6 et Hiv7 (en µg de particules extraites) de PM prélevées sur le site de P15 présentant un profil DRNM.

Points clés de la voie d'activation œstrogénique

La fraction PM_{2,5} a besoin d'une quantité de particules plus faible en saison froide qu'en saison chaude pour induire 50 % de l'effet œstrogénique, ce qui suggère que le potentiel œstrogénique des PM_{2,5} est plus fort en saison froide qu'en saison chaude. De manière générale, l'effet œstrogénique induit par les particules semble être plus important en hiver, et de type agoniste partiel du récepteur ER α .

L'effet œstrogénique induit en considérant la masse de particules ou le volume d'air semble être amené en majorité par la fraction PM_{2,5}, que cela soit en saison froide ou en saison chaude.

Malgré la prédominance de l'effet pro-œstrogénique observé, un effet hormono-compétitif en présence d'E2 a été mis en évidence, prenant probablement place au niveau du récepteur ER α .

Des effets non-monotoniques ont été observés sur certains échantillons, mais aucune conclusion formelle ne peut être établie sur l'origine de cet effet.

II. Potentiel anti-androgénique des extraits de PM

Le potentiel anti-androgénique des extraits organiques de PM a également été étudié à partir de cellules AIZ-AR exposées aux échantillons en présence de DHT, à une concentration saturante du récepteur AR. La Figure 56 illustre le potentiel anti-androgénique des seuls échantillons qui ont permis d'obtenir des courbes dose-réponse complètes permettant d'obtenir des paramètres BOTTOM et IC50 avec GraphPad Prism : Hiv12, Ete2 et Ete10. Ces paramètres sont présentés dans le Tableau 32. La concentration inhibitrice médiane, IC50, est du même ordre de grandeur entre les trois échantillons : voisine de 8,5 µg de particules.

Le BOTTOM est ici, le paramètre de référence. En effet, il permet d'estimer le niveau de potentiel antagoniste de l'échantillon : plus sa valeur se rapproche du niveau basal (valeur du témoin DMSO), plus le niveau d'antagonisme va être considéré comme élevé. L'échantillon peut être considéré comme antagoniste partiel si sa valeur BOTTOM est supérieure à 10 % de DHT, et comme antagoniste total si elle atteint 10 % de DHT. Il ressort que les échantillons PM₁₀ induisent une chute de plus de 50 % de l'activité androgénique de la DHT, tandis que l'extrait de TSP inhibe que d'environ 30 % cette activité. Même s'il est compliqué de comparer les différents types de particules entre elles considérant le nombre insuffisant d'échantillons présentant un potentiel anti-androgénique significatif et exploitable dans nos conditions d'expérience, il ressort quand même que les extraits de PM montrent un potentiel anti-androgénique partiel vis-à-vis de l'activité de la DHT. D'après ces seules données exploitables, le potentiel anti-androgénique des PM d'origine urbaine étudiés tend à être plus élevé pour les PM₁₀ (par rapport aux TSP) et en saison chaude.

D'autres échantillons ont pu montrer des concentrations d'inhibition significative par rapport à l'activité de la DHT, mais sans que les relations dose-réponse soient exploitables par le logiciel GraphPad Prism pour confirmer ou non leur effet anti-androgénique. D'autres répétitions d'expérience auraient été nécessaires, notamment en exposant les cellules AIZ-AR sur des gammes de dilutions d'échantillons intégrant des concentrations plus importantes en extraits particulaires. En raison des quantités restantes et limitées pour chaque échantillon, ces expériences supplémentaires n'ont pu être réalisées, au profit de l'approfondissement des effets œstrogéniques et *dioxin-like*. Néanmoins, l'ensemble de ces résultats est également en cohérence avec la littérature qui rapporte un potentiel anti-androgénique de la contamination de l'air ambiant. Nováková *et al.* (2020) ont montré que l'effet anti-androgénique avait tendance à être observé uniquement dans la phase gazeuse de l'air.

Considérant le peu d'échantillons pour lesquels une courbe sigmoïdale complète a permis de calculer les paramètres dose-réponse par régression de Hill, le potentiel anti-androgénique n'a pas été exprimé en équivalents hormonaux.

Tableau 32 : Valeurs IC50 (en µg de particules) et BOTTOM (en % de DHT) des extraits de TSP (Hiv12) et de PM₁₀ (Ete2, Ete10).

	<i>IC50 (en µg de particules)</i>	<i>BOTTOM (% DHT)</i>
<i>TSP (Hiv12)</i>	8,053	71,340
<i>PM₁₀(Ete2)</i>	9,645	46,860
<i>PM₁₀(Ete10)</i>	7,712	42,810

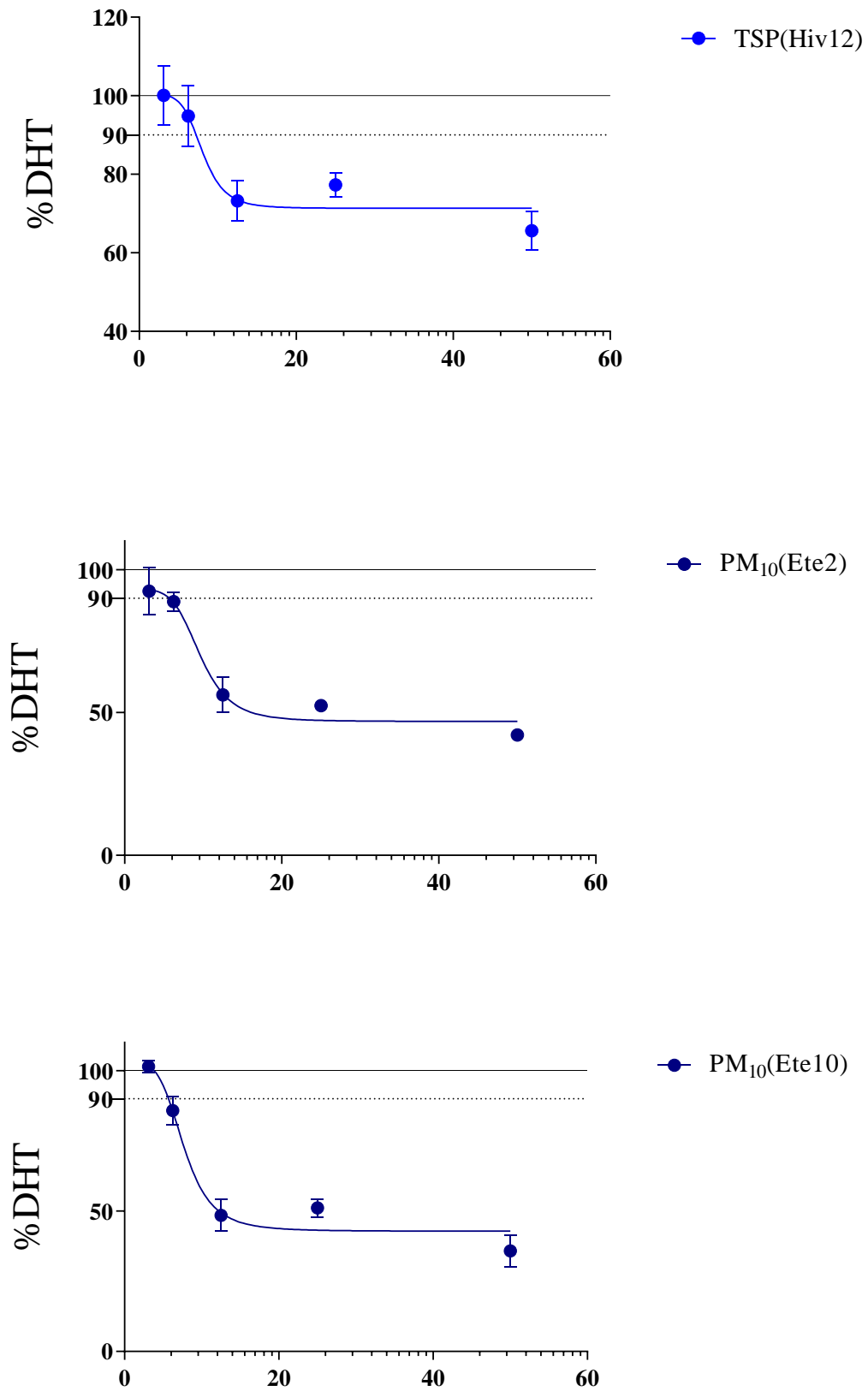


Figure 56 : Courbes dose-réponse complètes obtenues pour l'effet anti-androgénique selon les échantillons (en % de DHT, abscisse en μg de particules).

III. Potentiel *dioxin-like* des extraits de PM

Le potentiel *dioxin-like* des extraits de PM a été étudié sur les cellules AZ-AhR, en exprimant les activités en % de la réponse maximale du contrôle positif, la TCDD. Quelle que soit leur concentration testée, ces extraits n'ont engendré aucune cytotoxicité. De plus, leurs blancs correspondants n'ont pas engendré de niveau d'activité significatif (< à 10 % de la réponse maximale de TCDD). Les résultats présentés sont ramenés au μg de particules extraites dans une première partie, mais aussi au m^3 d'air dans une seconde partie. Dans cette partie, pour les résultats de l'effet maximal induit par les extraits particulaires (TOP, en % de TCDD ; en Annexe 45, Annexe 46, Annexe 47), les valeurs dépassant les 100% d'effet induit ont été ramenées à 100 dans les calculs (moyennes, tests statistiques). Ce calcul de TOP par le logiciel GraphPad Prism fait suite à la régression non linéaire de Hill appliquée aux courbes dose-réponse obtenues. Le TOP peut constituer une projection de l'effet maximal dans les conditions où le plateau haut d'effet induit par les extraits n'est pas complet, et de ce fait être estimé à plus de 100%. Néanmoins, cette projection indique que ces échantillons ont la capacité d'atteindre les 100% d'effets et de se comporter comme agonistes totaux du récepteur AhR. Ici, les échantillons sont considérés comme agonistes totaux lorsque leur valeur TOP correspond à $100 \pm 10\%$ de l'effet du composé de référence, la TCDD.

1. Potentiel *dioxin-like* des extraits de PM rapporté au μg de particules

a. TSP

La Figure 58 présente les courbes dose-réponse du potentiel *dioxin-like* de tous les extraits de TSP selon les sites (P13, P15, Champigny) et les saisons (été, hiver). Le bilan des valeurs d'EC50 calculées pour toutes les expérimentations (échantillons testés jusqu'à $n=3$) est présenté dans le Tableau 33 ; ce bilan est présenté pour les valeurs TOP en Annexe 45.

Les courbes sigmoïdales obtenues pour les échantillons de la saison froide, complètes pour la grande majorité, ont permis le calcul des paramètres dose-réponse par régression non linéaire de Hill, notamment les valeurs EC50 et TOP présentées ici. En revanche, aucune courbe sigmoïdale complète n'a pu être établie pour les échantillons de la saison chaude, ce qui entraîne une robustesse moins importante pour le calcul des valeurs d'EC50 et du TOP de cette période.

Tous les échantillons hiver, sauf l'échantillon Hiv12 du site de Champigny, ont un niveau de réponse significatif (> 10% d'effet de la TCDD). Seuls les échantillons de la saison chaude Ete9, Ete10, Ete5 et Ete6 montrent un niveau de réponse non significatif.

Des données TOP, il ressort que le niveau d'induction du potentiel *dioxin-like* semble être bien plus important en saison froide plutôt qu'en saison chaude, pour les extraits de TSP, avec respectivement 86% contre 29% en moyenne. Ces différences saisonnières entre valeurs TOP sont significatives ($p < 0,0001$), Figure 57. Notons également que pour les échantillons TSP de saison froide, 6 sur les 10 étudiés ont la capacité d'être agoniste total du récepteur AhR, d'induire un niveau de réponse de $100 \pm 10\%$. Un seul échantillon a ce profil en saison chaude, c'est Ete11, mais ce résultat n'a pu être observé deux fois, et de ce fait, il faudrait tester de nouveau cet échantillon pour le confirmer, mais une quantité insuffisante de cet échantillon a empêché de réaliser ce nouveau test.

Tableau 33 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits TSP pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

TSP	EC50 (μg particules extraites)			
	N=1	N=2	N=3	Moyenne
<i>Hiv3</i>	44	82		63
<i>Hiv4</i>	77	121		99
<i>Hiv5</i>	13	31		22
<i>Hiv6</i>	14	15	13	14
<i>Hiv7</i>	19	32		25
<i>Hiv8</i>	55	112		83
<i>Hiv9</i>	20	30	35	28
<i>Hiv10</i>	35	61		48
<i>Hiv11</i>	45	NC	70	57
<i>Hiv12</i>	65	NC	95	80
Moyenne Hiver				49
<i>Ete1</i>	NC	47	53	47
<i>Ete2</i>	NC	62	165	114
<i>Ete3</i>	NC	17	14	15
<i>Ete4</i>	182	NC	NC	182
<i>Ete5</i>	50	115	79	82
<i>Ete6</i>	NC	397	53	225
<i>Ete7</i>	NC	NC	84	84
<i>Ete8</i>	NC	536	102	319
<i>Ete9</i>	NC	NC	83	83
<i>Ete10</i>	82	83	170	82
<i>Ete11</i>	137	NC		137
<i>Ete12</i>	NC	114		114
Moyenne Été				125

Concernant les valeurs d'EC50 des extraits de TSP, la moyenne en saison froide est de 49 µg contre 125 µg en moyenne en saison chaude. Il faut donc en moyenne 2,5 fois moins d'extraits organiques de TSP prélevés en saison froide pour obtenir le même effet *dioxin-like* que la contamination organique de TSP prélevées en saison chaude. Mais cette différence été/hiver n'est pas significative (p-value = 0,3019), certainement en raison de certaines valeurs extrêmes pour chaque saison.

Il ressort que la contamination organique des TSP présente un potentiel agoniste du récepteur AhR à la TCDD qui est plus élevés en hiver qu'en été ; ce potentiel agoniste peut être considéré comme total en saison froide.

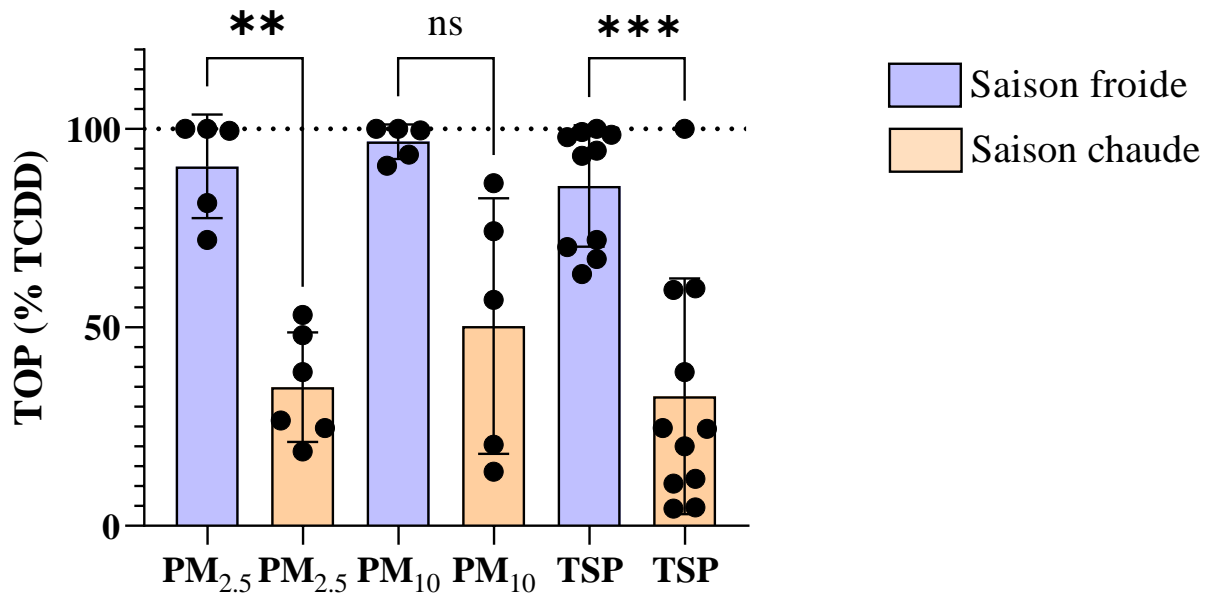


Figure 57 : Histogramme des TOP induits (en % de la TCDD) selon les types de particules (PM_{2.5}, PM₁₀, TSP) en fonction des saisons froide et chaude.

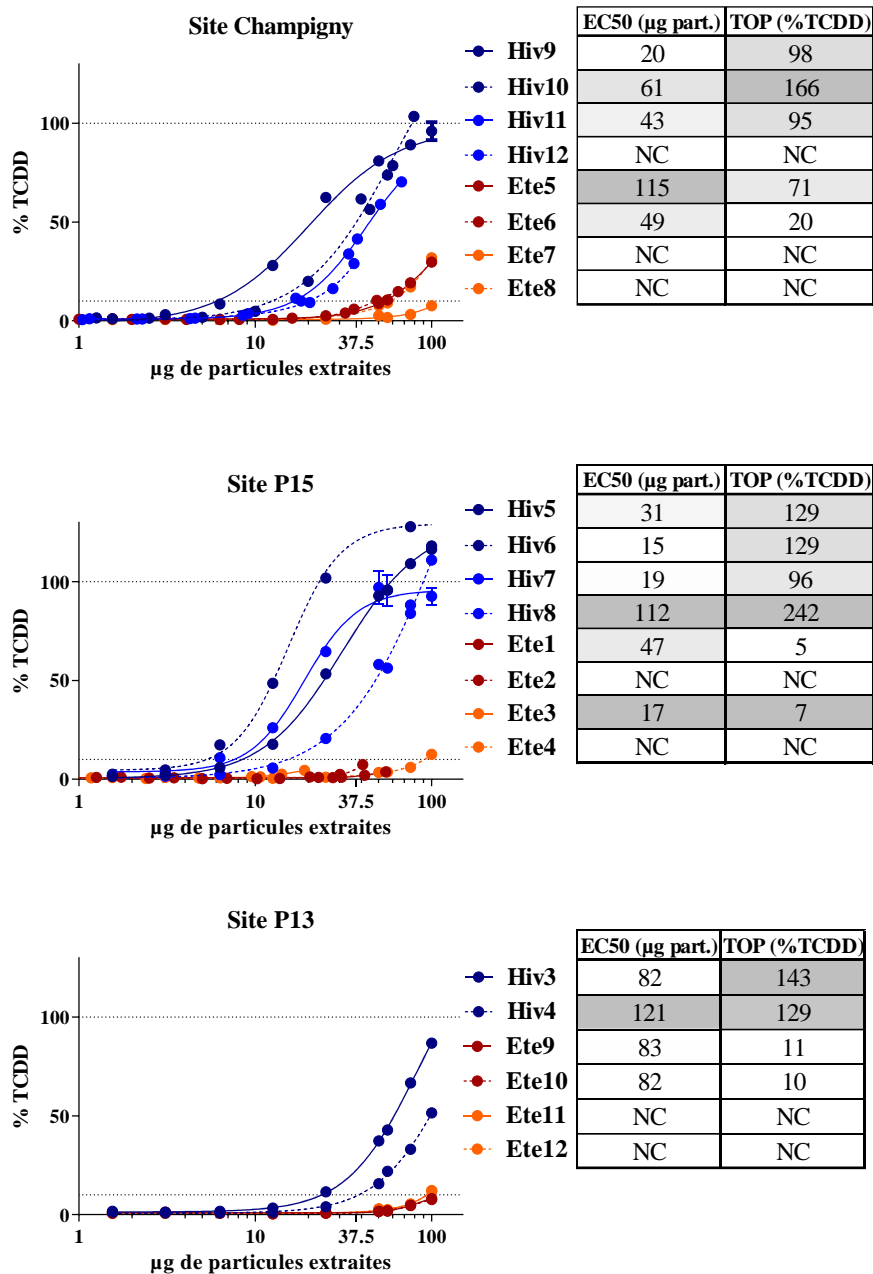


Figure 58 : Potentiel dioxin-like des extraits de TSP (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD (% TCDD). En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes ; NC : non calculable.

b. PM_{10}

La Figure 59 présente les courbes dose-réponse du potentiel *dioxin-like* de tous les extraits de PM_{10} selon les sites (P13, P15, Champigny) et les saisons (été, hiver). Le bilan des valeurs EC50 de toutes les expérimentations (échantillons testés jusqu'à n=3) est présenté dans le Tableau 34. Les valeurs TOP pour chaque test sur ces échantillons sont en Annexe 46.

Tous les extraits de PM_{10} en saison froide et saison chaude, à l'exception de l'échantillon Ete10, ont un niveau de réponse significatif (> 10 % d'effet de la TCDD). Avec les dilutions d'extraits qui ont pu être testées, des sigmoïdes dose-réponse complètes ou presque, ont pu être obtenues uniquement pour les échantillons de la saison froide. Comme pour les TSP, les extraits de PM_{10} prélevées en hiver présentent des courbes dose-réponse les plus décalées vers les masses en particules les plus faibles par rapport aux échantillons de la saison chaude, et ce quel que soit le site.

Cette observation graphique est en accord avec une moyenne des valeurs EC50 plus basses en saison froide (30 μg) qu'en saison chaude (88 μg). Il semblerait qu'il faille donc globalement 2 fois moins d'extraits de PM_{10} prélevées en saison froide pour obtenir le même effet *dioxin-like* que la contamination organique de PM_{10} prélevées en saison chaude. Mais cette différence saisonnière entre valeurs EC50 n'est pas significative ($p= 0,1773$), certainement en raison de certaines valeurs extrêmes pour chaque saison.

Tableau 34 : Valeurs EC50 (en μg de particules) de tous les extraits PM_{10} pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

PM_{10}	<i>EC50 (μg particules extraites)</i>			Moyenne
	n=1	n=2	n=3	
<i>Hiv3</i>	38	44		41
<i>Hiv6</i>	13	16	10	13
<i>Hiv8</i>	22	41		32
<i>Hiv9</i>	44	31	23	33
<i>Hiv11</i>	29	43	38	37
Moyenne Hiver				30
<i>Ete2</i>	40	65	69	65
<i>Ete4</i>	32	69	48	49
<i>Ete5</i>	86	101	NC	93
<i>Ete7</i>	NC	NC	150	150
<i>Ete10</i>	NC	NC	NC	NC
<i>Ete12</i>	94	211		152
Moyenne Été				88

Concernant les valeurs TOP, elles montrent un niveau d'induction de l'activité *dioxin-like* plus élevé en saison froide qu'en saison chaude, avec respectivement des valeurs moyennes totales de 96 et 52 % de la TCDD. Cependant, ces différences saisonnières ne sont pas significatives ($p = 0,2567$), en raison de quelques échantillons de saison chaude ayant des niveaux d'activité élevés. Néanmoins, quel que soit le site urbain, les courbes dose-réponse montrent que les échantillons issus de la saison froide engendrent un niveau d'induction de l'activité *dioxin-like* qui atteint les 100 ± 10 % de réponse équivalente à la TCDD, et que les 5 échantillons de saison froide testés peuvent être considérés comme agonistes totaux.

Ainsi la contamination organique des PM_{10} prélevées présenterait donc aussi un potentiel *dioxin-like* qui tend à être plus élevé en hiver qu'en été, et montre un potentiel agoniste total du récepteur AhR à la TCDD en hiver.

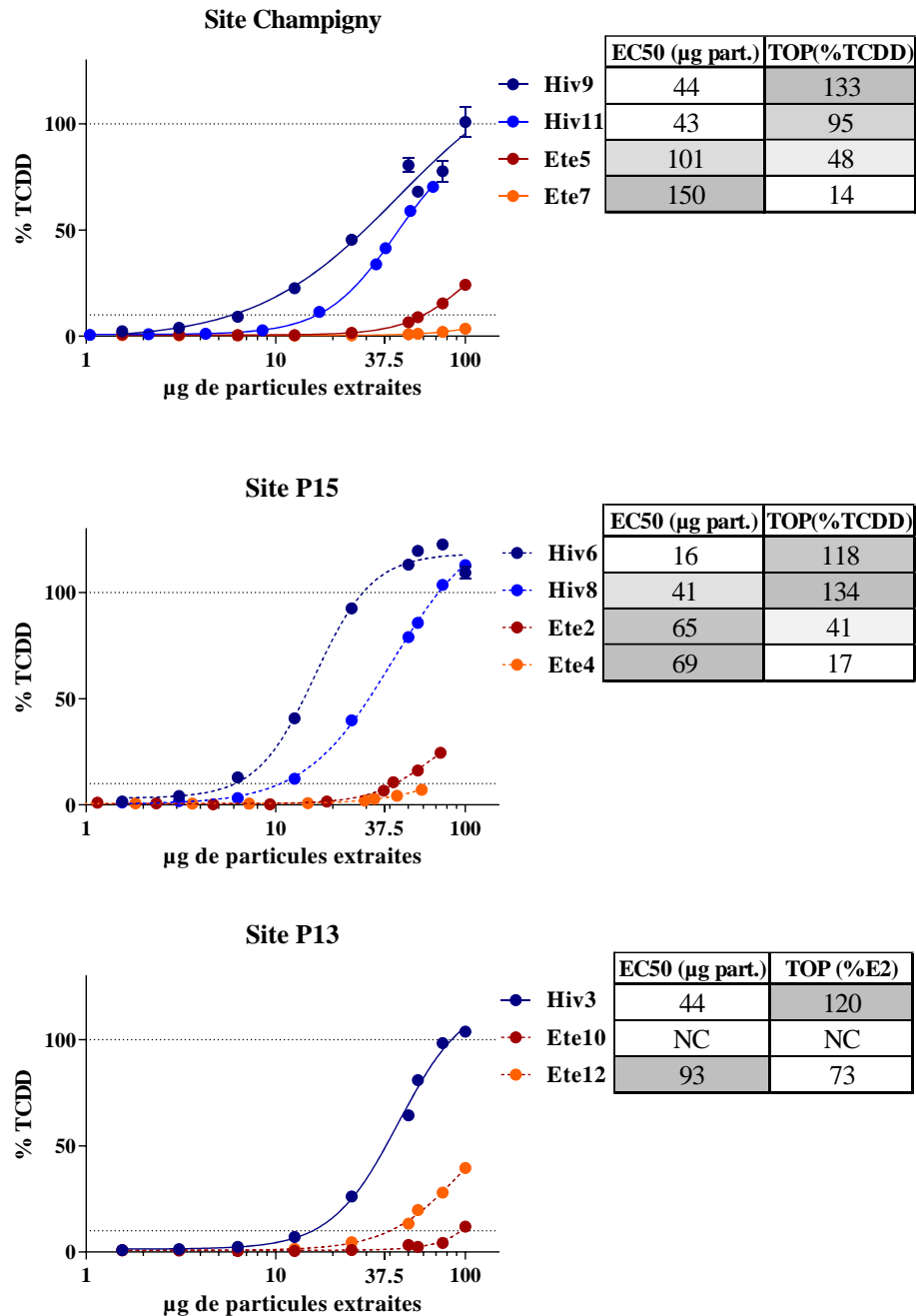


Figure 59 : Potentiel *dioxin-like* des extraits de PM₁₀ (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD. En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % de TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes ; NC : non calculable.

c. $PM_{2,5}$

La Figure 60 présente les courbes dose-réponse du potentiel *dioxin-like* de tous les extraits de $PM_{2,5}$ selon les sites (P13, P15, Champigny) et les saisons (été, hiver). Le bilan des valeurs d'EC50 calculées pour toutes les expérimentations (échantillons testés jusqu'à n=3) est présenté dans le Tableau 35. Les valeurs de TOP sont indiquées en Annexe 47.

Tous les échantillons, à l'exception de l'échantillon Ete3, engendrent un niveau de réponse significatif (> 10 % d'effet de la TCDD). Le décalage des courbes dose-réponse vers la gauche (et donc vers des quantités de particules extraites plus faibles pour induire un effet) entre les extraits de $PM_{2,5}$ prélevés en hiver et ceux issus de l'été est marqué pour tous les sites. Cette observation graphique est en accord avec les valeurs EC50 des échantillons : la moyenne en saison froide est de 25 μg contre 56 μg en saison chaude. A masse égale, les extraits de $PM_{2,5}$ prélevés en saison froide induisent en théorie une activité *dioxin-like* environ deux fois plus élevée que ceux récoltés en saison chaude. Mais, cette différence saisonnière n'est pas significative ($p = 0,227$).

Tableau 35 : Valeurs EC50 (en µg de particules) de tous les extraits PM_{2,5} pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée.

<i>PM_{2,5}</i>	<i>EC50 (µg particules extraites)</i>			Moyenne
	n=1	n=2	n=3	
<i>Hiv4</i>	44	17		31
<i>Hiv5</i>	10	12		11
<i>Hiv7</i>	13	19		16
<i>Hiv10</i>	23	32		28
<i>Hiv12</i>	30	NC	47	38
<i>Moyenne Hiver</i>				25
<i>Ete1</i>	23	27	29	26
<i>Ete3</i>	16	20	27	21
<i>Ete6</i>	76	49	123	83
<i>Ete8</i>	47	NC	NC	47
<i>Ete9</i>	NC	NC	81	81
<i>Ete11</i>	127	86		107
<i>Moyenne Été</i>				56

Concernant le niveau d'induction du potentiel *dioxin-like*, il est bien plus important en saison froide (valeurs TOP moyenne de 91 %) qu'en saison chaude (valeurs TOP moyenne de 34 %). Cette différence saisonnière de valeurs TOP est significative ($p < 0,05$). De plus, comme pour les TSP et les PM₁₀, des extraits PM_{2,5} atteignent en saison froide le niveau de réponse maximal de la TCDD (100 ± 10 %) ; trois échantillons hiver sur les cinq testés sont dans ce cas. Pour ces trois échantillons, la contamination des extraits organiques de PM_{2,5} présente donc un potentiel agoniste total.

Comme pour les TSP et les PM₁₀, la contamination organique des PM_{2,5} présente un potentiel *dioxin-like* qui tend à être plus élevé en hiver qu'en été, un potentiel agoniste du récepteur AhR à la TCDD plus élevé en hiver qu'en été et ce potentiel agoniste peut être considéré comme total en saison froide pour trois échantillons.

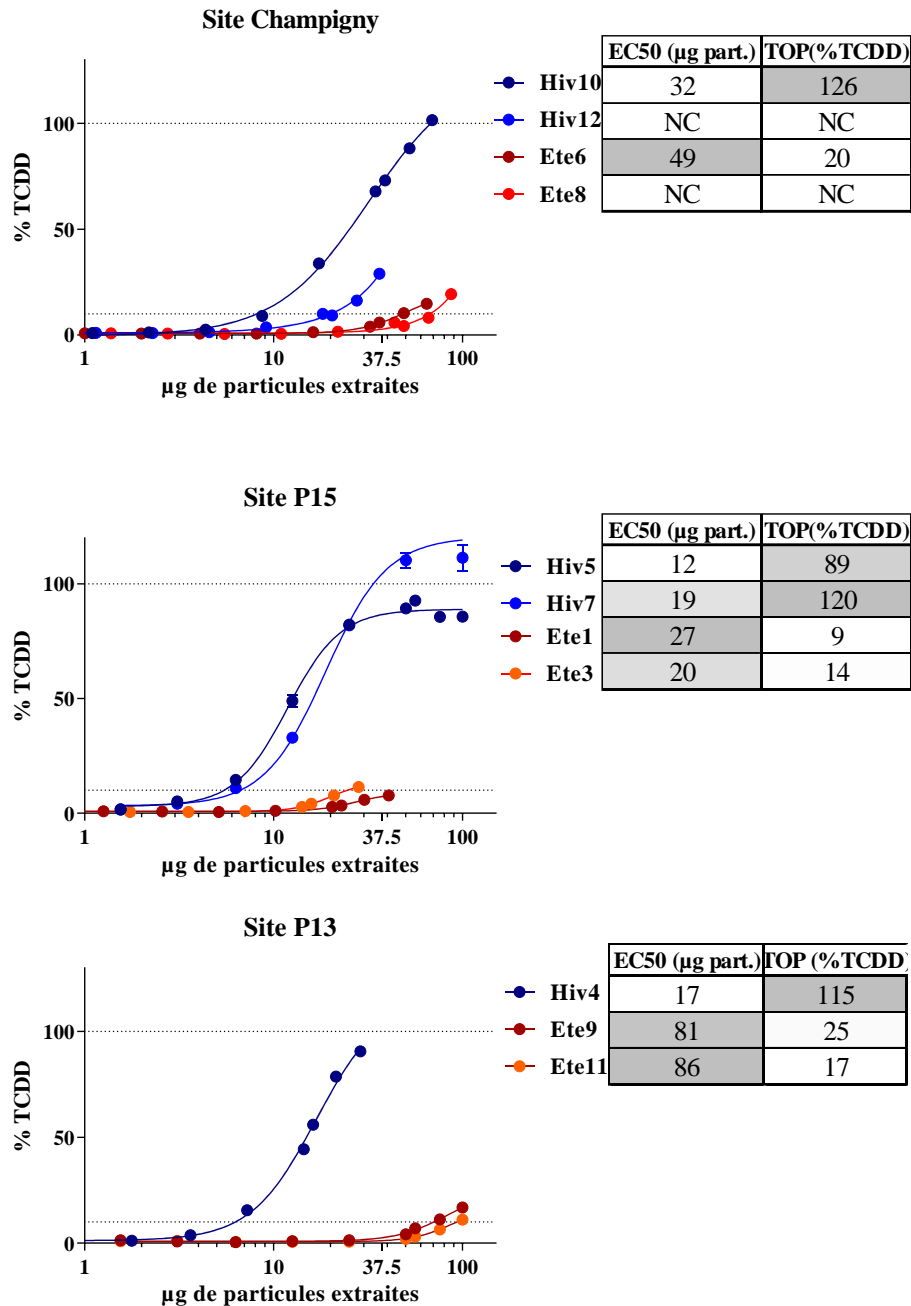


Figure 60 : Potentiel dioxin-like des extraits de PM_{2.5} (en µg de particules) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM). Résultats d'une expérience répétée jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD (% TCDD). En encart : valeurs EC50 (en µg de particules extraites) et valeur TOP (en % de TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes. NC : non calculable.

d. Comparaison entre les types de particules (TSP, PM₁₀ et PM_{2,5})

Afin d’appréhender l’influence de la fraction granulométrique et de la saison, sur le potentiel *dioxin-like*, les différents types d’extraits particulaires (TSP, PM₁₀ et PM_{2,5}) ont été comparés entre eux pour une saison donnée, quant à leurs valeurs TOP et EC50.

COMPARAISON ENTRE TYPES D’EXTRAITS PARTICULAIRES D’APRES LEUR VALEUR EC50

Les résultats présentés dans la Figure 61 montrent qu’il n’y a pas de différence significative de valeurs EC50 relatives à la TCDD obtenues en µg de particules extraites entre les différents types de particules au sein d’une même saison. Puisque la fraction PM_{2,5} présente un potentiel *dioxin-like* significatif et que l’EC50 associé est similaire à celui des autres fractions (PM₁₀ et TSP), fractions qui contiennent les PM_{2,5}, cette fraction fine des PM semble contribuer en majorité à l’activité associée aux PM₁₀ et TSP.

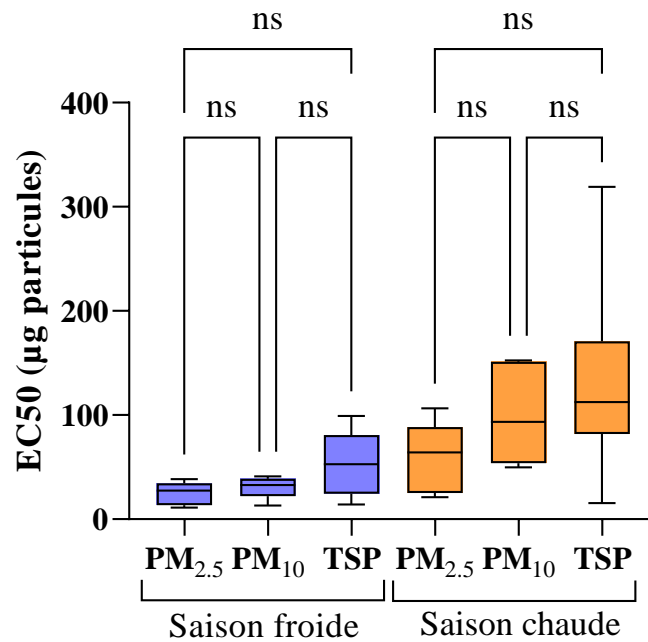


Figure 61 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à la TCDD (en µg de particules) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) en saisons froide et chaude.

En saison chaude, les classes de particules tendent à suivre l’ordre croissant suivant quant à leur potentiel *dioxin-like*, PM_{2,5} < PM₁₀ < TSP, en regard de leurs valeurs EC50, soit respectivement 56,3 < 87,6 < 125 µg de particules. Ces données confortent le fait que la majorité du potentiel *dioxin-like* des particules atmosphériques proviendrait de la contamination organique des PM_{2,5}.

En saison froide, les classes de particules tendent à suivre l'ordre croissant suivant quant à leur potentiel *dioxin-like* : $PM_{2,5} < PM_{10} < TSP$ en regard de leurs valeurs EC50, soit respectivement $24,6 < 30,3 < 49,3 \mu\text{g}$ de particules. De l'ensemble de ces données, il ressort que la fraction granulométrique la plus fine tend à supporter la majorité de la contamination particulaire à potentiel *dioxin-like*.

COMPARAISON ENTRE TYPES D'EXTRAITS PARTICULAIRES D'APRES LEUR VALEUR TOP

La Figure 62 présente le potentiel *dioxin-like* maximal (TOP, en % de la TCDD) induit par les extraits particulaires pour chaque classe granulométrique et pour chaque saison.

Pour une même saison (froide ou chaude), il n'y a pas de différence significative entre les niveaux de réponses maximales (valeurs TOP) entre les particules. Puisque la fraction $PM_{2,5}$ présente un potentiel agoniste significatif et que le TOP associé est similaire à celui des autres fractions (PM_{10} et TSP) qui contiennent les $PM_{2,5}$, cette fraction fine des PM peut contribuer en grande partie au potentiel *dioxin-like* associé aux PM_{10} et TSP.

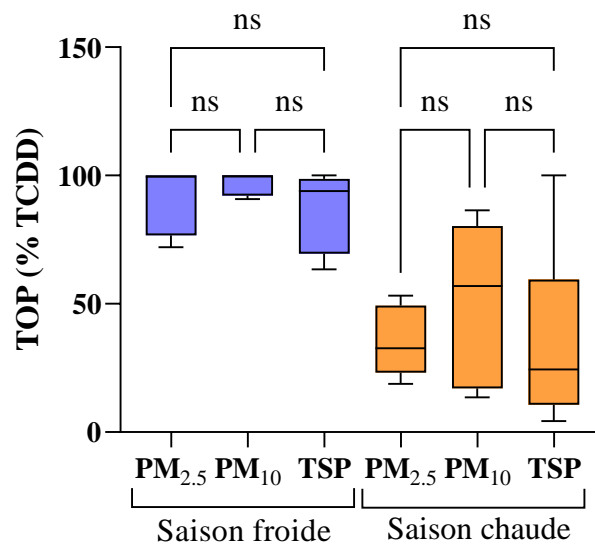


Figure 62 : Boxplot des TOP induits (en % de la TCDD) selon les types de particules ($PM_{2,5}$, PM_{10} , TSP) en saisons froide et chaude.

En saison froide, les classes de particules PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP sont similaires quant à leurs valeurs TOP (en % de la TCDD), soit respectivement 91 %, 96 % et 86 %. Une faible différence d'effet maximal induit existe entre les PM_{2,5} et les PM₁₀ (5%), et elle n'est pas significative. Considérant que les PM_{2,5} sont incluses dans les PM₁₀ et les TSP, la quantité de contaminants à potentiel *dioxin-like* de type agoniste total pourrait être atteinte dans 1 µg de PM_{2,5}, et retrouvée dans les PM₁₀ et TSP. Le potentiel dioxin-like semble donc être supporté en saison froide par la fraction PM_{2,5}, même si les niveaux les plus hauts sont ici mesurés pour les échantillons PM₁₀.

En saison chaude, l'ordre décroissant des TOP (en % de la TCDD) est le suivant : PM₁₀ > PM_{2,5} > TSP, avec respectivement 52 % > 34% > 29 %. A l'inverse des échantillons PM_{2,5} et PM₁₀ hiver, ces pourcentages moyens n'atteignent pas le plateau 100 ± 10% et tendent à montrer une différence entre particules, même si elle n'est pas significative, Figure 62.

L'ensemble de ces observations vont dans le sens de ce qui est décrit dans la littérature. Ainsi, l'étude de Nováková *et al.* (2020) a montré que les niveaux d'activité *dioxin-like* les plus élevés étaient mesurés en phase particulaire, sur des échantillons hiver, en zone urbaine. De plus, cette étude ayant utilisé un impacteur pour fractionner les différentes classes granulométriques de particules issues d'un même prélèvement, les auteurs ont déterminé que ce sont les fractions de PM < 1 µm qui induisaient le potentiel *dioxin-like* le plus élevé. Cette fraction granulométrique n'a pu être étudiée ici, néanmoins ces données vont dans le sens des observations (Figure 61). Le potentiel *dioxin-like* serait amené en majorité par la fraction la plus fine, les PM_{2,5}.

2. Potentiel *dioxin-like* des extraits de PM rapporté au m³ d'air

Les résultats de l'induction dioxin-like en µg de particules extraites ont permis d'estimer l'activité amenée par 1 µg de chaque fraction granulométrique. Afin de remettre en perspective ces résultats, il est nécessaire de considérer le potentiel dioxin-like des extraits particuliers rapporté au m³ d'air, expression qui tient compte des teneurs variées en types de particules dans l'air et permettant d'avoir des clés de compréhension pour l'exposition pulmonaire humaine.

Les PM_{2,5} semblent être la fraction granulométrique porteuse du potentiel *dioxin-like* le plus élevé mais, ce sont également les particules les moins concentrées dans l'air. Il est donc nécessaire de prendre en compte ce paramètre pour déterminer si dans un même volume d'air, le potentiel *dioxin-like* est toujours amené par cette fraction granulométrique. Des courbes dose-réponse représentant le niveau de % de la TCDD induit en fonction des m³ d'air extraits pour chaque échantillon figurent en annexe, Annexe 48, Annexe 49 et Annexe 50, ainsi que le détail

des valeurs EC50 par répétition d'expérience et en moyenne par saison (Annexe 51, Annexe 52, Annexe 53) respectivement pour les extraits de TSP, PM10 et PM2,5. Les valeurs TOP ne sont pas présentées, car elles ne diffèrent pas selon que les activités *dioxin-like* soient données pour des dilutions d'extraits exprimées en μg de particules ou en m^3 d'air extraits.

a. TSP

Les valeurs d'EC50 des extraits de TSP vont de 1,2 à 12,5 m^3 d'air en été, et de 0,3 à 3,7 m^3 d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 51). En saison froide, l'EC50 moyen des TSP est de 1,7 m^3 d'air extrait, alors qu'en saison chaude cette valeur est de 5,9 m^3 (Tableau 36). D'après les concentrations efficaces médianes de leurs extraits, les TSP présentent un potentiel *dioxin-like* similaire entre les deux saisons pour un volume d'air inhalé environ 3,5 fois plus faible en hiver qu'en été. Mais cette différence saisonnière n'est pas significative ($p = 0,9698$).

b. PM₁₀

Les valeurs d'EC50 des extraits de PM₁₀ vont de 0,7 à 3,3 m^3 d'air en été, et de 0,1 à 0,7 m^3 d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 52). En saison froide, l'EC50 moyen des PM₁₀ est de 1,5 m^3 , alors qu'en saison chaude cette valeur est de 5,4 m^3 . Cette différence saisonnière est significative ($p = 0,0331$, Figure 63). Comme pour les TSP, les PM₁₀ présentent un potentiel *dioxin-like* similaire entre les deux saisons pour un volume d'air inhalé environ 3,5 fois plus faible en hiver qu'en été, comme pour les TSP.

c. PM_{2,5}

Les valeurs d'EC50 des extraits de PM_{2,5} vont de 3,4 à 7,8 m^3 d'air en été, et de 0,5 à 6,4 m^3 d'air en hiver selon les échantillons (Annexe 53). En saison froide, l'EC50 moyen des PM_{2,5} en m^3 d'air extrait est de 3,0 m^3 , alors qu'en saison chaude cette valeur est de 4,5 m^3 . Les PM_{2,5} présentent donc un potentiel *dioxin-like* similaire entre les deux saisons pour un volume d'air 1,5 fois plus faible en hiver qu'en été. Cette différence saisonnière entre valeurs d'EC50 est moins marquée que pour les TSP ou les PM₁₀. Elle n'est d'ailleurs pas significative ($p = 0,1109$).

d. Comparaison entre les types de particules (TSP, PM₁₀, PM_{2,5})

Comme pour les résultats rapportés au μg de particules extraites, il est maintenant nécessaire de comparer les classes de particules entre elles pour leur potentiel *dioxin-like* d'après les EC50 exprimées en m^3 d'air. La Figure 63 présente la comparaison des EC50 entre les fractions granulométriques testées pour chaque saison.

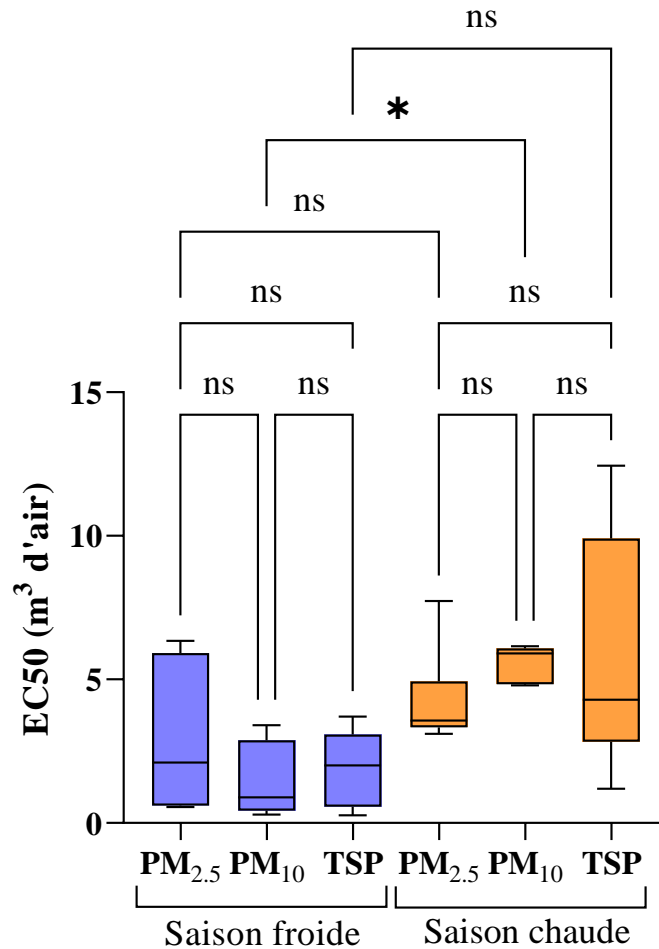


Figure 63 : Boxplot des valeurs EC50 relatives à la TCDD (en m³ d'air extrait) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) en saisons froide et chaude

Les résultats présentés dans la Figure 63 montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents types de particules en regard de leurs valeurs EC50 exprimées en m³ d'air extraits, que ce soit pour la saison froide ou la saison chaude. En théorie, à volume d'air égal (1 m³ par exemple), une exposition pulmonaire aux PM_{2,5}, PM₁₀ ou TSP apporterait le même potentiel *dioxin-like*. Puisque les PM₁₀ et les TSP incluent les PM_{2,5}, la contamination des PM_{2,5} apportée dans 1 m³ d'air pourrait être déjà en quantité suffisante pour engendrer le potentiel *dioxin-like* associé à la contamination particulaire atmosphérique totale en milieu urbain.

Tableau 36 : Récapitulatif des valeurs EC50 pour les effets dioxin-like (moyenne ± écart-type) pour chaque classe de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) et saison (froide, chaude). Les EC50 sont exprimées en µg de particules extraites et en m³ d'air extrait.

Type de particules	EC50 (µg part.)			EC50 (m ³ d'air)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
Saison froide (moyenne ± écart-type)	24,6 ± 13,2	30,3 ± 12,3	49,3 ± 32,4	3,0 ± 2,9	1,5 ± 1,3	1,7 ± 1,4
Saison chaude (moyenne ± écart-type)	56,3 ± 38,9	87,6 ± 52,4	125,0 ± 124,4	4,5 ± 2,4	5,4 ± 1,6	5,9 ± 5,5

Les données du potentiel *dioxin-like* des extraits de PM rapporté au m³ d'air donnent des conclusions similaires à celles des activités ramenées au µg de particules (Tableau 36). Néanmoins, une différence est observée : les EC50 exprimées en m³ d'air extrait sont significativement plus basses pour les échantillons PM₁₀ en saison froide, par rapport à la saison chaude, en lien avec leur présence dans l'air plus élevée que les PM_{2,5}.

3. Calcul des TEQbio

Les activités transcriptionnelles dépendantes du récepteur AhR et induites par les extraits particuliers ont été présentées jusqu'ici en % de la réponse maximale de la TCDD sous forme de courbe dose-réponse, avec les paramètres TOP (en % de TCDD) et EC50 (en µg de particules ou en m³ d'air extraits).

De manière similaire à EEQbio pour les effets œstrogéniques, ces activités transcriptionnelles ont été *in fine* quantifiées en équivalents TCDD (TEQbio) par la méthode non linéaire, comme décrit dans le *Chapitre 2 – Matériels et Méthodes*. Ces valeurs TEQbio permettent d'avoir une estimation du potentiel *dioxin-like* d'un échantillon donné ramené à l'activité du composé de référence, ici la TCDD. Ces TEQbio sont présentés en pg de TCDD/m³, afin de rapporter le potentiel *dioxin-like* à un volume d'air inhalé.

Les valeurs TEQbio calculées (en moyenne par échantillon) sont présentées dans le Tableau 37. Certaines valeurs de TEQbio n'ont pas pu être calculées (notées NC), en raison d'une courbe dose-réponse non exploitables pour déterminer les paramètres principaux de la régression non linéaire de Hill.

Les valeurs TEQbio calculables s'étalent sur une large plage de valeurs, allant de <0,001 à 1392 pg de TCDD/m³, avec une valeur moyenne sur l'ensemble des extraits particuliers de 17,2 pg de TCDD/m³. Les valeurs moyennes sur l'ensemble des saisons sont décroissantes

entre les trois classes de particules selon l'ordre suivant : TSP (22,0 pg de TCDD/m³) > PM₁₀ (7,85 pg de TCDD/m³) > PM_{2,5} (2,37 pg de TCDD/m³).

Concernant les valeurs de TEQbio selon les saisons, elles sont largement plus élevées en moyenne en hiver qu'en été, que ce soit pour les TSP (99 *versus* 2,26 pg de TCDD/m³), les PM₁₀ (251 *versus* 0,87 pg de TCDD/m³) ou les PM_{2,5} (104 *versus* 1,47 pg de TCDD/m³). Ces données montrent par ailleurs des TEQbio variables entre classes de particules. En été, les valeurs moyennes baissent avec la diminution des tailles de particules (TSP > PM₁₀ > PM_{2,5}), alors qu'en hiver les TEQbio sont les plus élevés pour les PM₁₀ et similaires entre les TSP et les PM_{2,5}.

Tableau 37 : Valeurs TEQbio (en pg de TCDD/m³ d'air extraits) selon les types de particules (PM_{2,5}, PM₁₀, TSP) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny ; gradient et dégradé de couleurs allant du vert foncé au rouge foncé selon valeurs croissantes ; NC : non calculable

TEQbio (pg TCDD/m ³)				
Site	Ech.	PM _{2,5} (pgTCDD/m ³)	PM ₁₀ (pgTCDD/m ³)	TSP (pgTCDD/m ³)
P13	Hiv3		647,892	66,197
	Hiv4	80,832		21,518
P15	Hiv5	120,326		1392,443
	Hiv6		1157,481	317,966
	Hiv7	238,342		182,208
	Hiv8		219,395	204,689
Champigny	Hiv9		250,573	99,138
	Hiv10	88,660		70,805
	Hiv11		12,782	21,996
	Hiv12	NC		NC
P15	Ete1	0,936		0,499
	Ete2		2,908	NC
	Ete3	1,470		0,954
	Ete4		0,874	NC
Champigny	Ete5		2,902	5,062
	Ete6	1,717		2,896
	Ete7		0,693	NC
	Ete8	NC		NC
P13	Ete9	2,371		3,731
	Ete10		NC	1,628
	Ete11	0,003		NC
	Ete12		0,000	NC

Par comparaison avec les données issues de la littérature, les niveaux de TEQbio calculés en saison chaude, allant de << 0,001 pg de TCDD/m³ (PM₁₀ Ete12) à 2,908 pg de TCDD/m³ (PM₁₀ Ete2), correspondent à ceux relevés dans l'étude de Novák *et al.* (2013). Cette étude avait estimé des valeurs de TEQbio pour des PM₁₀ collectées sur un site urbain, comprises entre 2 et 10 pg de TCDD/m³ (selon le jour et la nuit), Ces prélèvements avaient été réalisés en juillet dans la région de Banja Luka (Bosnie-Herzégovine). Une large gamme de TEQbio (de 0,1 à 100 pg de TCDD/m³) a également été calculée dans une autre étude menée de juillet 2007 à février 2008. Ils avaient aussi observé une grande variabilité inter-sites (Novák *et al.*, 2014). Néanmoins, les niveaux très élevés de TEQbio mesurés pour les échantillons (Hiv5 et Hiv6),

n'ont pas été retrouvés dans d'autres études issues de la littérature. Ces activités équivalentes à la TCDD sont peut-être explicables par une contamination ponctuelle à cette date (les périodes de prélèvements se suivent) par des composés *dioxin-like* au niveau du site de prélèvement (P15).

Points clés sur la voie d'activation dioxin-like par les particules

Les particules totales induisent un effet maximal plus élevé en saison froide qu'en saison chaude.

Rapporté au volume d'air, ce sont les PM₁₀ de saison froide qui semblent avoir le potentiel *dioxin-like* le plus important : cette fraction a besoin d'une quantité de particules plus faible qu'en saison chaude pour induire 50 % de leur effet *dioxin-like*, et c'est celle qui induit le plus d'effet maximal, mais cet effet semble être principalement amené par la fraction la plus fine des particules étudiées ici, les PM_{2,5}.

Les extraits particulaires de saison froide ont la capacité d'être agonistes totaux du récepteur aryl aux hydrocarbures. Tous les extraits particulaires PM_{2,5} de saison froide ont montré un profil d'agonistes total pour AhR.

Les niveaux d'équivalent du composé de référence dans l'air atteignent jusqu'à 1 ng d'équivalent TCDD/m³ d'air, pour des échantillons PM₁₀ et TSP issus du même site en hiver sur une période de prélèvement proche.

CHAPITRE 5 - ACTIVITE BIOLOGIQUE EN LIEN AVEC LA CONTAMINATION CHIMIQUE

L'analyse chimique a montré que les composés majoritairement quantifiés dans les particules proviennent des familles de phtalates et de HAP. Les analyses biologiques ont mis en évidence que les effets *in vitro* testés ayant les plus hauts niveaux d'induction étaient de type *dioxin-like* et œstrogénique, ces effets étant particulièrement marqués pour les échantillons issus de saison froide. En l'absence de différence significative des profils de contamination chimique ainsi que des effets biologiques entre les fractions granulométriques testées, et considérant que les PM_{2,5} sont incluses dans les PM₁₀ et les TSP, il semble que les PM_{2,5} concentrent une plus grande quantité de polluants et sont à l'origine de la majorité des effets biologiques testés ici.

Afin de mettre en perspective ces résultats, il a été décidé de les analyser conjointement, à travers plusieurs méthodes : une approche théorique en lien avec des données extraites de la littérature et une approche par régression mettant en lien les données obtenues par l'analyse chimique et l'analyse biologique. Pour le lien entre la contamination chimique et les effets biologiques par régression, une approche par famille de composés a été retenue afin d'identifier quelle famille peut être à l'origine des effets observés. En effet dans l'environnement, plusieurs composés issus de la même famille sont potentiellement émis des mêmes sources et au même moment, ce qui incite à considérer les composés chimiques par familles. Cette mise en perspective des analyses chimiques et biologiques réalisées dans ce doctorat, se basera uniquement sur les effets biologiques marquants ayant été observés : les effets de type œstrogéniques et *dioxin-like*.

I. Influence de la contamination chimique sur les effets biologiques *in vitro* observés

1. Approche globale

Les résultats de la somme des composés des différentes familles quantifiés dans les échantillons, sont mis en relation avec les valeurs d'EC50 (concentration d'effet à 50 %) et les valeurs TOP (effet maximum induit par les échantillons) calculés par les analyses biologiques (Tableau 38). Les valeurs prises en compte dans l'analyse sont les moyennes pour un échantillon donné. Les tests biologiques pris en compte pour l'analyse globale établissant le lien entre les analyses chimiques et biologiques, sont ceux quantifiant les potentiels œstrogénique et *dioxin-like*, car ce sont ceux ayant montré les effets les plus significatifs.

Tableau 38 : Matrice de corrélation de Pearson entre la somme des teneurs des composés par famille (en ng/g) et les valeurs d'EC 50 et TOP pour les effets œstrogéniques et *dioxin-like*.

Variables	EC50 œstrogénique (µg de particules)	TOP (% E2)	EC50 dioxin-like (µg de particules)	TOP (% TCDD)
Somme phtalates	0,282	-0,134	0,191	-0,292
Somme HAP	-0,443	0,290	-0,304	0,198
Somme PCB	0,363	-0,242	0,259	-0,253
Somme PBDE	-0,236	0,167	-0,189	0,253
Somme pesticides sans DEET	-0,004	-0,060	-0,060	-0,009
Somme AP-APEO	0,044	0,141	-0,071	-0,052
Somme Parabènes	-0,067	0,169	0,195	-0,149

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

Lorsqu'une corrélation significative et positive est observée entre la somme des teneurs des composés et l'EC50, cela signifie que plus les concentrations dans les particules d'une famille de composés est élevée, plus l'effet à 50% sera induit avec une grande quantité de particules, et donc moins le potentiel d'effet biologique de la masse de particules sera élevé.

Parmi les résultats, les phtalates sont significativement corrélés avec l'EC50 œstrogénique ($r = 0,282$) et *dioxin-like* ($r = 0,191$), ce qui induit que plus les phtalates sont concentrés dans les particules atmosphériques, plus la concentration d'effet à 50% sera atteinte avec une grande quantité de particules extraites. Cette information indique que cette famille de molécules ne semble pas être à l'origine des effets œstrogéniques et *dioxin-like* observés sur les cellules. Pour l'effet *dioxin-like*, ces composés sont négativement corrélés ($r = -0,292$) avec la valeur TOP (effet maximal induit par les échantillons, en % de TCDD), ce qui indique que plus les teneurs

seront élevées, plus la valeur maximale d'effet induite par les échantillons pour l'effet *dioxin-like* sera faible. Les composés de la famille des PCB semblent également avoir le même profil.

La deuxième famille de composés les plus concentrés dans les particules sont les HAP. Ils semblent avoir un profil opposé au phtalates et aux PCB. En effet, ils sont négativement corrélés avec les EC50 œstrogénique ($r = -0,443$) et *dioxin-like* ($r = -0,309$), ce qui signifie que plus les teneurs en HAP seront élevées dans les particules, plus la quantité de particules extraites sera faible pour atteindre 50% de la réponse maximale. Cette corrélation semble indiquer que l'effet est plus rapidement atteint lorsque les teneurs sont grandes. De plus, l'effet maximal est significativement corrélé avec la présence de HAP ($r = 0,290$ pour l'effet oestrogénique et $r = 0,198$ pour l'effet *dioxin-like*). L'effet maximal sera donc plus élevé si la teneur en HAP dans les particules est élevée. Le profil d'effet induit par les PBDE, semble être similaire aux HAP.

Pour donner suite aux corrélations observées sur la matrice de Pearson entre la contamination des particules et les effets biologiques, les relations mises en évidence pour certaines familles de composés ont été étudiées plus précisément, par régression linéaire. Une transformation des données de type log-normale a été réalisée au préalable.

2. Familles de composés identifiées comme diminuant les effets biologiques

a. Phtalates

EFFETS ŒSTROGENIQUES

La relation entre la somme des phtalates quantifiée dans les particules et les effets œstrogéniques a été investiguée. Les régressions linéaires présentées en Figure 64 illustrent ce lien.

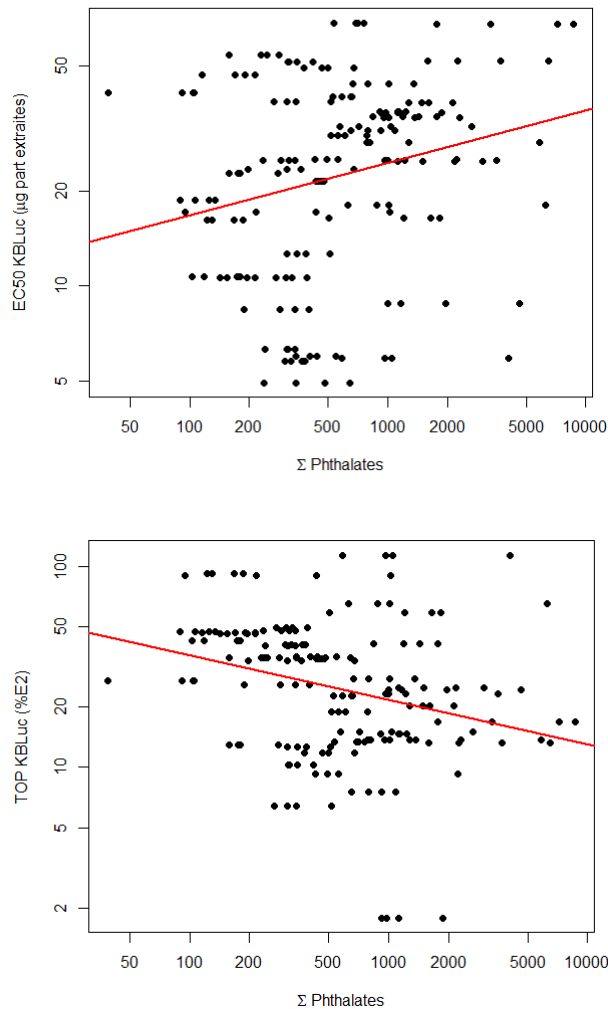


Figure 64 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% E2) calculés pour l'effet œstrogénique et la somme des phtalates quantifiées dans les particules.

Une relation linéaire est observée entre les phtalates et l'augmentation de l'EC50_{oest} pour l'effet œstrogénique [significatif, S = 639497 ; p = 0,001], le R est de 0,246. De plus, une relation linéaire significative a également été observé entre la somme des teneurs en phtalates et la diminution du TOP_{oest} [significatif, S = 1120942 ; p < 0,0001], le R est de - 0,321. Ces observations confirment ce qui a été vu précédemment dans la matrice de corrélation de

Pearson. Les phtalates, bien que présents en grande quantité dans les particules, ne semblent pas participer au potentiel œstrogénique induit par les extraits de particules.

EFFETS DIOXIN-LIKE

La régression linéaire entre la quantité de phtalates retrouvés dans les particules et les paramètres mesurés pour l'effet *dioxin-like* montre que les teneurs en phtalates tendent à augmenter l' $EC_{50_{diox}}$ [significatif, $S = 617251$; $p < 0,001$], avec un R de 0,272 (Figure 65). De manière similaire à l'effet œstrogénique, l'augmentation des teneurs en phtalates dans les particules sera associée à une diminution de l'effet *dioxin-like* maximal (TOP_{diox} en % de TCDD) induit par les extraits de particules [significatif, $S = 1145809$; $p < 0,001$], avec un R de -0,558.

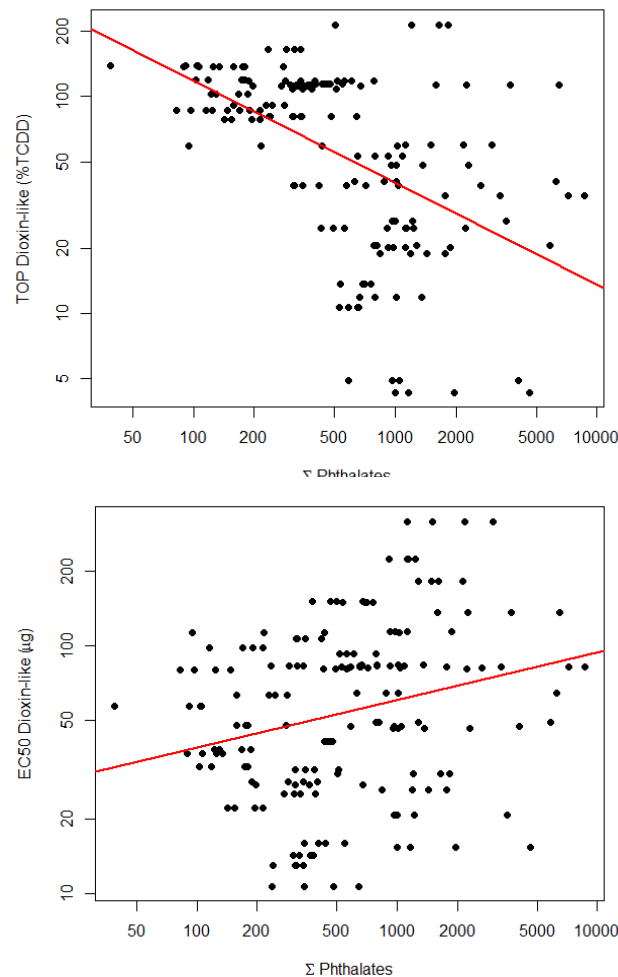


Figure 65 : Régressions linéaires entre les EC_{50} (μg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet *dioxin-like* et la somme des phtalates quantifiées dans les particules.

Bien qu'étant la famille de composés majoritairement retrouvés dans les particules, le rôle des phtalates semble ici être plutôt un élément « diminuant » les effets biologiques observés, de

manière globale, que cela soit pour l'effet œstrogénique ou l'effet *dioxin-like*. Leur présence est associée à une diminution de l'effet biologique induit par la masse de particules.

Une étude portant sur l'inhibition de l'activité de l'aromatase (enzyme permettant notamment la transformation de la testostérone en œstradiol) suite à l'exposition de cellules JEG-3 à des niveaux environnementaux de phtalates a conclu que ces composés n'étaient pas ceux ayant un impact sur l'activité cellulaire (van Drooge *et al.*, 2017). Mankidy *et al.* (2013) a mis en évidence que le potentiel agoniste œstrogénique des phtalates était observé pour une concentration allant de 0,01 à 10 mg/L de chaque composé étudié (Mankidy *et al.*, 2013). Ils ont également étudié l'effet *dioxin-like* potentiellement induit par les phtalates, sur les cellules H4IIE (transfectées avec un gène rapporteur à la luciférase). La réponse équivalente à la TCDD induite par différents composés était de l'ordre de 2×10^{-7} mg/L de TCDD. Mais, ils ont également mis en évidence que le métabolisme des xénobiotiques (lié au récepteur AhR) était impacté à différents niveaux, suivant le phtalate en contact avec les cellules. Par exemple, les DBP (DiBP+DnBP) affectent davantage les enzymes de phase 1 du métabolisme par rapport au DEHP et DEP (Mankidy *et al.*, 2013). Au regard des quantifications chimiques des composés phtalates dans les particules extraites, les résultats obtenus sont en accord avec la littérature. Les composés mesurés ne sont pas en suffisamment grande quantité pour être à l'origine de l'effet œstrogénique ou *dioxin-like* induit par les extraits de particules sur les cellules. En comparaison avec les données de l'étude de Mankidy *et al.* (2013), l'exposition de nos cellules à 25 µg de particules extraites dans un puits de culture correspondait en moyenne à 0,1 mg/L pour la somme des phtalates.

b. PCB

EFFETS ŒSTROGENIQUES

Pour donner suite à la matrice de corrélation, une régression linéaire a été réalisée pour étudier les liens entre les composés de type PCB et l'effet œstrogénique. De la même manière que les phtalates, plus les teneurs en ces composés sont élevées dans les extraits de particules, plus l' $EC50_{oest}$ calculé est élevé [significatif $S = 105526$; $p = 0,0211$] (Figure 66), avec un R de 0,237. Cependant, ici l'effet sur l'effet maximal induit, le TOP_{oest} , n'est pas significatif.

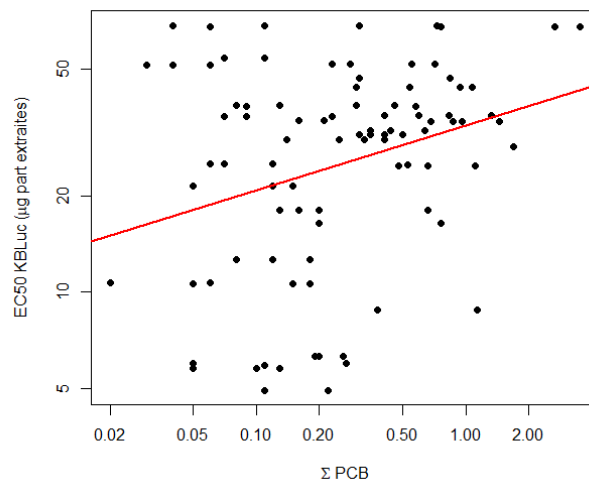


Figure 66 : Régressions linéaires entre les $EC50$ (μg de particules extraites) calculés pour l'effet *dioxin-like* et la somme des teneurs en phtalates quantifiées dans les particules.

EFFETS DIOXIN-LIKE

Pour l'impact des teneurs en PCB sur l'effet *dioxin-like*, il est observé une augmentation de l' $EC50_{diox}$ avec la quantité de PCB mesurés [significatif $S = 90242$; $p = 0,0144$], avec un R de 0,257, comme pour l'effet œstrogénique. Ces composés semblent avoir également un effet sur le TOP_{diox} : plus les teneurs sont élevées, plus l'effet maximal sera diminué [significatif $S = 138671$; $p = 0,0384$], avec un R de $-0,221$ (Figure 67).

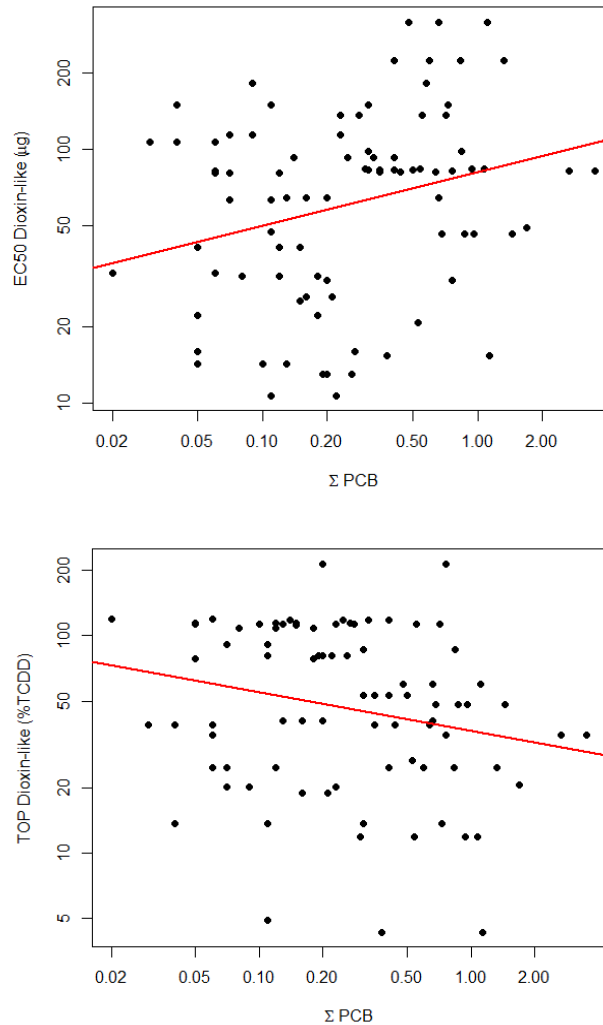


Figure 67 : Régressions linéaires entre les EC50 (µg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet *dioxin-like* et la somme des teneurs en PCB quantifiées dans les particules.

Les PCB étant une famille connue de composés pour leurs effets *dioxin-like*, ce résultat peut sembler en désaccord avec les effets induits par les PCB retrouvés dans la littérature scientifique. Mais, ici, seuls les PCB indicateurs ont été recherchés dans cette étude. Or, les PCB connus pour l'induction de l'effet *dioxin-like* sont appelés PCB-DL, et dans ce doctorat, ces composés n'ont pas été recherchés. Ils avaient été recherchés lors de travaux précédents portant sur la contamination de l'air, phase gazeuse et particulaire (Laborie, 2015 ; Surchamp, 2016). Les niveaux précédemment quantifiés étaient très faibles, voire inexistant sur les TSP, en air intérieur comme extérieur. Les PCB étudiés dans cette thèse, ne sont donc pas connus pour leurs effets *dioxin-like*. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Giesy et Kannan, (1998) qui a montré que les PCB n'étant pas répertoriés dans la catégorie des *dioxin-like*, n'interagissent pas avec le récepteur AhR, récepteur impliqué dans l'effet *dioxin-like*. Pour

l'effet œstrogénique, une étude *in vivo*, a montré que les PCB peuvent être considérés comme des composés ayant une activité œstrogénique faible (Ma et Sassoon, 2006). Cependant, les PCB ne semblent pas induire d'effet œstrogénique dans les cellules *in vitro* testées dans cette thèse. Les concentrations de ces composés sont faibles, car ce sont des concentrations environnementales, contrairement à l'étude de Ma et Sassoon (2006) qui a mis en évidence cet effet œstrogénique par injection d'un mélange industriel de PCB à des souris. Une autre étude *in vitro*, réalisée sur des cellules T47D-KBLuc, a également mis en évidence que l'effet œstrogénique des PCB est dépendant du nombre d'atomes de chlore sur leur structure, les congénères étant les moins chlorés étant œstrogénique (PCB28, PCB52...) , les plus chlorés ayant un comportement plutôt anti-œstrogénique (PCB138, PCB153...) (Plíšková Martina *et al.*, 2005). D'après une nouvelle matrice de corrélation de Pearson mettant en relation le potentiel œstrogénique et la contamination des particules en PCB recherchés (Tableau 39), on peut observer qu'il existe une corrélation significative entre la diminution du potentiel œstrogénique et la présence de PCB-153 ($r = -0,393$), ce qui est cohérent avec l'étude de Plíšková *et al.* (2005) montrant un potentiel effet anti-œstrogénique lié à ce congénère. Néanmoins, pour le PCB-52, on observe aussi la même relation ($r = -0,317$), ce qui tend à montrer qu'ici, ce congénère n'a pas d'effet pro-œstrogénique. Cela peut être dû aux concentrations environnementales faibles qui ne semblent pas être suffisamment importantes pour induire un effet.

Tableau 39 : Matrice de corrélation de Pearson entre les activités œstrogéniques EEQbio et les PCB

<i>Variables</i>	<i>EEQbio (pg/μg)</i>
<i>PCB-118</i>	0,100
<i>PCB-138</i>	-0,230
<i>PCB-153</i>	-0,393
<i>PCB-180</i>	-0,028
<i>PCB-28</i>	0,011
<i>PCB-52</i>	-0,317

3. Familles de composés identifiées comme augmentant les effets biologiques

a. HAP

EFFETS ŒSTROGENIQUES

La relation entre les teneurs en HAP et leur effet œstrogénique sur cellules exposés aux extraits de particules a été étudiée par régression linéaire (Figure 68).

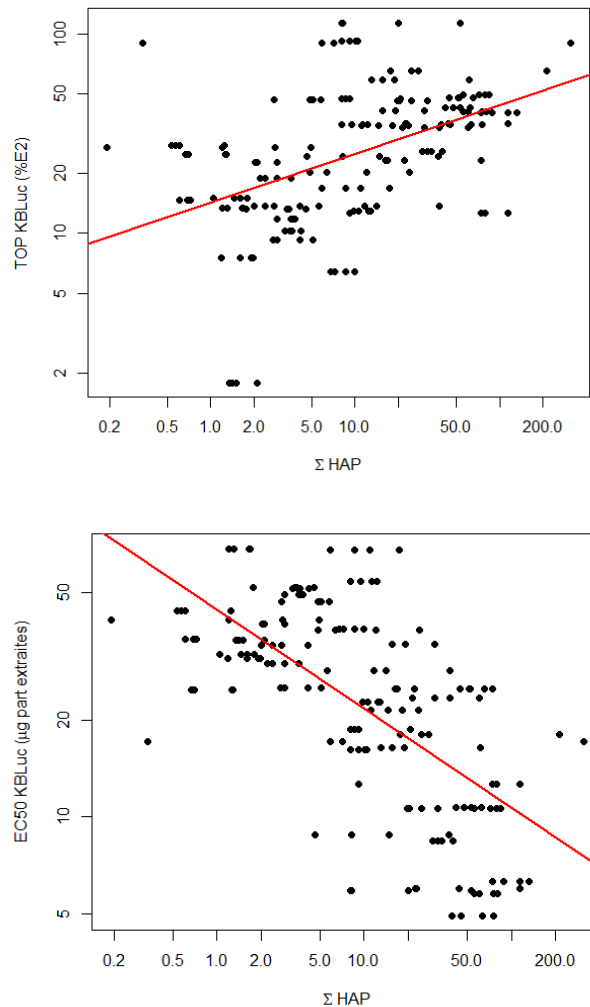


Figure 68 : Régressions linéaires entre les EC50 (μg de particules extraites) et TOP (% E2) calculés pour l'effet œstrogénique et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules.

Une relation linéaire est observée entre l'augmentation des teneurs en HAP et la diminution de l' $\text{EC50}_{\text{œst}}$ [significatif, $S = 1411672$; $p < 0,001$], le R est de -0,664. Une relation linéaire significative a également été observé entre cette somme des teneurs en HAP et l'augmentation du $\text{TOP}_{\text{œst}}$ [significatif, $S = 422612$; $p < 0,0001$], le R est de 0,501. Ces résultats sont en accord avec ceux de la matrice de corrélation de Pearson ; les HAP présents dans les particules

semblent être à l'origine d'une augmentation du potentiel œstrogénique, que cela soit pour la diminution de l' $EC50_{\text{oest}}$ ou l'augmentation du TOP_{oest} . Plus la teneur en HAP est élevée, plus la quantité de particules nécessaire pour induire 50 % de l'effet maximal sera faible. De plus, l'effet maximal induit par les particules pour l'effet œstrogénique augmentera également.

EFFETS DIOXIN-LIKE

Les régressions linéaires observées entre la somme des teneurs en HAP et les paramètres, $EC50_{\text{diox}}$ et TOP_{diox} , induits par les extraits de particules sont significatives. En effet, le modèle linéaire concernant le lien entre la somme des teneurs en HAP et l' $EC50_{\text{diox}}$ en μg de particules montre que plus les HAP sont quantifiés dans les extraits de particules, plus la concentration de particules nécessaire pour induire 50 % de l'effet maximal, sera faible [significatif, $S = 1462689$; $p < 0,0001$], le R du modèle est de -0,725. Et, plus les composés seront présents dans les échantillons, plus l'effet maximal induit sera important [significatif, $S = 467978$; $p < 0,0001$], le R est de 0,363 (Figure 69).

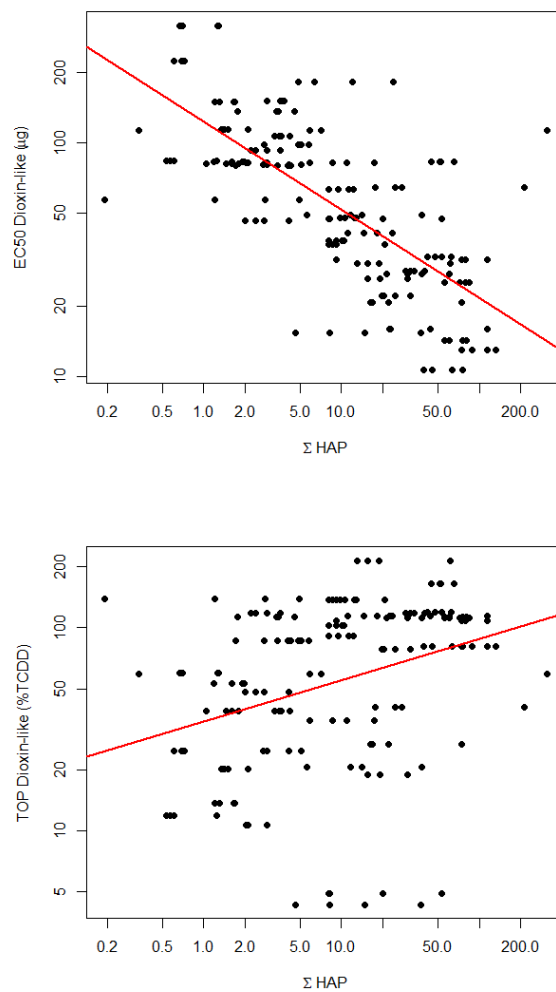


Figure 69 : Régressions linéaires entre les EC50 (μg de particules extraites) et TOP (% TCDD) calculés pour l'effet *dioxin-like* et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules.

Au vu de la littérature, les HAP sont connus comme composés porteurs d'effets biologiques dans les particules atmosphériques, une analyse plus approfondie a donc été réalisée pour tenter d'identifier les composés HAP ou groupe de composés à l'origine des effets biologiques sur ces extraits de particules. Une analyse en composante principale a été faite, en utilisant les valeurs d'EEQbio, mais aussi de TEQbio associés aux échantillons (Chapitre 4 *III.3. Calcul des TEQbio*) ; ces variables permettent ainsi d'attribuer un potentiel œstrogénique et *dioxin-like* global à chaque échantillon. Les variables sélectionnées sont explicatives à hauteur de 60,92 %. Les résultats de l'ACP montrent que le potentiel œstrogénique (EEQbio en $\text{pg}/\mu\text{g}$) et *dioxin-like* (TEQbio en $\text{pg}/\mu\text{g}$) sont davantage corrélés aux HAP de type lourd (Figure 70).

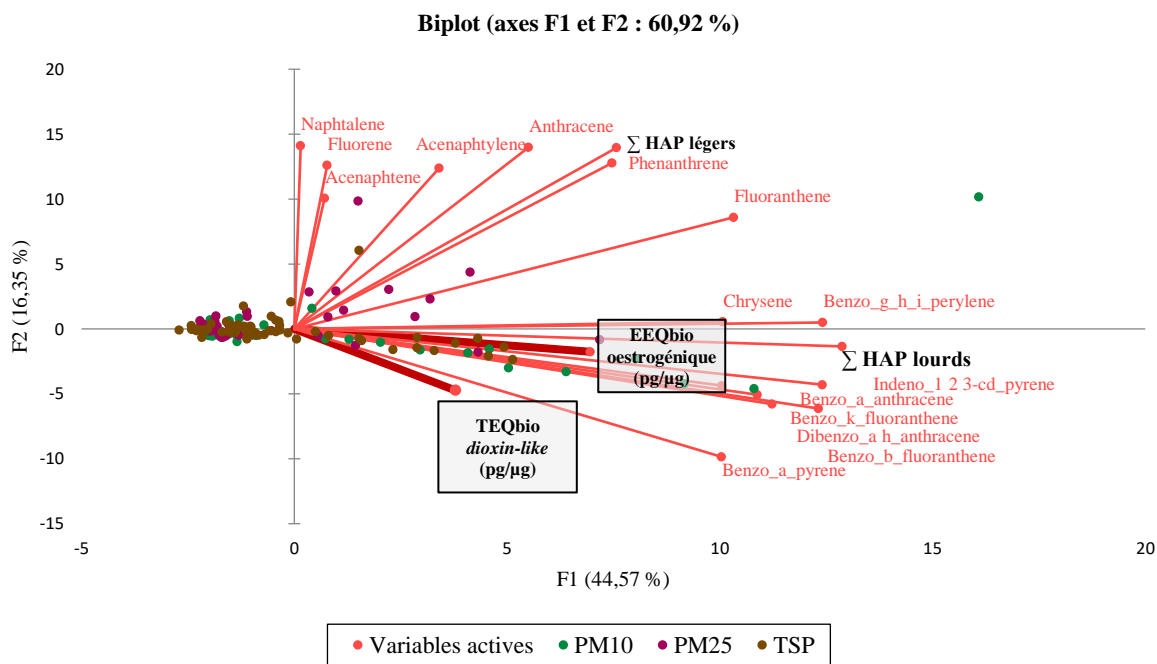


Figure 70 : Analyse en composantes principales entre les teneurs en HAP et les EEQbio et TEQbio (pg/µg).

Cette observation est en accord avec les données de la littérature. Pour l'effet œstrogénique, plusieurs études (Clemons et al., 1998 ; van Lipzig et al., 2005) ont indiqué que les HAP « lourds » semblaient présenter une activité œstrogénique. L'étude de Clemons *et al.* (1998) a également déterminé que des HAP issus de particules urbaines extraites collectées à Toronto au Canada étaient à l'origine d'effets *dioxin-like*. L'étude de Nováková *et al.* (2020) a aussi montré que ce sont les composés de type HAP qui expliquaient l'induction de l'effet *dioxin-like*, après l'exposition de cellules AZ-AhR à des extraits de particules. Les conditions d'exposition étant très similaires à celles présentées ici et les résultats étant équivalents, cela confirme que les résultats de ce doctorat sont en concordance avec la littérature. L'induction de l'activité transcriptionnelle du récepteur AhR par des composés de type HAP a aussi été montrée dans d'autres études (Olivares *et al.*, 2011 ; Mesquita *et al.*, 2014, Vondráček *et al.*, 2020).

Pour compléter, l'étude de Clemons *et al.* (1998) a aussi déterminé que ce sont plus particulièrement le benzo[a]pyrène, le chrysène et le benzo[a]anthracène (HAP de haut poids moléculaire, structure chimique contenant au moins 4 cycles) qui étaient à l'origine de la majorité des effets biologiques. Une autre étude a aussi montré que des HAP de type lourds, retrouvés dans l'environnement, sont des agonistes potentiels du récepteur AhR, et y ont une

affinité particulièrement haute lorsqu'il est d'origine humaine (Vondráček *et al.*, 2020). Au regard de l'ACP (Figure 70), ces résultats sont en cohérence avec cette étude. En effet, ce sont les HAP de haut poids moléculaire, comprenant le benzo[a]pyrène, le chrysène, le benzo[a]anthracène, qui sont corrélés aux TEQbio et EEQbio des extraits de particules.

Il est à noter que les teneurs en HAP de type lourd sont plus élevées en saison froide en raison de leur émission en lien avec les processus de combustion, et en particulier avec le chauffage résidentiel et tertiaire (Motelay-Massei, 2003 ; Fauches, 2017). Ces relations entre l'augmentation des teneurs en HAP de type lourd et la diminution de la température de l'air d'une part et l'augmentation du potentiel biologique des extraits de particules d'autre part, ont été étudiées par le biais d'une matrice de corrélation de Pearson (Tableau 40).

Tableau 40 : Matrice de corrélation de Pearson considérant la température, les teneurs en HAP et les effets biologiques.

Variables	Température Moyenne (°C)	EEQbio (pg/µg)	TEQbio (pg/µg)	∑ HAP légers	∑ HAP lourds
Température Moyenne (°C)	1	-0,351	-0,437	-0,008	-0,400
EEQbio (pg/µg)	-0,351	1	0,275	0,030	0,492
TEQbio (pg/µg)	-0,437	0,275	1	0,016	0,292
∑ HAP légers (pg/µg)	-0,008	0,030	0,016	1	0,384
∑ HAP lourds (pg/µg)	-0,400	0,492	0,292	0,384	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,05

La matrice de Pearson, montre qu'il existe une corrélation significativement négative entre la température et les EEQbio ($r = -0,351$) et les TEQbio ($r = -0,431$) des extraits de particules. Ce résultat indique que, plus la température augmente, moins les effets biologiques potentiels seront importants, et inversement. La matrice montre également qu'une corrélation positive significative existe entre la somme des teneurs en HAP lourds et les potentiels œstrogénique ($r = 0,492$) et *dioxin-like* ($r = 0,292$). Ces composés présentant des teneurs plus élevées lorsque la température diminue ($r = -0,400$), ces résultats laissent à penser que les effets biologiques qui augmentent en saison froide, lorsque la température diminue, sont directement liés aux teneurs élevées à cette période en composés HAP de type lourd. Ces résultats sont en cohérence avec une étude précédente, ayant mis en évidence que le potentiel biologique de particules extraites augmente lors de conditions climatiques froides, en lien avec la quantité de HAP lourds

(Nováková *et al.*, 2020). Cette étude a également indiqué que ce potentiel biologique était conditionné à la taille des particules, la fraction granulométrique la plus fine ayant le plus d'effets biologiques de type œstrogénique et *dioxin-like*.

Une matrice de corrélation de Pearson a donc été effectuée avec nos données en considérant un diamètre granulométrique de 2,5 µm aux PM_{2,5}, de 10 µm aux PM₁₀ et de 100 µm aux TSP. Aucune corrélation n'a été observée entre la diminution du diamètre des particules étudiées et l'augmentation de l'effet biologique ou des teneurs en HAP lourds (Tableau 41). Des tendances peuvent être observées mais elles ne sont pas significatives. Ce résultat est notamment attribuable au fait que les TSP contiennent les PM₁₀, qui elles-mêmes contiennent les PM_{2,5} contrairement à l'étude de Nováková *et al.*, (2020), qui a utilisé un impacteur permettant une distinction stricte des fractions granulométriques entre elles.

Tableau 41 : Matrice de corrélation avec attribution d'une valeur de diamètre par fraction particulaire testée.

<i>Variables</i>	Diamètre attribué	Température moyenne	EEQbio (pg/µg)	TEQbio (pg/µg)	∑ HAP légers (pg/µg)	∑ HAP lourds (pg/µg)
<i>Diamètre attribué</i>	1	-0,013	-0,108	-0,133	0,032	-0,126
<i>Température moyenne</i>	-0,013	1	-0,351	-0,437	-0,008	-0,400
<i>EEQbio (pg/µg)</i>	-0,108	-0,351	1	0,275	0,030	0,492
<i>TEQbio (pg/µg)</i>	-0,133	-0,437	0,275	1	0,016	0,292
<i>∑ HAP légers (pg/µg)</i>	0,032	-0,008	0,030	0,016	1	0,384
<i>∑ HAP lourds (pg/µg)</i>	-0,126	-0,400	0,492	0,292	0,384	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,05

b. PBDE

Les PBDE sont les autres composés ayant été identifiés dans la matrice de corrélation de Pearson globale avec un profil d'effets biologiques similaire aux HAP. L'augmentation de leur présence dans les particules semble être en lien avec une augmentation de l'induction œstrogénique uniquement.

EFFETS ŒSTROGENIQUES

Une régression linéaire a été réalisée afin d'évaluer les liens entre les composés de type PBDE et l'effet œstrogénique (Figure 71). De la même manière que les HAP, plus ces composés sont présents dans les extraits de particules, plus l'EC50 calculé semble diminuée [significatif $S = 8193,2$; $p = 0,03448$; $R = - 0,369$]. Cependant, contrairement aux HAP, les PBDE n'ont pas d'impact significatif sur l'effet maximal induit. Ces résultats laissent à penser que ces composés dans les particules atmosphériques peuvent avoir un impact sur la quantité de particules induisant 50 % de l'effet maximal du potentiel œstrogénique sur cellules *in vitro* de type T47D-KBLuc. Ces résultats correspondent à ce qui a été décrit dans la littérature. En effet, une étude *in vitro*, menée sur les mêmes cellules (T47D-KBLuc) a montré que des congénères PBDE sont inducteurs de l'activité transcriptionnelle des récepteurs œstrogéniques ER α et ER β , néanmoins, cette étude relève que parmi les PBDE, ce sont les composés de type OH-PBDE qui sont les plus inducteurs (Meerts *et al.*, 2001), composés ici non recherchés lors de l'analyse chimique.

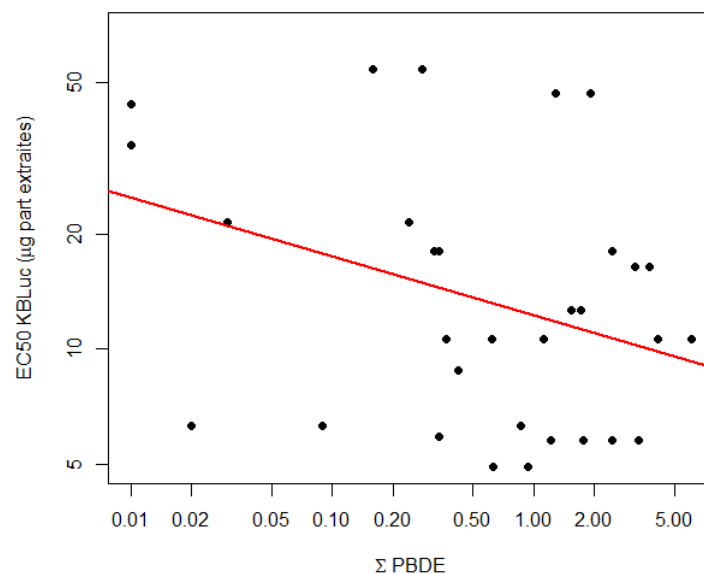


Figure 71 : Régression linéaire entre les EC50 (µg de particules extraites) calculés pour l'effet oestrogénique et la somme des teneurs en HAP quantifiées dans les particules.

4. Echantillons à hauts niveaux d'activité biologique

Certains échantillons, ont été identifiés comme ayant un haut niveau d'activité biologique, par le calcul de l'EEQbio et du TEQbio. Afin de mieux comprendre l'origine de cet effet plus élevé ils ont été considérés pour leur activité biologique en lien avec leur contamination, individuellement. Parmi notre pool d'échantillons, ce sont les échantillons « Hiv5 » TSP, « Hiv6 » PM₁₀ et « Hiv6 » TSP qui ont induit les valeurs EEQbio et TEQbio les plus élevées. De plus, ce sont ces mêmes échantillons qui ont été identifiés comme ayant potentiellement induit une courbe de type DRNM.

Ces trois échantillons ont été prélevés sur le même site P15, en saison froide et à des périodes qui se suivent : du 11/02/19 au 14/02/19 pour Hiv5 TSP et du 15/02/19 au 18/02/19 pour Hiv6 PM₁₀ et Hiv6 TSP. Il est à noter que le site P15 a précédemment été identifié comme amenant des particules potentiellement plus chargées en HAP que les autres sites d'étude (*Chapitre 3. III. Particularité selon les sites*). Dans le Tableau 42, les concentrations de COSV retrouvés dans ces échantillons ont été comparées à leurs concentrations dans la fraction granulométrique correspondante pour la saison froide (tous les échantillons, excepté les trois identifiés à haut potentiel biologique identifiés). Pour les PM₁₀ et TSP de Hiv6, il ressort qu'ils ont une contamination beaucoup plus importante en HAP lourds et en parabènes que les autres échantillons PM₁₀ et TSP de la même période : les PM₁₀ Hiv6 contiennent trois fois plus de HAP lourds et de parabènes, les TSP Hiv6 contiennent quatre fois plus de HAP lourds et trois fois plus de parabènes que les particules. Pour TSP Hiv5, l'échantillon est un peu plus contaminé que les autres TSP en saison froide pour les HAP et les phtalates, mais il n'y a pas de distinction aussi nette que pour les échantillons Hiv6.

Au regard des corrélations observées dans la partie précédente, et de la littérature, on peut envisager l'hypothèse que le potentiel œstrogénique et *dioxin-like* augmenté des PM₁₀ et TSP Hiv5 est en relation avec leurs concentrations élevées en HAP. Néanmoins, pour l'échantillon TSP Hiv5, cela ne semble pas être à l'origine de l'effet. Il est cependant possible qu'un composé non quantifié dans cette étude soit à l'origine du haut potentiel biologique de ces trois échantillons.

Tableau 42 : Comparaison des sommes moyennes de la contamination des échantillons à haut niveaux d'activité biologique par rapport aux autres échantillons saison froide de la fraction correspondante (ng/m³).

<i>Echantillons</i>	Σ <i>HAP lourds</i>	Σ <i>HAP légers</i>	Σ <i>Phthalates</i>	Σ <i>AP-APEO</i>	Σ <i>Pesticides</i>	Σ <i>Parabènes</i>
<i>PM₁₀ Hiv6</i>	4,176	0,199	12,783	0,111	<LD	0,389
<i>PM₁₀ Hiver</i>	1,223	0,107	8,755	0,076	0,007	0,122
<i>Rapport (PM₁₀Hiv6/PM₁₀Hiver)</i>	3,414	1,861	1,460	1,450	NC	3,190
<i>TSP Hiv6</i>	3,632	0,181	19,181	0,463	<LD	0,461
<i>TSP Hiver</i>	0,830	0,097	7,855	0,239	0,006	0,143
<i>Rapport (TSPHiv6/TSPHiver)</i>	4,378	1,860	2,442	1,940	NC	3,227
<i>TSP Hiv5</i>	1,098	0,118	8,933	<LD	<LD	0,000
<i>TSP Hiver</i>	0,830	0,097	7,855	0,239	0,006	0,143
<i>Rapport (TSPHiv5/TSPHiver)</i>	1,324	1,213	1,137	NC	NC	0,000

Approche théorique de mise en relation de la contamination chimique et des effets biologiques

Cette approche implique d'estimer pour chaque échantillon, l'EEQchim, et le TEQchim. Le calcul est détaillé dans le Chapitre 2 (*III.3.Calcul de bio-équivalents à partir des données d'analyse chimique*) et le potentiel biologique connu de COSV cibles est rapporté en Annexe 13, Annexe 14 et Annexe 15. Pour rappel, cette méthode se base sur l'additivité des potentiels biologiques (œstrogénique ou *dioxin-like*) de chaque COSV cible pondérés de la quantité de composé retrouvé dans un échantillon. En raison des interactions entre les différents composés présents en mélange environnementaux, c'est une approche théorique et non une réelle quantification de l'effet biologique attendu, mais cette méthode de croiser les effets biologiques attribués aux composés recherchés et les résultats issus de l'analyse biologique à partir des extraits particuliers. Cependant, la limite de cette méthode réside également dans le fait que tous les composés étudiés ne sont pas répertoriés pour leurs effets œstrogéniques et *dioxin-like*, en raison du manque de données pour certaines familles chimiques. Les valeurs de l'EEQchim et du TEQchim ont été calculées ici en équivalent pg du composé de référence (E2 ou TCDD) par µg d'extraits de particules, et en pg du composé de référence par m³ d'air extrait. Les données ont été transformées par log et les tests réalisés ici sont de type Anova ($\alpha = 0,05$).

1. Potentiel œstrogénique EEQchim

Le potentiel œstrogénique théorique, EEQchim, en µg de particules extraites, a été évalué en fonction des types de PM. Les valeurs des EEQchim varient dans l'ordre suivant croissant : PM₁₀ > PM_{2,5} > TSP. Les résultats ont été comparés avec le œstrogénique exprimé en EEQbio. Les valeurs d'EEQchim ne sont pas totalement explicatives des valeurs EEQbio. Par exemple, pour les PM_{2,5} le calcul EEQchim ne représente que 38 % du potentiel œstrogénique observé. Pour les TSP, cela représente 51 % et pour les PM₁₀, la différence est la plus faible mais l'EEQchim reste inférieur, de l'ordre de 73 %. De plus l'EEQbio a montré que le potentiel œstrogénique, par µg de particules extraites était, en ordre croissant : PM_{2,5} > PM₁₀ > TSP. Les détails des résultats en pg/µg sont présentés dans le Tableau 43.

Tableau 43 : Valeurs moyennes des EEQbio et EEQchim pour les effets œstrogéniques.

Type particulaires	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
EEQbio (pg/μg)	2,45x10 ⁻⁰³	1,55x10 ⁻⁰³	1,47x10 ⁻⁰³
EEQchim (pg/ μg)	9,41x10 ⁻⁰⁴	1,13x10 ⁻⁰³	7,49x10 ⁻⁰⁴
Rapport EEQchim/EEQbio	38 %	73 %	51 %

Un des paramètres expliquant cette différence entre les calculs théoriques et les valeurs observées est le manque de données sur le potentiel oestrogénique de chaque composé quantifié dans les extraits de particules. Comme vu en Annexe 13, 46 composés, quantifiés dans cette étude, sont renseignés dans la base de données ToxCast de l'EPA pour leurs effets œstrogéniques, et 18 de ceux-ci sont considérés comme activateurs du récepteur ER.

Ainsi, certaines molécules, quantifiées chimiquement, n'ont pas pu être considérées pour leur potentiel œstrogénique, en raison d'un manque d'études sur leur activité œstrogénique sur le modèle *in vitro* sélectionné. Aussi, on peut également considérer que tous les composés potentiellement à l'origine de l'effet œstrogénique induit par les échantillons n'ont pas été quantifiés dans cette thèse, et leur potentiel œstrogénique théorique et répertorié par l'EPA n'a pu être pris en compte dans le calcul de l'EEQchim. De plus, le calcul de l'EEQchim ne prend pas en compte les éventuels synergies ou inhibitions pouvant exister dans un mélange environnemental. Cela est cohérent avec la littérature, Firman *et al.* (2021) décrivent le manque de certaines bio-activités de composés comme facteur d'incertitude dans l'utilisation de la base de données ToxCast.

En dépit des différences d'EEQchim entre les différentes fractions granulométriques, il ne semble pas y avoir de différence significative entre PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP lorsque le potentiel œstrogénique est pris en compte par μg de particules. Cela peut s'expliquer, car nous avons observé que la contamination chimique des PM_{2,5} semblent être à l'origine de la contamination des fractions PM₁₀ et TSP (*Chapitre 3*).

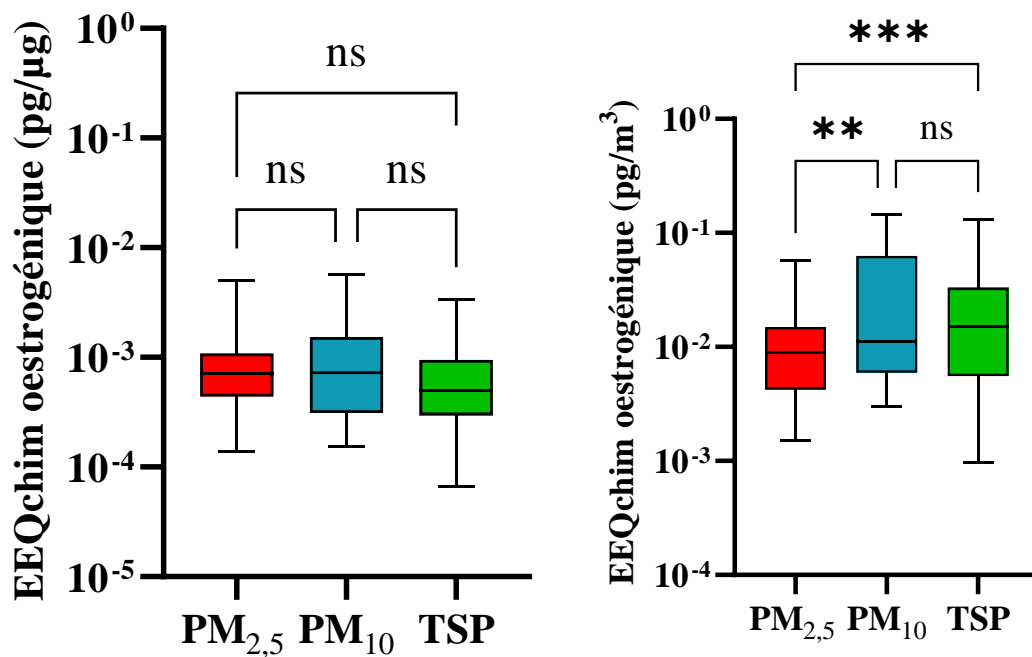


Figure 72 : EEQchim oestrogénique en pg/µg et en pg/m³ pour les PM_{2,5}, PM₁₀ et TSP.

En revanche, en m³ d'air extrait, l'EEQchim des PM_{2,5} est significativement inférieur à ceux calculés pour les PM₁₀ et des TSP, avec respectivement $p = 0,009$ et $p < 0,001$ (Figure 72). Cela peut s'expliquer par la différence de concentrations en PM_{2,5} dans l'air par rapport aux PM₁₀ et TSP, puisque les PM_{2,5} sont moins concentrées dans l'atmosphère (Tableau 1).

Néanmoins, en comparant statistiquement les EEQbio et EEQchim en pg/m³ (Figure 73), aucune différence significative n'est observée. Cette approche pour les effets œstrogéniques pourrait donc être pertinente pour les particules testées ici, les PM_{2,5}, les PM₁₀ et les TSP. Les données renseignées dans la base de données de l'EPA semblent être suffisamment importantes pour estimer un potentiel proche de celui calculé par méthode expérimentale.

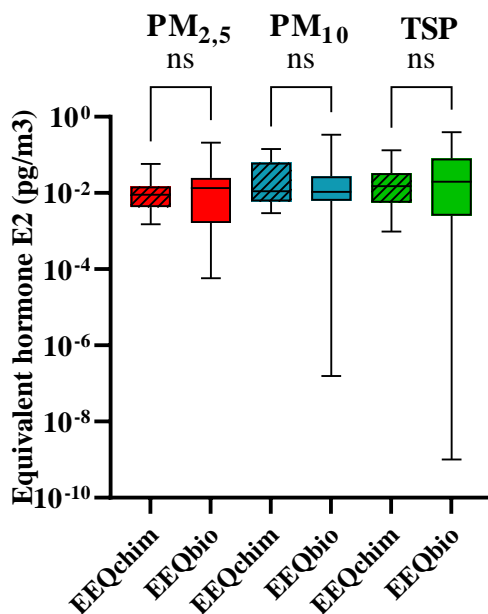


Figure 73 : Comparaison des EEQchim et EEQbio en fonction des fractions granulométriques.

2. Potentiel *dioxin-like* TEQchim

Le potentiel *dioxin-like* théorique, TEQchim, a également été calculé de la même façon que les EEQchim, sur la base de la sélection des composés étudiés ayant une action sur le récepteur d'aryl hydrocarbonés identifiée sur la base ToxCast. Ces résultats ont également été mis en relation avec les TEQbio calculés pour les effets *dioxin-like* sur les échantillons d'extraits de particules.

Le potentiel *dioxin-like* évalué par la méthode TEQchim, montre que les potentiels varient dans l'ordre suivant : PM₁₀ > PM_{2,5} > TSP (Tableau 44). Ce résultat est cohérent avec les TEQbio calculées précédemment pour l'effet *dioxin-like*. Néanmoins, les résultats du potentiel *dioxin-like* calculé avec les TEQchim sont bien inférieurs au potentiel *dioxin-like* évalué à partir des échantillons par tests biologiques (TEQbio). Ainsi, les TEQchim estimés représentent entre 0,002 et 0,004 % des TEQbio mesurés (Tableau 44). Cette différence entre les deux approches pour estimer le potentiel *dioxin-like* peut s'expliquer par le faible nombre de composés étant renseignés dans la base de données ToxCast pour leurs effets *dioxin-like* (Annexe 15).

De plus, il n'y a pas de différence significative entre les différentes fractions granulométriques pour le TEQchim en pg/ug (Figure 74).

Tableau 44 : Valeurs moyennes des TEQ_{bio} et TEQ_{chim} pour les effets *dioxin-like* en fonction des fractions granulométriques.

Type de particules	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
TEQ _{bio} (pg/μg)	3,11E x10 ⁰⁰	6,34 x10 ⁰⁰	2,02 x10 ⁰⁰
TEQ _{chim} (pg/ μg)	1,04 x10 ⁻⁰⁴	1,12 x10 ⁻⁰⁴	7,16 x10 ⁻⁰⁵
Rapport TEQ _{chim} /TEQ _{bio}	0,003 %	0,002 %	0,004 %

En revanche, le potentiel *dioxin-like* calculé en pg/m³ d'air montre une différence significative entre les différentes fractions granulométriques. En raison de la présence moindre des PM_{2,5} dans l'air (Figure 74), une diminution significative du potentiel des PM_{2,5} (p < 0,02) est observée par comparaison avec les TSP.

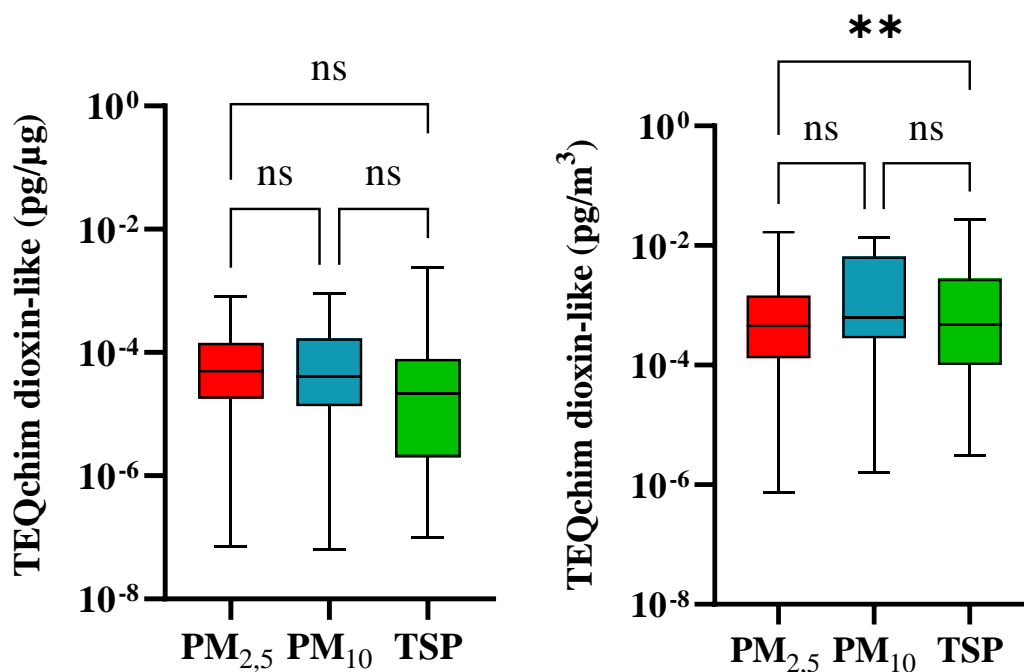


Figure 74 : EEQchim en pg/μg et en pg/m³ pour les effets *dioxin-like*.

Lorsque la méthode de calcul théorique TEQ_{chim} est comparée avec le calcul du TEQ_{bio} expérimental (Figure 75), pour toutes les fractions particulières testées, le calcul du TEQ_{chim} est significativement inférieur (p < 0,001) à celui du TEQ_{bio} expérimental. Cette différence s'explique par le fait que les échantillons testés ici ont eu de forts effets *dioxin-like*, particulièrement en hiver, où des profils de type agoniste total ont été observés. Cela peut également s'expliquer, par le manque de données issues de la littérature sur l'effet *dioxin-like*. En effet, la base ToxCast pour l'effet sur le récepteur aryl selon les composés, répertorie 46

composés recherchés dans ce doctorat, et sur ces 46 composés renseignés, seuls 9 sont renseignés pour leur activité sur le récepteur aryl aux hydrocarbures. Un autre paramètre pouvant expliquer cette différence est, que lors de cette étude, certains composés dont les effets *dioxin-like* sont connus, n'ont pas été recherchés chimiquement. Ainsi, les PCB-DL, ou même plus directement la dioxine (TCDD) elle-même, pourraient être recherchés, comme facteur explicatif de ces hauts niveaux d'activité.

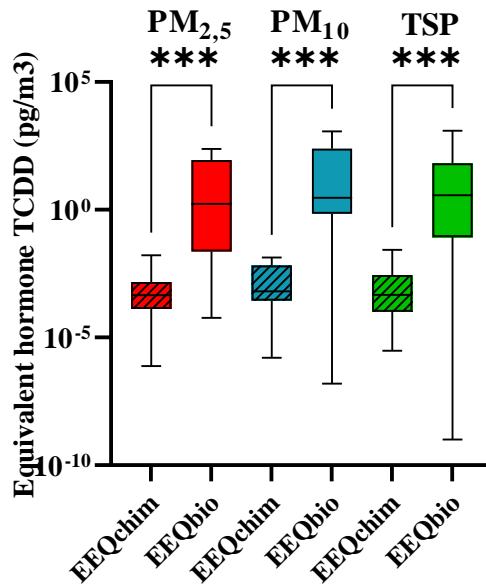


Figure 75 : Comparaison des EEQchim et EEQbio en pg/m³ pour les effets *dioxin-like*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce doctorat a été de mettre en regard la contamination chimique de classes de PM urbaines en COSV aux propriétés PE (suspectées ou avérées) et le potentiel biologique *in vitro* associé à la contamination organique de ces particules. Ce travail s'est intéressé aux classes particulières actuellement réglementées dans l'air, les PM_{2,5} et les PM₁₀, mais aussi aux TSP, afin de considérer toutes les particules atmosphériques, sans distinction de taille. Le choix de sites de prélèvements de type fond, a permis une caractérisation du potentiel impact sanitaire d'une pollution particulaire urbaine représentative de l'exposition des habitants de la zone étudiée.

La première étape de ce doctorat a consisté à collecter et à caractériser chimiquement les différentes classes granulométriques ciblées sur trois sites de prélèvement, au cours de deux saisons contrastées. Ainsi, les fractions particulières collectées ont été extraites et analysées pour rechercher 59 molécules, précédemment identifiées pour leur présence dans l'air, ainsi que pour leur potentiel biologique de type PE ou *dioxin-like*. La quantification chimique des extraits particuliers a révélé que, la somme des contaminants recherchés était plus élevée en saison chaude qu'en saison froide. Cette contamination se révèle largement dominée par les composés de la famille des phtalates, quelle que soit la classe granulométrique considérée. Les phtalates étant retrouvés en plus forte concentration en saison chaude, ils sont à l'origine de l'augmentation de la contamination globale pour cette saison. Etant contenus dans les matières plastiques, les phtalates sont présents dans de nombreux objets d'usage domestique et leur présence en air intérieur a été le sujet de plusieurs études. Au vu de la littérature, leurs concentrations dans les particules atmosphériques en air extérieur ne semblent pas avoir une origine spécifique, mais être une résultante de leur présence ubiquiste dans l'environnement. Cette présence serait attribuable à une volatilisation depuis les matières plastiques, phénomène plus important en saison chaude. Par ailleurs, les PM_{2,5} semblent porter la majeure partie de la contamination des particules en phtalates. La deuxième famille de composés retrouvés majoritairement a été les HAP. Il a été noté que le comportement de ceux-ci était influencé par leurs propriétés physico-chimiques. Ainsi, les HAP de faible poids moléculaire sont retrouvés en plus faible concentration dans la phase particulaire que les HAP de haut poids moléculaire. Ces derniers sont concentrés en plus grande quantité dans les particules prélevées en hiver, quel que soit le type particulaire. Considérant que les PM_{2,5} sont incluses dans les PM₁₀, cette fraction granulométrique fine semble contribuer à la contamination élevée en HAP des PM₁₀. En effet, la fraction PM₁₀ est la plus concentrée en HAP, que cela soit rapporté à la masse de particules ou par m³ d'air.

Des autres contaminants recherchés, les parabènes et les alkylphénols/alkylphénols éthoxylates, ressortent à des quantités plus élevées que les pesticides, PCB et PBDE dont les concentrations correspondent quant à elles à une contamination dite « bruit de fond ». Les concentrations plus élevées pour les parabènes et le groupe des alkylphénols pourraient être liées à leur origine, notamment leur présence dans des produits d'usage domestique (hygiène et de soins corporels), dont l'émission dans l'air contribuerait à la contamination des particules atmosphériques.

Parmi les composés les plus concentrés dans les particules prélevées dans ce doctorat, seuls les HAP proviennent des processus de combustion (chauffage, moteurs thermiques...). Les autres composés, phtalates, parabènes et alkylphénols, sont davantage liés à la présence ubiquiste d'objets en matières plastiques ou de produits domestiques les contenant. Leurs concentrations dans les particules atmosphériques extérieures témoignent de l'influence des usages domestiques sur la contamination atmosphérique, et des transferts entre l'air intérieur (où ils sont très présents, en lien avec leurs sources d'émissions) et l'air extérieur.

Le second volet de ce doctorat a consisté à évaluer les effets biologiques des extraits de particules étudiés. En raison des propriétés PE suspectées ou avérées des composés recherchés, les effets œstrogéniques et anti-androgéniques ont été étudiés, ainsi que les effets *dioxin-like*.

Les extraits organiques de particules ont montré un effet œstrogénique de type agoniste partiel par test cellulaire *in vitro*. Ce test a également montré que les PM_{2,5} collectées en saison froide ont un potentiel œstrogénique plus élevé que celles prélevées en saison chaude. De plus, malgré une présence moindre dans l'air, la fraction granulométrique participant majoritairement au potentiel œstrogénique de l'air sont les PM_{2,5}, qu'il soit considéré la masse de particules ou le volume d'air. Et, de manière générale, l'effet œstrogénique induit tend à être plus important, pour toutes les fractions granulométriques, en hiver qu'en été. La quantité de particules nécessaire pour induire un effet à 50 % y est ainsi moindre qu'en saison chaude.

Afin d'approfondir ces résultats, les voies d'action des extraits particulaires ont été étudiées, notamment, pour identifier le type de récepteur ER par lequel passe l'induction œstrogénique. L'utilisation d'une molécule (ICI) bloquant spécifiquement le récepteur ER α lors de l'exposition cellulaire aux extraits particulaires a permis d'observer l'inhibition complète de l'effet initialement induit par les extraits particulaires. Cela a montré que les réponses œstrogéniques induites par les particules passent par l'induction spécifique de l'isoforme ER α .

En complément, les effets hormono-compétitifs potentiellement induits par les extraits particulaires ont également été étudiés. L'exposition conjointe des cellules aux extraits

particulaires et à une concentration saturante d'E2 a montré une diminution significative de l'effet œstrogénique induit par E2 pour quasiment tous les extraits particuliers. Ce résultat montre que, même si une induction œstrogénique est induite par les particules, la contamination organique des échantillons a également la faculté de diminuer les niveaux de réponse œstrogénique d'E2. Le mécanisme sous-jacent reste à déterminer plus précisément. En effet, ces tests ne permettent pas de distinguer l'origine de cette chute d'activité induit par ces mélanges de composés environnementaux. Il est possible que la diminution de l'activité d'E2 soit liée à des composés ayant une forte affinité pour le récepteur ER, induisant des effets œstrogéniques, mais avec une activité moindre que le composé de référence. Une seconde hypothèse envisagée est que certains composés extraits aient un effet anti-œstrogénique bloquant ou diminuant l'activité œstrogénique d'E2 une fois fixés sur ER. Le mécanisme précis induisant cette diminution d'effet n'a pas pu être déterminé. Ce point serait à étudier de façon plus approfondie dans le futur, notamment en réalisant des tests cellulaires sous la forme de gamme de concentrations des échantillons testés, comme pour l'étude des effets œstrogéniques, mais en présence d'E2.

Lors de l'étude des effets œstrogéniques, certains échantillons, plus spécifiquement des échantillons collectés en saison froide et sur le site P15, ont montré une courbe dose-réponse non-monotonique (DRNM). En effet, une chute des effets œstrogéniques a été observée après l'atteinte de l'effet maximal (plateau haut) ; la courbe est dite en « U inversé ». Aucune cytotoxicité associée n'ayant été mesurée, l'hypothèse d'une chute de la viabilité cellulaire comme explication de la baisse d'effet œstrogénique a été rejetée. Dans la littérature, les courbes de type DRNM ont déjà été mises en évidence pour des composés PE purs, et sont typiques d'un effet non dose-dépendant. Cette observation conduit à s'interroger sur la variabilité des niveaux de réponse induits par les extraits organiques particuliers, en fonction de la quantité d'exposition. Mais, il n'est pas évident de conclure sur l'origine de cette chute d'effet. Le mécanisme sous-jacent aux DRNM ne faisant pas l'objet d'un consensus pour les composés PE purs, l'interprétation de cet effet dans le cas d'un mélange environnemental est d'autant plus complexe. En effet, au-delà d'une explication liée à une modification de la réponse cellulaire au niveau des récepteurs ER, dans le cas d'un mélange de composés environnementaux comme ici, on doit considérer les différences de propriétés œstrogéniques (agonistes ou antagonistes) propres à chaque composé contenu dans le mélange, ainsi que les interactions possibles entre ces composés. De plus, les composés identifiés dans les extraits particuliers ont été recherchés en appui de la littérature scientifique pour leur sélection, mais

d'autres composés non quantifiés ou méconnus sont potentiellement présents et influencent les effets biologiques induits, sur les cellules et en interaction avec les autres composés du mélange (effets cocktail). Cette observation demeure à explorer. L'étude d'un mélange à façon, concentrant les composés quantifiés pour les extraits particuliers ayant montré un effet DRNM, pourrait être une première approche pour caractériser les effets œstrogéniques en lien avec un mélange de contaminants. L'analyse dirigée par bio-essais (EDA, *effect-directed analysis*) associée à une analyse chimique non ciblée pourrait être une seconde approche, permettant de séparer un extrait environnemental en plusieurs sous-extraits afin de réduire sa complexité.

L'autre voie d'activité perturbatrice endocrinienne ayant été étudiée ici, est la voie anti-androgénique. A l'exception de quelques échantillons, les effets observés n'ont pas permis de calculer les paramètres de la courbe dose-réponse permettant d'estimer l'activité anti-androgénique propre à chaque échantillon. Ces tests ont été répétés mais, une trop grande variabilité dans les niveaux de réponse a empêché une estimation d'activité anti-androgénique robuste. Cependant, ce résultat est en accord avec certaines études, ayant montré que cet effet anti-androgénique semblait davantage induit par la phase gazeuse atmosphérique, plutôt que la phase particulaire. Néanmoins, cet effet a été observé pour quelques échantillons et ils pourraient être étudiés de façon plus approfondie, en lien avec les propriétés anti-androgéniques de certains composés retrouvés dans les extraits particuliers.

En complément des effets de type œstrogénique et anti-androgénique, une autre voie d'action a été étudiée, celle de l'induction du récepteur aryl aux hydrocarbures (AhR). Cette voie d'action biologique complexe est impliquée dans des effets génotoxiques, immunologiques, métaboliques, mais également, en lien avec ER, elle peut avoir un impact sur les récepteurs hormonaux.

Ces tests cellulaires ont montré que certains échantillons ont la capacité d'être agonistes totaux du récepteur AhR, c'est-à-dire ils ont la capacité d'induire l'effet maximal du composé de référence (la TCDD). Cette observation concerne les extraits particuliers de saison froide, et particulièrement les extraits de PM_{2,5} qui se sont tous révélés être des agonistes totaux de AhR en hiver.

Parmi les fractions particulières collectées en hiver, ce sont les PM₁₀ qui ont le potentiel *dioxin-like* le plus important. Une quantité moindre de ces particules, comparativement à des prélèvements en été, est nécessaire pour induire 50 % d'effet, et à des niveaux maximaux plus

élevés. Au sein de cette fraction PM₁₀, ce fort effet *dioxin-like* semble être amené par la fraction fine, les PM_{2,5} contenues dans les PM₁₀.

Ces hauts niveaux d'activité ont également été évalués par le calcul de l'équivalent TCDD dans un volume d'air (pg/m³). Les TEQ_{bio} les plus élevés ont été calculés pour les extraits organiques des particules issues de saison froide. Certains échantillons ont même montré un haut potentiel inducteur *dioxin-like*, en équivalent TEQ_{bio}, correspondant à plus de 1 ng de TCDD par m³ d'air. Ces hautes valeurs de TEQ_{bio} ont été observées pour des échantillons prélevés en saison froide du site P15, de type PM₁₀ et TSP. Il est à noter que ces hauts potentiels d'activité *dioxin-like* ont été ponctuels. Ce calcul s'appuyant sur une comparaison des niveaux de réponse entre les échantillons et la TCDD, celui-ci donne une idée du potentiel impact fort des particules atmosphériques urbaines sur le récepteur AhR. Il est à noter que ces mêmes échantillons ont aussi des niveaux d'équivalent E2 en pg/m³ les plus élevés, et présentent une réponse biologique non-dose-dépendante pour l'effet œstrogénique (DRNM). Ces échantillons (Hiv5 TSP, Hiv6 PM₁₀ et TSP) semblent être des échantillons ayant un haut niveau d'activité biologique, que cela soit pour l'effet œstrogénique ou *dioxin-like*. Des analyses chimiques non spécifiques pourraient être menées afin d'identifier d'autres composés chimiques pouvant être présents dans ces extraits organiques à haut potentiel d'activité biologique. De plus, les DL-PCB et la dioxine (TCDD) pourraient également être recherchés.

L'objectif de cette thèse étant de caractériser les effets biologiques en fonction des caractéristiques chimiques des particules, la dernière étape de ce travail a été de mettre en regard les résultats des analyses chimiques et des tests cellulaires *in vitro* réalisés sur les extraits de particules. Ce lien entre les analyses chimiques et les analyses biologiques s'est fait de deux manières. Il a tout d'abord été décidé d'identifier les potentiels liens de corrélation entre la quantification des composés, par famille, et les effets biologiques. Cette analyse des corrélations a montré que certaines familles étaient associées à une augmentation du potentiel œstrogénique et d'autres à une diminution.

Les familles ayant été identifiées comme étant liées à une diminution de l'effet biologique sont les phtalates et les PCB. Les phtalates sont les composés les plus concentrés dans la fraction organique des particules analysées. Bien que des études aient montré que certains congénères pouvaient avoir des effets œstrogénique et *dioxin-like*, ils ne semblent pas contribuer à l'activité biologique des extraits de ce doctorat. Au contraire, leur présence est liée à une diminution significative de l'activité biologique. En effet, l'augmentation de leur concentration dans les particules est en lien avec une augmentation de la quantité de particules nécessaires pour

atteindre 50 % de l'activité de l'échantillon, et une diminution de l'effet maximal induit par ces mêmes échantillons, que cela soit pour les effets œstrogéniques ou *dioxin-like*. Une des explications possibles de cette observation est que bien que ces composés soient trouvés en grande quantité dans les particules, leurs concentrations ne sont pas suffisamment élevées pour induire un effet biologique significatif. Même si cette famille de composés représente la majorité de la contamination chimique des particules, leur présence ne semble pas induire le potentiel biologique des extraits particulaires. Pour identifier formellement les effets induits par ces familles de composés, des tests biologiques *in vitro* de type anti-œstrogénique et anti-*dioxin-like* pourraient être réalisés. Ainsi, ces tests complémentaires permettraient d'identifier si leur présence dans la masse de particules est sans effet biologique et entraîne une dilution des effets. Une seconde hypothèse est que ces composés ont une activité biologique antagoniste et donc bloquent les effets lorsqu'ils sont en mélange avec des composés œstrogéniques ou inducteurs d'effet *dioxin-like*. Les familles de composés ayant été identifiées comme augmentant les effets biologiques sont les HAP et les PBDE. Les PBDE ont uniquement été associés à une diminution de l'EC50 pour l'effet œstrogénique, c'est-à-dire que leur présence est en lien avec une diminution de la quantité de particules extraites nécessaires pour induire 50 % de l'effet de l'échantillon. Mais, les PBDE n'ont pas été associés à une augmentation de l'effet maximal. Leur impact semble donc moindre que les autres composés identifiés comme augmentant l'effet biologique, les HAP. Les HAP ont été liés à une augmentation du potentiel œstrogénique et *dioxin-like* des extraits de particules, sur tous les paramètres d'effets calculés. Ainsi, une augmentation de leur concentration est associée à une quantité de particules plus faible pour induire un effet, ainsi qu'une augmentation de l'effet maximal, que cela soit pour les effets œstrogéniques et *dioxin-like*. Cette relation entre la présence d'HAP et les effets biologiques induits par les particules a été étudiée plus précisément. Il a ainsi été déterminé que les HAP lourds semblent être les composés responsables de l'augmentation du potentiel œstrogénique et *dioxin-like*. Ces résultats correspondent à ce qui a précédemment été décrit dans la littérature. De plus, la contamination chimique des échantillons identifiés précédemment comme ayant les plus hauts niveaux d'activité biologique a été étudiée. Cela nous a montré que les échantillons Hiv6 de type PM₁₀ et TSP étaient trois à quatre fois plus contaminés en HAP lourds. Ces échantillons étant ceux ayant les potentiels biologiques œstrogénique et *dioxin-like* les plus élevés, cela confirme que les HAP, et particulièrement les HAP lourds, jouent un rôle majeur dans les effets induits par les particules atmosphériques, même s'ils ne sont pas les composés majoritaires. Néanmoins, d'autres composés non recherchés pourraient être également liés à l'augmentation de l'activité biologique induite par les particules. Des analyses chimiques non

ciblées pourraient compléter les informations recueillies lors de ce doctorat. Dans un second temps une estimation du potentiel biologique de la contamination des PM a été réalisée à partir de données d'effets connus pour chaque composé étudié et de leur concentration particulaire. Néanmoins, cette estimation théorique s'est révélée être bien en deçà des mesures expérimentales d'activités calculées pour l'effet *dioxin-like*. Cependant, cette comparaison entre équivalents hormonaux (EEQ) ou toxiques (TEQ) estimés par approche chimique avec ceux calculés par approche biologique, est un outil intéressant pour mettre en perspective la contamination chimique en COSV cibles des particules et son potentiel œstrogénique, lequel s'avère assez similaire quel que soit son mode de calcul (par approche chimique ou biologique).

Les résultats obtenus lors de cette thèse, ont permis de lier la contamination chimique de fractions particulaires atmosphériques urbaines à des effets biologiques associés. Ces résultats mettent en exergue le fort potentiel biologique de la fraction granulométrique, PM_{2,5}, ainsi que le rôle majeur des HAP dans les perturbations œstrogénique et *dioxin-like*. Ainsi, l'effet biologique associé aux particules atmosphériques semble être moins en relation avec la masse de molécules transportées dans la fraction organique, mais bien avec le type de composés, et particulièrement les HAP. Cette étude soulève des questions, car seul le benzo[a]pyrène est réglementé dans l'air et de manière générale, ces composés ne sont pas surveillés de façon automatique. De plus, seule la phase particulaire est étudiée, et les HAP sont aussi retrouvés dans la phase gazeuse. L'exposition humaine à ces composés par inhalation concerne les deux phases atmosphériques. Ainsi, il serait intéressant de mener les mêmes analyses (chimiques et biologiques) avec les deux phases atmosphériques, gazeuse et particulaire, pour ainsi tenir compte de l'exposition globale humaine. En perspective, pour pouvoir lier plus finement ces résultats à l'exposition humaine, une étude de la biodisponibilité et de la bioaccessibilité cellulaire des composés transportés par les particules pourrait être menée. Une mesure des polluants transportés par les particules avant et après exposition cellulaire permettrait d'estimer les composés pouvant réellement accéder aux cellules. Cela permettrait de mieux caractériser le passage de ces molécules depuis les particules vers les cellules pulmonaires. Enfin, pour mieux caractériser la pollution particulaire et ses effets selon la fraction granulométrique, il serait intéressant de mener une étude du même type, mais d'effectuer des prélèvements avec un impacteur. Ainsi, la séparation de fractions granulométriques de particules issues d'un même prélèvement permettrait d'identifier plus finement les fractions granulométriques à l'origine des effets et/ou porteuse de contamination chimique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADEME. 2020. *Guide d'aide déclarants PCB*.
- Airparif. 2008. « Synthèse des connaissances sur les particules en suspension dans l'air et des travaux d'Airparif sur ces polluants ». p. 105.
- Ali, N, NA Alhakamy, I Ismail, E Nazar, AS Summan, SA Shah Eqani et G Malarvannan. 2021. « Exposure to Phthalate and Organophosphate Esters via Indoor Dust and PM10 Is a Cause of Concern for the Exposed Saudi Population ». *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, n° 4, p. 2125. <<https://doi.org/10.3390/ijerph18042125>>.
- Alliot, F, E Moreau-Guigon, C Bourges, A Desportes, MJ Teil, M Blanchard et M Chevreuil. 2014. « A multi-residue method for characterization of endocrine disruptors in gaseous and particulate phases of ambient air ». *Atmospheric Environment*, vol. 92, p. 1-8. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.02.044>>.
- Alvarez, DA, NW Shappell, LO Billey, DS Bermudez, VS Wilson, DW Kolpin, S. D. Perkins, N. Evans, W. T. Foreman, J. L. Gray, M. J. Shipitalo et M. T. Meyer. 2013. « Bioassay of estrogenicity and chemical analyses of estrogens in streams across the United States associated with livestock operations ». *Water Research*, vol. 47, n° 10, p. 3347-3363. <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.028>>.
- Annamalai, J et V Namasivayam. 2015. « Endocrine disrupting chemicals in the atmosphere: Their effects on humans and wildlife ». *Environment International*, vol. 76, p. 78-97. <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.12.006>>.
- Arcaro, KF, PW O'Keefe, YI Yang, W Clayton et JF Gierthy. 1999. « Antiestrogenicity of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons in human breast cancer cells ». *Toxicology*, vol. 133, n° 2, p. 115-127.
- Bansal, A, J Henao-Mejia et RA Simmons. 2018. « Immune System: An Emerging Player in Mediating Effects of Endocrine Disruptors on Metabolic Health ». *Endocrinology*, vol. 159, n° 1, p. 32-45. <<https://doi.org/10.1210/en.2017-00882>>.
- Bartonkova, I, A Novotna et Z Dvorak. 2015. « Novel Stably Transfected Human Reporter Cell Line AIZ-AR as a Tool for an Assessment of Human Androgen Receptor Transcriptional Activity ». *PLOS ONE*, vol. 10, n° 3, p. e0121316. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121316>>.
- Baulig, A, JJ Poirault, P Ausset, R Schins, T Shi, D Baralle, P Dorlhene, M Meyer, R Lefevre, A Baeza-Squiban et F Marano. 2004. « Physicochemical Characteristics and Biological Activities of Seasonal Atmospheric Particulate Matter Sampling in Two Locations of Paris ». *Environmental Science & Technology*, vol. 38, n° 22, p. 5985-5992. <<https://doi.org/10.1021/es049476z>>.
- Bergman, Å, United Nations Environment Programme, et World Health Organization. 2013. *State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012 an assessment of the state of the science of endocrine disruptors*. Geneva : WHO : UNEP. <<http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/index.html>>. Consulté le 2 janvier 2020.

- Bernstein, DM. 2004. « A Review of the Influence of Particle Size, Puff Volume, and Inhalation Pattern on the Deposition of Cigarette Smoke Particles in the Respiratory Tract ». *Inhalation Toxicology*, vol. 16, n° 10, p. 675-689. <<https://doi.org/10.1080/08958370490476587>>.
- Blanchard, Olivier, Philippe Glorennec, Fabien Mercier, Nathalie Bonvallot, Cécile Chevrier, Olivier Ramalho, Corinne Mandin et Barbara Le Bot. 2014. « Semivolatile organic compounds in indoor air and settled dust in 30 French dwellings ». *Environmental Science & Technology*, vol. 48, n° 7, p. 3959-3969. <<https://doi.org/10.1021/es405269q>>.
- Bonefeld-Jorgensen, EC, M Long, MV Hofmeister et AM Vinggaard. 2007. « Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-n-nonylphenol, and 4-n-octylphenol in vitro: new data and a brief review ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 115, n° S-1, p. 69.
- Bonefeld-Jørgensen, EC, HR Andersen, TH Rasmussen et AM Vinggaard. 2001. « Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity ». *Toxicology*, vol. 158, n° 3, p. 141-153.
- Borgie, Mireille. [s d]. « Étude des particules fines et ultrafines en suspension dans l'air au Liban: caractérisation physicochimique et évaluation des effets toxicologiques sur des cellules pulmonaires humaines BEAS-2B ». p. 328.
- Bovee, TFH, RJR Helsdingen, ARM Hamers, BA Brouwer et MWF Nielen. 2011. « Recombinant cell bioassays for the detection of (gluco)corticosteroids and endocrine-disrupting potencies of several environmental PCB contaminants ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 401, n° 3, p. 873-882. <<https://doi.org/10.1007/s00216-011-5162-5>>. Consulté le 10 juin 2013.
- Braekvelt, E, SA Tittlemier et GT Tomy. 2003. « Direct measurement of octanol–water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners ». *Chemosphere*, vol. 51, n° 7, p. 563-567. <[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00841-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00841-X)>.
- Brown, JS, KL Zeman et WD Bennett. 2002. « Ultrafine Particle Deposition and Clearance in the Healthy and Obstructed Lung ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 166, n° 9, p. 1240-1247. <<https://doi.org/10.1164/rccm.200205-399OC>>.
- Bustamante-Marin, XM et LE Ostrowski. 2017. « Cilia and Mucociliary Clearance ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. 9, n° 4, p. a028241. <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>>.
- Carlson, RW. 2005. « The History and Mechanism of Action of Fulvestrant ». *Clinical Breast Cancer*, vol. 6, p. S5-S8. <<https://doi.org/10.3816/CBC.2005.s.008>>.
- Caserta, D, L Maranghi, A Mantovani, R Marci, F Maranghi et M Moscarini. 2007. « Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology ». *Human Reproduction Update*, vol. 14, n° 1, p. 59-72. <<https://doi.org/10.1093/humupd/dmm025>>.
- Ceccatelli, R, O Faass, M Schlumpf et W Lichtensteiger. 2006. « Gene expression and estrogen sensitivity in rat uterus after developmental exposure to the polybrominated

- diphenylether PBDE 99 and PCB ». *Toxicology*, vol. 220, n° 2-3, p. 104-116. <<https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.12.004>>.
- Chen, J, KC Ahn, NA Gee, SJ Gee, BD Hammock et BL Lasley. 2007. « Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products ». *Toxicology and applied pharmacology*, vol. 221, n° 3, p. 278-284.
- Chen, MH, B Yu, ZF Zhang et WL Ma. 2021. « Occurrence of parabens in outdoor environments: Implications for human exposure assessment ». *Environmental Pollution*, vol. 282, p. 117058. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117058>>.
- Chen, R, RD Peng, X Meng, Z Zhou, B Chen et H Kan. 2013. « Seasonal variation in the acute effect of particulate air pollution on mortality in the China Air Pollution and Health Effects Study (CAPES) ». *Science of The Total Environment*, vol. 450-451, p. 259-265. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.040>>.
- Christen, V, P Crettaz, A Oberli-Schrämml et K Fent. 2010. « Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity in vitro ». *Chemosphere*, vol. 81, n° 10, p. 1245-1252. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.031>>. Consulté le 7 mai 2013.
- Cincinelli, A, F Pieri, T Martellini, M Passaponti, MD Bubba, SD Vento et AA Katsoyiannis. 2014. « Atmospheric Occurrence and Gas-Particle Partitioning of PBDEs in an Industrialised and Urban Area of Florence, Italy ». *Aerosol and Air Quality Research*, vol. 14, n° 4, p. 1121-1130. <<https://doi.org/10.4209/aaqr.2013.01.0021>>.
- Clemons, JH, LM Allan, CH Marvin, Z Wu, BE McCarry, DW Bryant et TR Zacharewski. 1998. « Evidence of Estrogen- and TCDD-Like Activities in Crude and Fractionated Extracts of PM₁₀ Air Particulate Material Using in Vitro Gene Expression Assays ». *Environmental Science & Technology*, vol. 32, n° 12, p. 1853-1860. <<https://doi.org/10.1021/es971124n>>.
- Cohen, AJ, M Brauer, R Burnett, HR Anderson, J Frostad, K Estep, K Balakrishnan, B Brunekreef, L Dandona, R Dandona, V Feigin, G Freedman, B Hubbell, A Jobling, H Kan, L Knibbs, Y Liu, R Martin, L Morawska, CA Pope, H Shin, K Straif, G Shaddick, M Thomas, R van Dingenen, A van Donkelaar, T Vos, CJL Murray et M Forouzanfar. 2017. « Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015 ». *The Lancet*, vol. 389, n° 10082, p. 1907-1918. <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30505-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30505-6)>.
- Cohen, AJ, JM Samet, K Straif, et International Agency for Research on Cancer. 2013. *Air pollution and cancer*. Lyon : International Agency for Research on Cancer. <<http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Air-Pollution-And-Cancer-2013>>. Consulté le 6 avril 2020.
- Coll, AP. 2013. « “Are melanocortin receptors constitutively active in vivo?” » *European Journal of Pharmacology*, vol. 719, n° 1-3, p. 202-207. <<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.04.051>>.
- Collins, CD, M Craggs, S Garcia-Alcega, K Kademoglou et S Lowe. 2015. « ‘Towards a unified approach for the determination of the bioaccessibility of organic pollutants’ ».

- Environment International*, vol. 78, p. 24-31.
<<https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.02.005>>.
- Conley, JM, N Evans, H Mash, L Rosenblum, K Schenck, S Glassmeyer, ET Furlong, DW Kolpin et VS Wilson. 2017. « Comparison of in vitro estrogenic activity and estrogen concentrations in source and treated waters from 25 U.S. drinking water treatment plants ». *Science of The Total Environment*, vol. 579, p. 1610-1617.
<<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.093>>.
- Conley, JM, BR Hannas, JR Furr, VS Wilson et LE Gray. 2016. « A Demonstration of the Uncertainty in Predicting the Estrogenic Activity of Individual Chemicals and Mixtures From an In Vitro Estrogen Receptor Transcriptional Activation Assay (T47D-KBluc) to the In Vivo Uterotrophic Assay Using Oral Exposure ». *Toxicological Sciences*, vol. 153, n° 2, p. 382-395. <<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw134>>.
- Conner, SD et SL Schmid. 2003. « Regulated portals of entry into the cell ». *Nature*, vol. 422, n° 6927, p. 37-44. <<https://doi.org/10.1038/nature01451>>.
- Cooke, RM, AM Wilson, JT Tuomisto, O Morales, M Tainio et JS Evans. 2007. « A Probabilistic Characterization of the Relationship between Fine Particulate Matter and Mortality: Elicitation of European Experts ». *Environmental Science & Technology*, vol. 41, n° 18, p. 6598-6605. <<https://doi.org/10.1021/es0714078>>.
- Cousins, IT, D Mackay et TF Parkerton. 2003. « Physical-Chemical Properties and Evaluative Fate Modelling of Phthalate Esters ». In *Series Anthropogenic Compounds*, sous la dir. de Staples, CA, p. 57-84. Coll. « The Handbook of Environmental Chemistry », vol. 3Q. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg. <<https://doi.org/10.1007/b11463>>. Consulté le 13 mai 2022.
- Croes, Kim, Rosette Van den Heuvel, Bo Van den Bril, Jeroen Staelens, Michael S. Denison, Kersten Van Langenhove, Tara Vandermarken et Marc Elskens. 2016. « Assessment of estrogenic and androgenic activity in PM10 air samples from an urban, industrial and rural area in Flanders (Belgium) using the CALUX bioassay ». *Environmental Research*, vol. 150, p. 66-72. <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.05.044>>.
- Dahlman-Wright, K, V Cavailles, SA Fuqua, VC Jordan, JA Katzenellenbogen, KS Korach, A Maggi, M Muramatsu, MG Parker et JA Gustafsson. 2006. « International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen Receptors ». *Pharmacological Reviews*, vol. 58, n° 4, p. 773-781. <<https://doi.org/10.1124/pr.58.4.8>>.
- Darbre, Philippa. 2018. « Overview of air pollution and endocrine disorders ». *International Journal of General Medicine*, vol. Volume 11, p. 191-207.
<<https://doi.org/10.2147/IJGM.S102230>>.
- Darnerud, PO. 2008. « Brominated flame retardants as possible endocrine disrupters ». *International Journal of Andrology*, vol. 31, n° 2, p. 152-160.
<<https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2008.00869.x>>. Consulté le 7 mai 2013.
- Darquenne, C. 2020. « Deposition Mechanisms ». *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, vol. 33, n° 4, p. 181-185.
<<https://doi.org/10.1089/jamp.2020.29029.cd>>.

- Davey, RA et M Grossmann. 2016. « Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Bedside ». p. 13.
- Dèdelè, A et A Miškinytė. 2019. « Seasonal and site-specific variation in particulate matter pollution in Lithuania ». *Atmospheric Pollution Research*, vol. 10, n° 3, p. 768-775. <<https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.12.004>>.
- Degrendele, C, K Okonski, L Melymuk, L Landlová, P Kukučka, P Čupr et J Klánová. 2014. « Size specific distribution of the atmospheric particulate PCDD/Fs, dl-PCBs and PAHs on a seasonal scale: Implications for cancer risks from inhalation ». *Atmospheric Environment*, vol. 98, p. 410-416. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.09.001>>.
- Delfino, RJ, N Staimer, T Tjoa, A Polidori, M Arhami, DL Gillen, MT Kleinman, ND Vaziri, J Longhurst, F Zaldivar et C Sioutas. 2008. « Circulating Biomarkers of Inflammation, Antioxidant Activity, and Platelet Activation Are Associated with Primary Combustion Aerosols in Subjects with Coronary Artery Disease ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 116, n° 7, p. 898-906. <<https://doi.org/10.1289/ehp.11189>>.
- Delfosse, V, B Dendele, T Huet, M Grimaldi, A Boulahtouf, S Gerbal-Chaloin, B Beucher, D Roecklin, C Muller, R Rahmani, V Cavallès, M Daujat-Chavanieu, V Vivat, JM Pascussi, P Balaguer et W Bourguet. 2015. « Synergistic activation of human pregnane X receptor by binary cocktails of pharmaceutical and environmental compounds ». *Nature Communications*, vol. 6, n° 1, p. 8089. <<https://doi.org/10.1038/ncomms9089>>.
- Diamanti-Kandarakis, E, JP Bourguignon, LC Giudice, R Hauser, GS Prins, AM Soto, RT Zoeller et AC Gore. 2009. « Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement ». *Endocrine Reviews*, vol. 30, n° 4, p. 293-342. <<https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>>.
- van Drooge, BL, A Marqueño, JO Grimalt, P Fernández et C Porte. 2017. « Comparative toxicity and endocrine disruption potential of urban and rural atmospheric organic PM 1 in JEG-3 human placental cells ». *Environmental Pollution*, vol. 230, p. 378-386. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.025>>.
- Duan, J, H Hu, Y Zhang, L Feng, Y Shi, MR Miller et Z Sun. 2017. « Multi-organ toxicity induced by fine particulate matter PM 2.5 in zebrafish (*Danio rerio*) model ». *Chemosphere*, vol. 180, p. 24-32. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.013>>.
- Eeftens, M, MY Tsai, C Ampe, B Anwander, R Beelen, T Bellander, G Cesaroni, M Cirach, J Cyrus, K de Hoogh, A De Nazelle, F de Vocht, C Declercq, A Dèdelè, K Eriksen, C Galassi, R Gražulevičienė, G Grivas, J Heinrich, B Hoffmann, M Iakovides, A Ineichen, K Katsouyanni, M Korek, U Krämer, T Kuhlbusch, T Lanki, C Madsen, K Meliefste, A Mølter, G Mosler, M Nieuwenhuijsen, M Oldenwening, A Pennanen, N Probst-Hensch, U Quass, O Raaschou-Nielsen, A Ranzi, E Stephanou, D Sugiri, O Udvardy, E Vaskövi, G Weinmayr, B Brunekreef et G Hoek. 2012. « Spatial variation of PM2.5, PM10, PM2.5 absorbance and PMcoarse concentrations between and within 20 European study areas and the relationship with NO2 – Results of the ESCAPE project ». *Atmospheric Environment*, vol. 62, p. 303-317. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.08.038>>.

- Escande, A, A Pillon, N Servant, JP Cravedi, F Larrea, P Muhn, JC Nicolas, V Cavaillès et P Balaguer. 2006. « Evaluation of ligand selectivity using reporter cell lines stably expressing estrogen receptor alpha or beta ». *Biochemical Pharmacology*, vol. 71, n° 10, p. 1459-1469. <<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.02.002>>.
- European Environment Agency. 2009. *Contribution of different sectors (energy and non-energy) to total emissions of PM10 and PM2.5, 2009, EEA-32*. <<https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/figures/contribution-of-different-sectors-energy-4>>.
- Fang, H, W Tong, WS Branham, CL Moland, SL Dial, H Hong, Q Xie, R Perkins, W Owens et DM Sheehan. 2003. « Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor ». *Chemical research in toxicology*, vol. 16, n° 10, p. 1338-1358.
- Farmer, SA, TD Nelin, MJ Falvo et LE Wold. 2014. « Ambient and household air pollution: complex triggers of disease ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, vol. 307, n° 4, p. H467-476. <<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00235.2014>>.
- Fauches, R. 2017. « Transfert des hydrocarbures aromatiques polycycliques à l'échelle d'un bassin versant : caractérisation de sources par l'isotopie moléculaire ». Paris, France, PSL Université, 254 p.
- Fernández, P, JO Grimalt et RM Vilanova. 2002. « Atmospheric Gas-Particle Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in High Mountain Regions of Europe ». *Environmental Science & Technology*, vol. 36, n° 6, p. 1162-1168. <<https://doi.org/10.1021/es010190t>>.
- Firman, JW, A Punt, MTD Cronin, AR Boobis, MF Wilks, PA Hepburn, A Thiel et KC Fussell. 2021. « Exploring the Potential of ToxCast Data in Supporting Read-Across for Evaluation of Food Chemical Safety ». *Chemical Research in Toxicology*, vol. 34, n° 2, p. 300-312. <<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00240>>.
- Forman, HJ et CE Finch. 2018. « A critical review of assays for hazardous components of air pollution ». *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 117, p. 202-217. <<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.030>>.
- Gao, W, CE Bohl et JT Dalton. 2007. « Chemistry and Structural Biology of Androgen Receptor ». p. 41.
- Gehr, P, C Mühlfeld et B Rothen-Rutishauser. 2010. « Particle-Lung Interactions ». p. 194.
- Geiser, M. 2010. « Update on Macrophage Clearance of Inhaled Micro- and Nanoparticles ». *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, vol. 23, n° 4, p. 207-217. <<https://doi.org/10.1089/jamp.2009.0797>>.
- Geiser, M, S Schürch et P Gehr. 2003. « Influence of surface chemistry and topography of particles on their immersion into the lung's surface-lining layer ». *Journal of Applied Physiology*, vol. 94, n° 5, p. 1793-1801. <<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00514.2002>>.

- Ghosh, S et M Sahu. 2022. « Phthalate pollution and remediation strategies: A review ». *Journal of Hazardous Materials Advances*, vol. 6, p. 100065. <<https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100065>>.
- Gierthy, JF, KF Arcaro et M Floyd. 1997. « Assessment of PCB estrogenicity in a human breast cancer cell line ». *Chemosphere*, vol. 34, n° 5–7, p. 1495-1505. <[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00446-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00446-3)>. Consulté le 24 mai 2013.
- Giesy, JP et K Kannan. 1998. « Dioxin-Like and Non-Dioxin-Like Toxic Effects of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications For Risk Assessment ». p. 60.
- Gjernes, MH, D Schlenk et A Arukwe. 2012. « Estrogen receptor-hijacking by dioxin-like 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) in salmon hepatocytes involves both receptor activation and receptor protein stability ». *Aquatic Toxicology*, vol. 124-125, p. 197-208. <<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.08.015>>.
- Hall, JE et AC Guyton. 2011. *Guyton and Hall textbook of medical physiology: Student consult. Activate at studentconsult.com. Searchable full text online*, 12. ed. Philadelphia, Pa : Saunders, Elsevier, 1091 p.
- Hamers, T, JH Kamstra, E Sonneveld, AJ Murk, MHA. Kester, PL Andersson, J Legler et A Brouwer. 2006. « In Vitro Profiling of the Endocrine-Disrupting Potency of Brominated Flame Retardants ». *Toxicological Sciences*, vol. 92, n° 1, p. 157-173. <<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj187>>. Consulté le 7 mai 2013.
- Hassanvand, MS, K Naddafi, S Faridi, R Nabizadeh, MH Sowlat, F Momeniha, A Gholampour, M Arhami, H Kashani, A Zare, S Niazi, N Rastkari, S Nazmara, M Ghani et M Yunesian. 2015. « Characterization of PAHs and metals in indoor/outdoor PM10/PM2.5/PM1 in a retirement home and a school dormitory ». *Science of The Total Environment*, vol. 527–528, p. 100-110. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.001>>.
- Héquet, D, S Mzoughi, R Rouzier et E Guccione. 2017. « Les récepteurs aux androgènes dans le cancer du sein : expression, valeur et perspectives thérapeutiques ». *Bulletin du Cancer*, vol. 104, n° 4, p. 363-369. <<https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2017.01.005>>.
- Hill, Corinne E., J. P. Myers et Laura N. Vandenberg. 2018. « Nonmonotonic Dose–Response Curves Occur in Dose Ranges That Are Relevant to Regulatory Decision-Making ». *Dose-Response*, vol. 16, n° 3. <<https://doi.org/10.1177/1559325818798282>>. Consulté le 17 avril 2020.
- Hofmann, PJ, L Schomburg et J Köhrle. 2009. « Interference of Endocrine Disrupters with Thyroid Hormone Receptor–Dependent Transactivation ». *Toxicological Sciences*, vol. 110, n° 1, p. 125-137. <<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp086>>. Consulté le 7 mai 2013.
- Hussain, K, RR Hoque, S Balachandran, S Medhi, MG Idris, M Rahman et FL Hussain. 2018. « Monitoring and Risk Analysis of PAHs in the Environment ». In *Handbook of Environmental Materials Management*, sous la dir. de Hussain, CM, p. 1-35. Cham : Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-58538-3_29-2>. Consulté le 1 mai 2022.
- INSERM. 2013. « Reproduction et environnement ». p. 740.

- Iodice, S, L Pagliardini, L Cantone, E Giacomini, M Candiani, P Viganò et V Bollati. 2021. « Association between short-term exposure to particulate matter air pollution and outcomes of assisted reproduction technology in Lombardy, Italy: A retrospective cohort study ». *Reproductive Toxicology*, vol. 105, p. 148-155. <<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2021.08.008>>.
- Jobling, S, T Reynolds, R White, M G Parker et J P Sumpter. 1995. « A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. » *Environmental Health Perspectives*, vol. 103, n° 6, p. 582-587.
- Jung, J, K Ishida et T Nishihara. 2004. « Anti-estrogenic activity of fifty chemicals evaluated by in vitro assays ». *Life Sciences*, vol. 74, n° 25, p. 3065-3074. <<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.030>>. Consulté le 28 mai 2013.
- Kabir, ER, MS Rahman et I Rahman. 2015a. « A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health ». *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 40, n° 1, p. 241-258. <<https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.009>>.
- Kampa, M et E Castanas. 2008. « Human health effects of air pollution ». *Environmental Pollution*, vol. 151, n° 2, p. 362-367. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.012>>.
- Kapoor, D et TH Jones. 2005. « Smoking and hormones in health and endocrine disorders ». *European Journal of Endocrinology*, vol. 152, n° 4, p. 491-499. <<https://doi.org/10.1530/eje.1.01867>>.
- Kaufmann, B et P Christen. 2002. « Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction ». *Phytochemical Analysis*, vol. 13, n° 2, p. 105-113. <<https://doi.org/10.1002/pca.631>>.
- Kawanaka, Y, Y Tsuchiya, SJ Yun et K Sakamoto. 2009. « Size Distributions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere and Estimation of the Contribution of Ultrafine Particles to Their Lung Deposition ». *Environmental Science & Technology*, vol. 43, n° 17, p. 6851-6856. <<https://doi.org/10.1021/es900033u>>.
- Kojima, H, S Takeuchi, N Uramaru, K Sugihara, T Yoshida et S Kitamura. 2009. « Nuclear Hormone Receptor Activity of Polybrominated Diphenyl Ethers and Their Hydroxylated and Methoxylated Metabolites in Transactivation Assays Using Chinese Hamster Ovary Cells ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 117, n° 8, p. 1210-1218. <<https://doi.org/10.1289/ehp.0900753>>. Consulté le 7 mai 2013.
- Kong, S, Y Ji, L Liu, L Chen, X Zhao, J Wang, Z Bai et Z Sun. 2013. « Spatial and temporal variation of phthalic acid esters (PAEs) in atmospheric PM10 and PM2.5 and the influence of ambient temperature in Tianjin, China ». *Atmospheric Environment*, vol. 74, p. 199-208. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.02.053>>.
- Kreyling, WG, JD Blanchard, JJ Godleski, S Haeussermann, J Heyder, P Hutzler, H Schulz, TD Sweeney, S Takenaka et A Ziesenis. 1999. « Anatomic localization of 24- and 96-h particle retention in canine airways ». *Journal of Applied Physiology*, vol. 87, n° 1, p. 269-284. <<https://doi.org/10.1152/jappl.1999.87.1.269>>.
- Krishnan, V, W Porter, M Santostefano, X Wang et S Safe. 1995. « Molecular mechanism of inhibition of estrogen-induced cathepsin D gene expression by 2,3,7,8-

- tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in MCF-7 cells ». *Molecular and Cellular Biology*, vol. 15, n° 12, p. 6710-6719. <<https://doi.org/10.1128/MCB.15.12.6710>>.
- Krüger, T, M Long et EC Bonefeld-Jørgensen. 2008. « Plastic components affect the activation of the aryl hydrocarbon and the androgen receptor ». *Toxicology*, vol. 246, n° 2, p. 112-123.
- Kumar, M, DK Sarma, S Shubham, M Kumawat, V Verma, A Prakash et R Tiwari. 2020. « Environmental Endocrine-Disrupting Chemical Exposure: Role in Non-Communicable Diseases ». *Frontiers in Public Health*, vol. 8, p. 553850. <<https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.553850>>.
- Laborie, S, E Moreau-Guigon, F Alliot, A Desportes, L Oziol et M Chevreuil. 2016. « A new analytical protocol for the determination of 62 endocrine-disrupting compounds in indoor air ». *Talanta*, vol. 147, p. 132-141. <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.028>>.
- Laborie, S. 2015. « Exposition Humaine aux perturbateurs endocriniens par inhalation : Caractérisation de la contamination de l'air intérieur par analyses chimiques et biologiques in vitro ». Paris, France, Ecole Pratique des Hautes Etudes, 292 p.
- Lagarde, F, C Beausoleil, SM Belcher, LP Belzunces, C Emond, M Guerbet et C Rousselle. 2015. « Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment ». *Environmental Health: A Global Access Science Source*, vol. 14, p. 13. <<https://doi.org/10.1186/1476-069X-14-13>>.
- LCSQA. 2015. *Guide méthodologique des stations*.
- L'Héritier, F, M Marques, M Fauteux et L Gaudreau. 2014. « Defining Molecular Sensors to Assess Long-Term Effects of Pesticides on Carcinogenesis ». *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, n° 9, p. 17148-17161. <<https://doi.org/10.3390/ijms150917148>>.
- Li, Y, AL Juhasz, LQ Ma et X Cui. 2019. « Inhalation bioaccessibility of PAHs in PM2.5: Implications for risk assessment and toxicity prediction ». *Science of The Total Environment*, vol. 650, p. 56-64. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.246>>.
- Li, Y, YL Yong, M Yang, W Wang, X Qu, X Dang, D Shang, Y Shao, J Liu et Y Chang. 2020. « Fine particulate matter inhibits phagocytosis of macrophages by disturbing autophagy ». *The FASEB Journal*, vol. 34, n° 12, p. 16716-16735. <<https://doi.org/10.1096/fj.202000657R>>.
- Lippmann, M, D B Yeates et R E Albert. 1980a. « Deposition, retention, and clearance of inhaled particles. » *Occupational and Environmental Medicine*, vol. 37, n° 4, p. 337-362. <<https://doi.org/10.1136/oem.37.4.337>>.
- van Lipzig, Marola MH, NPE Vermeulen, R Gusinu, J Legler, H Frank, A Seidel et JHN Meerman. 2005. « Formation of estrogenic metabolites of benzo[a]pyrene and chrysene by cytochrome P450 activity and their combined and supra-maximal estrogenic activity ». *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 19, n° 1, p. 41-55. <<https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.03.010>>.

- Liu, C, Y Zhang et CJ Weschler. 2017. « Exposure to SVOCs from Inhaled Particles: Impact of Desorption ». *Environmental Science & Technology*, vol. 51, n° 11, p. 6220-6228. <<https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05864>>.
- Liu, C, Y Zhang et CJ Weschler. 2014. « The impact of mass transfer limitations on size distributions of particle associated SVOCs in outdoor and indoor environments ». *Science of The Total Environment*, vol. 497-498, p. 401-411. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.095>>.
- Ma, J, LL Chen, Y Guo, Q Wu, M Yang, MH Wu et K Kannan. 2014. « Phthalate diesters in Airborne PM 2.5 and PM 10 in a suburban area of Shanghai: Seasonal distribution and risk assessment ». *Science of The Total Environment*, vol. 497-498, p. 467-474. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.012>>.
- Ma, R et DA Sassoon. 2006. « PCBs Exert an Estrogenic Effect through Repression of the *Wnt7a* Signaling Pathway in the Female Reproductive Tract ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 114, n° 6, p. 898-904. <<https://doi.org/10.1289/ehp.8748>>.
- Mankidy, R, S Wiseman, H Ma et JP Giesy. 2013. « Biological impact of phthalates ». *Toxicology Letters*, vol. 217, n° 1, p. 50-58. <<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.11.025>>.
- Maradonna, F et O Carnevali. 2018. « Lipid Metabolism Alteration by Endocrine Disruptors in Animal Models: An Overview ». *Frontiers in Endocrinology*, vol. 9, p. 654. <<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00654>>.
- Marraudino, M, B Bonaldo, A Farinetti, GC Panzica, G Ponti et S Gotti. 2019. « Metabolism Disrupting Chemicals and Alteration of Neuroendocrine Circuits Controlling Food Intake and Energy Metabolism ». *Frontiers in Endocrinology*, vol. 9, p. 766. <<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00766>>.
- Martina, CA, B Weiss et SH Swan. 2012. « Lifestyle behaviors associated with exposures to endocrine disruptors ». *NeuroToxicology*, vol. 33, n° 6, p. 1427-1433. <<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.05.016>>.
- Mathe, F. 2010. « Evolution de la classification et des critères d'implantation des stations de mesure de la qualité de l'air ». p. 84.
- Matthews, J et JA Gustafsson. 2006. « Estrogen receptor and aryl hydrocarbon receptor signaling pathways ». *Nuclear Receptor Signaling*, vol. 4, n° 1, p. nrs.04016. <<https://doi.org/10.1621/nrs.04016>>.
- Mauderly, JL et JM Samet. 2009. « Is There Evidence for Synergy Among Air Pollutants in Causing Health Effects? ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 117, n° 1, p. 1-6. <<https://doi.org/10.1289/ehp.11654>>.
- May, AA, AA Presto, CJ Hennigan, NT Nguyen, TD Gordon et AL Robinson. 2013. « Gas-particle partitioning of primary organic aerosol emissions: (1) Gasoline vehicle exhaust ». *Atmospheric Environment*, vol. 77, p. 128-139. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.04.060>>.

- Meerts, I A, R J Letcher, S Hoving, G Marsh, A Bergman, J G Lemmen, B van der Burg et A Brouwer. 2001. « In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PDBEs, and polybrominated bisphenol A compounds. » *Environmental Health Perspectives*, vol. 109, n° 4, p. 399-407. <<https://doi.org/10.1289/ehp.01109399>>.
- Mesquita, SR, BL van Drooge, C Reche, L Guimarães, JO Grimalt, C Barata et B Piña. 2014. « Toxic assessment of urban atmospheric particle-bound PAHs: Relevance of composition and particle size in Barcelona (Spain) ». *Environmental Pollution*, vol. 184, p. 555-562. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.09.034>>.
- Mills, NL, N Amin, SD Robinson, A Anand, J Davies, D Patel, JR de la Fuente, FR Cassee, NA Boon, W MacNee, AM Millar, KA Donaldson et DE Newby. 2006. « Do Inhaled Carbon Nanoparticles Translocate Directly into the Circulation in Humans? » *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 173, n° 4, p. 426-431. <<https://doi.org/10.1164/rccm.200506-865OC>>.
- Möller, W, K Felten, K Sommerer, G Scheuch, G Meyer, P Meyer, K Häußinger et WG Kreyling. 2008. « Deposition, Retention, and Translocation of Ultrafine Particles from the Central Airways and Lung Periphery ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 177, n° 4, p. 426-432. <<https://doi.org/10.1164/rccm.200602-301OC>>.
- Möller, W, K Häußinger, R Winkler-Heil, W Stahlhofen, T Meyer, W Hofmann et JW Heyder. 2004. « Mucociliary and long-term particle clearance in the airways of healthy nonsmoker subjects ». *Journal of Applied Physiology*, vol. 97, n° 6, p. 2200-2206. <<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00970.2003>>.
- Moreau-Guigon, E, F Alliot, J Gaspéri, M Blanchard, MJ Teil, C Mandin et M Chevreuil. 2016. « Seasonal fate and gas/particle partitioning of semi-volatile organic compounds in indoor and outdoor air ». *Atmospheric Environment*, vol. 147, p. 423-433. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.10.006>>.
- Morohoshi, K., H. Yamamoto, R. Kamata, F. Shiraishi, T. Koda et M. Morita. 2005. « Estrogenic activity of 37 components of commercial sunscreen lotions evaluated by in vitro assays ». *Toxicology in Vitro*, vol. 19, n° 4, p. 457-469. <<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.01.004>>. Consulté le 27 mai 2013.
- Mosselman, S, J Polman et R Dijkema. 1996. « ERI3" identification and characterization of a novel human estrogen receptor ». *FEBS Letters*, p. 5.
- Motelay-Massei, A. 2003. « Contribution du compartiment atmosphérique au transfert des HAP dans le bassin versant aval de la Seine: bilan à l'échelle de deux bassins versants expérimentaux ». Paris, France, Université Pierre et Marie Curie, 369 p. <http://seine-aval.crihan.fr/web/attached_file/componentId/kmelia53/attachmentId/8141/lang/fr/name/2003_Th%C3%A8se_Anne-Motelay-Massei_Doctorat.pdf>. Consulté le 6 juin 2014.
- Mugica, V, S Hernández, M Torres et R García. 2010. « Seasonal Variation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure Levels in Mexico City ». *Journal of the Air & Waste*

- Management Association*, vol. 60, n° 5, p. 548-555. <<https://doi.org/10.3155/1047-3289.60.5.548>>.
- Nakatsuru, Y, K Wakabayashi, Y Fujii-Kuriyama, T Ishikawa, K Kusama et F Ide. 2004. « Dibenzo[A,L]pyrene-induced genotoxic and carcinogenic responses are dramatically suppressed in aryl hydrocarbon receptor-deficient mice ». *International Journal of Cancer*, vol. 112, n° 2, p. 179-183. <<https://doi.org/10.1002/ijc.20365>>.
- Nakayama, G. R., M. C. Caton, M. P. Nova et Z. Parandoosh. 1997. « Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability in vitro ». *Journal of Immunological Methods*, vol. 204, n° 2, p. 205-208. <[https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(97\)00043-4](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(97)00043-4)>.
- Navas, JM et H Segner. 1998. « Antiestrogenic activity of anthropogenic and natural chemicals ». *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 5, n° 2, p. 75-82.
- Nesaretnam, K., D. Corcoran, R. R. Dils et P. Darbre. 1996. « 3,4,3',4'-Tetrachlorobiphenyl acts as an estrogen in vitro and in vivo. » *Molecular Endocrinology*, vol. 10, n° 8, p. 923-936. <<https://doi.org/10.1210/me.10.8.923>>. Consulté le 24 mai 2013.
- Nishihara, T, JI Nishikawa, T Kanayama, F Dakeyama, K Saito, M Imagawa, S Takatori, Y Kitagawa, S Hori et H Utsumi. 2000. « Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay ». *Journal of health science*, vol. 46, n° 4, p. 282-298.
- Novák, J, JP Giesy, J Klánová et K Hilscherová. 2013. « In vitro effects of pollutants from particulate and volatile fractions of air samples—day and night variability ». *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 20, n° 9, p. 6620-6627. <<https://doi.org/10.1007/s11356-013-1726-6>>.
- Novák, J, K Hilscherová, L Landlová, P Čupr, L Kohút, JP Giesy et J Klánová. 2014a. « Composition and effects of inhalable size fractions of atmospheric aerosols in the polluted atmosphere. Part II. In vitro biological potencies ». *Environment International*, vol. 63, p. 64-70. <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.10.013>>.
- Nováková, Z, J Novák, Z Kitanovski, P Kukučka, M Smutná, M Wietzoreck, G Lammel et K Hilscherová. 2020. « Toxic potentials of particulate and gaseous air pollutant mixtures and the role of PAHs and their derivatives ». *Environment International*, vol. 139, p. 105634. <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105634>>.
- Novotna, A, P Pavek et Z Dvorak. 2011. « Novel Stably Transfected Gene Reporter Human Hepatoma Cell Line for Assessment of Aryl Hydrocarbon Receptor Transcriptional Activity: Construction and Characterization ». *Environmental Science & Technology*, vol. 45, n° 23, p. 10133-10139. <<https://doi.org/10.1021/es2029334>>.
- Oberdörster, G, Z Sharp, V Atudorei, A Elder, R Gelein, W Kreyling et C Cox. 2004. « Translocation of Inhaled Ultrafine Particles to the Brain ». *Inhalation Toxicology*, vol. 16, n° 6-7, p. 437-445. <<https://doi.org/10.1080/08958370490439597>>.
- OCDE. 2012. *Ligne directrice axée sur la performance pour les essais in vitro de transactivation par transfection stable visant la détection des substances agonistes et antagonistes des récepteurs des œstrogènes.*

- Odermatt, A, C Gumy, AG Atanasov et AA Dzyakanchuk. 2006. « Disruption of glucocorticoid action by environmental chemicals: Potential mechanisms and relevance ». *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 102, n° 1–5, p. 222-231. <<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.09.010>>. Consulté le 10 juin 2013.
- Okonski, K, C Degrendele, L Melymuk, L Landlová, P Kukučka, Š Vojta, J Kohoutek, P Čupr et J Klánová. 2014. « Particle Size Distribution of Halogenated Flame Retardants and Implications for Atmospheric Deposition and Transport ». *Environmental Science & Technology*, vol. 48, n° 24, p. 14426-14434. <<https://doi.org/10.1021/es5044547>>.
- Okubo, T., Y. Yokoyama, K. Kano et I. Kano. 2001. « ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ERalpha and PR. » *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, vol. 39, n° 12, p. 1225.
- Okubo, T., Y. Yokoyama, K. Kano, Y. Soya et I. Kano. 2004. « Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay ». *Archives of environmental contamination and toxicology*, vol. 46, n° 4, p. 445-453.
- Olivares, A, BL van Drooge, P Pérez Ballesta, JO Grimalt et B Piña. 2011. « Assessment of dioxin-like activity in ambient air particulate matter using recombinant yeast assays ». *Atmospheric Environment*, vol. 45, n° 1, p. 271-274. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.09.039>>.
- Osborne, C K, A Wakeling et R I Nicholson. 2004. « Fulvestrant: an oestrogen receptor antagonist with a novel mechanism of action ». *British Journal of Cancer*, vol. 90, n° S1, p. S2-S6. <<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601629>>.
- Özilgen, M, B Yilmaz, S Akduman et S Ercan. 2020. « Energetic and exergetic costs of COVID-19 infection on the body of a patient ». *International Journal of Exergy*, vol. 32, n° 3, p. 314. <<https://doi.org/10.1504/IJEX.2020.10030515>>.
- Oziol, L, F Alliot, J Botton, M Bimbot, V Huteau, Y Levi et M Chevreuil. 2017. « First characterization of the endocrine-disrupting potential of indoor gaseous and particulate contamination: comparison with urban outdoor air (France) ». *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, n° 3, p. 3142-3152. <<https://doi.org/10.1007/s11356-016-8045-7>>.
- Pankow, JF. 2001. « A Consideration of the Role of Gas/Particle Partitioning in the Deposition of Nicotine and Other Tobacco Smoke Compounds in the Respiratory Tract ». *Chemical Research in Toxicology*, vol. 14, n° 11, p. 1465-1481. <<https://doi.org/10.1021/tx0100901>>.
- Pankow, JF. 1994. « An absorption model of gas/particle partitioning of organic compounds in the atmosphere ». *Atmospheric Environment*, vol. 28, n° 2, p. 185-188. <[https://doi.org/10.1016/1352-2310\(94\)90093-0](https://doi.org/10.1016/1352-2310(94)90093-0)>.
- Pascal, M., M. Corso, O. Chanel, C. Declercq, C. Badaloni, G. Cesaroni, S. Henschel, K. Meister, D. Haluza, P. Martin-Olmedo et S. Medina. 2013. « Assessing the public health impacts of urban air pollution in 25 European cities: Results of the Aphekom project ». *Science of The Total Environment*, vol. 449, p. 390-400. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.077>>.

- Pesci Pereira, C, T da Conceição Pereira, G Gomes, BR Quintaes, DM Bila et JC Campos. 2018. « Evaluation of reduction estrogenic activity in the combined treatment of landfill leachate and sanitary sewage ». *Waste Management*, vol. 80, p. 339-348. <<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.09.018>>.
- Pichard, A et M Nomine. 2003. « Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques - Rapport Final ». *INERIS*, p. 64.
- Pineau, T, P Martin et C Calleja. 2003. « Présentation des bases moléculaires des voies de signalisation des dioxines ». *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, vol. 156, n° 3, p. 37-45. <<https://doi.org/10.4267/2042/47644>>.
- Plíšková Martina, Vondráček Jan, Canton Rocio Fernandez, Nera Jiří, Kočan Anton, Petřík Ján, Trnovec Tomáš, Sanderson Thomas, van den Berg Martin, et Machala Miroslav. 2005. « Impact of Polychlorinated Biphenyls Contamination on Estrogenic Activity in Human Male Serum ». *Environmental Health Perspectives*, vol. 113, n° 10, p. 1277-1284. <<https://doi.org/10.1289/ehp.7745>>.
- Polichetti, G, S Cocco, A Spinali, V Trimarco et A Nunziata. 2009. « Effects of particulate matter (PM10, PM2.5 and PM1) on the cardiovascular system ». *Toxicology*, vol. 261, n° 1-2, p. 1-8. <<https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.04.035>>.
- Portigal, CL, SP Cowell, MN Fedoruk, CM Butler, PS Rennie et CC Nelson. 2002. « Polychlorinated Biphenyls Interfere with Androgen-Induced Transcriptional Activation and Hormone Binding ». *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 179, n° 3, p. 185-194. <<https://doi.org/10.1006/taap.2002.9371>>. Consulté le 28 mai 2013.
- PubChem. 2022. « PubChem ». <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.
- Robinson, RJ et CP Yu. 2001. « Deposition of Cigarette Smoke Particles in the Human Respiratory Tract ». *Aerosol Science and Technology*, vol. 34, n° 2, p. 202-215. <<https://doi.org/10.1080/027868201300034844>>.
- de Rooij, MMT, LAM Smit, HJ Erbrink, TJ Hagenars, G Hoek, NWM Ogink, A Winkel, DJJ Heederik et IM Wouters. 2019. « Endotoxin and particulate matter emitted by livestock farms and respiratory health effects in neighboring residents ». *Environment International*, vol. 132, p. 105009. <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105009>>.
- Rostami, I et AL Juhasz. 2011. « Assessment of Persistent Organic Pollutant (POP) Bioavailability and Bioaccessibility for Human Health Exposure Assessment: A Critical Review ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 41, n° 7, p. 623-656. <<https://doi.org/10.1080/10643380903044178>>.
- Routledge, E. J., J. Parker, J. Odum, J. Ashby et J. P. Sumpter. 1998. « Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic ». *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 153, n° 1, p. 12-19.
- Rudel, RA et LJ Perovich. 2009. « Endocrine disrupting chemicals in indoor and outdoor air ». *Atmospheric environment (Oxford, England: 1994)*, vol. 43, n° 1, p. 170-181. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.09.025>>.

- Safe, SH. 2000. « Endocrine disruptors and human health--is there a problem? An update. » *Environmental Health Perspectives*, vol. 1081, n° 61, p. 7.
- Safe, S et M Wormke. 2003. « Inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor alpha cross-talk and mechanisms of action ». *Chemical Research in Toxicology*, vol. 16, n° 7, p. 807-816. <<https://doi.org/10.1021/tx034036r>>.
- Salgueiro-González, N, M López de Alda, S Muniategui-Lorenzo, D Prada-Rodríguez et D Barceló. 2013. « Determination of 13 estrogenic endocrine disrupting compounds in atmospheric particulate matter by pressurised liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, n° 27, p. 8913-8923. <<https://doi.org/10.1007/s00216-013-7298-y>>.
- Santodonato, J. 1997. « Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: Relationship to carcinogenicity ». *Chemosphere*, vol. 34, n° 4, p. 835-848. <[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00012-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00012-X)>. Consulté le 28 mai 2013.
- Satoh, K., R. Nonaka, K. Ohya et F. Nagai. 2005. « Androgenic and antiandrogenic effects of alkylphenols and parabens assessed using the reporter gene assay with stably transfected CHO-K1 cells (AR-EcoScreen System) ». *Journal of health science - Tokyo-*, vol. 51, n° 5, p. 557.
- Schettler, T. 2006. « Human exposure to phthalates via consumer products ». *International Journal of Andrology*, vol. 29, n° 1, p. 134-139. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00567.x>>.
- Scholze, M, W Boedeker, M Faust, T Backhaus, R Altenburger et LH Grimme. 2001. « A general best-fit method for concentration-response curves and the estimation of low-effect concentrations ». *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20, n° 2, p. 448-457. <<https://doi.org/10.1002/etc.5620200228>>.
- Schrader, TJ et GM Cooke. 2003. « Effects of Aroclors and individual PCB congeners on activation of the human androgen receptor in vitro ». *Reproductive Toxicology*, vol. 17, n° 1, p. 15-23. <[https://doi.org/10.1016/S0890-6238\(02\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0890-6238(02)00076-X)>. Consulté le 28 mai 2013.
- Sei, K, Q Wang, M Tokumura, A Hossain, M Raknuzzaman, Y Miyake et T Amagai. 2021. « Occurrence, potential source, and cancer risk of PM2.5-bound polycyclic aromatic hydrocarbons and their halogenated derivatives in Shizuoka, Japan, and Dhaka, Bangladesh ». *Environmental Research*, vol. 196, p. 110909. <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110909>>.
- Seralini, GE et G Jungers. 2021. « Endocrine disruptors also function as nervous disruptors and can be renamed endocrine and nervous disruptors (ENDs) ». *Toxicology Reports*, vol. 8, p. 1538-1557. <<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.07.014>>.
- Sheu, HL, WJ Lee, SJ Lin, GC Fang, HC Chang et WC You. 1997. « Particle-bound PAH content in ambient air ». *Environmental Pollution*, vol. 96, n° 3, p. 369-382. <[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00044-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00044-4)>.

- Shimmo, M, K Saarnio, P Aalto, K Hartonen, T Hyötyläinen, M Kulmala et ML Riekkola. 2004. « Particle Size Distribution and Gas-Particle Partition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Helsinki Urban Area ». *Journal of Atmospheric Chemistry*, vol. 47, n° 3, p. 223-241. <<https://doi.org/10.1023/B:JOCH.0000021088.37771.f7>>.
- Siddiqi, M. A., R. H. Laessig et K. D. Reed. 2003. « Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): new pollutants–old diseases ». *Clinical Medicine & Research*, vol. 1, n° 4, p. 281-290.
- Sifakis, S, VP Androutsopoulos, AM Tsatsakis et DA Spandidos. 2017. « Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems ». *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 51, p. 56-70. <<https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.02.024>>.
- Site internet AirParif. 2022. *Le réseau de mesures*. <<https://www.airparif.asso.fr/le-reseau-de-mesures>>.
- Sloper, JC. 1958. « Hypothalamo-neurohypophysial Neurosecretion ». In *International Review of Cytology*, p. 337-389. vol. 7. Elsevier. <[https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)62691-1](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62691-1)>. Consulté le 4 mai 2022.
- Sonnenberg, GF, LA Fouser et D Artis. 2011. « Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22 ». *Nature Immunology*, vol. 12, n° 5, p. 383-390. <<https://doi.org/10.1038/ni.2025>>.
- Soto, A M, C Sonnenschein, K L Chung, M F Fernandez, N Olea et F O Serrano. 1995. « The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. » *Environmental Health Perspectives*, vol. 103, n° Suppl 7, p. 113-122.
- Southerland, VA, M Brauer, A Moheg, MS Hammer, A van Donkelaar, RV Martin, JS Apte et SC Anenberg. 2022. « Global urban temporal trends in fine particulate matter (PM_{2.5}) and attributable health burdens: estimates from global datasets ». *The Lancet Planetary Health*, vol. 6, n° 2, p. e139-e146. <[https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00350-8](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00350-8)>.
- Sturm, Robert. 2020. « Modelling the deposition of fine particulate matter (PM_{2.5}) in the human respiratory tract ». *AME Medical Journal*, vol. 5, p. 14-14. <<https://doi.org/10.21037/amj.2020.03.04>>.
- Su, G, J Xia, H Liu, MHW Lam, H Yu, JP Giesy et X Zhang. 2012. « Dioxin-like Potency of HO- and MeO- Analogues of PBDEs' the Potential Risk through Consumption of Fish from Eastern China ». *Environmental Science & Technology*, vol. 46, n° 19, p. 10781-10788. <<https://doi.org/10.1021/es302317y>>.
- Sun, S, EJ Park, YH Choi, HS Lee, BY Ahn et MS Dong. 2016. « Development and pre-validation of an in vitro transactivation assay for detection of (anti)androgenic potential compounds using 22Rv1/MMTV cells ». *Reproductive Toxicology*, vol. 60, p. 156-166. <<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.02.006>>.
- Sun, S, H Qiu, KF Ho et L Tian. 2016. « Chemical components of respirable particulate matter associated with emergency hospital admissions for type 2 diabetes mellitus in Hong Kong ». *Environment International*, vol. 97, p. 93-99. <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.022>>.

- Surchamp, A. 2016. « Emissions potentielles de polluants organiques persistants à partir du milieu urbain et par les activités de traitement des déchets: impact sur la qualité de l'air au voisinage des sources ». Thèse de doctorat, Paris, France, Université Pierre et Marie Curie, 315 p. <<http://www.theses.fr/2016PA066010>>. Consulté le 21 avril 2017.
- Svobodova, K., M. Plavcková, V. Novotna et T. Cajthaml. 2009. « Estrogenic and androgenic activity of PCBs, their chlorinated metabolites and other endocrine disruptors estimated with two in vitro yeast assays ». *Science of the total environment*, vol. 407, n° 22, p. 5921-5925.
- Takeuchi, S, M Iida, H Yabushita, T Matsuda et H Kojima. 2008. « In vitro screening for aryl hydrocarbon receptor agonistic activity in 200 pesticides using a highly sensitive reporter cell line, DR-EcoScreen cells, and in vivo mouse liver cytochrome P450-1A induction by propanil, diuron and linuron ». *Chemosphere*, vol. 74, n° 1, p. 155-165. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.08.015>>.
- Takeuchi, S, M Iida, S Kobayashi, K Jin, T Matsuda et H Kojima. 2005. « Differential effects of phthalate esters on transcriptional activities via human estrogen receptors α and β , and androgen receptor ». *Toxicology*, vol. 210, n° 2, p. 223-233.
- Tamura, H, Y Ishimoto, T Fujikawa, H Aoyama, H Yoshikawa et M Akamatsu. 2006. « Structural basis for androgen receptor agonists and antagonists: Interaction of SPEED 98-listed chemicals and related compounds with the androgen receptor based on an in vitro reporter gene assay and 3D-QSAR ». *Bioorganic & medicinal chemistry*, vol. 14, n° 21, p. 7160-7174.
- Tanenbaum, DM, Y Wang, SP Williams et PB Sigler. 1998. « Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains ». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 95, n° 11, p. 5998-6003. <<https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.5998>>.
- Tazibt, K. 2016. « Etude du récepteur nucléaire stéroïdien ERR en complexe avec ADN et ligands par une approche de biologie structurale intégrative ». p. 155.
- Teil, MJ, E Moreau-Guigon, M Blanchard, F Alliot, J Gasperi, M Cladière, C Mandin, S Moukhtar et M Chevreuil. 2016. « Endocrine disrupting compounds in gaseous and particulate outdoor air phases according to environmental factors ». *Chemosphere*, vol. 146, p. 94-104. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.015>>.
- Teil, MJ, M Blanchard et M Chevreuil. 2006. « Atmospheric fate of phthalate esters in an urban area (Paris-France) ». *Science of The Total Environment*, vol. 354, n° 2-3, p. 212-223. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.083>>.
- Ting, Yien Fang, Sarva Mangala Praveena, Ahmad Zaharin Aris, Sharifah Norkhadijah Syed Ismail et Irniza Rasdi. 2017. « Mathematical modeling for estrogenic activity prediction of 17 β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol mixtures in wastewater treatment plants effluent ». *Ecotoxicology*, vol. 26, n° 10, p. 1327-1335. <<https://doi.org/10.1007/s10646-017-1857-5>>.
- Tran, DQ, CF Ide, JA McLachlan et SF Arnold. 1996. « The anti-estrogenic activity of selected polynuclear aromatic hydrocarbons in yeast expressing human estrogen receptor ». *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 229, n° 1, p. 102-108.

- Tweed, JO, SH Hsia, K Lutfy et TC Friedman. 2012. « The endocrine effects of nicotine and cigarette smoke ». *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 23, n° 7, p. 334-342. <<https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.03.006>>.
- US EPA, ORD. 2016. « Nonmonotonic Dose Responses as They Apply to Estrogen, Androgen, and Thyroid Pathways and EPA Testing and Assessment Procedures ». In *US EPA*. <<https://www.epa.gov/chemical-research/nonmonotonic-dose-responses-they-apply-estrogen-androgen-and-thyroid-pathways-and>>. Consulté le 20 août 2020.
- Vandermarken, T, I Boonen, C Gryspeirt, K Croes, K Van Den Houwe, MS Denison, Y Gao, E Van Hoeck et M Elskens. 2019. « Assessment of estrogenic compounds in paperboard for dry food packaging with the ERE-CALUX bioassay ». *Chemosphere*, vol. 221, p. 99-106. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.192>>.
- Villeneuve, DL, AL Blankenship et JP Giesy. 2000. « Derivation and application of relative potency estimates based on in vitro bioassay results ». *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 19, n° 11, p. 2835-2843. <<https://doi.org/10.1002/etc.5620191131>>.
- Vinggaard, A. M., C. Hnida et J. C. Larsen. 2000. « Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons affect androgen receptor activation in vitro ». *Toxicology*, vol. 145, n° 2, p. 173-183.
- Vogel, CFA, LS Van Winkle, C Esser et T Haarmann-Stemmann. 2020. « The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors – Implications for pollution mediated stress and inflammatory responses ». *Redox Biology*, vol. 34, p. 101530. <<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101530>>.
- Volk, HE, F Lurmann, B Penfold, I Hertz-Picciotto et R McConnell. 2013. « Traffic-Related Air Pollution, Particulate Matter, and Autism ». *JAMA Psychiatry*, vol. 70, n° 1, p. 71. <<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.266>>.
- Vondráček, J, K Pěničková, M Ciganek, J Pivnička, M Karasová, M Hýžd'álová, S Strapáčová, L Pálková, J Neča, J Matthews, MV Lom, J Topinka, A Milcová et M Machala. 2020. « Environmental six-ring polycyclic aromatic hydrocarbons are potent inducers of the AhR-dependent signaling in human cells ». *Environmental Pollution*, vol. 266, p. 115125. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115125>>.
- Wallenborn, JG, JK McGee, MC Schladweiler, AD Ledbetter et UP Kodavanti. 2007. « Systemic Translocation of Particulate Matter-Associated Metals Following a Single Intratracheal Instillation in Rats ». *Toxicological Sciences*, vol. 98, n° 1, p. 231-239. <<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm088>>.
- Watanabe, N et Y Oonuki. 1999. « Inhalation of diesel engine exhaust affects spermatogenesis in growing male rats. » *Environmental Health Perspectives*, vol. 107, n° 7, p. 6.
- Weeks, J, P Guiney et A Nikiforov. 2012. « Assessment of the environmental fate and ecotoxicity of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) ». *Integrated Environmental Assessment and Management*, vol. 8, n° 1, p. 120-134. <<https://doi.org/10.1002/ieam.1246>>.
- Wenger, D, AC Gerecke, NV Heeb, P Schmid, C Hueglin, H Naegeli et R Zenobi. 2009. « In vitro estrogenicity of ambient particulate matter: contribution of hydroxylated

- polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Journal of Applied Toxicology*, vol. 29, n° 3, p. 223-232. <<https://doi.org/10.1002/jat.1400>>.
- White, R., Susan Jobling, S. A. Hoare, J. P. Sumpter et M. G. Parker. 1994. « Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic ». *Endocrinology*, vol. 135, n° 1, p. 175-182.
- Won, EK, Y Kim, M Ha, E Burm, YS Kim, H Lim, DE Jung, S Lim, SY Kim, YM Kim, HC Kim, KJ Lee, HK Cheong, HT Kang, M Son, J Sakong, GJ Oh, CG Lee, SY Kim, JM Ryu et SJ Kim. 2016. « Association of current phthalate exposure with neurobehavioral development in a national sample ». *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 219, n° 4-5, p. 364-371. <<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.03.001>>.
- Wong, F, G Suzuki, C Michinaka, B Yuan, H Takigami et CA de Wit. 2017. « Dioxin-like activities, halogenated flame retardants, organophosphate esters and chlorinated paraffins in dust from Australia, the United Kingdom, Canada, Sweden and China ». *Chemosphere*, vol. 168, p. 1248-1256. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.074>>.
- Wu, J, C Xu, Q Wang et W Cheng. 2016. « Potential Sources and Formations of the PM2.5 Pollution in Urban Hangzhou ». *Atmosphere*, vol. 7, n° 8, p. 100. <<https://doi.org/10.3390/atmos7080100>>.
- Wu, Z, W Han, X Yang, Y Li et Y Wang. 2019. « The occurrence of polybrominated diphenyl ether (PBDE) contamination in soil, water/sediment, and air ». *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, n° 23, p. 23219-23241. <<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05768-w>>.
- Xie, Z, J Selzer, R Ebinghaus, A Caba et W Ruck. 2006. « Development and validation of a method for the determination of trace alkylphenols and phthalates in the atmosphere ». *Analytica Chimica Acta*, vol. 565, n° 2, p. 198-207. <<https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.02.027>>.
- Xing, YF, YH Xu, MH Shi et YX Lian. 2016. « The impact of PM2.5 on the human respiratory system ». *Journal of Thoracic Disease*, vol. 8, n° 1, p. 6.
- Xu, LC, L Liu, XM Ren, MR Zhang, N Cong, AQ Xu et JH Shao. 2008. « Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides in vitro ». *Toxicology*, vol. 243, n° 1-2, p. 59-65. <<https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.09.028>>. Consulté le 6 juin 2013.
- Yamasaki, H, K Kuwata et H Miyamoto. 1982. « Effects of ambient temperature on aspects of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Environmental Science & Technology*, vol. 16, n° 4, p. 189-194. <<https://doi.org/10.1021/es00098a003>>.
- Zacharewski, T. R., M. D. Meek, J. H. Clemons, Z. F. Wu, M. R. Fielden et J. B. Matthews. 1998. « Examination of the in Vitro and in Vivo Estrogenic Activities of Eight Commercial Phthalate Esters ». *Toxicological Sciences*, vol. 46, n° 2, p. 282-293. <<https://doi.org/10.1093/toxsci/46.2.282>>. Consulté le 27 mai 2013.

- Zhang, X, Q Wang, T Qiu, S Tang, J Li, JP Giesy, Y Zhu, X Hu et D Xu. 2019. « PM2.5 bound phthalates in four metropolitan cities of China: Concentration, seasonal pattern and health risk via inhalation ». *Science of The Total Environment*, vol. 696, p. 133982. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133982>>.
- Zhang, X, QQ Zhu, SJ Dong, HX Zhang, XK Wang, M Wang, LR Gao et MH Zheng. 2015. « Particle Size Distributions of PCDD/Fs and PBDD/Fs in Ambient Air in a Suburban Area in Beijing, China ». *Aerosol and Air Quality Research*, vol. 15, n° 5, p. 1933-1943. <<https://doi.org/10.4209/aaqr.2015.06.0421>>.
- Zhang, X, JK, H Chen, M Yao et J Wang. 2018. « PM2.5 Meets Blood: In vivo Damages and Immune Defense ». *Aerosol and Air Quality Research*, vol. 18, n° 2, p. 456-470. <<https://doi.org/10.4209/aaqr.2017.05.0167>>.
- Zhang, Y, K Wang, W Qin, C Jin, Y Song, P Jia, S Wang, Y Song, Y Ning et L Li. 2021. « Six Air Pollutants Associated With Increased Risk of Thyroid Nodules: A Study of 4.9 Million Chinese Adults ». *Frontiers in Endocrinology*, vol. 12, p. 753607. <<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.753607>>.

ANNEXES

Table des annexes

Annexe 1 : Comparaison débit affiché par TISCH VFC+ et débitmètre à bille.....	240
Annexe 2 : Masses de dopage par composé pour chaque pastille	241
Annexe 3 : Paramètres de la méthode GC-MS/MS.....	242
Annexe 4 : Paramètre de la méthode LC-MS/MS.....	243
Annexe 5 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les phtalates.....	244
Annexe 6 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les HAP.....	245
Annexe 7 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les pesticides.....	246
Annexe 8 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les PCB.....	247
Annexe 9 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les alkylphénols et alkylphénols éthoxylates.....	248
Annexe 10 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les parabènes.....	249
Annexe 11 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les PBDE.....	250
Annexe 12 : Taux de recouvrement des composés (en %).....	251
Annexe 13 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test agoniste ER LUC sur cellules VM7 pour les composés étudiés.....	252
Annexe 14 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test antagoniste AR LUC sur cellules MDA-KB2 pour les composés étudiés.....	253
Annexe 15 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test agoniste AhR LUC sur cellules CALUX-AhR pour les composés étudiés.....	254
Annexe 16 : Concentrations en HAP dans les TSP en saison froide (en pg/μg).....	255
Annexe 17 : Concentrations en HAP dans les TSP en saison chaude (en pg/μg).....	256
Annexe 18 : Concentrations en phtalates dans les TSP en saison froide (en pg/μg).....	257
Annexe 19 : Concentrations en phtalates dans les TSP en saison chaude (en pg/μg).....	258
Annexe 20 : Concentrations en PBDE et PCB dans les TSP en saison froide (en pg/μg).....	259
Annexe 21 : Concentrations en PBDE et PCB dans les TSP en saison chaude (en pg/μg).....	260
Annexe 22 : Concentrations en pesticides dans les TSP en saison froide (en pg/μg).....	261
Annexe 23 : Concentrations en pesticides dans les TSP en saison chaude (en pg/μg).....	262
Annexe 24 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les TSP en saison froide (en pg/μg).....	263
Annexe 25 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les TSP en saison chaude (en pg/μg).....	264
Annexe 26 : Concentrations en HAP dans les PM ₁₀ (en pg/μg).....	265
Annexe 27 : Concentrations en phtalates dans les PM ₁₀ (en pg/μg).....	266
Annexe 28 : Concentrations en PBDE et PCB dans les PM ₁₀ (en pg/μg).....	267

Annexe 29 : Concentrations en pesticides dans les PM ₁₀ (en pg/μg).....	268
Annexe 30 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les PM ₁₀ (en pg/μg)	269
Annexe 31 : Concentrations en HAP dans les PM _{2,5} (en pg/μg)	270
Annexe 32 : Concentrations en phtalates dans les PM _{2,5} (en pg/μg).....	271
Annexe 33 : Concentrations en PBDE et PCB dans les PM _{2,5} (en pg/μg)	272
Annexe 34 : Concentrations en pesticides dans les PM _{2,5} (en pg/μg)	273
Annexe 35 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les PM _{2,5} (en pg/μg)	274
Annexe 36 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits TSP sur cellules T47D-KBLuc	275
Annexe 37 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits PM ₁₀ sur cellules T47D-KBLuc	276
Annexe 38 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits PM _{2,5} sur cellules T47D-KBLuc277	
Annexe 39 : Potentiel œstrogénique des extraits de TSP (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).	278
Annexe 40 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM ₁₀ (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).	279
Annexe 41 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM _{2,5} (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).	280
Annexe 42 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits TSP	281
Annexe 43 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits PM ₁₀	282
Annexe 44 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits PM _{2,5}	283
Annexe 45 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits TSP	284
Annexe 46 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits PM ₁₀	285
Annexe 47 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits PM _{2,5}	286
Annexe 48 : Potentiel dioxin-like des extraits de TSP (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete).....	287
Annexe 49 : Potentiel <i>dioxin-like</i> des extraits de PM ₁₀ (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete).....	288
Annexe 50 : Potentiel dioxin-like des extraits de PM _{2,5} (en m ³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete).....	289
Annexe 51 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits TSPe	290
Annexe 52 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits PM ₁₀	291
Annexe 53 : Valeurs EC50 (en m ³ d'air) de tous les extraits PM _{2,5}	292
Annexe 54 : Production scientifique lors de la thèse.....	293

Annexe 1 : Comparaison débit affiché par TISCH VFC+ et débitmètre à bille



Prise débit Tisch VFC + avec un débitmètre Hivolin Bille verte 08F connecté au système de calibration au-dessus du porte filtre :

			<i>Soit en surface (Pi * R2)</i>	
<i>Diamètre sortie fuite:</i>	<i>3</i>	<i>mm</i>	<i>7,07</i>	<i>mm2</i>
<i>Diamètre sortie principale sur le dessus :</i>	<i>13</i>	<i>mm</i>	<i>132,7</i>	<i>mm2</i>

Graduation bille verte avec système Hivolin 08F:

7 mm soit 2,52 m³/h

<i>Débit annoncé système Tisch VFC+</i>	<i>74,80</i>	<i>m³/h</i>
<i>Débit mesuré système Hivolin 08F</i>	<i>49,82</i>	<i>m³/h</i>
<i>Ratio entre les 2 systèmes (en %)</i>	<i>66,6</i>	

Annexe 2 : Masses de dopage par composé pour chaque pastille

Famille/composé	Masse de dopage (ng)
DMP	400
DEP	400
DNBP	400
BBP	400
DEHP	400
DnOP	400
Acenaphtene	40
Acenaphtylene	40
Naphtalene	40
Anthracene	40
Fluorene	40
Phenanthrene	40
Fluoranthene	40
Pyrene	40
Benzo_a_anthracene	40
Chrysene	40
Benzo_a_pyrene	40
Benzo_b_fluoranthene	40
Benzo_k_fluoranthene	40
Benzo_g_h_i_ptylene	40
Dibenzo_a_h_anthracene	40
Indeno_1_2_3-cd_pyrene	40
Bifenthrin	20
Permethrin	87,5
Phenothrin	350
Cyfluthrin	70
Cypermethrin	70
Fenvarelate	52,5
Deltamethrin	70
DEET	20
PeCB	20
HCB	20
Lindane	20
44'-DDE	20
PCB28	20
PCB52	20
PCB101	20
PCB138	20
PCB153	20
PCB118	20
PCB180	20
BDE28	5
BDE47	5
BDE100	5
BDE99	5
BDE154	5
BDE153	5
BDE209	5
4-NP Mono	40
4-NP Di	40
4-OP Mono	40
4-OP Di	40
OP	50
NP	40
Me Paraben	50
Et Paraben	50
Pr Paraben	50
Bu Paraben	50

Annexe 3 : Paramètres de la méthode GC-MS/MS

Paramètres	Description
Injecteur	GC (7890) triple Quad (7000B) <i>Agilent Technologies (Les Ulis, France)</i>
Température de l'injecteur	290°C
Mode d'injection	Pulsed splitless
Quantité injectée	1 µL
Gaz vecteur	Hélium ALPHAGAZ 1 (pureté ≥ 99,999%) <i>Air Liquide (Paris, France)</i>
Débit	1,6 mL.min ⁻¹ , constant
Type de colonne	Zebron SemiVolatils 30 m (longueur) x 0.25 mm (diamètre interne) x 0.25 µm (épaisseur du film) <i>Phenomenex (Le Pecq, France)</i> En amont : pré-colonne en silice désactivée de 0.25 mm de diamètre interne <i>Restek (Lisses, France)</i>
Programme de température	Gradient de montée en température: → 70°C pendant 4 min → puis 25°C/min jusqu'à 150°C → puis 3°C/min jusqu'à 225°C → puis 5°C/min jusqu'à 310°C pendant 10 min
Ionisation	Impact électronique avec extractor (EI-EX) à 70 eV en mode positif
Température de la source	250°C
Température de l'interface	250°C

Annexe 4 : Paramètre de la méthode LC-MS/MS

Paramètres	Description
Injecteur	LC (1200) triple Quad (6410) <i>Agilent Technologies (Les Ulis, France)</i>
Température de l'injecteur	350°C
Quantité injectée	10 µL
Débit	0,5 L.min ⁻¹
Type de colonne	Luna100A-C18 3 x 150 mm, 3 µm <i>Phenomenex (Le Pecq, France)</i> avec un disque fritté (0,2 µm) chauffé à 40 °C
Phase mobile	Acide formique à 0,1 % dans MeOH : 0,1 % d'acide formique dans mQH ₂ O (70:30, v/v) pendant 5 minutes, suivi d'un gradient de 5 minutes jusqu'à 10 % d'acide formique à 0,1 % dans mQH ₂ O, d'un gradient de 3 minutes jusqu'à 0 % d'acide formique à 0,1 % dans mQH ₂ O et d'un dernier gradient de 2 minutes jusqu'à 30 % d'acide formique à 0,1 % dans mQH ₂ O
Ionisation	Ionisation électrospray (ESI) source en mode négatif
Température de la source	350°C
Température de l'interface	350°C

Annexe 5 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les phtalates

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
DMP	0,002	0,002	0,002	0,007	0,007	0,007	0,089	0,052	0,060	0,298	0,173	0,199
DEP	0,001	0,001	0,002	0,005	0,005	0,007	0,061	0,035	0,065	0,203	0,118	0,218
DIBP	0,002	0,002	0,003	0,006	0,006	0,010	0,078	0,045	0,084	0,261	0,151	0,282
DNBP	0,002	0,002	0,003	0,006	0,006	0,010	0,078	0,045	0,084	0,261	0,151	0,282
BBP	0,003	0,003	0,004	0,011	0,010	0,014	0,140	0,081	0,127	0,467	0,271	0,425
DEHP	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,005	0,036	0,021	0,043	0,121	0,070	0,144
DiDP	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
DiNP	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
DnOP	0,006	0,006	0,009	0,020	0,019	0,029	0,261	0,151	0,258	0,869	0,504	0,861

Annexe 6 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les HAP

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
Acenaphène	0,001	0,001	0,002	0,005	0,005	0,007	0,061	0,035	0,058	0,202	0,117	0,192
Acenaphthylène	0,003	0,003	0,006	0,011	0,011	0,019	0,146	0,085	0,166	0,488	0,283	0,553
Naphtalène	0,002	0,002	0,005	0,007	0,007	0,016	0,098	0,057	0,143	0,326	0,189	0,477
Anthracène	0,006	0,006	0,004	0,019	0,019	0,014	0,253	0,147	0,127	0,844	0,489	0,424
Fluorène	0,002	0,002	0,002	0,007	0,006	0,007	0,086	0,050	0,063	0,287	0,166	0,212
Phenanthrène	0,005	0,005	0,007	0,017	0,017	0,022	0,223	0,129	0,192	0,745	0,431	0,641
Fluoranthène	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,003	0,043	0,025	0,031	0,142	0,083	0,102
Pyrène	0,001	0,001	0,002	0,005	0,004	0,006	0,059	0,034	0,049	0,198	0,115	0,163
Benzo[a]anthracène	0,002	0,002	0,000	0,006	0,006	0,001	0,079	0,046	0,006	0,264	0,153	0,021
Chrysène	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,005	0,040	0,023	0,040	0,134	0,078	0,135
Benzo[a]pyrène	0,006	0,006	0,012	0,020	0,019	0,039	0,261	0,151	0,346	0,869	0,504	1,153
Benzo[b]fluoranthène	0,002	0,002	0,002	0,007	0,007	0,008	0,091	0,053	0,073	0,304	0,176	0,242
Benzo[k]fluoranthène	0,002	0,002	0,003	0,007	0,007	0,011	0,096	0,055	0,101	0,319	0,185	0,337
Benzo[g,h,i]perylène	0,001	0,001	0,002	0,005	0,005	0,008	0,063	0,036	0,068	0,208	0,121	0,228
Dibenzo[a,h]anthracène	0,002	0,002	0,001	0,006	0,006	0,002	0,079	0,046	0,020	0,264	0,153	0,067
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,030	0,018	0,031	0,101	0,059	0,103

Annexe 7 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les pesticides

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
Bifenthrine	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,002	0,016	0,009	0,018	0,053	0,031	0,061
Perméthrine	0,009	0,009	0,007	0,030	0,029	0,025	0,397	0,230	0,217	1,322	0,766	0,722
Phénothrine	0,011	0,010	0,018	0,036	0,035	0,059	0,470	0,273	0,524	1,567	0,908	1,748
Cyfluthrine	0,159	0,155	0,134	0,531	0,517	0,445	6,974	4,042	3,934	23,246	13,473	13,113
Cyperméthrine	0,220	0,214	0,147	0,733	0,713	0,491	9,618	5,574	4,337	32,060	18,581	14,457
Fenvarélate	0,135	0,131	0,070	0,450	0,438	0,233	5,901	3,420	2,058	19,671	11,401	6,861
Deltaméthrine	1,381	1,344	0,573	4,603	4,480	1,911	60,422	35,019	16,887	201,408	116,729	56,290
DEET	0,007	0,007	0,015	0,023	0,022	0,049	0,299	0,173	0,437	0,996	0,577	1,457
PeCB	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,002	0,043	0,025	0,018	0,142	0,082	0,059
HCB	0,002	0,002	0,001	0,007	0,006	0,003	0,086	0,050	0,027	0,288	0,167	0,088
Lindane	0,001	0,001	0,002	0,003	0,002	0,005	0,034	0,019	0,046	0,112	0,065	0,152
44'-DDE	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,002	0,017	0,010	0,016	0,056	0,032	0,053

Annexe 8 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les PCB

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
PCB28	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,004	0,039	0,023	0,039	0,131	0,076	0,131
PCB52	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,024	0,014	0,020	0,080	0,047	0,067
PCB101	0,001	0,001	0,002	0,003	0,003	0,005	0,040	0,023	0,047	0,134	0,077	0,157
PCB138	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,004	0,042	0,024	0,033	0,140	0,081	0,111
PCB153	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,004	0,029	0,017	0,034	0,097	0,056	0,115
PCB118	0,003	0,002	0,002	0,008	0,008	0,006	0,110	0,064	0,057	0,368	0,213	0,190
PCB180	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,009	0,005	0,011	0,029	0,017	0,036

Annexe 9 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les alkylphénols et alkylphénols éthoxylates

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
4-NP Mono	0,001	0,001	0,001	0,004	0,004	0,005	0,051	0,029	0,041	0,169	0,098	0,135
4-NP Di	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,025	0,014	0,015	0,083	0,048	0,051
4-OP Mono	0,025	0,024	0,015	0,083	0,081	0,048	1,095	0,635	0,428	3,651	2,116	1,426
4-OP Di	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,010	0,006	0,007	0,034	0,020	0,024
OP	0,000	0,000	0,003	0,002	0,002	0,010	0,021	0,012	0,089	0,071	0,041	0,296
NP	0,001	0,001	0,011	0,003	0,003	0,038	0,043	0,025	0,333	0,144	0,083	1,111

Annexe 10 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les parabènes

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
Me Paraben	0,001	0,001	0,010	0,004	0,004	0,032	0,054	0,031	0,284	0,179	0,104	0,946
Et Paraben	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,024	0,014	0,016	0,081	0,047	0,054
Pr Paraben	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,029	0,017	0,020	0,098	0,057	0,065
Bu Paraben	0,001	0,001	0,012	0,002	0,002	0,040	0,030	0,017	0,349	0,100	0,058	1,164

Annexe 11 : Limite de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les PBDE

Composés	LD (ng/m ³)			LQ(ng/m ³)			LD (pg/μg)			LQ(pg/μg)		
	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP	PM _{2,5}	PM ₁₀	TSP
BDE28	0,001	0,000	0,001	0,002	0,002	0,002	0,022	0,013	0,021	0,074	0,043	0,071
BDE47	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,004	0,002	0,021	0,012	0,006
BDE100	0,002	0,001	0,003	0,005	0,005	0,010	0,067	0,039	0,093	0,222	0,129	0,308
BDE99	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,012	0,000	0,000	0,110	0,000	0,000	0,355
BDE154	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,006	0,027	0,016	0,049	0,091	0,053	0,164
BDE153	0,000	0,000	0,004	0,001	0,001	0,014	0,016	0,009	0,127	0,053	0,030	0,423

Annexe 12 : Taux de recouvrement des composés (en %)

<i>Composés</i>	<i>Filtre QMA</i>	<i>Filtre fibre de verre</i>
<i>DMP</i>	72,00	64,12
<i>DEP</i>	68,00	93,88
<i>DNBP</i>	85,00	103,17
<i>BBP</i>	110,00	55,17
<i>DEHP</i>	66,33	53,81
<i>DnOP</i>	111,33	91,36
<i>Acenaphtene</i>	46,67	29,81
<i>Acenaphthylene</i>	43,67	31,31
<i>Naphtalene</i>	18,67	20,02
<i>Anthracene</i>	88,33	78,74
<i>Fluorene</i>	65,33	47,21
<i>Phenanthrene</i>	70,67	70,67
<i>Fluoranthene</i>	84,67	85,92
<i>Pyrene</i>	85,67	84,39
<i>Benzo_a_anthracene</i>	59,33	61,65
<i>Chrysene</i>	33,00	34,66
<i>Benzo_a_pyrene</i>	71,33	80,37
<i>Benzo_b_fluoranthene</i>	66,67	65,66
<i>Benzo_k_fluoranthene</i>	38,00	49,02
<i>Benzo_g_h_i_perylene</i>	73,33	82,81
<i>Dibenzo_a_h_anthracene</i>	99,00	133,16
<i>Indeno_1_2_3-cd_pyrene</i>	86,67	101,16
<i>Bifenthrin</i>	277,37	288,24
<i>Permethrin</i>	364,22	357,47
<i>Phenothrin</i>	118,85	114,06
<i>Cyfluthrin</i>	72,16	114,19
<i>Cypermethrin</i>	92,17	183,39
<i>Fenvalerate</i>	65,74	137,72
<i>Deltamethrin</i>	54,47	110,23
<i>DEET</i>	479,62	305,41
<i>PeCB</i>	105,05	98,15
<i>HCB</i>	111,40	116,76
<i>Lindane</i>	68,06	69,43
<i>44'-DDE</i>	199,92	192,78
<i>PCB28</i>	120,46	115,67
<i>PCB52</i>	94,41	88,19
<i>PCB101</i>	103,34	98,82
<i>PCB138</i>	54,24	52,37
<i>PCB153</i>	54,81	55,63
<i>PCB118</i>	65,57	66,46
<i>PCB180</i>	63,71	64,64
<i>BDE28</i>	101,99	96,09
<i>BDE47</i>	95,01	88,00
<i>BDE100</i>	60,30	60,18
<i>BDE99</i>	60,34	62,34
<i>BDE154</i>	96,41	93,43
<i>BDE153</i>	117,02	140,28
<i>4-NP Mono</i>	102,77	36,82
<i>4-NP Di</i>	140,45	55,63
<i>4-OP Mono</i>	22,47	4,93
<i>4-OP Di</i>	123,13	51,78
<i>OP</i>	90,92	91,77
<i>NP</i>	94,11	100,61
<i>Me Paraben</i>	89,69	67,96
<i>Et Paraben</i>	90,26	97,25
<i>Pr Paraben</i>	152,74	153,95
<i>Bu Paraben</i>	30,73	107,26

Annexe 13 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test agoniste ER LUC sur cellules VM7 pour les composés étudiés

PREFERRED NAME	CASRN	MOLECULAR FORMULA	MONOISOTOPIC MASS	ToxCast Active	ToxCast Total	% ToxCast Active	HIT CALL	TOP	SCALED TOP	ACS0	LOGACS0
(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol	27193-28-8			139	235	59	Active	90,147	4,507	0,756	-0,122
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	68631-49-2	C12H4Br6O	637,536	24	271	9	Inactive				
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	35065-27-1	C12H4Cl6	357,844	4	235	2	Inactive				
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	60348-60-9	C12H5Br5O	559,626	45	271	17	Inactive				
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	5436-43-1	C12H6Br4O	481,715	63	291	22	Active	59,393	2,970	18,135	1,259
4-Nonylphenol	104-40-5	C15H24O	220,183	202	893	23	Active	40,583	2,029	5,894	0,770
4-Nonylphenol, branched	84852-15-3			361	1127	32	Active	81,313	4,066	0,745	-0,128
4-Octylphenol	1806-26-4	C14H22O	206,167	222	874	25	Active	74,878	3,744	16,315	1,213
Acenaphthene	83-32-9	C12H10	154,078	26	870	3	Inactive				
Acenaphthylene	208-96-8	C12H8	152,063	31	895	3	Inactive	13,030	0,652	80,178	1,904
Anthracene	120-12-7	C14H10	178,078	52	915	6	Active	33,551	1,678	43,023	1,634
Benz(a)anthracene	56-55-3	C18H12	228,094	179	951	19	Active	80,505	4,025	32,277	1,509
Benzo(a)pyrene	50-32-8	C20H12	252,094	79	275	29	Active	41,309	2,065	34,426	1,537
Benzo(b)fluoranthene	205-99-2	C20H12	252,094	199	921	22	Active	20,493	1,025	42,481	1,628
Benzo(g,h,i)perylene	191-24-2	C22H12	276,094	19	271	7	Inactive				
Benzo(k)fluoranthene	207-08-9	C20H12	252,094	64	281	23	Inactive				
Benzyl butyl phthalate	85-68-7	C19H20O4	312,136	108	1024	11	Active	103,696	5,185	17,841	1,251
Bifenthrin	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422,126	159	1142	14	Inactive				
Chrysene	218-01-9	C18H12	228,094	8	275	3	Inactive	27,322	1,366	33,166	1,521
Cyfluthrin	68359-37-5	C22H18Cl2FNO3	433,065	133	1142	12	Inactive				
Cypermethrin	52315-07-8	C22H19Cl2NO3	415,074	160	1180	14	Inactive	16,603	0,830	26,711	1,427
DEET	134-62-3	C12H17NO	191,131	29	923	3	Inactive				
Deltamethrin	52918-63-5	C22H19Br2NO3	502,973	107	705	15	Inactive				
Di(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7	C24H38O4	390,277	103	1150	9	Inactive				
Dibenz(a,h)anthracene	53-70-3	C22H14	278,110	66	691	10	Inactive				
Diethyl phthalate	84-66-2	C12H14O4	222,089	11	880	1	Inactive	12,899	0,645	91,714	1,962
Diisobutyl phthalate	84-69-5	C16H22O4	278,152	105	905	12	Inactive	18,663	0,933	25,496	1,406
Diisodecyl phthalate	26761-40-0			14	749	2	Inactive				
Diisononyl phthalate	28553-12-0			17	618	3	Inactive				
Dimethyl phthalate	131-11-3	C10H10O4	194,058	18	971	2	Inactive	15,465	0,773	75,479	1,878
Di-n-octyl phthalate	117-84-0	C24H38O4	390,277	28	886	3	Inactive				
Ethylparaben	120-47-8	C9H10O3	166,063	33	891	4	Active	149,123	7,456	27,194	1,434
Fluoranthene	206-44-0	C16H10	202,078	113	947	12	Active	54,794	2,740	61,503	1,789
Fluorene	86-73-7	C13H10	166,078	30	916	3	Inactive				
Hexachlorobenzene	118-74-1	C6Cl6	281,813	0	235	0	Inactive				
Isobutylparaben	03-02-4247	C11H14O3	194,094	41	235	17	Active	235,239	11,762	9,152	0,962
Lindane	58-89-9	C6H6Cl6	287,860	97	975	10	Inactive				
Methylparaben	99-76-3	C8H8O3	152,047	24	875	3	Active	24,476	1,224	42,312	1,626
p,p'-DDE	72-55-9	C14H8Cl4	315,938	259	1035	25	Active	35,011	1,751	29,349	1,468
Pentachlorobenzene	608-93-5	C6HCl5	247,852	29	617	5	Inactive				
Permethrin	52645-53-1	C21H20Cl2O3	390,079	134	1146	12	Inactive				
Phenanthrene	85-01-8	C14H10	178,078	80	976	8	Inactive				
Phenothrin	26002-80-2	C23H26O3	350,188	55	666	8	Inactive				
Propylparaben	94-13-3	C10H12O3	180,079	126	964	13	Active	196,055	9,803	17,104	1,233
Pyrene	129-00-0	C16H10	202,078	86	988	9	Inactive				
sec-Butylparaben	17696-61-6	C11H14O3	194,094	52	401	13	Active	200,291	10,015	6,976	0,844

Annexe 14 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test antagoniste AR LUC sur cellules MDA-KB2 pour les composés étudiés

PREFERRED NAME	CASRN	MOLECULAR FORMULA	MONOISOTOPIC MASS	ToxCast Active	ToxCast Total	% ToxCast Active	HIT CALL	TOP	SCALED TOP	AC50	LOGAC50
Chrysene	218-01-9	C18H12	228,094	8	275	3	Inactive				
Anthracene	120-12-7	C14H10	178,078	52	915	6	Inactive				
Benzo(b)fluoranthene	205-99-2	C20H12	252,094	199	921	22	Inactive	23,470	0,785	2,332	0,368
Benzo(k)fluoranthene	207-08-9	C20H12	252,094	64	281	23	Inactive	24,877	0,832	1,942	0,288
Di-n-octyl phthalate	117-84-0	C24H38O4	390,277	28	886	3	Inactive				
Cypermethrin	52315-07-8	C22H19Cl2NO3	415,074	160	1180	14	Inactive				
Benzo(a)pyrene	50-32-8	C20H12	252,094	79	275	29	Active	69,012	2,309	0,571	-0,243
Hexachlorobenzene	118-74-1	C6Cl6	281,813	0	235	0	Inactive				
Lindane	58-89-9	C6H6Cl6	287,860	97	975	10	Inactive	28,702	0,960	53,316	1,727
DEET	134-62-3	C12H17NO	191,131	29	923	3	Inactive				
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	35065-27-1	C12H4Cl6	357,844	4	235	2	Inactive				
Benzyl butyl phthalate	85-68-7	C19H20O4	312,136	108	1024	11	Inactive				
Acenaphthene	83-32-9	C12H10	154,078	26	870	3	Inactive				
Dimethyl phthalate	131-11-3	C10H10O4	194,058	18	971	2	Inactive				
Acenaphthylene	208-96-8	C12H8	152,063	31	895	3	Inactive				
Fluoranthene	206-44-0	C16H10	202,078	113	947	12	Inactive	23,824	0,797	59,409	1,774
Pyrene	129-00-0	C16H10	202,078	86	988	9	Inactive				
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	5436-43-1	C12H6Br4O	481,715	63	291	22	Inactive				
Isobutylparaben	03-02-4247	C11H14O3	194,094	41	235	17	Inactive	34,561	1,157	88,891	1,949
Disononyl phthalate	28553-12-0			17	618	3	Inactive				
Propylparaben	94-13-3	C10H12O3	180,079	126	964	13	Inactive				
Methylparaben	99-76-3	C8H8O3	152,047	24	875	3	Inactive				
Diisodecyl phthalate	26761-40-0			14	749	2	Inactive				
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	68631-49-2	C12H4Br6O	637,536	24	271	9	Inactive				
Di(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7	C24H38O4	390,277	103	1150	9	Inactive				
Benz(a)anthracene	56-55-3	C18H12	228,094	179	951	19	Inactive				
Benzo(g,h,i)perylene	191-24-2	C22H12	276,094	19	271	7	Inactive				
4-Nonylphenol, branched	84852-15-3			361	1127	32	Inactive	20,281	0,679	41,080	1,614
4-Nonylphenol	104-40-5	C15H24O	220,183	202	893	23	Inactive				
Cyfluthrin	68359-37-5	C22H18Cl2FNO3	433,065	133	1142	12	Inactive				
sec-Butylparaben	17696-61-6	C11H14O3	194,094	52	401	13	Inactive				
Naphthalene-2-sulfonic acid	120-18-3	C10H8O3S	208,019	20	430	5	Inactive				
Phenanthrene	85-01-8	C14H10	178,078	80	976	8	Inactive				
(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol	27193-28-8			139	235	59	Active	34,971	1,170	47,013	1,672
Diethyl phthalate	84-66-2	C12H14O4	222,089	11	880	1	Inactive				
Pentachlorobenzene	608-93-5	C6HCl5	247,852	29	617	5	Inactive				
Phenothrin	26002-80-2	C23H26O3	350,188	55	666	8	Inactive				
Deltamethrin	52918-63-5	C22H19Br2NO3	502,973	107	705	15	Inactive				
Permethrin	52645-53-1	C21H20Cl2O3	390,079	134	1146	12	Inactive				
Fluorene	86-73-7	C13H10	166,078	30	916	3	Inactive				
Bifenthrin	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422,126	159	1142	14	Inactive				
p,p'-DDE	72-55-9	C14H8Cl4	315,938	259	1035	25	Inactive				
Dibenz(a,h)anthracene	53-70-3	C22H14	278,110	66	691	10	Inactive				
4-Octylphenol	1806-26-4	C14H22O	206,167	222	874	25	Inactive				
Diisobutyl phthalate	84-69-5	C16H22O4	278,152	105	905	12	Inactive				
Ethylparaben	120-47-8	C9H10O3	166,063	33	891	4	Inactive				
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	60348-60-9	C12H5Br5O	559,626	45	271	17	Inactive				

Annexe 15 : Extraction de la base de données EPA des résultats du test agoniste AhR LUC sur cellules CALUX-AhR pour les composés étudiés

PREFERRED NAME	CASRN	MOLECULAR FORMULA	MONOISOTOPIC MASS	ToxCast Active	ToxCast Total	% ToxCast Active	HIT CALL	TOP	SCALED TOP	AC50	LOGAC50
Anthracene	120-12-7	C14H10	178,078	52	915	6	Inactive	15,984	0,799	43,961	1,643
Di-n-octyl phthalate	117-84-0	C24H38O4	390,277	28	886	3	Inactive				
Cypermethrin	52315-07-8	C22H19Cl2NO3	415,074	160	1180	14	Inactive				
Hexachlorobenzene	118-74-1	C6Cl6	281,813	0	235	0	Inactive				
Lindane	58-89-9	C6H6Cl6	287,860	97	975	10	Inactive				
DEET	134-62-3	C12H17NO	191,131	29	923	3	Inactive				
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	35065-27-1	C12H4Cl6	357,844	4	235	2	Inactive				
Benzyl butyl phthalate	85-68-7	C19H20O4	312,136	108	1024	11	Inactive	3,815	0,191	34,796	1,542
Acenaphthene	83-32-9	C12H10	154,078	26	870	3	Inactive				
Dimethyl phthalate	131-11-3	C10H10O4	194,058	18	971	2	Inactive				
Fluoranthene	206-44-0	C16H10	202,078	113	947	12	Inactive	4,305	0,215	52,123	1,717
Pyrene	129-00-0	C16H10	202,078	86	988	9	Inactive				
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	5436-43-1	C12H6Br4O	481,715	63	291	22	Inactive	10,522	0,526	29,684	1,473
Diisononyl phthalate	28553-12-0			17	618	3	Inactive				
Propylparaben	94-13-3	C10H12O3	180,079	126	964	13	Inactive				
Methylparaben	99-76-3	C8H8O3	152,047	24	875	3	Inactive				
Diisodecyl phthalate	26761-40-0			14	749	2	Inactive				
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	68631-49-2	C12H4Br6O	637,536	24	271	9	Inactive				
Di(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7	C24H38O4	390,277	103	1150	9	Inactive				
Benzo(g,h,i)perylene	191-24-2	C22H12	276,094	19	271	7	Inactive	9,817	0,491	0,379	-0,421
4-Nonylphenol, branched	84852-15-3			361	1127	32	Inactive				
4-Nonylphenol	104-40-5	C15H24O	220,183	202	893	23	Inactive				
Cyfluthrin	68359-37-5	C22H18Cl2FNO3	433,065	133	1142	12	Inactive	12,200	0,610	27,353	1,437
Phenanthrene	85-01-8	C14H10	178,078	80	976	8	Inactive				
(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol	27193-28-8			139	235	59	Inactive				
Diethyl phthalate	84-66-2	C12H14O4	222,089	11	880	1	Inactive	7,598	0,380	48,345	1,684
Pentachlorobenzene	608-93-5	C6HCl5	247,852	29	617	5	Inactive				
Phenothrin	26002-80-2	C23H26O3	350,188	55	666	8	Inactive	6,382	0,319	56,682	1,753
Deltamethrin	52918-63-5	C22H19Br2NO3	502,973	107	705	15	Inactive				
Permethrin	52645-53-1	C21H20Cl2O3	390,079	134	1146	12	Inactive	6,544	0,327	133,995	2,127
Fluorene	86-73-7	C13H10	166,078	30	916	3	Inactive				
Bifenthrin	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422,126	159	1142	14	Inactive	4,280	0,214	45,078	1,654
p,p'-DDE	72-55-9	C14H8Cl4	315,938	259	1035	25	Inactive	7,383	0,369	0,004	-2,403
4-Octylphenol	1806-26-4	C14H22O	206,167	222	874	25	Inactive				
Diisobutyl phthalate	84-69-5	C16H22O4	278,152	105	905	12	Inactive				
Ethylparaben	120-47-8	C9H10O3	166,063	33	891	4	Inactive	3,948	0,197	24,622	1,391
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	60348-60-9	C12H5Br5O	559,626	45	271	17	Inactive	15,886	0,794	58,466	1,767
Acenaphthylene	208-96-8	C12H8	152,063	31	895	3	Active	76,269	3,813	91,519	1,962
Benz(a)anthracene	56-55-3	C18H12	228,094	179	951	19	Active	216,014	10,801	9,313	0,969
Benzo(a)pyrene	50-32-8	C20H12	252,094	79	275	29	Active	73,861	3,693	2,711	0,433
Benzo(b)fluoranthene	205-99-2	C20H12	252,094	199	921	22	Active	76,563	3,828	0,498	-0,303
Benzo(k)fluoranthene	207-08-9	C20H12	252,094	64	281	23	Active	77,950	3,897	0,013	-1,896
Chrysene	218-01-9	C18H12	228,094	8	275	3	Active	77,946	3,897	7,862	0,896
Dibenz(a,h)anthracene	53-70-3	C22H14	278,110	66	691	10	Active	71,945	3,597	0,055	-1,261
Isobutylparaben	03-02-4247	C11H14O3	194,094	41	235	17	Inactive	4,960	0,248	23,308	1,368
sec-Butylparaben	17696-61-6	C11H14O3	194,094	52	401	13	Active	23,171	1,159	38,401	1,584

Annexe 16 : Concentrations en HAP dans les TSP en saison froide (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Acenaph tene	Acenaph tylene	Anthrac ene	Benzo_a _anthrac ene	Benzo_a _pyrene	Benzo_b _fluoran thene	Benzo_g _h_i_per ylene	Benzo_k _fluoran thene	Chrysen e	Dibenzo _a h_anthr acene	Fluorant hene	Fluorene	Pyrene	Naphtal ene	Indeno_ 1 2 3- cd_pyre ne	Phenant hrene			
TSP	Froide	P13	Hiv1	1				0,5		1,2	1,4	0,3	1,8	0,1	0,7	0,1	1,8		0,9	0,9			
				2				0,6	0,5	1,7	1,9	0,4	2,3	0,2	0,9	0,2	0,9	0,2	2,2	0,4	1,4	1,3	
				3				0,4	0,6	1,8	1,7	0,4	1,9	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	1,7	0,6	1,6	1,2	
				4				0,2	0,6	0,7	2,2	1,8	0,5	1,9	0,2	1,0	0,3	2,4		1,8	1,9		
			Hiv2	1				0,3	1,9	1,8	2,3	1,5	0,8	1,9	0,3	1,6	0,2	1,8	0,3	2,0	0,3	2,0	1,2
				2				0,4	2,8	2,8	3,4	2,3	1,0	2,5	0,5	2,3	0,2	2,7	0,2	2,9	0,2	2,9	1,7
				3				0,3	1,9	1,8	2,3	1,6	0,7	1,7	0,3	1,7	0,3	1,7	0,1	2,0	0,3	2,0	1,2
				4				0,3	2,5	2,4	3,1	2,2	0,9	2,3	0,5	1,9	0,2	2,4	0,3	2,9	0,3	2,9	1,5
			Hiv3	1				0,3	0,7	0,7	1,8	1,2	0,5	0,9	0,2	1,0	0,2	1,0	0,1	1,4		1,5	1,0
				2				0,2	0,5	0,5	1,3	0,9	0,4	0,7	0,2	0,7	0,2	0,7	0,1	1,0		1,0	0,6
				3				0,3	0,8	0,9	1,8	1,4	0,6	0,9	0,3	1,1	0,3	1,1	0,1	1,5		1,7	1,2
				4					0,6	0,7	1,5	1,1	0,5	0,7	0,2	0,8	0,2	0,8	0,1	1,1		1,4	0,8
			Hiv4	1					0,2		0,3	0,5			0,6	0,2	0,3	0,2	0,8		0,3	0,6	
				2	0,1				0,2		0,3	0,5			0,8	0,1	0,4	0,2	1,0	0,3	0,3	0,8	
				3					0,2		0,2	0,2			0,4	0,0	0,2	0,1	0,6		0,2	0,5	
				4					0,8		0,3	0,3			0,9	0,1	0,4	0,3	0,9	0,7	0,2	1,3	
		P15	Hiv5	1				0,2	0,9	1,8	3,1	2,3	0,9	3,1	0,4	0,6	0,1	2,5		2,2	1,0		
				2				0,4	1,1	2,2	2,6	1,8	0,8	3,2	0,3	1,0	0,2	2,9	0,2	1,8	1,2		
				3				0,4	1,4	3,3	5,4	3,6	1,7	5,2	0,4	1,1	0,2	4,1		3,4	1,6		
				4				1,2	1,7	3,6	1,6	1,3	5,0		1,6	0,3	3,6	1,1	1,9	1,6			
			Hiv6	1				0,4	4,2	10,7	15,7	11,4	3,9		3,0	3,0	3,0	0,2	4,6		19,7	3,1	
				2				0,4	3,5	8,7	16,2	10,0	3,6	5,1	2,9	3,1	0,2	4,4		15,6	2,5		
				3				0,4	4,0	7,9	12,6	7,4	2,8		2,4	3,6	0,2	4,1		13,1	2,5		
				4				0,5	4,2	7,0	11,2	6,8	2,7		2,3	3,2	0,1	3,8		11,4	2,5		
			Hiv7	1				0,3	3,3	6,8	12,3	8,7	2,9		1,6	2,3	0,2	5,6	0,3	8,7	2,7		
				2					4,2	9,1	16,5	11,7	3,6	8,0	2,5	3,6	0,3	8,0		12,3	4,3		
				3					3,6	8,1	13,8	10,4	3,2	6,9	1,8	3,3	0,3	7,1		10,2	3,8		
				4				0,3	4,5	7,7	14,2	10,1	3,7	7,0	1,7	3,9	0,5	8,3		9,8	7,8		
			Hiv8	1				0,3	1,6	3,9	7,3	5,3	2,3	4,1	1,2	3,2	0,1	5,6		6,5	3,1		
				2				0,3	2,4	5,9	11,1	8,2	3,1		2,3	5,8	0,4	9,4	0,5	10,3	5,8		
				3				0,3	2,6	5,1	8,7	5,4	2,3	6,2	1,2	4,7	0,2	5,9	0,3	7,0	2,8		
				4				0,3	2,5	4,8	8,9	5,7	2,5	5,8	1,3	4,1	0,1	6,1		7,0	2,8		
		Hiv9	1				0,7	3,7	3,1	4,1	1,6	1,1	3,7	0,5	2,5	0,2	3,0	0,5	2,4	4,5			
			2				0,5	3,0	4,9	6,4	3,2	1,8	3,8	1,0	1,6	0,2	3,2		6,0	4,4			
			3					1,9	4,1	5,4	3,2	1,5	1,8	0,9	0,9		1,9		4,9	2,3			
			4				0,4	2,6	4,5	5,3	2,7	1,4	3,3	0,9	1,7	0,1	2,5		4,7	3,4			
		Hiv10	1					0,8	1,4	0,8	0,7	1,5		1,5		1,4	0,3	1,1	0,4		2,2		
			2				0,4	1,5		1,1		1,5		1,5		0,7	0,8	1,0	0,5		3,0		
			3					2,4				2,0		2,0		0,7	1,5	1,1	1,4		4,0		
			4									1,8		1,8		0,8	1,0	1,1	1,6		3,9		
		Hiv11	1													0,1	0,6				0,5		
			2											0,9			0,2	0,6	0,6		0,5		
			3																				
			4					0,4		1,1	0,9	0,6				0,4	0,1	0,8			0,7		
		Hiv12	1					0,4		0,8	0,5	0,2	0,5		0,1	0,5	0,4	0,4		0,3	0,3		
			2					0,4		0,7	0,6					0,6	0,4	0,4		0,4	0,3		
			3				0,2									0,8		0,5			0,3		
			4				0,6			2,0							0,3	0,6	0,4		0,7		

Annexe 17 : Concentrations en HAP dans les TSP en saison chaude (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Acenaph- tene	Acenaph- tylene	Anthrac- ene	Benzo_a- _anthrac- ene	Benzo_a- _pyrene	Benzo_b- _fluoran- thene	Benzo_g- _h_i_per- ylene	Benzo_k- _fluoran- thene	Chrysen- e	Dibenzo- _a- h_anthr- acene	Fluorant- hene	Fluorene	Pyrene	Naphtal- ene	Indeno- 1 2 3- cd_pyre- ne	Phenant- hrene			
TSP	Chaude	P15	Ete1	1			2,0	2,1	0,8	1,7	3,2	0,6	2,9		7,6	2,8	11,6	4,6	2,2	13,2			
				2			0,3	0,5		0,2	0,3		0,4		0,8		1,2			0,2	1,5		
				3	0,4		0,6	0,4		1,3	2,0	0,5	1,6	0,4	3,7	0,3	4,0			1,9	3,2		
				4				1,0		0,3	0,5		0,6		1,3		2,1			0,2	1,8		
			Ete2	1																			
				2					0,3		0,2	0,3	0,1	0,5		0,8				1,2		0,2	2,2
				3							7,3								96,4	32,3			
				4						0,2		0,5	0,5	0,2	0,7		1,2	0,2	1,5		0,3	1,9	
			Ete3	1					1,1	1,8		0,4	0,7	0,4	0,8	0,4	1,6	0,3	2,9		0,4	3,5	
				2						3,4	0,6	1,6	2,1	0,6	2,5	0,4	5,2		8,1		1,8	11,0	
				3						0,5		0,4	0,6	0,2		0,1	1,0		1,8	0,5	0,3	2,8	
				4						0,5		0,2	0,3				0,7		1,2		0,3	1,4	
			Ete4	1					0,9	2,0		0,7	0,6		0,6		1,2		1,8		0,4	3,5	
				2					1,6	2,3	0,7	1,7	1,3	0,5	1,7		3,7		4,6		0,6	5,2	
				3						0,4		0,5	0,4	0,2	0,5		0,9		1,2		0,2	2,0	
				4						0,4		0,3	0,4		0,3		0,7	0,1	0,9		0,2	1,6	
		Champ	Ete5	1					0,1		0,1			0,1	0,1	0,3		0,4		0,2	0,4		
				2					0,1						0,0	0,2		0,3			0,4		
				3					0,1		0,1					0,2		0,4		0,1	0,5		
				4					0,3							0,0	0,3		0,4		0,2	0,5	
			Ete6	1						0,1							0,2		0,3		0,1		
				2						0,1							0,2		0,3		0,1		
				3						0,1						0,0	0,2		0,3		0,1		
				4						0,1						0,0	0,2		0,3		0,1		
			Ete7	1						0,1							0,2		0,3		0,1		
				2						0,0							0,2		0,3		0,1		
				3						0,1							0,2		0,3		0,1		
				4						0,1						0,0	0,3		0,5		0,1	0,3	
		Ete8	1						0,1							0,3		0,4		0,2	0,3		
			2						0,1							0,3		0,4		0,2	0,3		
			3						0,0						0,0	0,2		0,3		0,2			
			4						0,0						0,0	0,2		0,3		0,1			
		P13	Ete9	1				0,7	0,0					0,1		0,6		0,6		0,0	0,6		
				2					0,0					0,1		0,6		0,6		0,1	0,6		
				3					0,1					0,1		0,6		0,6		0,1	0,6		
				4										0,1		0,7		0,8			0,5		
			Ete10	1						0,0					0,3		0,7	0,1	0,7		0,1	4,1	
				2						0,1		0,2	0,2	0,3	0,6		1,5	0,2	1,9	0,7	0,1	11,8	
				3								0,1	0,1		0,5		1,0	0,2	1,1	0,4	0,1	5,0	
				4								0,2					1,3		1,2		0,1	8,0	
			Ete11	1						0,0					0,1		0,7		0,6		0,1	1,9	
				2						0,0					0,1		0,6		0,6		0,0	2,1	
				3						0,0							0,3		0,3			1,1	
				4					0,2	0,1					0,1		0,8	0,3	0,8	0,4	0,1	2,1	
		Ete12	1						0,0							0,4		0,4		0,0	0,5		
			2						0,0					0,1		0,5		0,5		0,1	0,8		
			3						0,0					0,1		0,4		0,4		0,1	0,6		
			4						0,0					0,1		0,4		0,4		0,0	0,4		

Annexe 18 : Concentrations en phtalates dans les TSP en saison froide (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BBP	DEHP	DEP	DiBP	DMP	DnBP	DnOP
TSP	Froide	P13	Hiv1	1	3,2	99,4	9,4	94,3	0,3	31,0	
				2	4,4	109,8	36,8	112,3	0,6	36,1	1,6
				3	2,7	103,0	12,9	93,3	0,5	29,0	
				4	6,4	114,1	14,7	133,9	0,7	50,5	1,5
			Hiv2	1	0,9	54,4	5,2	97,7	0,3	61,0	
				2	1,2	70,9	5,7	109,1	0,3	69,5	
				3	1,1	63,6	5,3	116,9	0,4	73,2	
				4	1,1	83,0	14,7	126,5	0,3	76,0	
			Hiv3	1	1,2	101,7	13,3	59,2	0,4	69,6	
				2	0,6	65,0	7,7	37,0	0,2	47,6	
				3	1,2	111,5	9,3	71,8	0,3	87,6	
				4	0,9	84,6	8,6	51,8	0,3	83,8	
			Hiv4	1	0,9	86,8	13,5	53,8	0,4	33,9	0,7
				2	1,5	106,7	15,8	57,1	0,6	30,1	1,4
				3		76,6	6,7	20,7	0,2	11,5	
				4	6,2	127,2	15,7	12,9	0,9	6,9	
		P15	Hiv5	1	0,4	83,7	3,8	33,3	0,2	21,0	
				2	0,5	69,1	3,7	53,1	0,3	27,5	
				3		129,8	4,3	40,2	0,3	19,3	
				4		96,5	15,9	49,0	0,6	52,4	
			Hiv6	1	3,0	264,5	6,4	59,2	0,4	46,9	
				2	3,1	207,1	6,2	53,9	0,4	32,5	
				3	3,1	181,1	6,1	82,2	0,4	49,3	
				4	2,9	170,9	5,7	112,8	0,4	72,7	1,2
			Hiv7	1	1,5	174,6	7,4	52,3	0,3	35,5	
				2	2,5	200,0	6,2	63,9	0,4	32,8	
				3		205,4	7,5	69,7	0,4	34,8	11,3
				4	3,1	267,4	9,9	57,0	0,7	40,0	13,9
			Hiv8	1	1,2	116,5	9,9	73,3	0,2	32,5	
				2	1,9	164,2	17,6	67,1	0,3	28,5	7,0
				3	1,6	155,7	10,0	105,3	0,4	44,3	
				4	0,8	132,4	8,5	135,4	0,3	59,2	1,9
		Champ	Hiv9	1	7,0	146,8	9,2	173,2	0,4	60,5	
				2	2,2	137,5	14,3	146,2	0,3	39,2	
				3	1,1	78,6	4,4	82,6	0,2	21,5	
				4	2,1	118,8	6,5	121,4	0,3	34,3	
			Hiv10	1		151,4	14,5	72,8	0,4	40,2	
				2		104,5	11,4	26,9	0,7	14,0	
				3		143,0	9,3	17,2	0,6	5,2	
				4		137,8	11,9	19,6	0,8	9,9	
			Hiv11	1		56,9	8,4	17,7	0,7	8,1	
				2		64,5	9,5	22,1	0,5	8,8	
				3			9,1	24,9	1,6	2,9	
				4		61,3	8,0	24,2	0,3	9,6	
			Hiv12	1	3,2	76,4	8,1	26,4	0,2	8,9	
				2	1,4	84,2	10,9	37,8	0,2	12,3	
				3		67,5	8,1	15,1	0,5	5,6	
				4		55,6	21,5	3,3	0,4	1,6	

Annexe 19 : Concentrations en phtalates dans les TSP en saison chaude (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BBP	DEHP	DEP	DIBP	DMP	DnBP	DnOP
TSP	Chaude	P15	Ete1	1	14,7	609,5	2100,7	811,7	9,0	519,3	
				2	2,1	89,0	163,0	196,1	0,6	134,2	
				3	3,2	122,8	598,8	157,6	1,2	157,3	3,7
			Ete2	4	3,2	151,2	388,3	243,7	1,7	176,1	
				1		677,5	334,9			6,1	
				2	1,5	74,9	11,3	76,4	0,2	50,7	
			Ete3	3						94,8	
				4	1,9	77,9	133,5	144,6	1,3	74,7	
				1	3,0	81,2	699,3	136,7	1,1	79,5	
			Ete4	2	9,5	360,8	2845,1			1412,2	3,7
				3	2,1	79,4	369,8	912,6	7,8	598,7	
				4	1,3	47,9	672,1	283,7		163,9	
		Ete5	1	5,2	390,4	431,1	721,3	1,1	586,9		
			2	7,6	360,8	761,0	281,5	3,9	193,0		
			3	3,5	288,5	128,8	568,3	1,8	488,0	2,9	
		Ete6	4	2,7	286,0	377,2	349,3	0,8	256,6	1,1	
			1	6,0	477,2	19,2	107,5	0,5	105,4	1,7	
			2	4,8	381,5	15,6	86,8	0,4	80,5		
		Ete7	3	5,7	578,6	35,2	911,8	0,4	1121,4		
			4	10,6	507,3	87,2	211,8	0,5	217,8		
			1	21,9	583,9	21,1	269,4	0,4	225,9	8,1	
		Ete8	2	20,8	771,0	25,6	197,7	0,5	205,2	6,5	
			3	12,1	546,9	15,9	169,5	0,8	167,3	3,9	
			4	14,3	687,5	18,6	198,6	0,7	201,2		
		Ete9	1	24,0	792,5	40,6	78,6	1,1	68,5	6,5	
			2	18,2	684,3	15,1	46,4	0,1	26,2		
			3	16,2	534,7	21,2	49,2	0,5	41,9	5,4	
		Ete10	4	31,1	1077,1	31,4	115,3	1,4	92,3	5,3	
			1	39,6	2643,4	73,4	139,2	1,1	114,3		
			2	21,2	1724,6	54,3	209,4	2,8	163,3		
		Ete11	3	28,3	876,9	25,6	98,1	0,7	80,9	7,4	
			4	30,0	1237,5	26,7	116,9	0,7	89,5	7,5	
			1	6,2	114,6	34,4	323,0	0,6	174,8		
		Ete12	2	8,4	142,6	13,1	261,0	0,5	159,1	0,9	
			3	7,8	114,8	24,5	238,4	0,6	142,4	0,8	
			4	7,5	169,0	27,4	282,6	0,5	169,8		
		Ete13	1	2,2	961,5	132,8	354,2	2,4	319,8		
			2	5,9	885,1	317,9	3733,5	26,1	3711,7		
			3	2,6	1557,4	230,9	856,1	11,5	666,3		
		Ete14	4	3,7	1848,2	244,2	2747,6	2,9	2347,9		
			1	7,1	582,4	86,7	1036,8	0,4	552,4		
			2	8,1	617,3	41,6	3505,5		2298,4		
		Ete15	3	4,0	294,5	26,8	2078,9	0,7	1332,1		
			4	6,7	525,3	260,6	513,0	1,6	280,5	3,9	
			1	25,7	355,4	26,5	329,9	0,3	184,3	1,1	
		Ete16	2	58,9	545,7	28,3	765,7	0,5	467,8	2,4	
			3	47,1	408,6	16,2	317,2	0,7	190,2	1,9	
			4	60,5	426,3	15,8	390,5	0,4	228,4	2,0	

Annexe 20 : Concentrations en PBDE et PCB dans les TSP en saison froide (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BDE_100	BDE_153	BDE_154	BDE_28	BDE_47	BDE_99	PCB_101	PCB_118	PCB_138	PCB_153	PCB_180	PCB_28	PCB_52			
TSP	Froide	P13	Hiv1	1		0,4											0,1			
				2														0,2		
				3		0,6													0,1	
				4		0,5												0,1	0,2	
			Hiv2	1															0,1	
				2															0,1	
				3							0,0								0,1	
				4	0,2						0,0							0,1	0,1	
			Hiv3	1	0,2															
				2								0,3								
				3																0,1
				4																0,1
			Hiv4	1	0,3	0,9							0,7		0,2	0,2	0,2	0,2		0,1
				2	0,5								0,7				0,1	0,1		0,1
				3																
				4																
		P15	Hiv5	1	0,1						0,1	0,4	0,1					0,1		
				2	0,2	0,4					0,1	0,5							0,0	
				3								0,4								
				4																
			Hiv6	1		1,7	0,8													0,1
				2		2,2	1,0													
				3		1,2												0,1		
				4		1,2	0,5											0,0		0,1
			Hiv7	1		4,1														
				2														0,1		
				3																
				4		6,1														
			Hiv8	1																
				2																
				3																
				4																
		Champ	Hiv9	1																
				2																
				3																
				4																
			Hiv10	1																
				2																
				3																
				4																
			Hiv11	1																
				2																
				3																
				4																
		Hiv12	1																	
			2																	
			3																	
			4																	

Annexe 21 : Concentrations en PBDE et PCB dans les TSP en saison chaude (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BDE_100	BDE_153	BDE_154	BDE_28	BDE_47	BDE_99	PCB_101	PCB_118	PCB_138	PCB_153	PCB_180	PCB_28	PCB_52			
TSP	Chaude	P15	Ete1	1																
				2																
				3	0,3															0,1
				4																
			Ete2	1																
				2																
				3																
				4																
			Ete3	1																0,4
				2																
				3	0,4															1,1
				4																
			Ete4	1																
				2																0,6
				3																
				4																0,1
		Champ	Ete5	1														0,1	0,4	
				2															0,3	
				3																
				4														0,1	0,6	
			Ete6	1														0,1	0,7	0,4
				2																0,4
				3												0,0		0,1	0,5	0,4
				4										0,9				0,1	0,4	0,8
			Ete7	1										0,2				0,1	0,8	0,3
				2								0,0								0,5
				3								0,0						0,1	0,5	0,9
				4																
			Ete8	1															0,1	0,6
				2															0,1	0,4
				3															0,1	0,6
				4										0,5						
		P13	Ete9	1																
				2																
				3																
				4																
			Ete10	1															0,1	2,1
				2														0,6	0,6	0,5
				3														0,2	0,5	3,5
				4																0,3
			Ete11	1															0,1	0,6
				2																0,5
				3																0,2
				4														0,1	0,2	0,1
		Ete12	1															0,1	0,2	
			2																0,1	
			3																0,1	
			4																0,1	

Annexe 22 : Concentrations en pesticides dans les TSP en saison froide (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	44-DDE	Bifenthrin	Cyfluthrin	Cypermethrin	DEET	Deltamethrin	Fenvalerate	HCB	Lindane	PeCB	Permethrin	Phenothrin			
TSP	Froide	P13	Hiv1	1															
				2				3,1											
				3															
				4															
			Hiv2	1													0,1		
				2															
				3															
				4											0,1		0,0		
			Hiv3	1															
				2															
				3															
				4															
			Hiv4	1				5,2				18,0							
				2				2,2				23,1							
				3															
				4								50,8							
		P15	Hiv5	1															
				2															
				3															
				4															
			Hiv6	1															
				2															
				3								2,9							
				4								4,1							
			Hiv7	1															
				2															
				3															
				4															
		Hiv8	1																
			2								6,5								
			3								12,1								
			4								8,9								
		Champ	Hiv9	1							13,8								
				2							9,2								
				3															
				4							12,6								
			Hiv10	1															
				2								33,8							
				3								40,2							
				4															
			Hiv11	1															
				2															
				3															
				4															
		Hiv12	1																
			2																
			3																
			4																

Annexe 23 : Concentrations en pesticides dans les TSP en saison chaude (en pg/ μ g)
 les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	44-DDE	Bifenthrin	Cyfluthrin	Cypermethrin	DEET	Deltamethrin	Fenvalerate	HCB	Lindane	PeCB	Permethrin	Phenothrin			
TSP	Chaude	P15	Ete1	1					11,2										
				2					1,7										
				3						3,0									
				4						4,2									
			Ete2	1															
				2															
				3															
				4							2,0								
			Ete3	1								3,1							
				2								8,3							
				3								3,2							
				4								0,9							
			Ete4	1								1,7							
				2								5,0							
				3								2,6							
				4								2,1							
		Champ	Ete5	1															
				2															
				3															
				4															
			Ete6	1								11,2							
				2								6,5							
				3	0,5							3,0							
				4								6,1							
			Ete7	1															
				2															
				3															
				4															
			Ete8	1								10,6							
				2															
				3															
				4								8,3							
		P13	Ete9	1							12,3								
				2							12,8								
				3								15,4							
				4								14,8							
			Ete10	1								12,5							
				2								27,9							
				3															
				4															
			Ete11	1								25,0							
				2								21,2							
				3								13,7							
				4								39,1							
		Ete12	1								17,8								
			2								31,3								
			3								24,9								
			4								19,4								

Annexe 24 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les TSP en saison froide (en pg/μg)
les cellules vides correspondent à <LD , les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Bu Paraben	Et Paraben	Me Paraben	Pr Paraben	NP	OP	4-NP Mono	4-OP Di	4-OP Mono			
TSP	Froide	P13	Hiv1	1			9,7		8,1	0,2		0,1				
				2			9,3		6,6		0,2					
				3			19,2		4,5		0,2					
				4			13,5		5,0		0,1		0,2			
			Hiv2	1			5,9		4,7				0,3			
				2			5,6									
				3			5,9		4,3				0,3			
				4			0,7	5,1	5,7							
			Hiv3	1			0,3	2,9	5,4				0,2			
				2			1,7	4,1	4,1			0,3	0,1			
				3			4,1	7,0	7,0				0,4			
				4			2,8	5,1	5,1			0,2	0,3			
			Hiv4	1			6,6	1,1	3,9			0,2	0,6			
				2			4,4		3,8				0,8			
				3			5,6		2,1				0,4			
				4			7,4		4,7				0,6			
		P15	Hiv5	1												
				2												
				3												
				4												
			Hiv6	1			0,3	10,5	0,2	6,1				0,8		
				2			8,4	5,3					6,9			
				3			0,3	7,6	5,9				1,4			
				4			5,7	0,1	5,1			1,2	0,4			
			Hiv7	1			0,2	1,9	0,1	11,9		1,7	9,6			
				2			0,2	3,3	7,2				4,5			
				3			0,2	4,5	0,1	9,5		1,4				
				4			0,2	6,5	0,1	10,7		1,8				
			Hiv8	1			0,2	1,6	7,7			0,4	2,3			
				2			2,7	0,1	6,3			1,0	2,6			
				3			0,3	3,9	0,1	6,2						
				4			0,2	2,1	0,1	4,8						
		Champ	Hiv9	1			2,7	0,1	11,6		0,6					
				2			0,3	4,2	0,1	15,4		5,0				
				3			0,2	2,1								
				4			0,2	2,1	0,1	11,3		0,6				
			Hiv10	1												
				2			3,9		8,7		0,6					
				3			0,2	4,1	0,1	9,4						
				4			0,1	8,7	7,6							
			Hiv11	1			0,0	0,8	2,6		0,2		0,1			
				2			1,7		3,2		0,0		0,1			
				3			0,1	1,1	3,9				0,2			
				4			0,1	1,0	3,4		0,2		0,2			
		Hiv12	1			0,1	1,5	3,3		0,7		0,2				
			2			0,0	1,0	3,1				0,2				
			3			0,1	1,7	3,1		1,9		0,1				
			4			0,1	1,4	0,1	2,8			0,2				

Annexe 25 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les TSP en saison chaude (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Bu Paraben	Et Paraben	Me Paraben	Pr Paraben	NP	OP	4-NP Mono	4-OP Di	4-OP Mono	
TSP	Chaude	P15	Ete1	1	5,8	1,4	29,5	1,1	20,2				3,8	
				2	3,2	0,3	2,2	1,8	2,1				0,7	
				3	1,7	0,3	8,0		7,0	3,6			0,8	
				4		0,3	3,4		4,9	1,9			1,0	
			Ete2	1		0,4	6,8		15,7				1,1	
				2		0,1	2,2		4,9				0,4	
				3										
				4		0,1	2,1	0,0	3,5	2,6			0,5	
			Ete3	1		0,4	2,6	0,2	5,7	3,5			0,4	
				2		1,2	12,4		33,2				2,5	
				3		0,3	1,9		5,8				0,3	
				4		0,2	0,9		3,8	1,6			0,4	
			Ete4	1		0,2	7,9		5,5	2,1			1,0	
				2		0,5	14,5		16,2				1,5	
				3		0,3	4,0		5,9				0,7	
				4		0,3	2,3		3,9	1,7			0,5	
		Champ	Ete5	1		3,0	12,0	0,2	1,4	6,2			0,2	
				2		2,0	3,4	0,1	1,0	4,5			0,2	
				3		3,3	5,5	0,2	1,8	11,2				
				4	1,3	2,5	15,8	1,1		9,9			0,2	
			Ete6	1		0,3	6,9				2,9			
				2		0,3	3,1				1,8			
				3		0,4	3,8			1,0	1,4		0,1	
				4		0,7	3,3			1,5	1,5			
			Ete7	1		0,9	7,3	0,1			2,2			
				2		0,7	4,0	0,1			2,3			
				3		2,7	4,5	0,3	1,1	2,2			0,3	
				4		1,8	5,1	0,3		3,1			0,1	
			Ete8	1		15,7	21,7	1,5						
				2	0,5	2,1	9,2	0,4	1,8	11,0				
				3	0,5	1,4	7,2		1,1	3,0				
				4	0,5	3,3	6,9	0,4	1,0	2,9				
		P13	Ete9	1		0,1	3,3	0,1						0,4
				2		0,2	5,6	0,2		2,6			0,3	
				3		0,2	5,0	0,1		2,6			0,3	
				4		0,2	7,9	0,2		4,2			0,4	
			Ete10	1		0,0	0,8	0,1			8,5			0,6
				2		0,1	2,0	0,2		37,4			1,6	
				3		0,1	1,5	0,1		13,0			1,2	
				4		0,1	2,4	0,2		47,1			1,6	
			Ete11	1		0,2	2,0	0,2			3,0			0,9
				2	3,0	0,4	2,7	3,4		6,7			1,0	
				3		0,1	0,8	0,9		2,1			0,4	
				4		0,5	3,6	0,5		11,9			1,1	
		Ete12	1		0,1	1,7	0,1						0,7	
			2		0,1	1,2	0,1			3,6			1,0	
			3		0,1	1,2	0,1			2,8			0,7	
			4		0,1	2,5	0,1						0,8	

Annexe 26 : Concentrations en HAP dans les PM₁₀ (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Acenaph tene	Acenaph tylene	Anthrac ene	Benzo_a _anthrac ene	Benzo_a _pyrene	Benzo_b _fluoran thene	Benzo_g _h_i_per ylene	Benzo_k _fluoran thene	Chrysen e	Dibenzo _a h_anthr acene	Fluorant hene	Fluorene	Indeno_ 123- cd_pyre ne	Naphtal ene	Phenant hrene	Pyrene		
PM ₁₀	Froide	P13	Hiv2	1		0,1	0,6	4,7	4,7	6,0	3,7	1,7		1,0	4,3	0,2	5,2	0,2	2,6	4,6		
				2		0,2	0,7	5,3	5,1	6,6	4,0	1,9	4,5	1,1	5,0	0,2	5,5	0,3	2,9	5,2		
				3		0,2	0,5	4,7	5,3	6,3	4,5	1,9	4,2	1,1	4,3	0,2	6,0	0,4	2,6	4,7		
				4		0,6		3,9	3,4	4,4	2,8	1,3	3,3	0,7	3,7	0,4	3,6		2,5	4,0		
			Hiv3	1			0,5	0,8	1,9	1,3	0,6	0,6	0,2	0,9		1,7			1,4	1,1		
				2			0,6	1,1	2,3	1,7	0,6	0,7	0,3	1,1	0,1	2,2	0,1	2,5	1,3			
				3			0,9	1,6	3,5	2,5	1,0	1,0	0,5	1,5	0,1	3,2		5,8	1,8			
				4			0,3	0,8	1,5	3,2	2,4	1,0	1,0	0,4	1,3	0,1	3,1	0,1	1,5	1,6		
		P15	Hiv6	1		0,1	0,4	5,3	9,4	14,6	9,4	3,8		3,2	4,6	0,2	15,6	0,2	3,3	4,6		
				2		0,2	0,7	7,2	15,9	26,1	17,8	6,1	10,2	5,8	5,4	0,2	27,9	0,3	3,6	5,4		
				3		0,2	0,6	5,8	11,0	17,0	11,4	4,4		3,8	5,0	0,2	19,9	0,2	3,3	5,4		
				4		0,2	0,7	7,4	15,3	23,6	15,7	5,8		5,0	5,6	0,2	25,9	0,3	3,6	5,8		
			Hiv8	1			0,2	0,8	0,7	1,3	0,7		1,3	0,3	1,0		0,8	0,1	0,6	0,9		
				2			0,3	4,6	8,6	13,9	8,8	3,8	10,2	2,1	6,4	0,1	11,1		2,9	6,4		
				3			0,3	4,3	8,3	13,7	7,6	3,5	8,7	2,0	6,6	0,1	10,6	0,1	2,6	5,7		
				4			0,5	8,1	11,5	20,5	10,4	5,4	15,6	2,8	10,5	0,1	14,1	0,1	4,0	9,8		
		Champ	Hiv9	1		0,2	0,8	4,6	5,5	6,7	2,6	1,7	4,5	0,8	3,0	0,1	4,2	0,2	4,0	3,1		
				2		0,2	0,9	5,5	6,3	8,1	2,7	2,1	5,5	0,7	2,9	0,2	4,2	0,2	4,7	3,6		
				3			0,4	4,8	10,7	12,3	5,8	3,6	5,2	1,6	1,8	0,1	9,4		3,6	2,8		
				4			0,5	4,3	8,9	8,9	4,9	2,6	4,4	1,6	2,2		8,4		3,6	2,8		
			Hiv11	1	0,1				2,2	5,0	3,3	1,6	1,4	2,0		2,0		2,0		0,6	1,3	
				2				0,9		2,1	1,3		1,2	0,2	0,8	0,1	1,2		0,6	0,9		
				3				1,1		1,7	1,1				1,0	0,2	1,2		0,7	1,1		
				4				1,6	0,9	1,0	1,0				0,9	0,2	1,0	0,1	0,9	1,1		
	Chaude	P15	Ete2	1		2,8	5,3	1,5	7,8	21,4	32,8	5,4	14,7	3,8	29,7	3,0	25,5		30,5	32,6		
				2			0,5	0,3	0,6	2,3	3,2	0,5	1,3	0,3	2,7	0,3	2,5	0,2	3,7	3,3		
				3	0,1	0,3	0,6	0,4	0,6	2,7	3,9	0,6	1,5	0,4	3,4	0,5	3,1	1,5	4,3	3,9		
				4		0,1	0,4	0,3	0,4	1,8	2,5	0,4	1,0	0,3	2,2	0,3	2,0	0,1	3,0	2,5		
			Ete4	1			1,9	1,0	3,0	4,7	1,6	2,6		5,1		2,4		9,4	6,2			
				2			0,9	1,6	0,3	1,1	1,5	0,3	0,7	0,1	1,7	0,1	1,1		2,7	2,1		
				3			1,5		0,7	1,1	0,4	0,5							1,2			
				4			0,8	1,3	0,3	0,7	1,1	0,3	0,6	0,1	1,3	0,2	0,8	0,1	2,6	1,8		
			Champ	Ete5	1			0,3		0,2	0,1		0,1	0,1	0,6	0,1	0,6		0,5		0,6	0,9
					2			0,4		0,3	0,1		0,1	0,1	0,4		0,4		0,4		0,5	0,6
					3			0,2		0,1	0,1		0,1		0,3		0,4		0,3		0,5	
					4			0,1		0,2	0,1		0,1		0,4		0,5		0,4		0,6	
		Ete7		1					0,1			0,1		0,3		0,2		0,2		0,2	0,5	
				2					0,1	0,1				0,4		0,2		0,2		0,3	0,6	
				3					0,1	0,1				0,2		0,2		0,2		0,2	0,4	
				4					0,1	0,1				0,4		0,3		0,2		0,2	0,6	
		P13	Ete10	1			0,1	0,5	0,4	0,3	0,4	0,9		1,7	0,1	0,3		0,3		3,9	1,5	
				2			0,1	0,5	0,3	0,3	0,3	0,8		1,5	0,1	0,2	0,2	0,2	2,9	1,4		
				3			0,1	0,4	0,2	0,2	0,3	0,7		1,4		0,2		2,4	1,3			
				4			0,1	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6		1,2		0,2		2,6	1,1			
			Ete12	1			0,1		0,3	0,2		0,1		0,9		0,3		0,7		0,7	0,7	
				2			0,1		0,3	0,3		0,2		1,0		0,3		0,8		0,9		
				3			0,1		0,2	0,2		0,1		0,7		0,2	0,1	0,6	0,6			
				4			0,1		0,2	0,3		0,2		0,9	0,1	0,3	0,1	0,6	0,8			

Annexe 27 : Concentrations en phtalates dans les PM₁₀ (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BBP	DEHP	DEP	DiBP	DMP	DnBP	DnOP
PM ₁₀	Froide	P13	Hiv2	1	5,6	67,0	9,9	348,3	0,4	308,6	1,2
				2	5,7	68,7	5,8	337,5	0,5	281,4	1,5
				3	4,5	66,0	12,2	372,3	0,4	320,6	1,3
				4	4,9	56,8	5,9	194,3	1,2	158,2	
			Hiv3	1	1,8	61,4	15,8	128,7	0,2	240,6	0,9
				2	2,9	78,0	12,1	151,8	0,4	228,1	
				3	2,1	97,7	8,3	139,0	0,3	211,2	
				4	1,9	90,1	6,0	140,6	0,3	192,2	1,3
		P15	Hiv6	1	5,3	103,9	3,2	59,6	0,3	67,4	
				2	5,7	152,4	3,7	73,6	0,4	76,0	
				3	6,5	107,6	2,7	92,2	0,3	98,6	
				4	4,6	125,1	2,6	100,3	0,3	106,1	1,7
			Hiv8	1	45,9	76,7	5,1	45,4	0,6	134,7	
				2	2,4	89,5	3,4	145,5	0,2	105,5	
				3	2,6	95,0	4,1	174,7	0,2	110,6	
				4	3,4	84,2	5,2	238,7	0,3	179,0	
		Champ	Hiv9	1	16,8	23,5	2,8	30,7	0,2	28,1	
				2	4,9	82,8	3,2	46,6	0,3	35,0	
				3	2,0	70,5	1,5	25,3	0,2	17,9	
				4	2,2	66,0	1,7	63,0	0,1	46,3	0,8
	Hiv11		1	3,7	38,1	7,3	54,3	0,4	29,5		
			2	7,6	36,2	6,7	37,8	1,1	35,1	1,2	
			3	10,6	44,3	6,1	20,7	0,4	7,3		
			4	7,2	38,3	23,3	27,2	0,4	9,9		
	Chaude	P15	Ete2	1	134,2	1180,7	1494,3	1692,8	11,4	1740,7	12,7
				2	19,2	167,5	188,5	260,0	1,4	245,5	1,4
				3	21,5	186,5	166,0	327,5	1,2	303,4	1,6
				4	13,2	120,3	161,3	168,5	1,2	164,7	0,8
			Ete4	1	51,9	740,5	2155,4	1268,2	5,9	1608,7	
				2	20,7	219,0	404,3	294,4	1,1	330,4	7,0
				3	11,0	132,4	251,5	185,5	1,3	203,7	
				4	15,0	178,5	248,0	183,4	1,1	181,5	1,8
		Champ	Ete5	1	24,2	444,5	23,0	116,2	0,7	174,3	
				2	23,5	393,7	9,3	102,4	0,4	80,7	
				3	22,7	296,9	9,6	92,3	0,3	88,9	3,0
				4	23,1	321,3	19,4	95,8	0,3	98,8	2,2
			Ete7	1	10,1	599,6	9,4	34,8	0,3	28,3	4,7
				2	9,5	554,7	11,3	73,6	0,3	48,7	4,9
				3	10,1	470,4	7,8	26,8	0,3	17,4	
				4	16,8	623,3	12,2	57,5	0,4	35,2	10,2
		P13	Ete10	1	11,2	176,6	36,2	54,3	1,6	62,9	
				2	11,3	153,0	122,3	98,8	4,1	125,8	
				3	9,4	128,0	87,9	34,4	1,5	48,5	
				4	8,3	103,8	71,0	31,6	1,2	48,5	
Ete12	1		26,3	107,6	6,4	171,3	0,3	152,5	1,8		
	2		41,7	139,6	97,9	206,3	0,3	186,3	1,2		
	3		22,7	100,3	78,1	157,2	0,2	139,9	1,5		
	4		22,4	106,0	6,1	127,6	0,4	113,1			

Annexe 28 : Concentrations en PBDE et PCB dans les PM₁₀ (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BDE_100	BDE_153	BDE_154	BDE_28	BDE_47	BDE_99	PCB_101	PCB_118	PCB_138	PCB_153	PCB_180	PCB_28	PCB_52			
PM ₁₀	Froide	P13	Hiv2	1										0,0	0,0	0,0	0,1			
				2											0,0	0,0	0,0	0,1		
				3												0,0	0,0	0,0	0,1	
				4															0,1	
			Hiv3	1							0,0									0,1
				2															0,0	0,1
				3							0,0								0,0	0,1
				4								0,2							0,0	0,1
		P15	Hiv6	1						0,0					0,1	0,1	0,1			
				2																
				3		0,1										0,1	0,1		0,0	
				4		0,9									0,1	0,1	0,1			
			Hiv8	1																
				2														0,1		
				3		1,7											0,1	0,1		
				4		1,5									0,0	0,1	0,0			0,0
		Champ	Hiv9	1																
				2																
				3													0,0			
				4													0,0		0,0	
	Hiv11		1																	
			2																	
			3																	
			4																	
	Chaude	P15	Ete2	1		2,5													0,7	
				2		0,3														0,2
				3																0,2
				4		0,3														0,1
			Ete4	1																
				2																
				3																
				4										1,6			0,0			0,1
		Champ	Ete5	1														0,1	0,3	
				2															0,1	
				3														0,0	0,2	
				4														0,1	0,3	
			Ete7	1														0,0		
				2										0,3						0,4
				3										0,1						0,2
				4										0,1						
		P13	Ete10	1														0,1	0,2	
				2														0,1	0,3	
				3														0,0	0,1	
				4															0,1	
Ete12	1																			
	2																			
	3																			
	4																			

Annexe 29 : Concentrations en pesticides dans les PM₁₀ (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	44-DDE	Bifenthrin	Cyfluthrin	Cypermethrin	DEET	Deltamethrin	Fenvalerate	HCB	Lindane	PeCB	Permethrin	Phenothrin			
PM ₁₀	Froide	P13	Hiv2	1					52,2										
				2					54,7										
				3						54,1									
				4						48,6									
			Hiv3	1							10,2								
				2							21,8								
				3							16,0								
				4							14,0								
		P15	Hiv6	1						6,6									
				2															
				3							6,6								
				4							5,9								
			Hiv8	1							47,8								
				2							11,7							3,8	
				3							15,5								
				4							25,7								
		Champ	Hiv9	1						2,0									
				2															
				3															
				4															
	Hiv11		1																
			2	0,2						16,8									
			3							67,8									
			4							13,3									
	Chaude	P15	Ete2	1						52,5									
				2						6,8									
				3							4,6								
				4							6,8								
			Ete4	1							17,0								
				2							5,9							24,0	
				3							3,4								
				4							5,8								
		Champ	Ete5	1															
				2							3,8								
				3							5,7								
				4							6,1								
			Ete7	1	0,0						1,5								
				2															
				3															
				4															
P13		Ete10	1							4,5									
			2							4,9									
			3							4,3									
			4							4,9									
	Ete12	1							15,6										
		2							19,5										
		3							9,1							3,2			
		4							25,7										

Annexe 30 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les PM₁₀ (en pg/μg)
les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Bu Paraben	Et Paraben	Me Paraben	Pr Paraben	NP	OP	4-NP Mono	4-OP Di	4-OP Mono
PM ₁₀	Froide	P13	Hiv2	1		1,5	9,8		1,4			0,4	
				2			1,9		1,9		0,5		
				3		6,8	20,2		1,6		0,4		
				4		1,6	9,0		1,5		0,4		
			Hiv3	1		0,7	2,3		1,1		0,2		
				2			0,3		1,5	0,2	0,3		
				3			3,1		1,8		0,3		
				4			3,7		1,6		0,3		
		P15	Hiv6	1		0,5	7,6		2,3				
				2	0,1	0,3	10,6		3,0				
				3		0,6	8,8	0,2	1,3		0,7		
				4	0,1	0,3	7,2	0,2	1,6		1,6		
			Hiv8	1		0,3	5,7	0,1	3,5	4,0	1,7		
				2		0,2	2,3	0,1	1,9	0,7	1,3		
				3			2,5	0,1					
				4		0,2	2,2	0,1	1,9		0,9		
		Champ	Hiv9	1		0,2	3,3		3,1				
				2	0,0	0,2	4,9		3,2				
				3		0,1	2,2						
				4			2,3		3,2				
	Hiv11		1	0,0	0,2		0,1	2,8		0,2			
			2		0,0	1,4		2,7	1,0	0,3			
			3		0,1	0,9	0,0	1,6		0,2			
			4		0,1	1,5	0,0	2,0	0,6	0,2			
	Chaude	P15	Ete2	1	1,8	1,3	19,5		26,8		4,3		
				2	9,0	0,2	6,5		3,6		0,6		
				3	0,2	0,9	8,6		3,5		0,7		
				4		0,2	7,2		2,2	1,5	0,5		
			Ete4	1	0,3	1,0	20,4		14,1		1,7		
				2	0,6	0,2	5,5		4,3	1,7	0,9		
				3	0,1	0,2	2,7	0,2	2,7	1,1	0,5		
				4	0,1	0,2	4,1	0,2	2,7	1,1	0,6		
		Champ	Ete5	1	1,2	4,4	14,7	0,4	11,4	1,3	0,1		
				2	1,6	2,1	9,5	0,3	6,6				
				3	1,3	2,6	6,9	0,2	8,3	0,3			
				4	0,6	3,1	8,3	0,3	3,9	0,9	0,1		
			Ete7	1	0,2	0,8	3,9		0,8	1,0	0,1		
				2	0,1	0,8	3,5	0,1		1,3			
				3	0,1	0,8	4,8	0,1	0,7	1,1			
				4		0,6	3,4	0,1		1,4		0,1	
		P13	Ete10	1		0,1	1,0	0,0		5,6	0,4		
				2		0,1	1,4	0,1		8,2	0,4		
				3		0,1	0,8			3,5	0,3		
				4		0,0	0,6	0,0		2,9	0,3		
Ete12	1			0,1	1,9	0,0		1,1	0,4				
	2				0,8	0,0		1,9	0,4				
	3			0,1	1,2	0,0			0,3				
	4			0,1	0,7	0,0			0,3				

Annexe 31 : Concentrations en HAP dans les PM_{2,5} (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Acenaph tene	Acenaph tylene	Anthrac ene	Benzo_a _anthrac ene	Benzo_a _pyrene	Benzo_b _fluoran thene	Benzo_g _h_i_per ylene	Benzo_k _fluoran thene	Chrysen e	Dibenzo _a h_anthr acene	Fluorant hene	Fluorene	Indeno_ 1 2 3- cd_pyre ne	Naphtal ene	Phenant hrene	Pyrene		
PM _{2,5}	Froide	P13	Hiv1	1			0,2	0,9	1,3	2,4	2,1	0,7	2,5	0,4	1,2	0,1	2,1		1,2	2,6		
				2	0,1	0,2	0,4	1,4	1,9	4,0	3,2	1,0	4,2	0,5	1,9	0,2	3,3	0,4	1,6	4,0		
				3	0,1	0,2	0,7	2,5	4,1	9,4	6,8	2,5	7,9	1,0	3,5	0,3	6,8		3,4	7,5		
				4	0,2	0,5	0,9	3,7	5,7	11,0	8,4	3,0	11,0	1,3	5,1	0,5	9,2	1,1	4,7	11,3		
			Hiv4	1			0,3	0,7	0,9	1,8	2,1	0,4	1,9	0,3	1,1	0,2	1,6		1,7		1,7	2,7
				2			0,4	1,6	0,3	0,7	0,7	0,2	1,9	0,1	1,0	0,5	0,5	1,0	1,9	2,5		
				3	0,1	0,2	0,5	1,0	1,1	1,6	1,9	0,6	2,3	0,5	1,2	0,3	1,6	0,5	2,0	3,2		
				4	0,7			2,9	2,8	4,1	6,7	1,6	8,0	1,7	6,3	1,5	4,8	3,8	7,8	10,1		
		P15	Hiv5	1		1,4	1,6	2,6	3,6	4,4	2,9	1,3	5,9	0,5	2,6	0,4	3,2	0,7	2,4	5,8		
				2		0,2	0,6	2,4	5,1	6,6	4,8	2,1	7,2	0,8	2,4	0,2	5,2	0,3	2,0	5,5		
				3	0,1	0,3	0,9	4,1	9,0	10,8	8,7	3,4	12,2		4,0	0,3	9,3	0,2	3,3	9,1		
				4		3,1	3,4	4,5	5,6	7,2	4,3	1,9	10,5	0,8	4,0	1,2	4,7	0,6	3,8	8,6		
			Hiv7	1				3,6	1,9	2,5	2,8	3,9	0,2				2,5	6,8	0,5			
				2				2,8	1,4	2,2	2,2	3,4	0,2				16,6	4,8	3,2			
				3	3,3			3,1	1,5	2,2	2,3	3,4	0,2				34,4	6,3	5,3			
				4		0,3	0,8	8,2	12,0	15,8	9,8	4,2		4,6	4,5	0,2	12,9	0,4	2,2	5,0		
		Champ	Hiv10	1	0,1	0,8	1,9	5,6	5,8	8,9	4,8	2,3	5,1	1,5	3,5	0,8	7,1	0,8	7,6	4,9		
				2		1,1	2,4	5,9	1,9	3,1	1,1	0,9	4,3		2,4	1,5	2,4	0,9	7,5	3,6		
				3		0,3	0,7	1,8	2,3	3,6	2,9	1,0	2,2	1,2	1,1	0,4	5,2	0,3	4,1	1,7		
				4		1,0		7,3					1,2		1,9	2,5		0,9	6,1	2,3		
	Hiv12		1				0,7	0,9	2,3	1,4	0,6	0,7	0,4	0,9				1,0		0,4	0,7	
			2				0,7	0,7	1,8	0,9	0,4	0,7	0,3	0,9				0,6		0,4	0,7	
			3	0,1			0,7	1,2	1,8	1,8		0,7		1,1			1,6		0,5	0,9		
			4				0,5	0,9	2,0	1,4	0,5	0,6	0,3	0,9			1,0		0,4	0,7		
	Chaude	P15	Ete1	1	0,1	0,3	0,7	0,3	0,8	2,2	4,0	0,6	2,0	0,4	4,0	0,7	2,7	1,0	5,6	5,1		
				2			0,3	0,3	0,4	1,0	1,8	0,4	1,1	0,2	2,1	0,3	1,2		3,2	2,7		
				3			0,7	0,5	0,5	1,3	2,2	0,3	1,3	0,3	2,6	0,3	1,6		3,9	3,3		
				4	0,1	0,3	0,8	0,4	0,7	2,1	3,4	0,5	1,9	0,3	4,4	0,7	2,5	1,3	5,9	5,3		
			Ete3	1			0,5	0,9	0,5	1,5	1,9	0,4	1,1	0,2	2,3	0,3	1,4	0,1	2,8	2,9		
				2			0,5	0,8	0,5	1,4	1,8	0,4	1,1	0,1	2,3	0,3	1,3		3,0	2,7		
				3	0,1	0,2	0,6	0,8	0,7	1,8	2,3	0,6	1,5	0,3	3,0	0,4	1,8	1,1	3,4	3,5		
				4			3,7	2,5	7,2	8,4		5,4	0,7	11,6	0,9	6,8		13,8	13,9			
			Champ	Ete6	1			0,1		0,2	0,1						0,3		0,4		0,3	0,6
					2			0,1		0,2	0,1						0,3		0,4		0,3	0,5
					3						0,1						0,3		0,2		0,2	0,4
					4						0,1	0,1					0,3		0,2		0,3	0,5
		Ete8		1			0,1		0,1	0,2			0,0			0,3		0,4		0,2	0,6	
				2			0,2		0,2	0,3			0,1	0,1	0,7		1,0		0,5	1,1		
				3			0,1		0,2	0,2			0,0	0,1	0,4		0,5		0,3	0,6		
				4			0,2		0,2	0,2			0,0	0,1	0,4		0,7		0,3	0,7		
P13		Ete9	1					0,1		0,1			0,1		0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7		
			2						0,2	0,2			0,1		1,1	0,1	0,2	0,2	1,0			
			3						0,1	0,1			0,1		0,8		0,1		0,6			
			4						0,2	0,2	0,1		0,2		1,4	0,1	0,2		1,3			
	Ete11	1				0,1		0,1	0,2		0,1		1,1		0,1		0,1		1,0			
		2				0,1		0,1	0,2		0,1		1,1		0,1		0,1		1,5			
		3				0,1		0,1	0,2		0,1		0,9		0,1		0,1		1,0			
		4				0,1		0,1	0,1		0,1		0,9		0,1		0,1	0,2	1,0			

Annexe 32 : Concentrations en phtalates dans les PM_{2,5} (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BBP	DEHP	DEP	DiBP	DMP	DnBP	DnOP
PM _{2,5}	Froide	P13	Hiv1	1	5,8	79,1	8,3	345,6	0,3	176,1	1,8
				2	7,8	52,6	6,1	334,8	0,4	142,6	
				3	18,1	192,4	16,1	974,7	1,0	407,0	3,2
				4	24,3	282,6	30,1	1396,3	1,4	612,7	3,9
			Hiv4	1	4,7	163,6	45,6	527,4	0,7	905,8	1,9
				2	75,0	171,6	36,7	93,9	1,9	124,5	
				3	5,1	152,9	68,5	385,5	0,9	589,8	1,6
				4		561,4	137,1	515,6	6,5	617,8	
		P15	Hiv5	1	35,8	75,2	5,6	69,7	0,8	47,7	2,0
				2	2,2	85,4	4,2	244,7	0,3	145,7	
				3	2,8	136,6	5,8	315,3	0,4	183,5	
				4	53,5	133,2	6,1	91,2	1,3	58,2	
			Hiv7	1	7,3	105,4	4,4	426,7	0,4		0,7
				2	5,5	80,0	3,8	347,9	0,3		
				3		86,3	3,9	315,0	0,3		0,7
				4	15,8	120,9	7,5	122,0	0,9	74,8	
		Champ	Hiv10	1	14,8	177,7	29,8	250,9	1,5	200,0	
				2	50,9	116,1	16,7	107,5	0,9	72,1	
				3	3,2	83,7	12,2	117,0	0,7	92,4	
				4		28,3	120,6	27,3	0,9	20,3	
	Hiv12		1	2,1	27,3	4,9	63,2	0,2	31,1		
			2	2,7	30,2	8,6	81,7	0,4	43,1		
			3	3,9	40,2	5,8	88,2	0,6	46,9		
			4	1,7	28,9	4,6	59,2	0,4	27,7		
	Chaude	P15	Ete1	1	43,3	320,0	301,6	538,6	5,6	545,7	3,3
				2	28,0	191,8	138,5	241,6	2,4	235,9	
				3	31,6	218,3	119,4	400,6	2,1	410,3	2,6
				4	46,2	308,1	205,1	430,5	2,9	435,2	6,3
			Ete3	1	13,4	98,0	420,4	248,5	1,0	211,8	1,6
				2	12,5	94,5	444,8	219,4	0,9	189,1	1,4
				3	12,2	105,1	425,7	369,7	1,0	308,7	1,5
				4	61,3	468,5	564,9	1324,1	2,8	1137,7	5,6
		Champ	Ete6	1	38,7	511,5	17,8	315,7	0,4	197,7	7,8
				2	38,5	242,0	16,2	370,6	0,3	240,4	8,5
				3	27,2	411,3	11,6	120,6	0,4	79,0	
				4	39,6	476,3	14,9	153,8	0,7	101,3	6,7
			Ete8	1	51,0	718,3	21,4	86,2	0,7	61,1	11,1
				2	113,8	1742,2	110,2	178,5	1,4	126,1	22,0
				3	61,6	730,0	31,0	99,7	0,9	72,4	12,0
				4	63,3	1066,0	26,5	117,3	0,9	74,3	12,1
P13		Ete9	1	18,9	89,7	66,7	159,6	0,5	153,2	1,2	
			2	28,8	133,5	11,5	195,8	0,7	188,3	1,7	
			3	21,4	92,7	12,8	153,3	0,4	148,3	1,4	
			4	48,6	248,1	1001,8	481,6	1,1	452,8		
	Ete11	1	15,4	99,3	4,6	151,4	0,2	145,6	1,3		
		2	12,3	89,0	4,9	122,0	0,3	115,9	1,2		
		3	14,7	92,1	4,6	112,4	0,4	88,4	1,4		
		4	13,6	86,6	5,6	106,9	0,4	102,5	1,1		

Annexe 33 : Concentrations en PBDE et PCB dans les PM_{2,5} (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	BDE_100	BDE_153	BDE_154	BDE_28	BDE_47	BDE_99	PCB_101	PCB_118	PCB_138	PCB_153	PCB_180	PCB_28	PCB_52			
PM _{2,5}	Froide	P13	Hiv1	1																
				2																
				3														0,1	0,2	
				4														0,1	0,3	
			Hiv4	1	0,4	2,0						0,8						0,0	0,1	
				2																
				3	0,3	2,1				0,2	0,3	0,8			0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	
				4																
		P15	Hiv5	1																
				2	0,2	0,3					0,1	0,4				0,0	0,0		0,0	
				3	0,1	0,1					0,1	0,3				0,1	0,1		0,1	
				4																
			Hiv7	1												0,1				
				2												0,0				0,2
				3												0,0				
				4																
		Champ	Hiv10	1																
				2																
				3																
				4																
	Hiv12		1																	
			2																	
			3																	
			4																	
	Chaude	P15	Ete1	1														0,2		
				2																
				3																0,2
				4																
			Ete3	1																
				2																
				3										0,5						
				4																
		Champ	Ete6	1															0,3	
				2														0,0	0,3	
				3														0,1	0,4	
				4													0,0	0,1	0,4	
			Ete8	1										1,0			0,0	0,1	0,4	
				2													0,0	0,1	0,8	
				3							0,0			0,2				0,1	0,4	
				4										0,4				0,0	0,4	
		P13	Ete9	1															0,1	
				2															0,1	
				3																
				4																0,1
Ete11	1																	0,1		
	2																	0,0		
	3																	0,0		
	4																	0,0		

Annexe 34 : Concentrations en pesticides dans les PM_{2,5} (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	44-DDE	Bifenthrin	Cyfluthrin	Cypermethrin	DEET	Deltamethrin	Fenvalerate	HCB	Lindane	PeCB	Permethrin	Phenothrin			
PM _{2,5}	Froide	P13	Hiv1	1					29,1										
				2					38,0										
				3						80,3									
				4							87,0								
			Hiv4	1							45,6						0,0		
				2							99,3								
				3	5,6						32,6			0,1	0,4	0,5		4,8	
				4							124,3								
		P15	Hiv5	1						97,7									
				2						70,8									
				3							164,9					0,0			
				4							274,6								
			Hiv7	1							63,5							2,8	
				2							49,6							2,9	
				3							49,1								
				4		3,2					138,5								
		Champ	Hiv10	1						289,9									
				2						172,4									
				3							86,4								
				4							220,2								
	Hiv12		1							4,1									
			2							5,4									
			3							3,5									
			4																
	Chaude	P15	Ete1	1					5,0										
				2					6,3										
				3					6,4										
				4					6,8										
			Ete3	1							13,1								
				2							12,9								
				3							6,0								
				4							52,4								
		Champ	Ete6	1															
				2															
				3															
				4							4,1								
			Ete8	1							9,6								
				2							18,2								
				3	0,0					11,4	8,7								
				4							10,3								
P13		Ete9	1						17,6										
			2						23,6										
			3							22,6									
			4							23,1							1,8		
	Ete11	1							15,1										
		2							15,0										
		3							18,1										
		4							14,1										

Annexe 35 : Concentrations en parabènes, alkylphénols et alkylphénols éthoxylates dans les PM_{2,5} (en pg/μg)
 les cellules vides correspondent à <LD, les valeurs italiques <LQ

Type	Saison	Place	Ech.	N°	Bu Paraben	Et Paraben	Me Paraben	Pr Paraben	NP	OP	4-NP Mono	4-OP Di	4-OP Mono			
PM _{2,5}	Froide	P13	Hiv1	1			8,6		2,9	0,2		0,2				
				2			16,4		1,9	1,0		0,3				
				3			23,6		4,1			0,7				
				4			48,3		4,6		3,0	1,0				
			Hiv4	1			3,6		4,1		0,6	0,7				
				2			4,6		6,0		4,9	0,7				
				3					5,4		2,3	0,9				
				4			14,4					9,4				
		P15	Hiv5	1												
				2												
				3												
				4												
			Hiv7	1			0,1		3,7		3,6	0,5		2,0		
				2	0,0		0,1		2,8		0,1	3,4		1,0		
				3			0,2		3,0			2,6		1,2		
				4			0,3		4,6	0,1	2,1	0,6		1,5		
		Champ	Hiv10	1			0,4		8,6		12,4	4,1				
				2			0,3		8,0	0,1	8,3	4,0				
				3			0,2		5,8	0,1	8,3					
				4					6,7	0,3	9,2					
	Hiv12		1			0,4		1,2		1,7	0,2		0,2			
			2					0,9		2,2	0,1		0,2			
			3				0,1		0,9		3,4		0,3			
			4				0,0		0,5		2,5	0,2	0,2			
	Chaude	P15	Ete1	1	1,6	0,8	3,8	0,3	5,6	1,8	1,8		1,8			
				2		1,0	2,9	0,3	5,0	2,9	1,4					
				3	1,5	0,5	2,1		5,0	1,5	1,1					
				4	0,8	0,7	7,0		10,4	1,7	1,7					
			Ete3	1	0,3	0,2	2,3	0,1	2,7	2,0	0,5					
				2	0,4	0,3	2,1		2,7		0,4					
				3	0,1	0,5	3,6		3,8	2,5	0,6					
				4	0,3	0,9	11,0		14,4	7,8	2,5					
		Champ	Ete6	1	0,1	1,4	10,1	0,1	0,8	1,9	0,2					
				2		1,6	8,0		1,1	2,1	0,1					
				3		0,3	4,5		1,2	1,0						
				4		0,4	5,6	0,0	1,0	1,9						
			Ete8	1	0,3	3,5	8,8	0,2	0,8	2,5						
				2	2,2	3,4	17,8	0,6	2,3	5,7						
				3	0,3	2,4	9,0	0,4	1,0	3,4						
				4	0,9	2,6	8,4	0,3	1,4	3,2						
		P13	Ete9	1		0,2	3,0	0,1	0,3				0,9			
				2	0,1	0,3	7,0	0,2					0,5			
				3	0,1	0,2	3,6	0,1		1,2			0,3			
				4	0,1	0,4	7,5	0,2		4,1			0,6			
Ete11	1			0,1	0,8	0,0		3,2			0,3					
	2			0,3	1,4	0,1		3,4			0,3					
	3			0,1	0,6	0,0		2,0			0,4					
	4			0,1	0,9	0,0		2,6			0,2					

Annexe 36 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits TSP sur cellules T47D-KBLuc, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

TSP	TOP (%E2)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	NC	35,9	34,3	35,1
Hiv4	29,8	45,7	65,0	46,8
Hiv5	55,1	37,4		46,3
Hiv6	50,0	31,3		40,7
Hiv7	53,0	45,4		49,2
Hiv8	43,4	52,5		48,0
Hiv9	24,8	26,5		25,6
Hiv10	12,7	13,0		12,9
Hiv11	42,3	11,8		27,0
Hiv12	<i>28694,0</i>	<i>68400,0</i>		NC
Ete1	<i>128,3</i>	113,4	<i>7,0</i>	113,4
Ete2	98,9	81,6		90,2
Ete3	NC	16,1	32,3	24,2
Ete4	NC	18,8	21,8	20,3
Ete5	20,0	9,9	15,2	15,0
Ete6	23,6	6,9	13,7	14,7
Ete7	NC	25,9	27,6	27,6
Ete8	24,1	25,2	25,1	24,8
Ete9	24,1	24,2	19,4	22,6
Ete10	16,8	<i>839,6</i>	<i>591,4</i>	16,8
Ete11	NC	NC	13,3	13,3
Ete12	NC	1,8	NC	1,8
Moyenne Hiver				37,4
Moyenne Été				29,3

Annexe 37 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits PM₁₀ sur cellules T47D-KBLuc, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

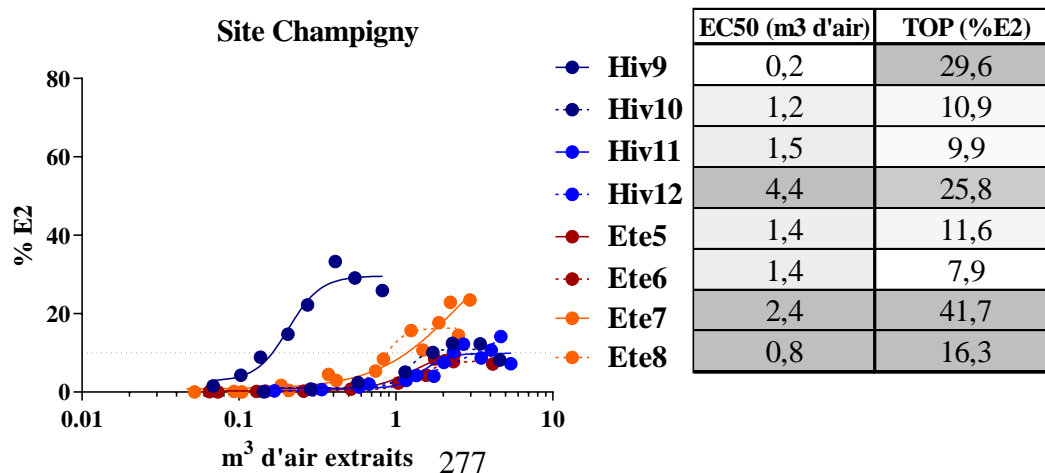
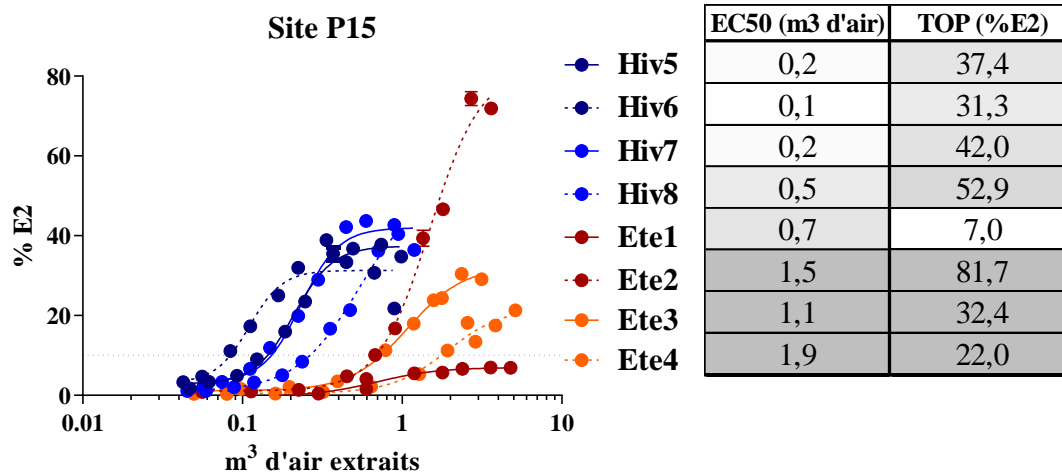
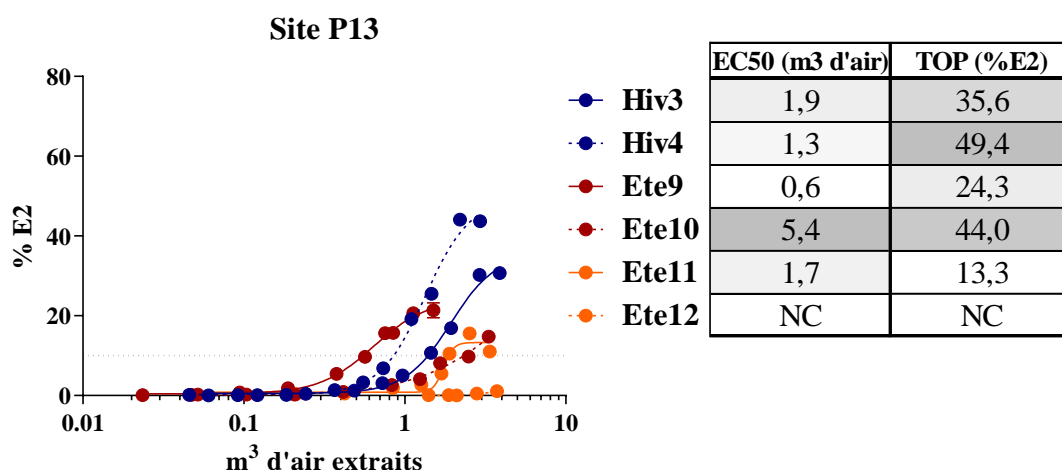
PM ₁₀	TOP (% E2)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	34,0	35,1		34,5
Hiv6	42,4	38,5		40,4
Hiv8	12,8	12,4		12,6
Hiv9	37,9	46,9		42,4
Hiv11	64,5	29,8		47,1
Ete2	70,2	65,3		65,3
Ete4	NC	12,5	14,8	13,6
Ete5	31,5	12,2	12,8	18,8
Ete7	NC	6,7	20,0	13,4
Ete10	NC	3,6	9,3	6,5
Ete12	NC	8,0	15,6	11,8
Moyenne Hiver				35,4
Moyenne Été				21,7

Annexe 38 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % d'E2) pour tous les extraits PM_{2,5} sur cellules T47D-KBLuc, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

PM _{2,5}	TOP (% E2)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv4	81	40	56	59
Hiv5	NC	35		35
Hiv7	28	43		35
Hiv10	32	35		34
Hiv12	98	87		92
Ete1	41	42		41
Ete3	NC	27	20	23
Ete6	NC	8	7	8
Ete8	22	4	16	14
Ete9	10	12	5	9
Ete11	54	4	10	10
Moyenne Hiver				54
Moyenne Été				17

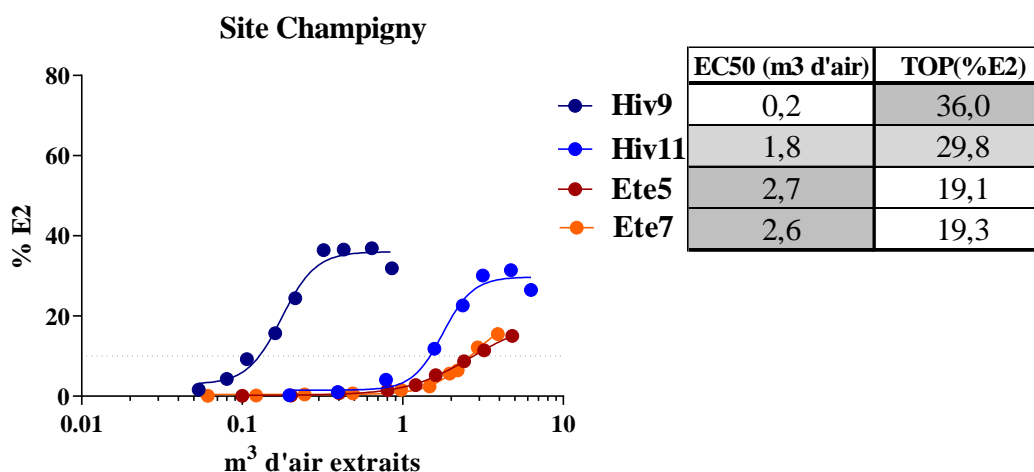
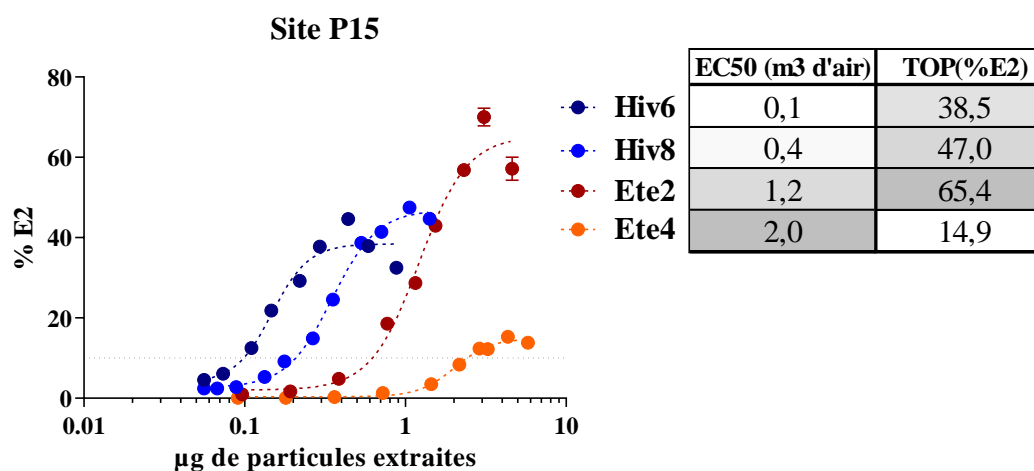
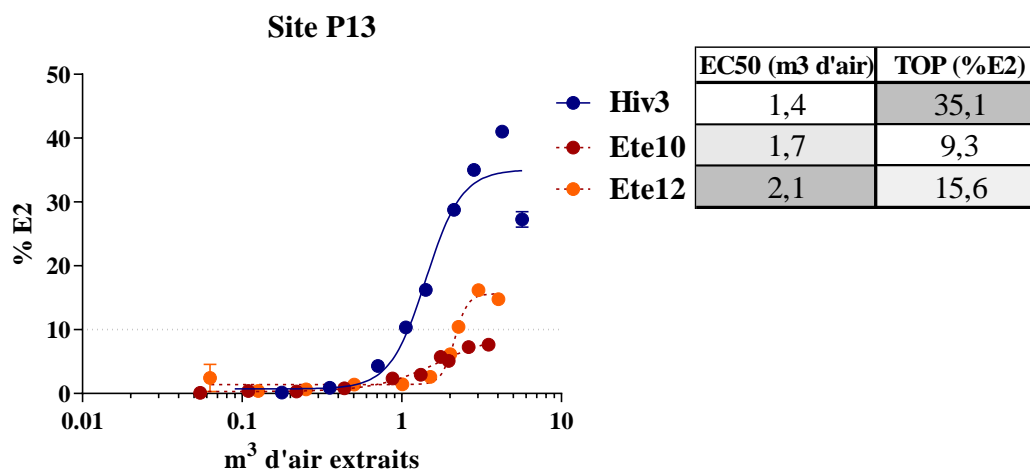
Annexe 39 : Potentiel œstrogénique des extraits de TSP (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes



Annexe 40 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM₁₀ (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).

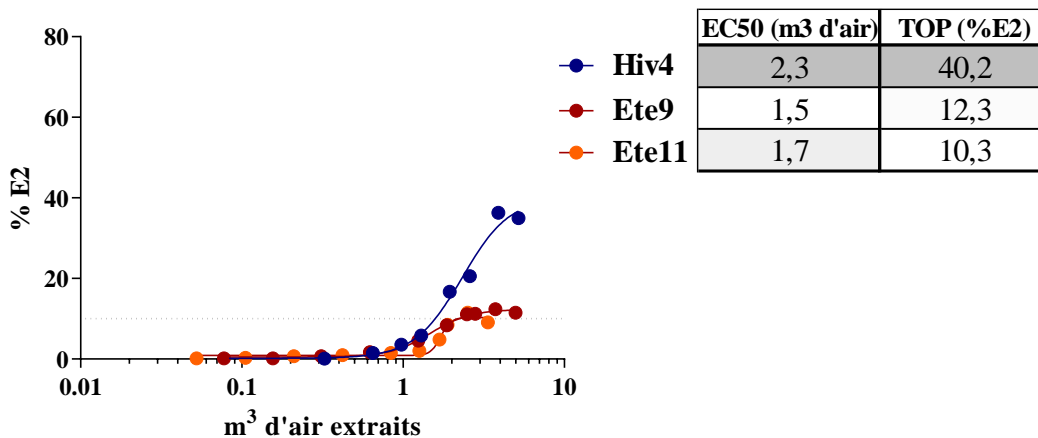
Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes



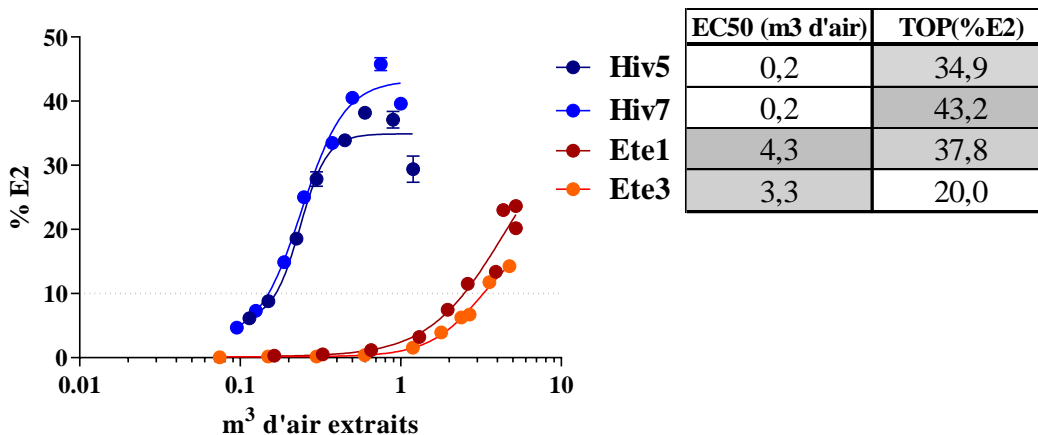
Annexe 41 : Potentiel œstrogénique des extraits de PM_{2,5} (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % d'E2 ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale d'E2 (% E2). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % d'E2) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes

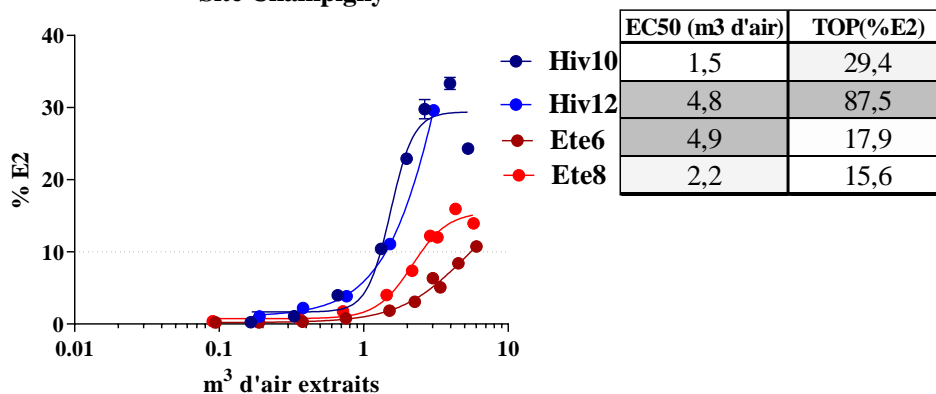
Site P13



Site P15



Site Champigny



Annexe 42 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits TSP pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules T47D-KBLuc. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

TSP	EC50 (m ³ d'air extraits)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	NC	1,9	2,2	2,1
Hiv4	0,9	1,3	1,9	1,4
Hiv5	0,2	0,2		0,2
Hiv6	0,1	0,1		0,1
Hiv7	0,3	0,2		0,3
Hiv8	0,4	0,5		0,5
Hiv9	0,2	0,2		0,2
Hiv10	1,3	1,3		1,3
Hiv11	3,3	1,7		2,5
Hiv12	<i>457,5</i>	<i>2385,1</i>		NC
Ete1	4,9	0,5	<i>0,7</i>	0,5
Ete2	1,6	1,5		1,5
Ete3	NC	1,8	1,1	1,5
Ete4	NC	2,0	1,9	2,0
Ete5	1,7	1,3	1,6	1,5
Ete6	2,2	1,8	2,0	2,0
Ete7	NC	<i>4,0</i>	1,3	1,3
Ete8	0,8	0,8	0,8	0,8
Ete9	0,5	0,6	0,6	0,6
Ete10	2,2	<i>96,2</i>	<i>85,5</i>	2,2
Ete11	NC	NC	1,7	1,7
Ete12	NC	1,3	NC	1,3
Moyenne Hiver				1,0
Moyenne Été				1,4

Annexe 43 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits PM₁₀ pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules T47D-KBLuc. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

PM₁₀	EC50 (m³ d'air extraits)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	1,0	1,4		1,2
Hiv6	0,1	0,1		0,1
Hiv8	0,4	0,4		0,4
Hiv9	0,2	0,2		0,2
Hiv11	1,7	1,8		1,7
Ete2	1,8	1,2		1,5
Ete4	NC	3,6	2,0	2,8
Ete5	3,1	0,8	1,8	1,9
Ete7	NC	2,6	2,7	2,7
Ete10	NC	1,0	1,7	1,3
Ete12	NC	1,8	2,1	2,0
Moyenne Hiver				0,7
Moyenne Été				2,0

Annexe 44 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits PM_{2,5} pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules T47D-KBLuc. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

PM _{2,5}	EC50 (m ³ d'air extraits)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv4	3,1	2,3	3,5	3,0
Hiv5	NC	0,2		0,2
Hiv7	0,2	0,2		0,2
Hiv10	1,8	1,7		1,8
Hiv12	4,8	0,6		2,7
Ete1	3,2	5,6		4,4
Ete3	NC	5,3	3,2	4,3
Ete6	NC	3,5	2,3	2,9
Ete8	NC	2,3	2,2	2,3
Ete9	1,4	1,5	0,9	1,3
Ete11	<i>4,0</i>	<i>0,4</i>	1,7	1,7
Moyenne Hiver				1,9
Moyenne Été				2,8

Annexe 45 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits TSP sur cellules AZ-AhR, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée ; en rouge valeur ramenée à 100% dans les calculs de moyenne; *échantillon agoniste total (100±10)

<i>TSP</i>	<i>TOP (%TCDD)</i>			
	N=1	N=2	N=3	Moyenne
<i>Hiv3</i>	40,58	142,6		70
<i>Hiv4</i>	44,02	129		72
<i>Hiv5</i>	26,83	129,4		63
<i>Hiv6</i>	97,07	129,4		99*
<i>Hiv7</i>	95,84	128,7		98*
<i>Hiv8</i>	89,1	242,3		95*
<i>Hiv9</i>	97,72	147,7	108,3	99*
<i>Hiv10</i>	108,3	165,8		100*
<i>Hiv11</i>	191,5	NC	86,41	93*
<i>Hiv12</i>	137,6	NC	34,48	67
<i>Ete1</i>	NC	4,899	4,493	5
<i>Ete2</i>	NC	59,4	NC	59
<i>Ete3</i>	NC	6,73	1,87	4
<i>Ete4</i>	NC	NC	NC	NC
<i>Ete5</i>	16,95	71,05	28,32	50
<i>Ete6</i>	NC	NC	24,69	25
<i>Ete7</i>	NC		11,84	12
<i>Ete8</i>	NC	NC	59,84	60
<i>Ete9</i>	NC		10,68	11
<i>Ete10</i>	34,76	10,36	28,21	19
<i>Ete11</i>	113,4	NC		100*
<i>Ete12</i>		20,03		20
<i>Moyenne Hiver</i>				86
<i>Moyenne Été</i>				29

Annexe 46 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits PM₁₀ sur cellules AZ-AhR, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée; en rouge valeur ramenée à 100% dans les calculs de moyenne ; *échantillon agoniste total (100±10)

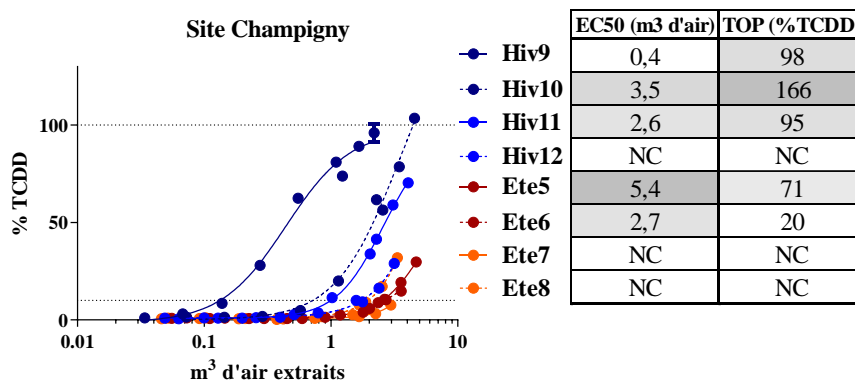
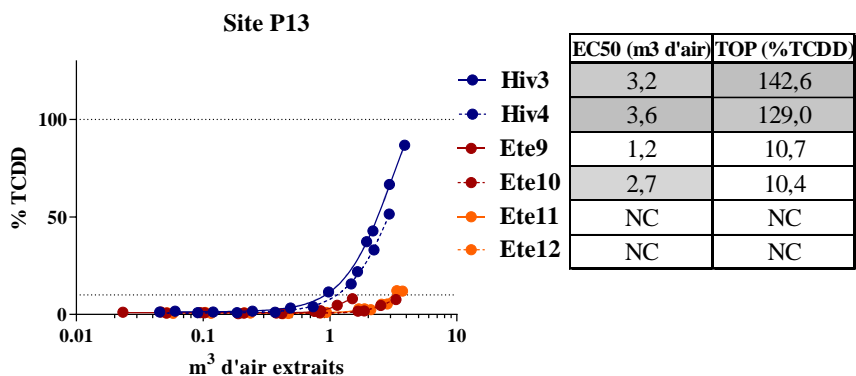
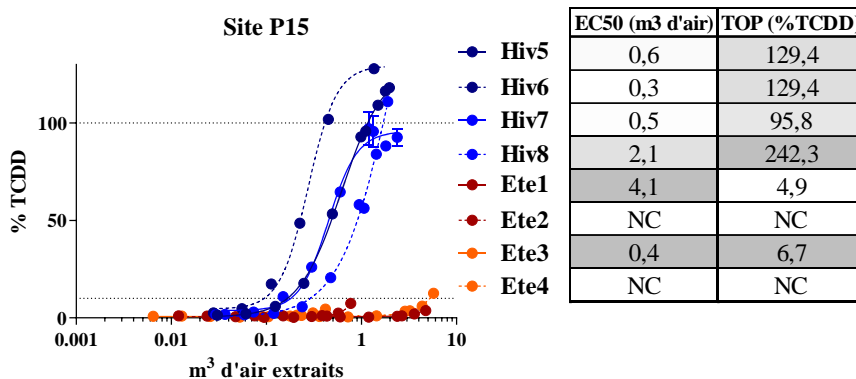
PM₁₀	TOP (%TCDD)			
	N=1	N=2	N=3	Moyenne
<i>Hiv3</i>	108,4	120,5		100*
<i>Hiv6</i>	114,4	118,4	<i>10</i>	100*
<i>Hiv8</i>	81,53	134,4		91*
<i>Hiv9</i>	133,2	125,7	99	100*
<i>Hiv11</i>	231,9	95,33	85,45	90*
<i>Ete2</i>	96,37	40,54	34,04	57
<i>Ete4</i>	35,97	17,05	8,461	20
<i>Ete5</i>	187,2	48,42	NC	74
<i>Ete7</i>	NC	NC	13,6	14
<i>Ete10</i>	72,77	127,3		86
<i>Ete12</i>	NC	NC		NC
Moyenne Hiver				96*
Moyenne Été				52

Annexe 47 : Valeurs d'effet maximal (TOP, en % de TCDD) pour tous les extraits PM_{2,5} sur cellules AZ-AhR, pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3). NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée; en rouge valeur ramenée à 100% dans les calculs de moyenne; *échantillon agoniste total (100±10)

<i>PM_{2,5}</i>	TOP (%TCDD)			
	N=1	N=2	N=3	Moyenne
<i>Hiv4</i>	314,5	115,2		100*
<i>Hiv5</i>	73,79	88,96		81
<i>Hiv7</i>	107,3	120,5		100*
<i>Hiv10</i>	99	126,1		100*
<i>Hiv12</i>	161,2	NC	44,16	72
<i>Ete1</i>	40,19	8,984	7,134	19
<i>Ete3</i>	44,32	13,74	21,62	27
<i>Ete6</i>	79,64	20,06	59,7	53
<i>Ete8</i>	48,02	NC		48
<i>Ete9</i>	NC	NC	24,68	25
<i>Ete11</i>	60,79	16,64		39
Moyenne Hiver				91*
Moyenne Été				34

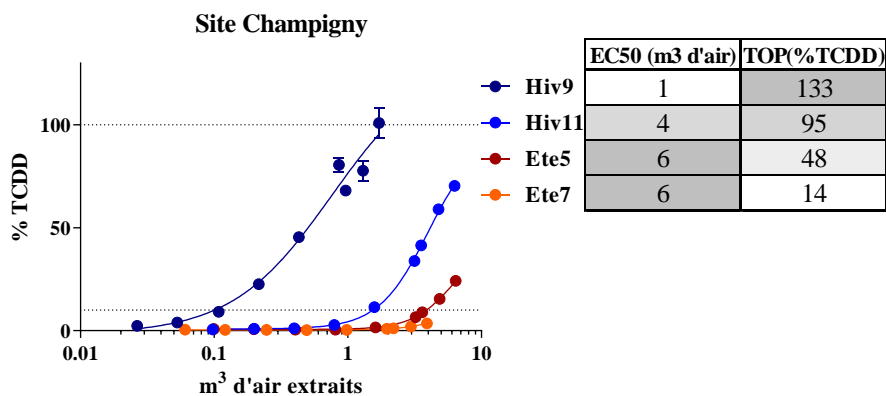
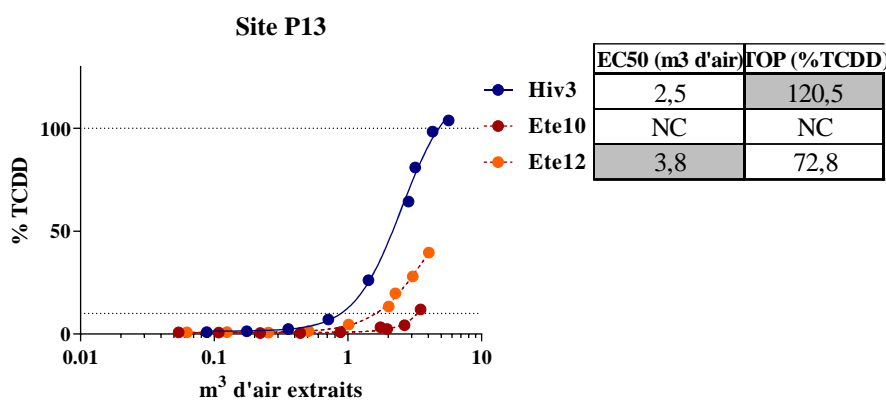
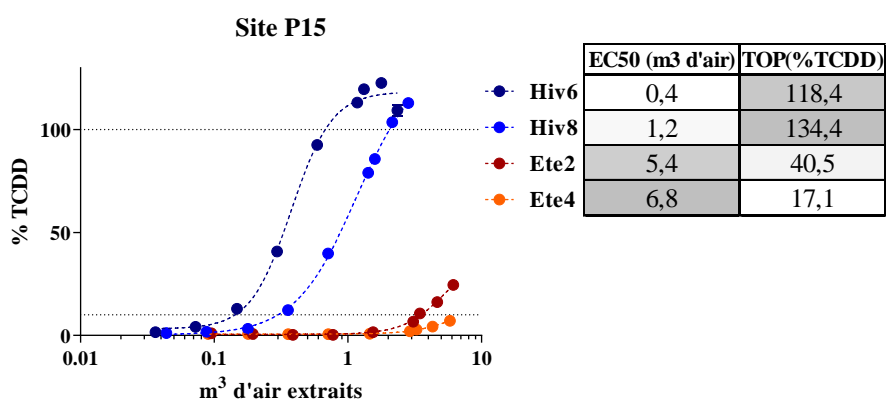
Annexe 48 : Potentiel dioxin-like des extraits de TSP (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD (% TCDD). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % de TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes



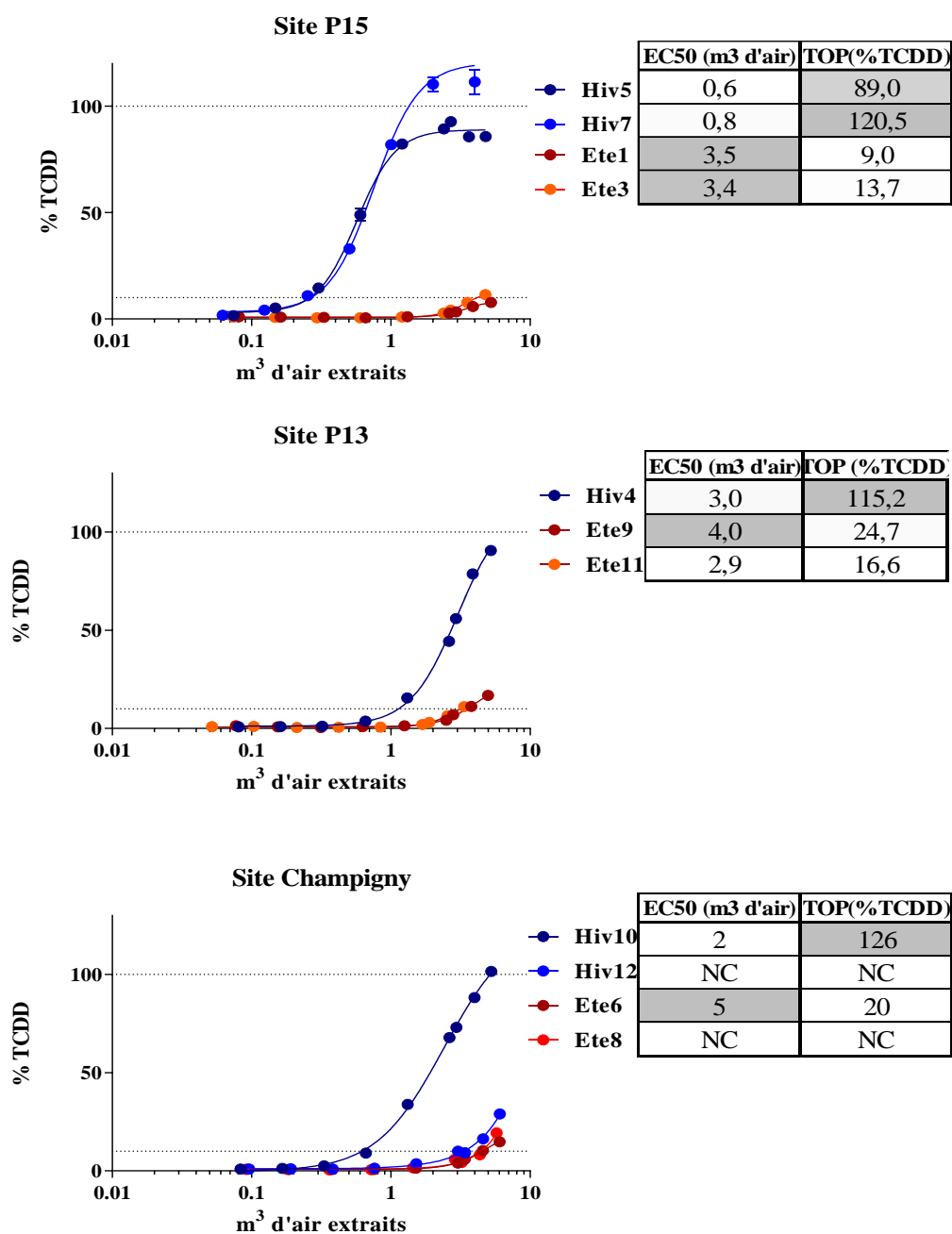
Annexe 49 : Potentiel *dioxin-like* des extraits de PM₁₀ (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD (% TCDD). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % de TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes



Annexe 50 : Potentiel dioxin-like des extraits de PM_{2,5} (en m³ d'air) prélevées en hiver (Hiv) et en été (Ete) sur les sites de P13, P15 et Champigny (en moyenne de % de TCDD ± SEM).

Résultats d'une expérience répétée de jusqu'à n=3. Significativité au-dessus du seuil de 10 % de réponse maximale de la TCDD (% TCDD). En encart : valeurs EC50 (en m³ d'air) et valeur TOP (en % de TCDD) – dégradé de gris de clair à foncé selon valeurs croissantes



Annexe 51 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits TSP pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules AZ-AhR. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

TSP	EC50 (m ³ d'air extrait)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	1,7	3,2		2,5
Hiv4	2,3	3,6		2,9
Hiv5	0,3	0,6		0,4
Hiv6	0,3	0,3	0,2	0,3
Hiv7	0,5	0,8		0,6
Hiv8	1,0	2,1		1,6
Hiv9	0,4	0,6	0,8	0,6
Hiv10	2,0	3,5		2,8
Hiv11	2,7	NC	4,2	3,4
Hiv12	3,0	NC	4,4	3,7
Ete1	NC	4,1	4,5	4,1
Ete2	NC	5,5	14,7	10,1
Ete3	NC	2,8	2,3	2,6
Ete4	9,3	NC	NC	9,3
Ete5	2,4	5,4	3,7	3,8
Ete6	NC	22,0	2,9	12,5
Ete7	NC	NC	2,5	2,5
Ete8	NC	17,9	3,4	10,6
Ete9	NC	NC	1,2	1,2
Ete10	2,7	2,7	5,6	2,7
Ete11	4,6	NC		4,6
Ete12	NC	4,3		4,3
Total Hiver				1,7
Total Été				5,9

Annexe 52 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits PM₁₀ pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules AZ-AhR. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

PM ₁₀	EC50 (m ³ d'air extrait)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv3	2,2	2,5		2,3
Hiv6	0,3	0,4	0,2	0,3
Hiv8	0,6	1,2		0,9
Hiv9	0,8	0,5	0,4	0,6
Hiv11	2,7	4,0	3,5	3,4
Ete2	3,3	5,4	5,7	5,4
Ete4	3,1	6,8	4,7	4,9
Ete5	5,5	6,5	NC	6,0
Ete7	NC	NC	5,9	5,9
Ete10	NC	NC	NC	NC
Ete12	3,8	8,5		6,1
Total Hiver				1,5
Total Été				5,4

Annexe 53 : Valeurs EC50 (en m³ d'air) de tous les extraits PM_{2,5} pour toutes les répétitions d'expérience (de n=1 à n=3) sur cellules AZ-AhR. NC : non calculable ; en italique : valeur ambiguë non considérée

PM _{2,5}	EC50 (m ³ d'air extrait)			
	n=1	n=2	n=3	Moyenne
Hiv4	8,0	3,0		5,5
Hiv5	0,5	0,6		0,5
Hiv7	0,5	0,8		0,6
Hiv10	1,8	2,4		2,1
Hiv12	4,9	NC	7,8	6,4
Ete1	2,9	3,5	3,8	3,4
Ete3	2,6	3,4	4,6	3,5
Ete6	7,1	4,6	11,5	7,8
Ete8	3,1	NC	NC	NC
Ete9	NC	NC	4,0	4,0
Ete11	4,3	2,9		3,6
Total Hiver				3,0
Total Été				4,5

Annexe 54 : Production scientifique lors de la thèse

Communications orales

Le Bayon, D., Guigon, E., Oziol, L., Alliot, F., et Derenne, S. (2020). *Characterization of the endocrine disruptors pollutant load according to the size of air particles*. SETAC Europe, SciCon1 (3-7 mai) – Poster Corner

Le Bayon, D., Guigon, E., Oziol, L., Alliot, F., et Derenne, S. (2020) *Caractérisation de l'exposition pulmonaire aux perturbateurs endocriniens adsorbés sur des particules atmosphériques urbaines de différentes tailles granulométriques : approches chimique et biologique in vitro*. Journée scientifique de l'UMR7619 (21 janvier) – Prix de la meilleure présentation

Rapport

Guigon, E., Le Bayon, D., et Alliot, F. (2020) *Rôle des particules dans la contamination en micropolluants des retombées atmosphériques*. PIREN-Seine phase 8

Posters

Le Bayon, D., Alliot, F., Guigon, E., Oziol, L., et Derenne, S. (2019). *Characterization of pulmonary exposure to endocrine disruptors adsorbed on urban atmospheric particles of different particle sizes: chemical and in vitro biological approaches*. SETAC North America, Toronto (3-7 novembre)

Article

Distribution of 59 endocrine disruptors compounds in coarse and fine airborne particles, Le Bayon, D., Guigon, E., Oziol, L., Alliot, F., et Derenne, S , (*en préparation*)

Characterization of the endocrine disruptors pollutant load according to the size of air particles

Diane Le Bayon¹, Elodie Guigon¹, Lucie Oziol², Fabrice Alliot¹ and Sylvie Derenne¹

¹ Sorbonne University, CNRS, EPHE, PSL University, UMR 7619 METIS, FRANCE

² Paris-Sud University, CNRS, AgroParisTech, Paris-Saclay University, UMR 8079 ESE, FRANCE

E-mail contact: diane.lebayon@ephe.psl.eu

1. Introduction

Particulate matter (PM) emissions have diversified and intensified since anthropization and the advent of industry. These particles can be emitted directly (primary particles) or from a conversion of gas to particles (secondary particles) [1]. Particle emissions are of great concern: they are believed to be the main cause of health problems related to air pollution [2]. Due to their heterogeneous emission sources, particles differ in terms of aerodynamic size and chemical composition, these characteristics then influencing their health impact. Currently, particles with a diameter of less than 10 μm (PM_{10}) and 2.5 μm ($\text{PM}_{2.5}$) are regulated [3] in France.

Air particles are composed in varying proportions of an inorganic fraction (metals...) and an organic fraction (elemental and organic carbon) that can adsorb material of biological and chemical origin (such as organic pollutants). Amongst the adsorbed contaminants, many are semi-volatile organic compounds (SVOCs) which are suspected or proven endocrine-disruptors. The multi-contamination of air by these endocrine-disrupting compounds (EDCs) is believed to cause hormonal disturbances in humans or animals [4], [5].

Moreover, the finer a particle is, the further it can go in the respiratory tract, and it can even reach the blood circulation *via* a pathway in the capillaries covering the pulmonary alveoli. Their presence in the blood allows them to reach organs other than the lungs, thus can have a health impact on the brain, the heart, the reproductive organs... [6].

The aim of this study is to analyze the distribution of a large range of suspected or proven EDCs into Total Suspended Particles (TSP) and different particles sizes selected, PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$. Furthermore, to get an overview of the resulting endocrine disrupting effects on human cells, bioassays were conducted using the organic extracts from particles collected.

2. Materials and methods

2.1. PM sampling

The sampling was performed among 2 sites in Paris, and 1 in the near suburbs of Paris (all sites are urban type). It was during a cold season, from January 29th to March 11th, 2019. We carried out 4 samplings of 3 days on each site. The sampling design per site was a collection of $\text{PM}_{2.5}$ or PM_{10} (alternatively every 3 days of sampling), each in parallel of TSP. Particles were collected with 2 high volume samplers: the Digital DH-77 and Tisch VFC+ for PM and TSP fractions, respectively. The mean volume collected per type of fractions was 2150 m^3 over 3 days of sampling.

2.2. PM sample treatment

After a 24 hours desiccation process, 4 pieces of 2.4 cm in diameter were die-cutted per filter. According to the method described by Laborie et al. [7], each filter piece was then impregnated with an internal standard solution and extracted by the accelerated solvent extraction (ASE 350, Thermo Scientific) method using a dichloromethane/methanol mixture (2/1; v/v). Subsequently, the resulting organic extracts were re-concentrated in hexane in a manner appropriate to the GC-MS/MS chemical analysis performing. After this analysis, the solvent was changed to methanol for LC-MS/MS analysis.

2.3. PM extract analysis

The extracts were analysed to quantify 59 SVOCs belonging to compounds known or suspected to exhibit an estrogenic or androgenic disruptive potential. 7 PCBs, 15 PAHs, 9 phthalates, 6 PBDEs, 4 organochlorines and 8 pesticides were quantified by GC-MS/MS, while LC-MS/MS was used for 6 alkylphenols and 4 parabens. The quantification of SVOCs is based on the method of determination by internal standards.

3. Results and discussion

The results showed that both $\text{PM}_{2.5}$ and PM_{10} fractions were more contaminated in target EDCs than TSP fraction, as indicated for phthalates on one Parisian site, Figure 1. Besides, phthalates stood out as being the

the predominant compounds adsorbed onto PM, accounting for 90 to 99 % of the total contamination, regardless of the particle-size fraction, Figure 2. In addition, as observed for all studied sites, the contamination was shown to be supported mainly by the PM_{2.5} fraction, followed by PM₁₀ and then TSP. Our data are coherent with a previous study carried on the phthalates load adsorbed on particles [8]. To explain why the finest fraction of particles adsorb the greatest chemical contamination, one of the hypotheses is that, despite their small diameter, they have a large surface area and therefore are capable of carrying various chemical compounds.

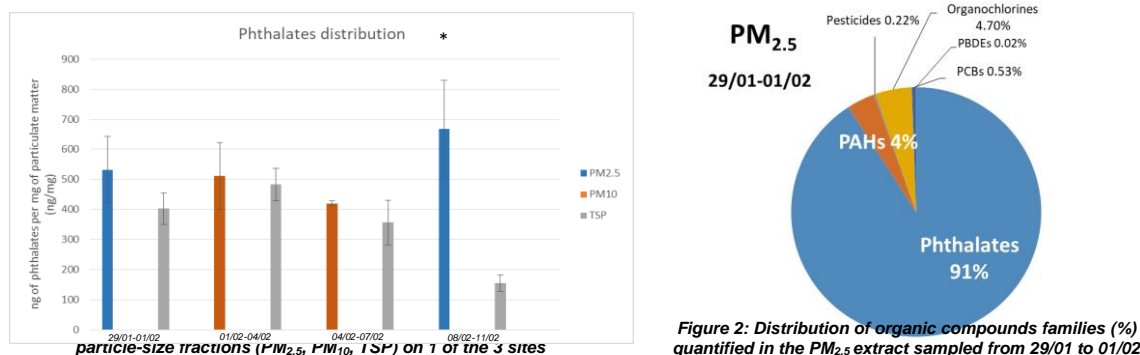


Figure 2: Distribution of organic compounds families (%) quantified in the PM_{2.5} extract sampled from 29/01 to 01/02

To link chemical data to the health impact of particles contamination by EDCs, some *in vitro* testing were conducted, using cellular transactivation assays to measure an endocrine receptor-dependent transcriptional activity in human cells, when exposed to the organic extracts of PM_{2.5}, PM₁₀ and TSP. The initial results for estrogenicity, using T47D-KBluc cells (ATCC®), suggested that there might be a positive correlation between the pollutant load of particle fractions and the level of estrogen receptor activation. The PM_{2.5} extracts being the richest in pollutants, they show the highest estrogenic potential. The outcome is consistent with a study that found that the toxic potential of PM appears to be inversely proportional to the particle diameter [9]. This chemical and biological results are of some concern, as it adds to the intrinsic danger of size, given that PM_{2.5} can reach the end of the respiratory tract, the gas exchange region of the lungs: the alveoli [10].

By quantifying several families of contaminants with suspected or proven endocrine disrupting properties and linking these compounds to a study of toxic effects on human cells, this study bring new data to understand the impact of composition and size of particles on health. Here, we highlighted that parisian urban PM_{2.5} represent the particle-size fraction the most contaminated by *in vitro* bioactive EDCs, which raises the question of the involvement of particle-bound EDCs in air pollution health-related effects, as they are prone to reach the alveoli and then the bloodstream. Further studies remain to be conducted to support this, such as first specifying the bioaccessibility of EDC from particles and their bioavailability for epithelial cells.

1. References

- [1] Zhang R, Wang G, Guo S et al., 2015. Formation of Urban Fine Particulate Matter. *Chem. Rev.* 115,10, 3803-3855.
- [2] Cohen AJ, Brauer M, Burnett R et al., 2017. Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution : an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015. *The Lancet.* 389, 10082, 1907-1918.
- [3] WHO. 2005. Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide.
- [4] Annamalai J, Namasivayam V, 2015. Endocrine disrupting chemicals in the atmosphere: Their effects on humans and wildlife. *Environ. Int.* 76, 78–97.
- [5] Novak J, Jalova V, Giesy J et al., 2009. Pollutants in particulate and gaseous fractions of ambient air interfere with multiple signaling pathways *in vitro*. *Env. Int.* 35,1 43-49.
- [6] Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V et al., 2004. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal. Toxicol.* 16,6-7,437-445.
- [7] Laborie S, Moreau-Guigon E, Alliot F et al., 2016. A new analytical protocol for the determination of 62 endocrine-disrupting compounds in indoor air. *Talanta.* 147, 132-141.
- [8] Ma J, Chen L, Guo Y et al., 2014. Phthalate diesters in Airborne PM_{2.5} and PM₁₀ in a suburban area of Shanghai: Seasonal distribution and risk assessment. *Sci. Total Environ.* 497-498, 467-474.
- [9] Novak J, Hilscherova K, Landlova L et al., 2013. Composition and effects of inhalable size fractions of atmospheric aerosols in the polluted atmosphere. Part II. *In vitro* biological potencies. *Env. Int.* 63, 64-70.
- [10] Xing YF, Xu YH, Shi MH et al., 2016. The impact of PM_{2.5} on the human respiratory system. *J. Thorac. Dis.* 8,1, E69-E74.

Characterization of the endocrine disruptors pollutant load according to the size of air particles



Diane LE BAYON¹ (diane.lebayon@ephe.psl.eu), Élodie GUIGON¹, Lucie OZIOL², Fabrice ALLIOT¹ and Sylvie DERENNE¹
¹Sorbonne Université, CNRS, EPHE, PSL Université, UMR 7619 METIS
²Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, UMR 8079 ESE



1 Context

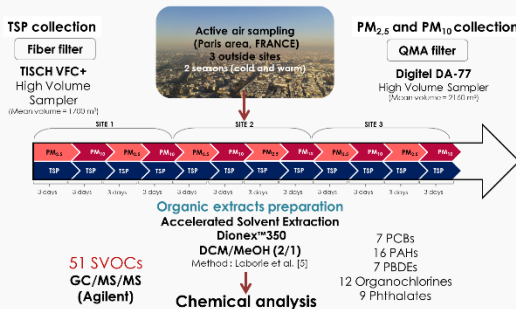
Exposure to air pollutants leads to various pathologies[1], and these pathologies are believed to result from **pulmonary exposure to atmospheric Particulate Matter (PM)**[2]. These health effects are related to :

- The **size of particles** : PM₁₀ (diameter < 10µm) can reach the bronchial area and the PM_{2.5} (diameter < 2,5µm) fraction can go deeper, down to the alveoli.
- The **composition of particles** : their **organic fraction** contains a large number of semi-volatile organic compounds (SVOCs) molecules belonging to families of **endocrine-disrupting compounds (EDCs)**[3],[4].

Objective :

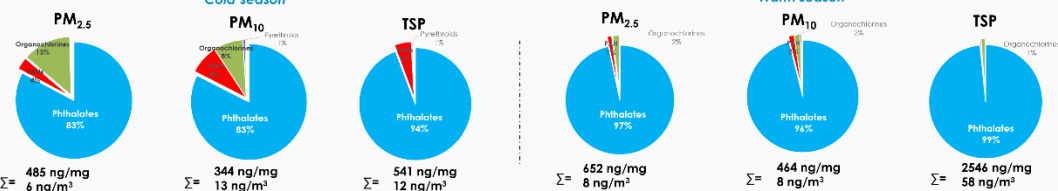
Analyze the distribution of a large range of SVOCs, suspected or proved EDCs, in PM_{2.5}, PM₁₀ and Total Suspended Particles (TSP)

2 Experimental design

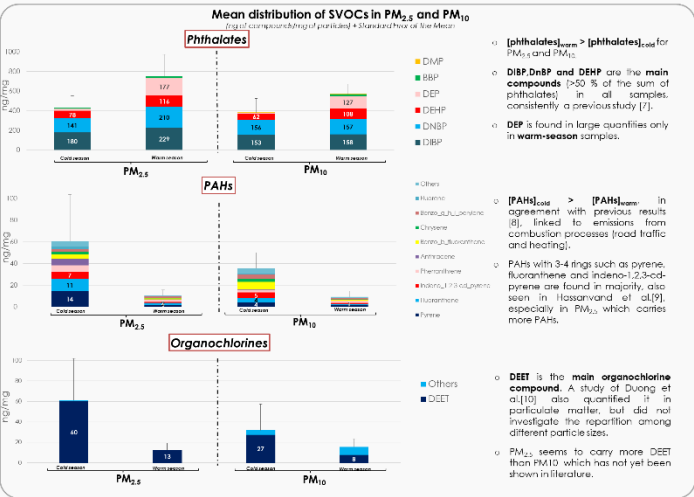
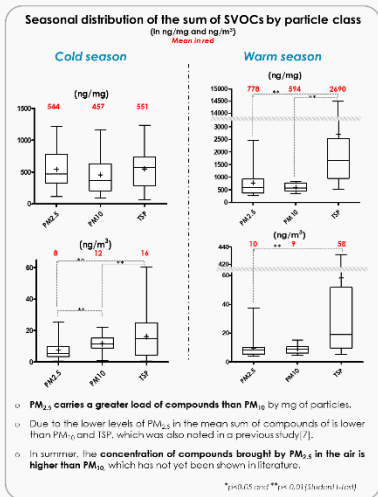


3 Results

Seasonal distribution (in %) of target SVOCs between urban particles (PM_{2.5}, PM₁₀, TSP) Median values over the 3 sites



- Phthalates are predominant, whatever the season or the particle class which is in line with studies previously carried out in Paris [5],[6].
- SVOCs are mainly carried by PM_{2.5} than PM₁₀, especially in warm-season samples, which was shown for phthalates compounds in the study by Ma et al [7].
- Organochlorines are found mainly in winter and the largest quantities are found in PM₁₀, which was not explored by previous studies.
- PAHs are found to be more prevalent in PM₁₀ than in PM_{2.5}. But, compared to cold season, PAHs tends to decrease during warm season, this has been showed in another study [8].



- Even though PM_{2.5} levels in air are lower than those of coarser particulate matter, they carry more pollutants, in all of the SVOCs group sought.
- Particle-bound phthalates tend to increase during the warm season while PAHs and organochlorines tend to decrease.
- DEET, an insect repellent molecule, has been quantified in urban areas and seems to be found in higher quantities on the finest particles selected.
- Regardless of the season and particle sizes, the predominant EDCs carried out by particles are phthalates, and more importantly on PM_{2.5}. Given that a study showed that the finer the particles, the more bioaccessible the carried phthalate esters are [11], this raises questions about the contribution of fine particles to human exposure to EDCs and the resulting health effects.

References : [1] Tarver et al., Am. J. Physiol. – Heart Circ. Physiol., 307, 1487-1476, 2014 [4] Ruckel and Perovich, Atmospheric Environment, 43, 170-181, 2009 [8] Moreau Guigon et al., Atmospheric Environment, 147, 423-433, 2016 [2] European Environment Agency, Air quality in Europe – Report No. 9, 2013 [5] Labadie et al., Talanta 147, 132-141, 2016 [9] Hossainvand et al., Science of the Total Environment, 537-538, 100-110, 2015 [3] Binhard et al., Environmental Science & Technology, 48, 3959-3969, 2014 [7] Ma et al., Science of The Total Environment, 497-498, 467-474, 2014 [10] Duong et al., Chemosphere, 219, 754-795, 2019 [11] Wang et al., Journal of Hazardous Material, 261, 753-762, 2013 SETAC Dublin 2020

Characterization of pulmonary exposure to endocrine disruptors adsorbed on urban atmospheric particles of different particle sizes: chemical and *in vitro* biological approaches



Diane LE BAYON¹ (diane.lebayon@ephe.psl.eu), Fabrice ALLIOT¹, Élodie GUIGON¹, Lucie OZIOU², Sylvie DERENNE¹
¹Sorbonne Université, CNRS, EPHE, PSL Université, UMR 7619 METIS
²Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, UMR 8079 ESE



1 Context

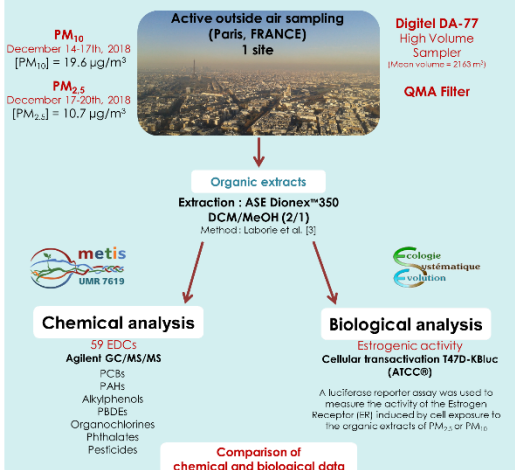
Exposure to air pollutants leads to various pathologies[1], and these pathologies are believed to result from **pulmonary exposure to atmospheric Particulate Matter (PM)**[2]. These health effects are related to :

- The **size** of the particles: PM₁₀ (diameter ≤ 10µm) can reach the bronchial area and the PM_{2,5} fraction can go deeper, down to the alveoli.
- The **composition** influences the toxic potential of PM: the **organic fraction of particles** contains a large number of molecules belonging to families of **endocrine-disrupting compounds (EDCs)** that are known or suspected.

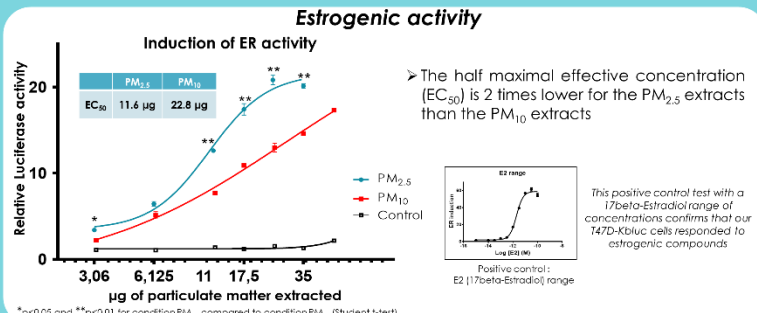
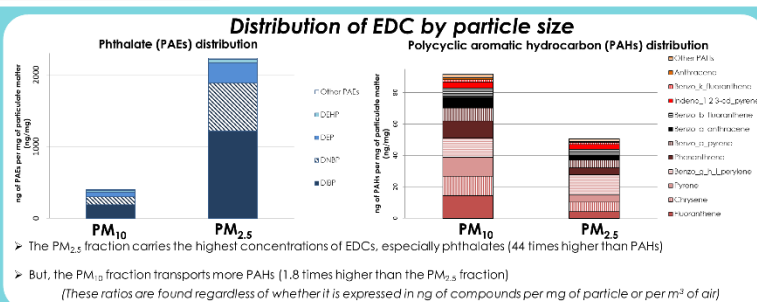
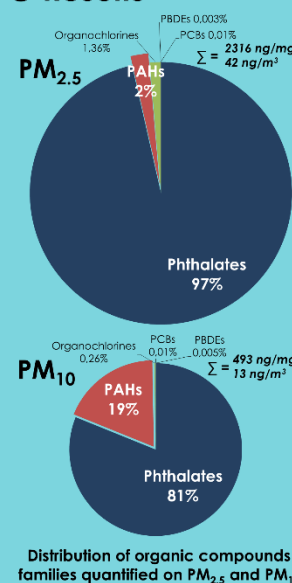
Aims of this study:

- ❖ **What is the distribution of ED compounds between PM_{2,5} and PM₁₀?**
- ❖ **What is the endocrine-disrupting potential effect of particles according to their size range?**

2 Experimental approach



3 Results



- Phthalates are the main compounds on PM, followed by PAHs.
- Phthalates are mainly adsorbed on PM_{2,5}, compared to PM₁₀, and PAHs on PM₁₀.
- The PM_{2,5} extracts have a significantly stronger estrogenic potential, compared to the PM₁₀ extracts

Even if the concentration of PM_{2,5} in the air is lower than PM₁₀, their chemical contamination and toxic effects seem greater. This raises the question of their involvement in air pollution-related health effects and shows that further studies are needed.

References:
 [1] Farmer et al., Am. J. Physiol. – Heart Circ. Physiol. 307, H467-476, 2014
 [2] European Environment Agency, Air quality in Europe – Report No. 9, 2013
 [3] Laborie et al., Talanta 147, 132-141, 2016

RÉSUMÉ

L'objectif de ce doctorat a été de caractériser le danger inhérent à la multi-contamination des particules atmosphériques d'origine urbaine en composés de la famille des perturbateurs endocriniens (PE) selon la classe granulométrique des PM (particulate matter). Les classes de PM réglementées, respectivement de diamètre inférieur à 10 et 2,5 µm, PM₁₀ et PM_{2,5}, ainsi que les PM de toutes tailles, TSP ont été prélevées sur 3 sites de la région parisienne, ayant des caractéristiques similaires (pollution urbaine de fond), sur deux saisons contrastées (froide et chaude). Les extraits organiques de ces 3 classes de particules ont été analysés chimiquement pour leur contamination en 59 composés organiques semi-volatils (COSV), ayant des propriétés de perturbation endocrinienne suspectées ou avérées. Les différentes familles de COSV étudiées sont les : phtalates, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polybromodiphényléthers (PBDE), polychlorobiphényles (PCB), composés organochlorés, pyréthrinoides, alkylphénols et parabènes. Ces extraits organiques des PM urbaines collectées ont également été étudiés sur des bio-essais de transactivation cellulaire *in vitro* pour leur potentiel (anti)-œstrogénique (sur cellules T47D-KBluc), anti-androgénique (sur cellules AIZ-AR) et dioxin-like (sur cellules AZ-AhR). Les teneurs moyennes en µg/m³ dans l'air des PM urbaines étudiées ici sont dans l'ordre PM_{2,5} < PM₁₀ < TSP, pour les 2 saisons. Les résultats ont montré que les familles de COSV majoritairement retrouvés dans les particules, quelle que soit leur granulométrie, étaient les phtalates et les HAP. Cependant, les phtalates sont retrouvés en plus grande quantité en saison chaude, alors que les HAP sont majoritaires en saison froide. Les COSV étudiés s'avèrent être amenés par la classe fine des PM, les PM_{2,5}, par rapport aux PM₁₀ et aux TSP, quelle que soit la saison. Par ailleurs, la contamination organique des classes de PM étudiées présente un potentiel perturbateur endocrinien de type œstrogénique et anti-œstrogénique, mais aussi dioxin-like, l'effet anti-androgénique a été moins marqué. Les niveaux d'activité anti-androgénique sont les plus faibles, suivis des effets perturbateurs œstrogéniques, puis des effets dioxin-like. En effet, un grand nombre d'extraits de PM ont montré un potentiel agoniste total du récepteur aryl aux dioxines, mais seulement un potentiel agoniste partiel du récepteur aux œstrogènes ER. Les extraits de PM s'avèrent induire une activité œstrogénique en interagissant avec l'isoforme alpha d'ER, entrant en compétition avec l'hormone naturelle, le 17β-œstradiol, résultant en un effet hormono-compétitif de type anti-œstrogénique. De plus, pour renforcer cette observation, un effet dose-réponse non monotone a pu être observé sur certains extraits de saison froide. Quel que soit l'effet biologique considéré, les extraits de PM de saison froide ont montré l'effet le plus important par rapport à la saison chaude ; de plus, les effets biologiques semblent provenir principalement des extraits de PM_{2,5}. Les résultats d'analyses chimiques et biologiques sont concordants. Il ressort que la contamination organique la plus élevée en HAP et présentant l'effet de type PE ou dioxin-like le plus important est supporté par les PM_{2,5}, surtout celles prélevées en saison froide. Considérant que c'est cette fraction de PM qui supporte les particules les plus fines capables d'atteindre les voies respiratoires inférieures jusqu'aux alvéoles pulmonaires avant de passer dans la circulation sanguine pour les très fines, l'inhalation des PM_{2,5} représente un vecteur d'exposition important aux COSV de la famille des PE. L'ensemble de ces données a permis une caractérisation des effets PE liés à une contamination des particules atmosphériques par approche bio-analytique *in vitro*, couplé à l'analyse chimique de composés à effet PE suspectés ou avérés.

MOTS-CLÉS

Particules atmosphériques, perturbateurs endocriniens, analyses chimiques, bio-essais *in vitro*, risque sanitaire

ABSTRACT

The aim of this PhD was to characterize the danger inherent to the multi-contamination of atmospheric particles of urban origin in compounds of the endocrine disruptor (ED) family according to the PM (particulate matter) size class. The regulated PM classes, respectively with diameters lower than 10 and 2.5 µm, PM₁₀ and PM_{2,5}, as well as PM of all sizes, TSP, were sampled on 3 sites of the Paris region, having similar characteristics (urban background pollution), on two contrasting seasons (cold and hot). The organic extracts of these 3 classes of particles were chemically analysed for their contamination in 59 semi-volatile organic compounds (SVOC), with suspected or proven endocrine disrupting properties. The different families of SVOCs studied are : phthalates, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine compounds, pyrethroids, alkylphenols and parabens. These organic extracts of the collected urban PM were also studied on *in vitro* cell transactivation bioassays for their (anti)-estrogenic (on T47D-KBluc cells), anti-androgenic (on AIZ-AR cells) and dioxin-like (on AZ-AhR cells) potential. The mean air levels in µg/m³ of urban PM studied here are in the order PM_{2,5} < PM₁₀ < TSP, for the 2 seasons. The results showed that the most common families of SVOCs found in PM, regardless of particle size, were phthalates and PAHs. However, phthalates were found in greater quantities in the warm season, whereas PAHs were found in the majority in the cold season. The studied SVOCs were found to be carried by the fine class of PM, PM_{2,5}, compared to PM₁₀ and TSP, regardless of the season. Furthermore, the organic contamination of the studied PM classes shows an endocrine disrupting potential of estrogenic and anti-estrogenic, but also dioxin-like type, less of anti-androgenic type. The levels of anti-androgenic activity are the lowest, followed by the estrogenic disruptive effects, then the dioxin-like effects. Indeed, many PM extracts showed a total agonist potential of the aryl dioxin receptor, but only a partial agonist potential of the estrogen receptor ER. PM extracts were found to induce estrogenic activity by interacting with the alpha isoform of ER, competing with the natural hormone, 17β-œstradiol, resulting in an anti-estrogenic hormone-competitive effect. Moreover, to reinforce this observation, a non-monotonic dose-response effect was observed on some cold season extracts. Regardless of the biological effect considered, the cold season PM extracts showed the greatest effect compared to the warm season; moreover, the biological effects seem to come mainly from the PM_{2,5} extracts. The results of chemical and biological analyses are consistent. It appears that the highest organic contamination in PAHs and with the greatest PE or dioxin-like effect is borne by PM_{2,5}, especially those collected in the cold season. Considering that it is this fraction of PM that supports the finest particles capable of reaching the lower respiratory tract up to the pulmonary alveoli before passing into the bloodstream for the very fine ones, the inhalation of PM_{2,5} represents an important vector of exposure to SVOCs of the ED family. All of these data have allowed the characterisation of PE effects linked to atmospheric particle contamination by an *in vitro* bioanalytical approach, coupled with the chemical analysis of compounds with suspected or proven PE effects.

KEYWORDS

Atmospheric particles, endocrine disruptors, chemical analysis, *in vitro* bioassay, health risk