

## Test œstrogénique - REACTIV

# Evaluation des perturbateurs endocriniens Axe œstrogénique

### PRINCIPE DU TEST ŒSTROGÉNIQUE

L'objectif du test est de détecter les éventuels effets perturbateurs sur l'axe œstrogénique d'un échantillon testé. Que cet échantillon soit de l'eau, un molécule spécifique, un ingrédient, un mélange, un produit fini ou encore un emballage. Les alevins de médaka (*Oryzias latipes*) utilisées sont porteurs d'une construction génétique comprenant le promoteur du gène de la choriogénine H, protéine fabriquée dans le foie impliquée dans la formation de l'œuf et inductible par les œstrogènes, couplé au gène rapporteur de fluorescence GFP. L'utilisation du promoteur de ce gène comme biomarqueur permet de mesurer la perturbation œstrogénique induite par l'échantillon testé, le niveau de fluorescence mesuré est proportionnel à l'effet.



Photographie alevin de médaka exposé à des perturbateurs œstrogéniques. La fluorescence est visible dans le foie

**La perturbation œstrogénique est alors révélée par une augmentation ou une diminution du niveau de fluorescence dans le foie.**

Le test employé et les résultats fournis sont basés sur des critères physiologiques de la perturbation œstrogénique tels qu'ils sont définis par l'OCDE dans les guidelines OCDE 229 et 230 (fabrication des œufs et détermination sexuelle chez le poisson). Les résultats sont exprimés sur une échelle de perturbation et en équivalent hormonal, ce qui permet de comparer les échantillons entre eux et de se positionner par rapport aux seuils définis par les guidelines OCDE.

**Les tests sont réalisés sur des larves très précoces (J0 à J15) afin d'être autorisés comme méthode alternative.**

Deux niveaux de test sont proposés :

- ✓ Niveau 1 : test d'identification des effets perturbateurs réalisé sur une concentration. Le choix de la concentration d'essai est réalisé après définition de la concentration sub-létale sur une gamme de concentrations.
- ✓ Niveau 2 : caractérisation mécanistique des effets perturbateurs : réalisé sur une gamme de concentrations + décryptage des mécanismes de perturbation + aide à l'élaboration de stratégie de substitution.

### DEROULEMENT DU TEST

Chaque échantillon est testé en présence ou en absence d'hormone de référence pour la perturbation œstrogénique, la testotérone. Le traitement à la testotérone permet de placer les larves dans des conditions où l'axe œstrogénique est activé et intègre les effets sur l'enzyme aromatasase, qui contrôle l'équilibre entre œstrogène et testotérone et participe à l'identité sexuelle des individus. Ce co-traitement permet de mesurer des effets activateurs ou inhibiteurs sur l'axe œstrogénique et sur l'activité de l'aromatasase.



### LECTURE ET INTERPRETATION DES RESULTATS

La lecture du test se fait après 24 heures de traitement. Les données sont analysées suivant les directives de l'OCDE pour l'analyse statistique des expériences d'écotoxicité (Document on the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data, OCDE 2003).

Pour l'interprétation, les niveaux de fluorescence des larves exposées aux échantillons sont comparés aux niveaux de fluorescence des larves exposées aux différents témoins. En fonction du résultat, l'échantillon est positionné sur une échelle de perturbation en fonction des seuils physiologiques définis par les lignes directrices OCDE. Les résultats sont également exprimés sous forme d'équivalent-hormone.

### BIBLIOGRAPHIE

Spirhanzlova P, Leleu M, Sébillot A, Lemkine GF, Iguchi T, Demeneix BA, Tindall AJ. Oestrogen reporter transgenic medaka for non-invasive evaluation of aromatase activity. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2016 Jan;179:64-71. Ligne Directrice OCDE n°229 : "Fish Short Term Reproduction Assay". Ligne Directrice OCDE n°230 : "21-day Fish Assay. A Short term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition".

**Nous contacter : Tel : 01 69 36 11 15 – Mail : [info@watchfrog.fr](mailto:info@watchfrog.fr)**