

Des perturbateurs endocriniens dans les eaux minérales en bouteille?

Deux études *in vitro* récentes, menées en Allemagne et en Italie, ont permis de détecter une activité œstrogénique élevée allant jusqu'à 75 ng EEQ l⁻¹ dans les eaux conditionnées dans du PET, du verre ou du Tetra Pak®. Les résultats de ces études soulèvent la question de la protection de la santé des consommateurs. Pour cette raison, l'Office fédéral de la santé publique a mandaté une étude en vue de dépister l'activité œstrogénique dans les eaux minérales les plus vendues en Suisse (22 marques de 15 fabricants). L'essai ER-CALUX® a montré, dans 15 eaux minérales, une très faible activité œstrogénique (valeur moyenne 5,1 ± 1,4 pg EEQ l⁻¹; maximum 8,0 pg EEQ l⁻¹), qui se situe légèrement au-dessus du seuil de quantification de 3,6 pg EEQ l⁻¹. Une activité œstrogénique en dessous du seuil de quantification a été constatée dans 16 eaux minérales. On ne remarque pas de différence significative entre les eaux minérales en bouteilles PET ou en verre, qu'elles soient gazéifiées ou non. L'activité œstrogénique mesurée dans les eaux minérales commercialisées en Suisse ne représente aucun danger pour la santé des consommateurs.

INTRODUCTION

Des chercheurs allemands [1] et italiens [2], indépendants les uns des autres, ont récemment mis en évidence une activité œstrogénique élevée dans des échantillons d'eaux minérales conditionnées. Wagner et Oehlmann [1] ont mené des recherches sur 20 marques d'eaux minérales vendues en Allemagne, parmi lesquelles neuf étaient disponibles aussi bien dans des bouteilles en verre que dans des bouteilles en polyéthylène téréphtalate (PET). Le test YES (*Yeast Estrogen Screen*) a montré une activité œstrogénique significative de 18 ng en équivalent estradiol-17β (EEQ l⁻¹) en moyenne dans trois des neuf eaux conditionnées dans du verre et dans sept des neuf eaux conditionnées dans du PET (maximum 75,2 ng EEQ l⁻¹). Pour savoir si les substances œstrogéniques passaient de la paroi des bouteilles dans l'eau ou si l'eau elle-même en contenait, des escargots (*Potamopyrgus antipodarum*) ont été gardés pendant

56 jours dans des bouteilles spécialement remplies avec de l'eau qui servait de milieu de culture. Dans deux tiers des bouteilles en PET examinées, le taux de reproduction, c'est-à-dire le nombre d'embryons par escargot femelle, a augmenté de manière significative. Par comparaison, le taux de reproduction des animaux était légèrement plus élevé dans cinq des neuf bouteilles en verre. Les résultats du test YES et du modèle utilisant les escargots n'étaient pas probants, et on ne sait pas si l'activité œstrogénique observée dans les bouteilles était due aux bouteilles ou aux eaux, voire aux deux. Dans l'étude italienne [2], 30 eaux minérales différentes en bouteilles PET et des eaux traitées pour la consommation ont été également analysées avec le test YES. 10% des échantillons analysés ont montré un taux d'activité œstrogénique élevé (moyenne 9,5 ng EEQ l⁻¹, maximum 23,1 ng EEQ l⁻¹). Finalement, Böhmler et al. [3] avaient, en 2006 déjà, fait état de l'activité œstrogénique dans l'eau minérale en

bouteille, décelée à l'aide du test E-screen (cellules MCF7).

Les résultats de ces études ont été débattus par l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (*Bundesinstitut für Risikobewertung*, BfR [4]) ainsi que par Franz et Welle [5]. Aucune de ces études ne permet de déduire quelles substances sont responsables de l'activité œstrogénique. Il est en principe possible que les substances proviennent de l'emballage des boissons (bouteilles en PET, bouteilles en verre, bouchons en polyéthylène [PE]) ou soient libérées par les canalisations d'eau. La contamination pourrait également avoir lieu par le système de pompes lors du remplissage, ou exister déjà à la source. Il faut également prendre en compte les artefacts, par exemple une contamination lors de la préparation, de l'extraction et de l'analyse des échantillons. Un commentaire a débattu des sources possibles de perturbateurs endocriniens dans le PET, comme l'antimoine et les phtalates, et demandé des recherches complémentaires pour éclaircir la question [6].

La présente étude visait à analyser si les eaux minérales en bouteilles les plus vendues en Suisse présentaient aussi une activité œstrogénique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Echantillons

31 des eaux minérales les plus vendues en Suisse ont été échantillonnées et testées. Le choix se basait sur un rapport [7] présentant les quinze marques les plus vendues: Aproz, Cristalp, Denner, Eptinger, Evian, Fonte Guizza, Henniez, Prix Garantie, M-Budget, Rhäzünser, San Andrea, San Pellegrino, Swiss Alpina, Valser et Vittel. Comme quelques-unes de ces eaux sont vendues uniquement dans des bouteilles en PET, les eaux minérales suivantes le plus fréquemment vendues ont été ajoutées à l'étude, afin d'élargir le choix des eaux conditionnées dans des bouteilles en verre: Allegra, Aquella, Arkina, Contrex, Elmer, Heidiland et Passugger (tableau 1).

Afin de limiter des déformations des résultats, par exemple en raison des différentes conditions d'en-

treposage et du temps écoulé depuis le remplissage des eaux minérales, les critères suivants ont été appliqués pour le prélèvement

d'échantillons: (1) lorsqu'ils étaient disponibles pour la même marque, les échantillons ont été prélevés dans des bouteilles en PET et des

bouteilles en verre; (2) en règle générale, les bouteilles en PET contenaient 1,5 litre et les bouteilles recyclables en verre 1 litre, pour tenir

Tableau 1
Liste des eaux minérales analysées et des échantillons de contrôle

Fabricant/Source d'eau minérale	Marque	Matériel de conditionnement	Avec ou sans gaz	Volume des échantillons analysés (ml)	Date de durée de conservation minimale
Eau minérale					
Nestlé Water (Suisse) SA	San Pellegrino	PET	avec gaz	3071	05.2010
	Vittel	PET	sans gaz	3007	08.2011
Seda Aproz SA	Aproz	PET	sans gaz	3004	09.2010
Evian-Volvic Suisse SA	Evian	Verre	sans gaz	2298	12.09.10
		PET	sans gaz	3028	20.04.11
Valsler Mineralquellen AG	Valsler	Verre	avec gaz	3005	05.08.11
		PET	avec gaz	3032	28.06.10
Feldschlösschen (source Rhäzüns)	Rhäzünser	Verre	avec gaz	3008	18.09.11
		PET	avec gaz	2997	19.05.10
		PET	sans gaz	2998	15.04.10
Eptingen SA	Eptinger rouge	Verre	avec gaz	3033	09.2011
		PET	avec gaz	3001	05.2010
		PET	sans gaz	3010	05.2010
Nestlé Waters (Alpwater SA Saxon)	Cristalp	PET	sans gaz	2981	03.2010
		Verre	avec gaz	3032	11.2011
	Henniez gazéifiée	PET	avec gaz	2961	07.2010
		Verre	sans gaz	3000	02.2011
		PET	sans gaz	2964	05.2010
Migros	M-Budget	PET	sans gaz	3077	08.2011
		PET	sans gaz	3072	09.2010
Coop	Aquila	PET	sans gaz	3042	08.2010
		PET	sans gaz	2969	11.03.10
San Benedetto S.p.A	Fonte Guizza	PET	sans gaz	2971	06.2010
		PET	avec gaz	2994	17.12.10
Fonte S. Andrea	S. Andrea	PET	sans gaz	4038	30.09.10
Denner	Denner	PET	avec gaz	3007	11.2010
		PET	avec gaz	2990	03.06.10
Allegra Passugger	Passugger	PET	avec gaz	2998	29.01.10
		PET	sans gaz	2998	29.01.10
Elm, Unidrink AG	Elmer	Verre	avec gaz	2984	16.12.10
		PET	avec gaz	2991	22.03.10
Heidiland SA	Heidiland	PET	avec gaz	2960	08.07.10
Echantillons de contrôle					
Eau ultra pure					
Eau potable Eawag	stagnante		sans gaz	2954	
Eau potable Eawag	après avoir laissé couler l'eau pendant 10 minutes		sans gaz	3017	

compte des grandeurs des bouteilles les plus vendues et garantir la compatibilité avec les études menées en Allemagne et en Italie; (3) lors-

qu'ils étaient disponibles, les échantillons d'eaux minérales gazeuses ont été prélevés; (4) toutes les bouteilles d'une même marque ont

été choisies dans le même lot; les échantillons des différentes marques ont été sélectionnés soit avec la même date de mise en bouteille,

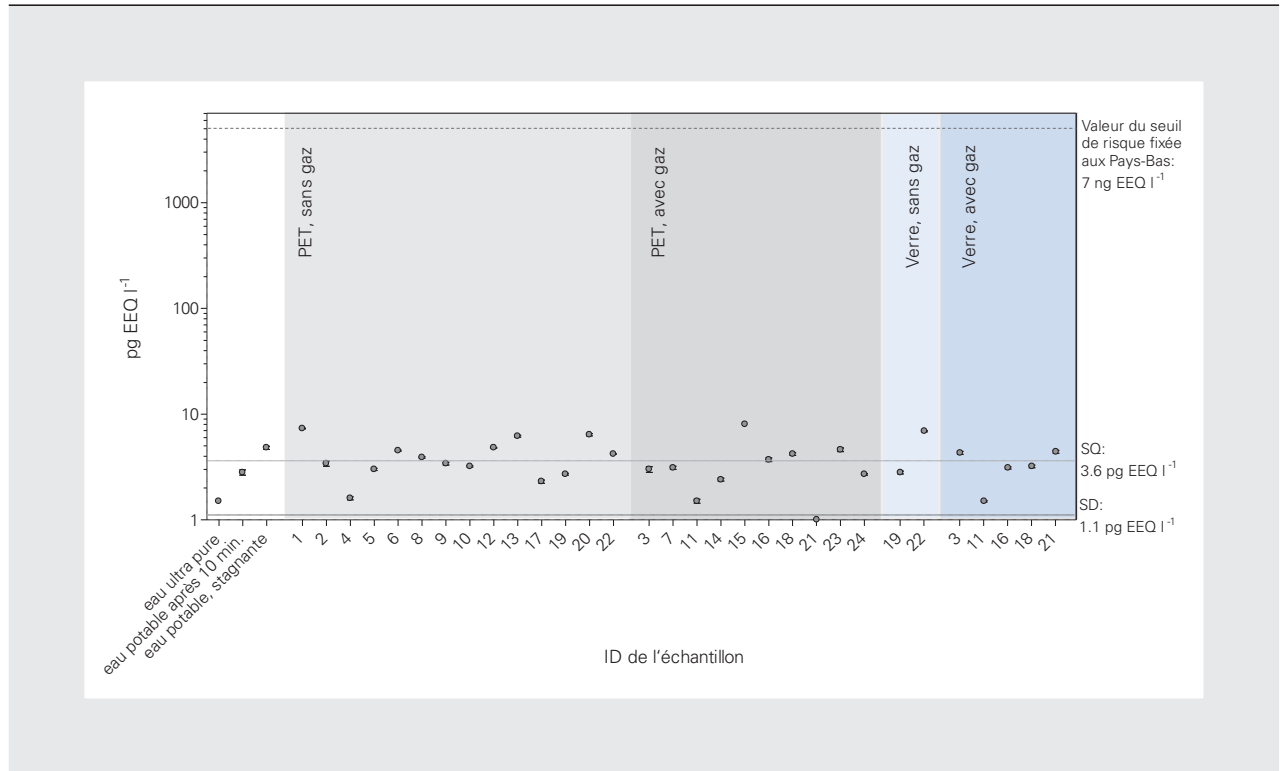
Tableau 2
Activité œstrogénique de 31 bouteilles d'eaux minérales vendues en Suisse et analysées avec l'essai ER-CALUX®
 (valeur moyenne ± écart-type, n = 3). Afin d'éviter que cette étude n'ait des répercussions sur la vente de certaines marques d'eaux minérales en Suisse, les résultats sont présentés sous forme anonymisée.

ID de l'échantillon	PET	Verre	Avec gaz	Sans gaz	ER-CALUX® EEQ (pM)	ER-CALUX® EEQ (pg EEQ l ⁻¹ eau)	ET	ET (%)
Eau minérale								
1	X			X	2,02	7,3	0,11	1,5
2	X			X	0,93	<SQ (3,4)	0,32	9,5
3		X	X		1,18	4,3	0,23	5,3
3	X		X		0,84	<SQ (3,0)	0,31	10,1
4	X			X	0,43	<SQ (1,6)	0,09	5,5
5	X			X	0,82	<SQ (3,0)	0,12	4,1
6	X			X	1,25	4,5	0,10	2,3
7	X		X		0,87	<SQ (3,1)	0,19	6,1
8	X			X	1,08	3,9	0,12	2,9
9	X			X	1,28	3,4	0,17	4,8
10	X			X	0,89	<SQ (3,2)	0,09	3,0
11		X	X		0,42	<SQ (1,5)	0,05	3,1
11	X		X		0,42	<SQ (1,5)	0,11	7,6
12	X			X	1,32	4,8	0,06	1,2
13	X			X	1,70	6,2	0,22	3,5
14	X		X		0,67	<SQ (2,4)	0,13	5,2
15	X		X		2,20	8,0	0,15	1,8
16		X	X		0,85	<SQ (3,1)	0,12	4,0
16	X		X		1,02	3,7	0,26	6,9
17	X			X	0,65	<SQ (2,3)	0,14	6,3
18		X	X		0,90	<SQ (3,2)	0,16	4,9
18	X		X		1,17	4,2	0,20	4,8
19		X		X	0,76	<SQ (2,8)	0,14	5,1
19	X			X	0,73	<SQ (2,7)	0,10	3,8
20	X			X	1,77	6,4	0,27	4,2
21		X	X		1,24	4,4	0,25	5,6
21	X		X		<NG	<SD	-	-
22		X		X	1,47	6,9	0,17	2,4
22	X			X	1,18	4,2	0,04	0,8
23	X		X		1,26	4,6	0,31	6,7
24	X		X		0,74	<SQ (2,7)	0,09	3,3
Echantillons de contrôle								
Eau ultra pure					<0,3	<SQ (1,5)		
Eau potable			après avoir laissé couler l'eau pendant 10 minutes		0,77	<SQ (2,8)	0,28	10,2
Eau potable			stagnante		1,32	4,8	0,27	5,6

ID: identification; SD: seuil de détection (0,3 pM = 1,1 pg EEQ l⁻¹); SQ: seuil de quantification (1 pM = 3,6 pg EEQ l⁻¹); ET: écart-type. L'activité œstrogénique mesurée était quantifiable lorsque la mesure se situait entre le SQ et la CE50 de la courbe standard (valeurs marquées en **gras**). Généralement, on suppose pour l'analyse ER-CALUX® que les mesures effectuées entre SD et le SQ représentent encore bien l'activité œstrogénique. Néanmoins, une partie de cette activité pourrait être imputable aux solvants utilisés. De ce fait, seules des estimations sont indiquées entre parenthèses.

Illustration 1

Activité œstrogénique de 31 eaux minérales conditionnées, vendues en Suisse, analysées avec l'essai ER-CALUX® (valeur moyenne, n = 3). Afin d'éviter que cette étude ait des répercussions sur la vente de certaines marques d'eaux minérales en Suisse, les résultats sont présentés sous forme anonymisée. La valeur du seuil de risque de 7 ng EEQ l⁻¹, fixée aux Pays-Bas pour l'eau potable, a été déduite par W. Mennes [26].



soit avec la même date de durée de conservation minimale; (5) jusqu'à ce qu'elles soient vendues, toutes les bouteilles analysées ont été stockées par les détaillants ou les fournisseurs de boissons dans une pièce à température ambiante. Les échantillons ont été achetés dans le commerce de détail ou auprès de fournisseurs de boissons en octobre 2009, et présentés dans un rapport détaillé sur le prélèvement de ces échantillons. Pour chaque échantillon, quatre bouteilles en PET de 1,5 litre ou six bouteilles en verre de 1 litre ont été achetées et utilisées de la manière suivante: une bouteille sur deux en PET ou une sur trois en verre ont été envoyées à BioDetection Systems b.V. (BDS, Amsterdam NL) pour une analyse d'extraction et un essai ER-CALUX® (*chemical-activated luciferase gene expression*). BDS est accrédité selon la norme ISO 17025 pour toute la procédure d'analyse (y compris la préparation, l'extraction, l'enrichissement, la purification et

l'analyse des échantillons par l'essai ER-CALUX®). La marge d'incertitude de la méthodologie s'élève à 26%. Après réception chez BDS, les échantillons ont été conservés à température ambiante, dans l'obscurité, jusqu'à leur analyse.

Préparation et extraction des échantillons

Afin d'éviter toute contamination avec des substances œstrogéniques pendant l'extraction, seul des matériaux soigneusement nettoyés en verre, en téflon ou en acier ont été utilisés. Deux à trois litres de chaque échantillon ont servi à une extraction liquide-liquide avec de l'éthylacétate (les volumes exacts figurent dans le tableau 1). Le volume des extraits a été réduit par distillation. La fraction restante d'éthylacétate/eau a ensuite été réduite, en évaporant complètement le solvant. L'extrait a finalement été dilué à nouveau dans 40 µl de diméthylsulfoxyde (DMSO), d'où un enrichissement de 75 000 fois de

l'échantillon lorsque trois litres ont été utilisés pour l'extraction. Pour l'estradiol-17β, ajouté à l'eau minérale, le taux de récupération se situait entre 94% et 110% [8]. L'extraction liquide-liquide, la concentration et la purification ont été effectuées simultanément sur les échantillons, les échantillons de contrôle et les échantillons à blanc.

L'essai ER-CALUX®

Les échantillons des eaux minérales ont été testés au moyen de l'essai à haute sensibilité et fiable ER-CALUX® sur les agonistes des récepteurs hormonaux [8, 9, 10, 11]. Pour cet essai, une lignée cellulaire humaine U2OS munie d'un gène de la luciférase régie par le contrôle de la transcription d'un élément répondant aux œstrogènes (ERE) pour le récepteur d'œstrogènes α (ERα) a été utilisée. De cette manière, tant les substances hydrophiles qu'hydrophobes peuvent être mises en évidence. Pour le test, des cellules U2OS-ERα maintenues dans un

milieu DF (mélange 1:1 milieu de Eagle modifié par Dulbecco et milieu Ham's F-12) ont été déposées dans des plaques de culture à 96 puits. Après 24 heures d'incubation à 37 °C et 7,5% de CO₂, le milieu DF a été remplacé par le milieu des échantillons avec extraction d'eau (0,1% DMSO) pour rechercher l'activité des agonistes triplicatés. Pour chaque extrait d'eau minérale, les dilutions suivantes ont été analysées: 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10 000 et 30 000. De plus, pour chaque plaque, un échantillon de contrôle positif et un échantillon à blanc ont été examinés (chaque fois en triplicata). L'analyse a de nouveau été effectuée sur les plaques avec des valeurs à blanc ≥ 1 pM EEQ. Après 24 h d'incubation, le milieu a été enlevé, et les cellules lysées avec 30 μ l de tampon Triton. L'activité de la luciférase a été quantifiée en utilisant un luminomètre (Lucy 2, Anthos, Autriche). A l'aide d'une courbe concentration-effet de la substance de référence estradiol-17 β , recherchée sur toutes les plaques, les concentrations équivalentes d'œstrogènes des extraits d'eaux minérales ont pu être quantifiées.

Traitement des données

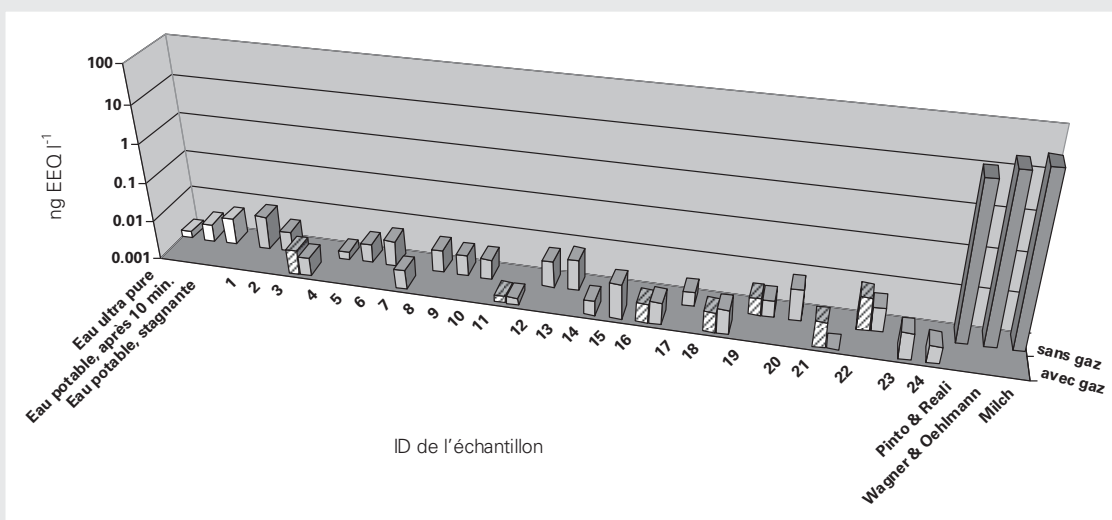
L'activité œstrogénique mesurée dans les eaux minérales analysées est exprimée en équivalents estradiol-17 β (pM EEQ) qui sont déterminés par la courbe standard estradiol-17 β . Les résultats étaient quantifiables lorsque l'activité mesurée se situait entre la concentration efficace 50% (CE₅₀) et le seuil de quantification (SQ). Seuls les échantillons sans cytotoxicité ont été quantifiés. Les valeurs EEQ ont été converties en pM, puis en pg EEQ l⁻¹ par litre d'eau.

RÉSULTATS

Au total, 31 eaux minérales ont été analysées. 24 échantillons provenaient de bouteilles en PET (dix contenaient de l'eau gazeuse, quatorze de l'eau plate) et sept de bouteilles en verre (cinq gazeuses, deux plates). Pour sept marques, des échantillons provenant de bouteilles en PET et de bouteilles en verre étaient disponibles. 90% des eaux en bouteilles PET et deux eaux en bouteilles en verre avaient comme date de durée de conservation minimale l'année 2010. La date de durée de conservation minimale des

autres eaux en bouteille en verre se situait en 2011 (tableau 1). Aucune activité œstrogénique (en dessous du SQ de 1 pM = 3,6 pg EEQ l⁻¹) n'a été décelée pour les échantillons de contrôle d'eau ultra pure et d'eau potable (après avoir laissé couler l'eau du robinet pendant 10 minutes le matin). Cette constatation est également valable pour plus de 50% (16 sur 31) des eaux minérales testées (tableau 2, illustration 1). L'échantillon de contrôle (eau stagnante) a montré une activité œstrogénique de 4,8 pg EEQ l⁻¹. Cette valeur se situe légèrement au-dessus du SQ de 3,6 pg EEQ l⁻¹. Une valeur moyenne de l'activité œstrogénique de 5,1 \pm 1,4 pg EEQ l⁻¹, au-dessus du SQ, a été décelée dans 15 échantillons d'eau sur 31. Aucune corrélation n'a été trouvée entre l'activité œstrogénique et le matériau de conditionnement (50% des échantillons qui étaient dans du PET et 57% des échantillons qui étaient dans des bouteilles en verre). Il n'y a pas non plus de lien entre l'activité œstrogénique et la gazéification (illustration 2). Aucune différence n'a été constatée pour les bouteilles en PET ou en verre entre les eaux gazeuses (valeur des moyennes re-

Illustration 2
Comparaison de l'activité œstrogénique au sein d'une même marque et entre marques, selon le matériel de conditionnement (verre: colonne hachurée, PET: colonne gris clair) et le degré de gazéification (avec ou sans gaz) pour 31 eaux minérales conditionnées vendues en Suisse, testées avec l'essai ER-CALUX® (valeur moyenne, n = 3).



groupées: $4,8 \pm 0,6$ pg EEQ l⁻¹; quatre échantillons en PET: $5,1 \pm 1,9$ pg EEQ l⁻¹, deux échantillons en verre: $4,4 \pm 0,1$ pg EEQ l⁻¹) et l'eau plate (valeur des moyennes regroupées: $6,0 \pm 1,3$ pg EEQ l⁻¹; huit bouteilles en PET: $5,1 \pm 1,4$ pg EEQ l⁻¹; une bouteille en verre: $6,9$ pg EEQ l⁻¹).

DISCUSSION

Dans la présente étude, 31 des eaux minérales en bouteille les plus vendues en Suisse ont été analysées au moyen de l'essai ER-CALUX®. Une très faible activité œstrogénique, de l'ordre du pg EEQ l⁻¹ légèrement au-dessus du SQ, a été décelée dans 15 des eaux minérales testées ainsi que dans les échantillons de contrôle d'eau potable stagnante. L'activité œstrogénique se situe en dessous du SQ dans toutes les autres eaux minérales analysées et les échantillons de contrôle (quinze eaux minérales, eau non stagnante et eau ultra pure), ou en dessous du seuil de détection (SD) (une eau minérale). L'activité œstrogénique observée dans cette étude est en moyenne 1900 jusqu'à 3500 fois plus basse que les valeurs récemment mesurées en Italie [2] et en Allemagne [1].

Dans les études allemandes et italiennes, on ne pouvait rien déduire sur les substances responsables de l'activité œstrogénique dans les eaux minérales conditionnées. Dans d'autres études, plusieurs substances œstrogéniques comme le phtalates, l'antimoine et le butylhydroxytoluène (BHT) ont été décelées dans des eaux minérales conditionnées et dans les jus. On a pu mesurer des phtalates comme le dibutylphtalate (DBP), le diisobutylphtalate (DIBP), le diéthylphtalate (DEP) et le di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP) dans les eaux et les jus en bouteilles PET, bien qu'ils n'aient pas été volontairement ajoutés lors de la production des bouteilles. Les concentrations de phtalates ont présenté de grandes différences selon le genre de boisson, le fabricant, le pays d'origine, la gazéification, l'entrepôt et la température de stockage [6]. Schmid et al. [12] ont mis en évidence des concentrations de DEHP de l'ordre de $0,1$ à $0,3$ µg l⁻¹ dans l'eau conditionnée en bou-

teilles PET en Suisse. En se basant sur des études *in vitro*, le DEHP possède un facteur d'équivalence œstrogénique (EEF) de $2,2 \times 10^{-7}$, qui se rapporte à la substance de référence, l'estradiol-17β [13].

Le trioxyde d'antimoine (SbO₃) est utilisé comme catalyseur lors de la polycondensation du PET. L'antimoine présente, selon les études *in vitro*, un EEF de l'ordre de $4,3 \times 10^{-3}$ et de $1,6 \times 10^{-3}$ [14]. Les concentrations d'antimoine peuvent varier fortement dans les bouteilles en PET [15]. On constate des concentrations d'antimoine très différentes au sein de la même marque et selon le point de vente, résultant des différences de migration de l'antimoine au cours du temps [16]: les eaux d'une même marque achetées à Hongkong avaient une concentration d'antimoine de $1,7$ µg l⁻¹, alors que la valeur de celles achetées en Europe était de $0,7$ µg l⁻¹. Après six mois d'entreposage, les concentrations s'élevaient à respectivement $2,0$ et $1,5$ µg l⁻¹. En outre, il est établi que l'antimoine migre davantage au cours du temps lorsque la température ambiante augmente [17]. Une étude conduite par l'Office fédéral de la santé publique a montré, sur les 69 échantillons d'eaux minérales en PET et en verre commercialisées en Suisse, une concentration d'antimoine moyenne de $0,43$ µg l⁻¹ (maximum $1,14$ µg l⁻¹) pour les bouteilles en PET. Celle-ci est 3,5 fois plus élevée que celle constatée dans les bouteilles en verre [18].

Dans une étude allemande, on a mesuré l'antioxydant butylhydroxytoluène (BHT) dans les eaux minérales en bouteilles PET et en verre [19]. Le BHT possède un EEF $< 2,4 \times 10^{-6}$ [20, 21]. A notre connaissance, le BHT n'est pas utilisé dans la fabrication du PET, mais lors de la production du polyéthylène (PE), et pourrait passer du bouchon dans l'eau minérale. Les concentrations pour les eaux minérales en bouteille PET qui venaient d'être conditionnées variaient entre $0,8$ et $2,6$ µg l⁻¹, et augmentaient à $2,8$ et $6,2$ µg l⁻¹ sur une durée de neuf mois [19].

On peut calculer la concentration EEQ théorique en multipliant les concentrations mesurées dans les eaux conditionnées (antimoine [18]; BHT [19]; DEHP [12]) avec l'EEF correspondant. Des concentrations

théoriques EEQ de l'ordre de $1,8$ à $4,9$ ng EEQ l⁻¹, de loin les plus élevées, ont été calculées pour l'antimoine, ce qui était beaucoup plus important que les concentrations EEQ mesurées dans la présente étude. Cette différence pourrait s'expliquer en partie par le fait que l'antimoine, hydrosoluble, n'est que partiellement enrichi pendant la préparation et l'extraction de l'échantillon avec l'éthylacétate. Pour cette raison, l'analyse de l'influence de la préparation et de l'extraction des échantillons doit être approfondie pour différentes substances.

Dans une étude menée récemment en Allemagne, dans le Baden-Württemberg [22], on ne constate aucune activité œstrogénique significative dans 30 eaux minérales naturelles, dont quinze conditionnées dans du PET et quinze dans des bouteilles en verre. La méthode de test E-screen (SQ $0,1$ ng l⁻¹) a été utilisée. Ces résultats ont été confirmés par une analyse instrumentale utilisant un criblage sur cible (*target-screening*) ou hors cible pour les xœstrogènes connus ou les substances structurellement apparentées. Il est intéressant de noter que Wagner et Oehlmann [23] ont découvert, grâce à une nouvelle étude dans laquelle la méthode E-screen a été utilisée, une activité œstrogénique largement inférieure dans des échantillons d'eau conditionnée en Allemagne, en Italie et en France, par comparaison avec leur première étude de 2009 [1]. Sur onze des 18 échantillons, on constate une activité œstrogénique moindre, mais statistiquement significative, de l'ordre de $1,9$ à $12,2$ pg EEQ l⁻¹, comparable avec nos résultats.

L'activité œstrogénique constatée dans le cadre de la présente étude menée sur des eaux minérales conditionnées ne présente pas de risque pour la santé. Les œstrogènes naturels existent dans les denrées alimentaires, par exemple le lait et les produits à base de soja, la bière et le vin, en concentration nettement plus élevée [24]. Par exemple, une teneur naturelle de 24 ng l⁻¹ d'estradiol-17β a été mesurée dans le lait [25]. Cette valeur est 3000 fois plus élevée que les concentrations les plus hautes mesurées au cours de cette étude (8 pg EEQ l⁻¹). ■

Informations supplémentaires

Dr. Beat Brüscheweiler
Office fédéral de la santé publique (OFSP)
Unité de direction Protection des consommateurs
Division Sécurité alimentaire
Section Risques nutritionnels et toxicologiques
Staufferstrasse 101
8004 Zurich
E-mail: beat.brueschweiler@bag.admin.ch

Dr. Petra Kunz
Centre Ecotox Eawag/EPFL
Überlandstrasse 133
8600 Dübendorf
E-mail: petra.kunz@oekotoxzentrum.ch

Remerciements

Les auteurs remercient Daniela Tropiano (Centre Ecotox) pour son aide précieuse et son soutien lors du prélèvement d'échantillons, Marcel Kreber (Association suisse des producteurs d'eaux minérales et des producteurs de soft drink, SMS), Jean-Claude Würmli (PRS PET-Recycling Suisse), Fritz Stuker (Vetroswiss) ainsi que Peter Behnisch (BioDetection Systems) pour leurs inestimables, renseignements et leurs commentaires et Josef Schlatter (OFSP) pour la révision du manuscrit. Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflit d'intérêt.

Bibliographie

1. Wagner M. and Oehlmann J. (2009). Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 1-9.
2. Pinto B. and Reali D. (2009). Screening of estrogen-like activity of mineral water stored in PET bottles. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 212: 228-232.
3. Böhmeler G., Kohnen R., Borowski U. und Rühle A. (2006). Einsatz eines biologischen Testsystems (E-Screen) in der amtlichen Lebensmittelüberwachung zum Nachweis östrogen wirksamer Substanzen. *J. Verbr. Lebensm.* 1: 325-331.
4. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2009). BfR bewertet Untersuchungsergebnisse zu Mineralwasserproben mit hormonähnlicher Wirkung. Stellungnahme Nr. 008/2009 vom 25. März 2009.
5. Franz R. and Welle, F. (2009). Can migration of endocrine disrupters from plastic bottles be the cause of estrogenic burden recently determined in bottled mineral water? *Deutsche Lebensmittelrundschau*. Mai 2009. p. 315-318.
6. Sax L. (2010). Polyethylene terephthalate may yield endocrine disruptors. *Environ. Health Persp.* 118: 445-448.
7. ACNielsen (2004). Consumer behavior in the retail business in Switzerland (in German). Report ACNielsen.

8. van der Linden S.C., Heringa M.B., Man H.-Y., Sonneveld E., Puijker L.M., Brouwer A., and van der Burg B. (2008). Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 42: 5814-5820.
9. Murk A.J., Legler J., Van Lipzig M.M.H., Meerman J.H.N., Belfroid A.C., Spenkellink A., van der Burg B., Rijs G.B.J., and Vethaak, D. (2002). Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 16-23.
10. Sonneveld E., Jansen H.J., Ritico J.A.C., Brouwer A., and van der Burg B. (2005). Development of androgen- and estrogen-responsive bioassays, members of a panel of human cell line-based highly selective steroid-responsive bioassays. *Toxicol. Sci.* 83: 136-148.
11. Leusch F.D.L. 2008. Tools to detect estrogenic activity in environmental waters. *Global Water Research Coalition. IWA International Water Association, London.* p. 1-83.
12. Schmid P., Kohler M., Meierhofer R., Luzi S., and Wegelin M. (2008). Does the reuse of PET bottles during solar water disinfection pose a health risk due to the migration of plasticisers and other chemicals into the water? *Water Res.* 42: 5054-5060.
13. ter Veld M.G.R., Schout B., Louise J., van Es D.S., van der Saag P.T., Rietjens M.C.M., and Murk A.J. (2006). Estrogenic potency of food-packaging-associated plasticizers and antioxidants as detected in ER and ER reporter gene cell lines. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4407-4416.
14. Choe S.Y., Kim S.J., Kim H.G., Lee J.H., Choi Y., Lee H., and Kim Y. (2003). Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Science of the Total Environment* 312: 15-21.
15. Nishioka K., Hirahara A., and Iwamoto E. (2002). Determination of antimony in polyethylene terephthalate bottles by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microwave sample preparation. *Bulletin of the Faculty of Human Life and Environmental Sciences, Hiroshima Women's University* 8(1): 35-42.
16. Shotyk W. and Krachler, M. (2007). Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environ. Sci. Technol.* 41: 1560-1563.
17. Westerhoff P., Prapaipong P., Shock E., and Hillaireau A. (2008). Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. *Water Res.* 42: 551-556.
18. Bundesamt für Gesundheit (BAG) (2005). Antimon in Mineralwasser: Beurteilung des Gesundheitsrisikos (Antimony in mineral water: evaluation of health risks). *BAG-Bulletin* 44: 796-797.
19. Zerbe H. (2010). Mögliche gesundheitsrelevante Stoffe in abgefülltem Wasser. Präsentation BfR-Forum Verbraucherschutz «Wenn Substanzen wie Hormone wirken» (in German) 19./20. April 2010, Berlin.
20. Jobling S., Reynolds T., White R., Parker M.G., and Sumpter J.P. (1995). A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Persp.* 103: 582-587.
21. Kuch B. (2010). Hormonelle Aktivität in Mineralwasser – Untersuchungen mit dem E-Screen-Assay. Präsentation an AQS Jahrestagung 2009/2010, 3.3.2010.
22. Bopp K., Kuch B. und Roth M. (2010). Hormonelle Aktivität in natürlichen Mineralwässern? *Deutsche Lebensmittelrundschau*, September 2010: 489-499.
23. Wagner M. and Oehlmann J. (2010). Endocrine disruptors in bottled mineral water: Estrogenic activity in the E-Screen. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* doi: 10.1016/j.jsbmb. 2010. 10.004.
24. Hartmann S., Lacorn M., and Steinhart H. (1998). Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chem.* 62: 7-20.
25. Courant F., Antignac J.P., Maume D., Monteau F., Andre F., and Le Bizec, B. (2007). Determination of naturally occurring oestrogens and androgens in retail samples of milk and eggs. *Food Addit. Contam.* 24: 1358-1366.
26. Mennes W. (2004). Assessment of human health risks for oestrogenic activity detected in water samples, using the ER-CALUX assay. RIVM-notitie, RIVM, Bilthoven, NL.