

Appel à projets de recherche 2018 du PNR EST

Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 43 dossiers soumis aux appels à projets 2018 et retenus pour financement par le comité d'orientation à l'issue du processus de sélection

SOMMAIRE

Résumé 2-4Ginf - 2018_2 RF_016.....	4
Résumé ACTIONS - 2018_1_222.....	6
Résumé AQUARESIST - 2018_1_052.....	8
Résumé AviSan - 2018_1_257.....	10
Résumé BETA - 2018_1_239.....	12
Résumé Candyfrog - 2018_1_096.....	14
Résumé CYCCAR - 2018_1_007.....	16
Résumé DENSOTOOL - 2018_1_183.....	19
Résumé DIPP-Suf - 2018_1_250.....	22
Résumé DuoTOX - 2018_1_280.....	24
Résumé EMBRYORAD - 2018_2 RF_025.....	26
Résumé EPIEXPEL-SouRes - 2018_2 RF_032.....	29
Résumé EVALXEN - 2018_1_029.....	31
Résumé ExpOz - 2018_1_138.....	33
Résumé FluoBIOME - 2018_1_172.....	36
Résumé Glycerin - 2018_1_084.....	39
Résumé ICARE-VADS - 2018_1_207.....	41
Résumé IMMUQUAP - 2018_1_285.....	43
Résumé IMPACT - 2018_2 RF_012.....	45
Résumé IMPERIAL - 2018_1_223.....	48
Résumé INTER-CAL - 2018_2 RF_005.....	51
Résumé IWW - 2018_1_242.....	53
Résumé MacFibOsis - 2018_1_149.....	55
Résumé MADONNA - 2018_1_199.....	57
Résumé MASSIVE ATTACK - 2018_1_076.....	59
Résumé MULTIASTHMANET - 2018_1_055.....	62
Résumé NEAR 5G - 2018_2 RF_007.....	65
Résumé OccRF-Health - 2018_2 RF_035.....	67
Résumé Operas - 2018_1_106.....	70
Résumé PE-Mediateurs - 2018_1_220.....	73
Résumé PENDORE - 2018_1_264.....	75
Résumé PESTIFAT - 2018_1_313.....	77
Résumé PolluHealth - 2018_1_075.....	80
Résumé PRECEPT - 2018_1_230.....	82
Résumé PROMPT - 2018_1_194.....	84
Résumé PUF-EXPOmiR - 2018_1_073.....	86

Résumé PURE-SNOW - 2018_1_094.....	88
Résumé RadioFlow - 2018_2 RF_003.....	90
Résumé SeasonDisruptor - 2018_1_069.....	92
Résumé SMARTTIQ - 2018_1_154.....	94
Résumé TOXCHEM - 2018_1_095.....	96
Résumé TROPHIPLAST - 2018_1_017.....	98
Résumé WIFIDEV - 2018_2 RF_027.....	101

Résumé 2-4Ginf - 2018_2 RF_016

Responsable scientifique : M. Michel Mallat

Organisme : INSERM U.1127 - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets des radiofréquences 2G et 4G de la téléphonie mobile sur la microglie activée et l'activité neuronale en contexte neuroinflammatoire

2. Questions à la recherche

RFES 1.3 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant aux niveaux cellulaire et moléculaire, en particulier : l'expression des gènes et impact épigénétique

RFES 1.6 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant aux niveaux cellulaire et moléculaire, en particulier : les pathologies associées à la dégénérescence cellulaire

RFES 2.1.8.1 - Études in vivo ou cliniques sur les réponses physiologiques aux radiofréquences, notamment : sur les fonctions cognitives (mémoire, raisonnement, fonctions exécutives, attention) chez l'animal, en association avec l'étude de la morphologie et de la plasticité cérébrale (approches électrophysiologiques, marqueurs métaboliques, hémodynamiques ou immunohistochimiques, etc.)

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet vise à déterminer les effets de radiofréquences (RF) 1800 MHz modulées en mode LTE (4G) ou GSM (2G), sur des cellules microgliales et sur l'activité de réseaux neuronaux, en lien avec des contextes pathologiques neuroinflammatoires. Des expositions de cultures cellulaires aux signaux GSM-1800 ou LTE-1800 seront d'emblée exploitées (GSM) ou mises au point (LTE) pour déterminer les effets des RF sur des cellules microgliales murines activées. L'activation de la microglie sera relative à 1) une inflammation aiguë (traitement des cellules au lipopolysaccharide), 2) une maladie neurodégénérative spécifiée (microglie issue de souris transgéniques modélisant la sclérose latérale amyotrophique), 3) des gliomes (microglie exposée à des oncométabolites). Les analyses porteront sur l'expression de gènes d'activité physiopathologique reconnue, sur la régulation épigénétique de la transcription (méthylation des histones ou de l'ADN) ainsi que sur des compartiments subcellulaires contrôlant la traduction ou la dégradation des ARN (Granules de stress, P bodies). Une analyse exhaustive des transcrits codants et non codants sera réalisée dans le cadre d'expositions LTE. Des études in vivo préciseront les effets d'une exposition céphalique aux signaux GSM et LTE sur le phénotype microglial et sur les réponses neuronales évoquées dans le cortex auditif de rats sujets à un état neuroinflammatoire aigu. Les RF seront appliquées à des puissances compatibles avec les normes de la téléphonie mobile.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'impact des RF de la téléphonie mobile sur les états pathologiques reste peu étudié. L'influence des signaux LTE sur la microglie est inconnu alors que ces cellules ont un rôle physiopathologique majeur dans des neuropathies aiguës ou chroniques, dont les maladies neurodégénératives et les tumeurs cérébrales. Nos travaux récents ont porté sur les signaux GSM-1800 MHz appliqués à des rats (Lameth et al., 2017 ; Occelli et al., soumis) ou à de la microglie purifiée (projet Neurinf-1800, en cours). Ils révèlent que la sensibilité de la microglie aux RF est accrue lors d'un état neuroinflammatoire et qu'elle se manifeste par des réponses morphologiques ou transcriptomiques. In vivo, ces réponses microgliales

vont de pair avec d'importantes modifications de l'activité neuronale intracorticale. En continuité avec ces travaux, notre projet est sans équivalent publié.

Argumentation du choix des questions

Axée sur la microglie, notre étude caractérisera l'impact des signaux GSM et LTE sur des mécanismes moléculaires pouvant entraîner une dégénérescence pathologique de cellules nerveuses à caractère aigu ou chronique ou pouvant influencer sur le développement de tumeurs cérébrales. Les analyses privilégieront la détection d'effets sur l'expression des gènes, abordée au niveau épigénétique, transcriptionnel ou post-transcriptionnel. Nos modèles in vitro permettent des analyses diversifiées et résolutive de la réponse microgliale à des signaux LTE ou GSM, en fonction de la puissance et de la durée des expositions. L'étude in vivo enrichira la connaissance des effets des RF sur l'activité des neurones centraux qui sous-tendent des fonctions sensorielles ou cognitives.

Description des méthodes mises en œuvre

Semestres 1, 2 et 3 : GSM sur cultures. Microglie purifiée à partir de souris de type sauvage (SWISS ou C57 Bl6) ou transgéniques (tg-hSOD1G85R, tg-hSOD1G37R), traitement par du lipopolysaccharide ou des oncométabolites, expositions (DAS et durée variable) et pseudo expositions (DAS nul) à l'aide de cellules TEM, mesure de l'expression de gènes ciblés (RT-qPCR, ELISA), de méthylation d'histones et de cytosines, de l'abondance et composition de granules de stress et P bodies (ELISA, western-blot, Immunocytochimie). Semestre 2: adaptation et calibration du système TEM à des expositions LTE, dosimétrie. Semestres 3-6: effets des signaux LTE (DAS/durée variable) sur microglie purifiée, analyses étendues par séquençage des ARNs à haut débit et bioinformatique. Semestres 2,3,5 et 6: expositions "tête seule" (2h) aux signaux GSM (semestres 2-3) ou LTE (semestres 5-6) pratiquées sur rats traités ou non au LPS, calibration et dosimétrie LTE, enregistrements électrophysiologiques, analyses immunohistochimiques de la microglie. Dans tous les cas, comparaison de groupes (rats ou cultures microgliales) exposés ou pseudo exposés (n= 6 à 8 par groupe).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INSERM U.1127 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Michel Mallat

Equipe 2 : INSERM ICM, Hôpital de la Salpêtrière - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Severine Boillee

Equipe 3 : CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, UMR CNRS 9197 - Orsay

Responsable de l'équipe : M. Jean-Marc Edeline

Equipe 4 : XLIM CNRS-Université de Limoges - Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 276 345 € TTC

Résumé ACTIONS - 2018_1_222

Responsable scientifique : Mme Emmanuelle Vulliet

Organisme : Service Central d'Analyse du CNRS - Solaize

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude de l'impact d'Agents de ConTraste Iodés sur deux OrgaNismes aquatiqueS modèles par des approches métabolomiques et métallomiques

2. Questions à la recherche

ACHIM 8.1 - Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes : Milieux aquatiques (marins et continentaux) : résidus de produits pharmaceutiques et de produits de soin ; interactions entre polluants et nanoparticules,

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

CoEm 1 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition

3. Résumé

Objectif détaillé

La contamination des milieux aquatiques par les produits pharmaceutiques n'est plus à démontrer. Parmi ces composés, les agents de contraste iodés (ACI) sont utilisés depuis les années cinquante en imagerie médicale pour augmenter artificiellement le contraste et ainsi mieux visualiser les organes, tissus, tumeurs,... Une exposition en continu et à de fortes doses (présence ubiquitaire de ces composés dans les eaux à des teneurs pouvant atteindre quelques µg/L voire mg/L) pourrait provoquer des effets néfastes sur les organismes aquatiques, notamment les organismes filtreurs. De plus, nécessaire au fonctionnement de la thyroïde, l'iode contenue dans les ACI peut être ingérée par les espèces et interférer avec leur fonction endocrinienne.

Ce projet propose d'évaluer, sur la base d'expositions à des teneurs environnementales, la présence et l'impact de 2 ACI d'osmolalité différente régulièrement détectés dans les eaux sur deux espèces modèles de nos rivières : un mollusque bivalve, *Dreissena polymorpha*, et un poisson Téléostéen, *Gasterosteus aculeatus*. Pour cela, (i) l'étude de la répartition de l'iode dans les différentes parties des organismes (imagerie élémentaire), (ii) la détermination de la bioaccumulation de l'iode et ses potentielles interactions avec les biomolécules (approche métallomique) et (iii) l'étude des effets de ces ACI sur le métabolisme des organismes (approche métabolomique) seront menées. Ainsi, ces travaux permettront de comparer la bioaccumulation des ACI dans deux organismes modèles à stratégie de bioaccumulation et d'élimination différentes. En première intention, le volet métabolomique informera sur les effets globaux des ACI sur la physiologie des organismes.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

La présence des ACI dans les eaux est maintenant largement documentée, par contre très peu d'études s'intéressent aux effets de ces composés sur les organismes aquatiques ou à leur bioaccumulation.

Ainsi, l'un des caractères novateurs du projet ACTIONS est d'utiliser la complémentarité de techniques analytiques pour étudier à la fois la répartition et la spéciation des composés iodés dans deux organismes aquatiques modèles et pour rechercher de potentiels métabolites/marqueurs d'exposition et d'effet aux ACI. En amont d'une approche ciblée permettant de mieux appréhender les modifications physiologiques de ces contaminants émergents, l'approche globale et exploratoire proposée au niveau biologique permettra pour la première fois d'acquérir une vision d'ensemble des effets des ACI sur les organismes. Ces données seront mises en regard des mesures de bioaccumulation, de répartition et de spéciation dans les organismes.

A terme, ce projet novateur informera sur la pertinence d'étudier certaines voies physiologiques d'intérêt par l'intermédiaire d'analyses multi-biomarqueurs plus ciblées.

Argumentation du choix des questions

Le projet ACTIONS permettra d'acquérir des données sur l'exposition de deux organismes -vertébré et invertébré - modèles de nos rivières à deux ACI d'osmolalité différente, substances présentes ubiquitairement et à fortes doses dans le milieu aquatique. Les données de bioaccumulation, de spéciation et d'effets induits sur ces organismes permettront de prédire les risques éventuels de ces substances pour les écosystèmes aquatiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1. Evaluation de la répartition, de la spéciation et de la bioaccumulation des ACI dans les deux organismes d'intérêt (années 1 et 2), par l'intermédiaire d'expositions en conditions contrôlées de laboratoire, à deux concentrations. A chaque date d'échantillonnage, la répartition des ACI dans les organismes et la bioaccumulation globale de l'iode seront évaluées par imagerie élémentaire et spectrométrie de masse élémentaire (ICP MS), respectivement. La spéciation de l'iode sera déterminée selon une approche métallomique par ICP MS et MS moléculaire (ESI-MS/MS) couplée à des techniques séparatives. Cela permettra, en outre, de mesurer la bioaccumulation de chaque espèce iodée.

Tâche 2. Evaluation de l'impact des 2 ACI sur le métabolisme des deux organismes modèles (années 1, 2 et 3). Cette tâche mettra en évidence des marqueurs d'exposition et d'effets des organismes aux ACI, par LC-MS à haute résolution. La quantification de biomarqueurs pertinents sera menée par couplage LC-MS/MS. Cette approche métabolomique permettra d'appréhender les fonctions physiologiques impactées par ces contaminants émergents.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Service Central d'Analyse du CNRS - Solaize

Responsable de l'équipe : Mme Emmanuelle Vulliet

Equipe 2 : Université de Pau et des Pays de l'Adour, CNRS UMR 5254 - Pau

Responsable de l'équipe : Mme Sandra Mounicou

Equipe 3 : Université Reims Champagne Ardenne, UFR Sciences Exactes et Naturelles

Responsable de l'équipe : Mme Odile Dedourge-Geffard

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 195 258 € TTC

Résumé *AQUARESIST* - 2018_1_052

Responsable scientifique : M. Christophe Merlin

Organisme : LCPME, UMR7564 CNRS-Université de Lorraine - Vandoeuvre lès Nancy

1. Titre

Projet complet

36 mois

Influence des polluants aquatiques et des pratiques d'élevage sur la dissémination de l'antibiorésistance en milieu piscicole

2. Questions à la recherche

ACHIM 8.1 - Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes : Milieux aquatiques (marins et continentaux) : résidus de produits pharmaceutiques et de produits de soin ; interactions entre polluants et nanoparticules, ...

ACHIM 8.2 - Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes : Approfondir, au travers d'une approche par compartiment (sol, eau, consommation...), les connaissances sur les effets des mélanges de substances et de leurs produits de dégradation sur la santé humaine et sur les écosystèmes

ACHIM 8.3 - Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes : Effets de contaminants chimiques sur les écosystèmes en vue d'anticiper des risques pour la santé humaine

3. Résumé

Objectif détaillé

La dissémination de l'antibiorésistance est étroitement liée à l'utilisation d'antibiotiques dont on sait qu'un meilleur usage en médecines humaines et vétérinaires permet de limiter l'ampleur du phénomène. Cependant, l'effet des antibiotiques ne se limite pas à une simple pression de sélection, et limiter leur mésusage ne suffira probablement pas à enrayer la propagation de la résistance. En concentrations sub-inhibitrices, les antibiotiques peuvent induire le transfert d'éléments génétiques mobiles (EGM) vecteurs de gènes d'antibiorésistance (ARG). Récemment, nous avons pu montrer des effets collatéraux où les antibiotiques qui stimulent le transfert d'EGM ne correspondent pas forcément aux résistances véhiculées par l'EGM. Cette déconnexion entre ARG disséminé et molécule stimulatrice ne se limite pas aux antibiotiques. Certains EGM sont également inductibles par des polluants aromatiques, des pesticides ou certains désinfectants, tous susceptibles de contaminer le compartiment aquatique. Avec ce projet, nous proposons d'étudier l'effet de polluants sur le transfert d'un EGM modèle (élément intégratif et conjugatif SXT) dans la réalité de dispositifs aquatiques environnementaux (bassins piscicoles), eux mêmes récepteurs de pollutions d'origines agricoles, urbaines, industrielles ou encore domestiques. SXT est un EGM vecteur de nombreuses résistances, largement répandu chez des bactéries pathogènes et environnementales hydriques. Il s'agira ici d'utiliser des approches innovantes pour identifier (1) la prévalence et le portage de SXT en système piscicole (modèle truite), (2) les polluants (ou cocktail) subis des ressources en eaux ou issus de mauvaises pratiques induisant le transfert de SXT, et (3) évaluer le transfert de SXT dans différents compartiments d'une structure piscicole expérimentale.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Notre connaissance de la dissémination des ARG repose en grande partie sur des évidences rétrospectives rendant difficiles l'identification de facteurs interférant avec l'activité des EGM. Avec ce projet, nous proposons de démontrer directement l'effet de résidus pharmaceutiques, combinés ou non à d'autres polluants domestiques, agricoles ou industriels, sur la dissémination d'ARG par SXT en milieu

aquatique. De ce fait, ce projet s'inscrit dans le volet «Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes (Agents chimiques)».

Argumentation du choix des questions

La recherche proposée se focalisera sur le système piscicole avec la recherche des compartiments biologiques ou physiques impliqués (eau, poissons, déjections, biofilms de bassins) et l'identification de pratiques susceptibles de stimuler la dissémination des ARG portés par SXT. L'identification des milieux et pratiques à risque permettra de proposer des actions pour limiter la propagation des ARG dans l'écosystème aquatique, mais aussi en aval chez l'humain conformément au concept «One Health» reliant santé animale, humaine et environnement.

Description des méthodes mises en œuvre

AquaResist est un projet de 36 mois qui se décline en 3 tâches. La tâche 1 (10 mois) consiste à évaluer la prévalence de SXT par PCR quantitative sur des prélèvements environnementaux provenant de structures piscicoles et de rivières avoisinantes. Les éléments SXT seront assignés taxonomiquement par epicPCR (Emulsion, Paired Isolation and Concatenation PCR), une approche « single cell » qui permet de coupler un marqueur fonctionnel (SXT) à un marqueur phylogénétique (ADNr 16S) par PCR-fusion puis d'identifier les porteurs du marqueur par séquençage NGS. Cette tâche permettra d'identifier (1) les hôtes préférentiels de SXT, (2) des environnements riches en SXT, et éventuellement (3) la co-occurrence de certains polluants avec l'abondance en SXT. La Tâche 2 (8 mois) vise à identifier les polluants activant le transfert de SXT. Nous utiliserons des bactéries génétiquement modifiées pour exprimer une luminescence lorsque les gènes de mobilité de SXT sont activés (fusions promoteur-luxCDABE). Ces bactéries (biosenseurs) seront exposées à des gradients de concentrations d'un panel de molécules pertinentes en contexte piscicole (AMM vétérinaires, résidus pesticides, antibiotiques, ...), et les molécules/cocktails actifs seront identifiés par imagerie de luminescence. La tâche 3 (18 mois) consiste à évaluer le transfert de SXT en bassins piscicoles expérimentaux exposés ou non aux polluants inducteurs identifiés en tâche 2. Un hôte préférentiel, identifié en tâche 1, sera utilisé comme donneur initial après que son élément SXT ait été étiqueté. La dissémination de SXT sera évaluée sur les eaux du bassin et le poisson par PCR quantitative, où tout transfert conjugatif se manifestera par une augmentation du rapport SXT/donneuse.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : LCPME, UMR7564 CNRS-Université de Lorraine - Vandoeuvre lès Nancy

Responsable de l'équipe : M. Christophe Merlin

Equipe 2 : Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Ploufragan

Responsable de l'équipe : Mme Sandrine Baron

Equipe 3 : ANSES, Unité Pathologies Virales des Poissons - Plouzané

Responsable de l'équipe : M. Thierry Morin

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 163 234 € TTC

Résumé AviSan - 2018_1_257

Responsable scientifique : Mme Lynda Bensefa-Colas

Organisme : Hôpital Hôtel Dieu-APHP, Consultation de Pathologies Professionnelles et environnementale - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evènements feux/fumées lors des vols aériens : conséquences sur la qualité de l'air à l'intérieur des cabines d'avions et sur la santé des personnels navigants d'une flotte aérienne française.

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Etudes des impacts des expositions à des risques chimiques en milieu de travail notamment les impacts des multi-expositions ou des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...)

CoEm 1 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition

AIRR 1.1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air : sur des lieux peu étudiés (commerces, bureaux, moyens de transport)

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet se propose d'étudier les expositions professionnelles à l'intérieur des cabines d'avions en lien avec des évènements accidentels aigus, appelés évènements feux/fumées (EFF) ou fume events. Il vise à :

1. documenter et quantifier dans l'air des cabines d'avions les concentrations en polluants chimiques susceptibles d'entraîner des effets neurotoxiques immédiats et différés (additifs organophosphorés des huiles), en présence et en absence d'EFF rapportés par les équipages

2. identifier les déterminants de ces concentrations liés aux modalités de vols et d'exercice des professionnels

3. comparer la symptomatologie et les performances cognitives de personnels navigants, selon leur exposition ou non à des EFF

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Cette recherche épidémiologique vise, à l'aide de mesurages conduits sur la totalité de la flotte aérienne française, à documenter l'exposition professionnelle d'origine accidentelle (EFF) aux polluants chimiques dans des cabines d'avions, en particulier aux additifs organophosphorés des huiles potentiellement présents dans ces circonstances et à étudier l'impact sanitaire de ces évènements. Alors que près de 97 millions de passagers aériens par an circulent dans les aéroports parisiens, la problématique de la qualité de l'air des cabines d'avion est une question émergente non encore traitée en France. Du fait de ces EFF, cette pollution pourrait impacter la santé des personnels navigants mais aussi des passagers sans que les données scientifiques ne puissent à ce jour établir un lien entre qualité de l'air dans cet environnement et effets sur la santé. La caractérisation et la quantification précises de ces effets supposent une évaluation fiable de l'exposition, rendue possible dans ce projet par des prélèvements instantanés lors des EFF, grâce à des dispositifs portatifs pré-positionnés adaptés aux conditions particulières des cabines d'avion.

Argumentation du choix des questions

Cette recherche vise à étudier la qualité de l'air à l'intérieur des cabines d'avions lors des vols commerciaux, milieu clos soumis à de nombreuses émissions internes et nécessitant un apport d'air important, souvent pris sur les moteurs de l'appareil. Cet air peut potentiellement contenir des substances liées à ces moteurs comme le tri-ortho-crésyl-phosphate (ToCP), substance neurotoxique organophosphorée et d'autres (tributylphosphate, tri-crésyl-phosphate). Le mesurage « exhaustif » sur deux ans de la qualité de l'air associée à tous les EFF incidents sur l'ensemble de la flotte d'une compagnie aérienne est une force indéniable, permettant de déterminer la fréquence réelle de ces incidents.

Des manifestations très diverses (du simple inconfort jusqu'à des effets neurologiques graves) ont surtout été signalés par les équipages et spontanément mis en relation avec des EFF, sans que leur lien avec la pollution chimique ne soit cependant établi. En effet, les campagnes de mesures les plus récentes n'ont pas réussi à identifier une signature chimique claire afférente à ces incidents. L'enregistrement instantané des expositions, en lien et indépendamment d'un EFF, le couplage des enregistrements avec la mesure de l'état de santé court et moyen terme des sujets concernés, offrent l'opportunité rare d'étudier l'impact sanitaire à court et moyen terme de cette exposition professionnelle. Et par extrapolation, l'impact sur les passagers.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet comportera une double approche d'expologie et d'épidémiologie, en milieu professionnel auprès d'équipages (personnels navigants et pilotes) de la totalité de la flotte d'une compagnie aérienne française, avec sur 2 ans : 1. un mesurage atmosphérique, sur un court pas de temps (1 h environ), des additifs organophosphorés des huiles, à l'aide d'un appareil portatif développé pour ce type d'évènement :- pendant tout EFF observé en vol ; - systématiquement sur un vol comparable en dehors de tout EFF. Parallèlement, seront aussi relevées les conditions de travail pouvant expliquer certains effets sanitaires rapportés par cette population (horaires décalés, stress, conditions d'ambiance...). 2. une étude sanitaire incluant systématiquement tous les membres de l'équipage dont le vol a fait l'objet d'une campagne de mesurages en lien (exposés) ou indépendamment (non-exposés) d'un EFF et qui bénéficieront dans la semaine et à six mois : i) d'un recueil de la morbidité ressentie ; ii) d'un bilan médical standardisé réalisé par les services de santé au travail de la compagnie, comportant : recherche d'effets sur le système nerveux et évaluation des performances cognitives à l'aide de tests psychométriques validés.

Le nombre annuel d'appareils concernés par un EFF est estimé par la compagnie à 50, impliquant 450 sujets exposés par an. Ainsi, sur deux ans de campagne seront réalisés au total 200 mesurages (pour moitié liés à un EFF) et 1800 bilans médicaux (2*450 chez les exposés, 2*450 chez les non-exposés) à T0 et à T6mois. Les analyses statistiques descriptives et étiologiques permettront d'objectiver l'existence ou non de troubles de santé liés à la survenue d'un EFF.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Hôpital Hôtel Dieu –APHP, Consultation de Pathologies Professionnelles et environnementale - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Lynda Bensefa-Colas

Equipe 2 : BCRM, BN/LASEM/LCA - Toulon

Responsable de l'équipe : M. Jean Ulrich Mullot

Equipe 3 : Air France, DP.ZM - Roissy Charles De Gaulle

Responsable de l'équipe : M. Michel Klerlein

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 680 € TTC

Résumé BETA - 2018_1_239

Responsable scientifique : Mme Francesca Romana Mancini

Organisme : Inserm, Gustave Roussy, U1018 "Health across Generations"- Villejuif

1. Titre

Projet complet

36 mois

Biomarqueurs associés à l'exposition aux perturbateurs Endocriniens: une Approche Transgénérationnelle.

2. Questions à la recherche

ACHIM 4 - Étude des effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses des agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) ou perturbateurs endocriniens et/ou en cumuls d'exposition

3. Résumé

Objectif détaillé

The project has 4 objectives:

1 To determine Perfluorinated alkylated substances (PFAS) circulating levels in 2 generations of not professionally exposed French women and compare PFAS levels in women in two time periods (1995-2019).

2 To estimate the fractions of exposure attributable to different sources and the impact of several behaviors on PFAS circulating levels.

3 To investigate the association between PFAS serum levels and biological indicators of the organism's response to the exposure such as early biomarkers of reproductive or metabolic effect, indicating sub-clinical changes.

4 To investigate PFAS possible multigenerational effect by estimating the correlation between the mother's and daughter's circulating levels, as well as the association between the mother's levels and the daughter's biomarkers of effect.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

E4N cohort, unique multigenerational cohort in France and one of the few in Europe, represents the ideal setting to 1) monitor the evolution of PFAS exposure over 25-years in France and 2) investigate PFAS possible transgenerational effect that has been hypothesized but yet unstudied.

The availability of blood samples for measuring circulating levels of PFAS together with data concerning lifestyle, diet, working and residential history, as well as morphometric characteristics, reproductive and medical history, will allow to: 3) examine the impact of multiple behaviors on PFAS circulating levels and 4) quantify the contribution of each source on the overall exposure.

Measuring the levels of multiple early biomarkers of reproductive or metabolic effect will allow us to 5) detect early changes potentially induced by PFAS, thus 6) identify biological pathways through which PFAS affect human organism so to better direct future research.

Argumentation du choix des questions

PFAS are family of endocrine disruptors (EDs) for which the long-term health effects are uncharacterized. PFAS are suspected to affect organisms via several pathways also at low internal dose normally detected in the general population. Animal studies suggest that EDs are linked to intergenerational transmission of reproductive or metabolic phenotypes, which may lead to pathological conditions.

We will monitor PFAS internal levels of a general sub-population over time; identify main sources of exposure and behaviors that have an impact on the internal levels of exposure. Biomarkers of effect will be identified to understand the pathways through which PFAS affect women. Finally PFAS transgenerational effects will be studied in a human population real life conditions. In conclusion, this project represents the perfect setting to study the effects on human, in particular women, of low doses of a large group of EDs: the PFAS.

Description des méthodes mises en œuvre

This study will be conducted in the E4N cohort (Etude Epidémiologique des Enfants de femmes de l'Education Nationale) which includes:

- The E3N cohort (Etude Epide´miologique aupre`s de femmes de l'Education Nationale) involving 98995 middle aged French women enrolled 1990 which have answered questionnaires every 2-3 years thereafter, allowing the collection of a large amount of information concerning multiple aspect of life. Between 1994 and 1999 approximately 25000 E3N women donated blood samples.

- The E4N project is expanding the E3N cohort into a family cohort by recruiting the E3N women's family members. E4N will bring together 3 generations: E3N women and their children's fathers (E4N-G1), their children (E4N-G2), and their grandchildren (E4N-G3). Recruitment began in 2014 with the inclusion of 20000 G1 men, and by the beginning of 2018 50000 G2 men and women will be recruited.

The project will last 6 semesters and will be divided in 4 work packages (WP):

WP1 selection and recruitment of the 400 G2 daughters (sem.1).

WP2 collection of blood samples and measurement of PFAS levels for 400 G2 daughters and 400 G1 mothers (for which blood samples are already available) (sem.2); measurements of biomarkers of reproductive or metabolic effect (PTH, TSH, estradiol, testosterone, SHBG, glycaemia, peptideC, triglycerides, cholesterol) (sem.2).

WP3 statistical analysis: to describe and compare the PFAS levels in G1 and G2 (sem.3); to estimate the impact of different variables on the internal levels (sem.3); to investigate the association between PFAS circulating levels and reproductive or metabolic biomarkers (sem.4); to investigate the transgenerational effect of the PFAS (sem.5).

WP4 publications and results' dissemination (sem.4, 5, 6).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm, Gustave Roussy, U1018 "Health across Generations" - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Francesca Romana Mancini

Equipe 2 : ONIRIS, LABERCA - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Jean-Philippe Antignac

Equipe 3 : Imperial college London, Grande-Bretagne

Responsable de l'équipe : M. Paolo Vineis

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 198 796 € TTC

Résumé Candyfrog - 2018_1_096

Responsable scientifique : M. Stéphane Reynaud

Organisme : Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553 - Grenoble

1. Titre

Projet complet

24 mois

Validation d'un modèle amphibien pour l'étude des effets métaboliques transgénérationnels des perturbateurs endocriniens

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Les objectifs du projet CandyFrog sont d'établir un modèle amphibien pour l'étude des effets métaboliques (diabète...) des perturbateurs endocriniens (PE) présents dans l'environnement et leurs conséquences sur la descendance non exposée.

Plus précisément, ce projet vise à :

- 1) Comprendre les modes d'action moléculaires périphériques et centraux de PE, entraînant les désordres métaboliques
- 2) Étudier les effets transgénérationnels (F2) d'une exposition à des perturbateurs métaboliques seuls ou en mélange.
- 3) Développer un modèle permettant de mettre en évidence de nouveaux PE à action métabolique

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Des études épidémiologiques récentes ont souligné que les PE sont probablement impliqués dans une part importante des maladies métaboliques. Une étude récente de l'équipe du coordinateur a démontré que deux molécules chimiques, le benzo[a]pyrène (BaP) et le triclosan (TCS), sont capables d'induire d'importants désordres métaboliques chez un modèle amphibien (*Xénope tropicalis*) caractérisés par un phénotype d'insulino-résistance-like et une hépatotoxicité due à la perturbation du métabolisme lipidique (Regnault et al. 2014, 2016). Ces résultats, bien que démontrant la capacité d'un modèle amphibien à révéler le même type de désordres métaboliques que ceux suspectés dans les études épidémiologiques, ont été obtenus avec des concentrations relativement élevées de polluants.

Dans le but de mettre en évidence les effets des PE à des concentrations compatibles d'un point de vue environnemental, des xénopes *tropicalis* (F0) ont été exposés durant tout leur cycle de développement (de l'œuf à l'adulte) à des concentrations faibles (0,05 µg/L) des deux PE, seuls ou en mélange (Benzo[a]pyrène et Triclosan). Nos résultats de l'étude des foies des animaux de la génération F0, démontrent que les PE à ces concentrations induisent les mêmes désordres métaboliques que ceux observés à court terme avec de plus fortes concentrations et que les voies métaboliques activées sont identiques (Regnault et al., in prep). Nous avons pu, grâce aux voies métaboliques activées, identifier des biomarqueurs hépatiques spécifiques de l'exposition à ces perturbateurs métaboliques.

Une des questions restant à élucider est posée par le rôle primordial du control central du métabolisme. Nous souhaitons donc étudier par une approche NGS, les échantillons de cerveau de la F0. De plus, afin de déterminer si les biomarqueurs hépatiques mis en évidence sur cette même

génération parentale peuvent prédire des désordres métaboliques transgénérationnels nous souhaitons étudier les fonctions métaboliques (eg test de tolérance au glucose) ainsi que, par approches transcriptomiques et épigénomiques, les cerveaux et foies de la descendance des individus exposés sur deux générations. En effet, contrairement au modèle mammifère, l'étude de la génération F2 suffit chez les amphibiens pour appréhender les processus épigénétiques

Argumentation du choix des questions

Aucun modèle animal intégré n'existe pour mettre en évidence des PE à action métaboliques aux concentrations auxquelles ils sont présents dans les écosystèmes et notamment l'eau. Les preuves de l'implication des PE dans les maladies métaboliques et notamment le diabète de type 2 sont très insuffisantes.

Les mécanismes moléculaires périphériques et centraux des PE à actions métaboliques sont très largement méconnus et a fortiori pour l'exposition à des cocktails de contaminants. .

Il n'existe pas aujourd'hui de biomarqueur spécifique permettant d'identifier les PE à action métabolique présents dans les écosystèmes.

Très peu d'études ont cherché à mettre en évidence des biomarqueurs pouvant prédire les effets métaboliques transgénérationnels des PE.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous avons choisi deux perturbateurs endocriniens pour valider notre modèle : le triclosan (log P : 4.8), un antimicrobien utilisés dans les produits d'hygiène et le benzo-[a]-pyrène (log P : 6), un hydrocarbure aromatique polycyclique. Les amphibiens ont déjà été exposés du stade œuf à adulte mature (10 mois) à des concentrations environnementales de BaP et TCS seuls ou en mélange de 0,05 µg/L. Ces xénopes ont déjà été accouplés, ainsi que la génération F1 non exposée. Nous avons actuellement au laboratoire la génération F2 non exposée au stade pré-métamorphe.

Tâche 1 : Etude du transcriptome cérébral sur la génération F0 (mois 1-6). L'analyse du transcriptome sera réalisée par mRNA sequencing sur 4 mâles et 4 femelles conservés à -80°C.

Tâche 2 : Étude des désordres métaboliques sur la génération F2 (mois 6-12). Les désordres métaboliques seront évalués au travers de tests de tolérance au glucose et de résistance à l'insuline, des perturbations histologiques du foie (stéatose, fibrose, inflammation) et du pancréas (sécrétion d'insuline mesurée par immunohistochimie).

Tâche 3 : Étude des transcriptomes hépatique et cérébral sur la génération F2 (mois 12-18). L'analyse des transcriptomes sera réalisée par mRNA sequencing sur 4 mâles et 4 femelles pris au hasard pour chaque exposition parentale. Cette technique nous permettra de mettre en évidence certains biomarqueurs que nous comparerons avec ceux déjà mis en évidence chez les parents exposés.

Tâche 4 : Étude des modifications épigénétiques hépatiques et cérébrales sur la génération F2 (mois 18-24). Les profils de méthylation des ADN seront évalués par immunoprécipitation de l'ADN méthylé couplé au séquençage massif (MeDIP-seq) afin de mettre évidence les effets transgénérationnels de l'exposition parentale et les gènes potentiellement régulés par ces modifications.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553 - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Stéphane Reynaud

Equipe 2 : UMR7221CNRS/USM501 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean-Baptiste Fini

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 115 690 € TTC

Résumé CYCCAR - 2018_1_007

Responsable scientifique : Mme Florence Gazeau

Organisme : Université Paris Diderot, Laboratoire Matière et Systèmes Complexes - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Cycle de vie de nanotubes de carbone et du graphène chez l'humain: rôle de la sequestration lysosomale

2. Questions à la recherche

NANO 3 - Ecotoxicologie et toxicologie des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études

NANO 4 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants

3. Résumé

Objectif détaillé

The human body is increasingly exposed to nanoscale materials, including carbon-based nanoparticles (CNPs) that are widely developed for industrial use. A recent study pointed out the presence of multi-walled carbon nanotubes (CNTs) in the airways of asthmatic Parisian Children, identified by transmission electron

microscopy into macrophages of broncho-alveolar lavage-fluids (Kolosnjaj et al, EBioMedicine, 2015). Similar structures were found in vehicle exhaust and dust collection, suggesting that humans can be routinely exposed to airborne CNT materials. Based on potential asbestos-like pathogenicity, the long term fate of carbon materials and anisotropic nanostructures, such as CNTs (1D) and graphene (2D) raises specific concerns related to their architecture. To date, their biodegradability and toxicity are still a subject of debate (Kagan VE et al, Nat Nanotechnol, 2010; Sato, Y., et al., Sci Rep, 2013; Bussy C et al, Part Fibre Toxicol.2013; Sureshbabu, A. R et al, Biomaterials 2015 ; Modugno, G. et al, Carbon 2016). Thanks to the methodological breakthrough of in situ electron microscopy in liquids, we recently identified a biological pathway for CNT degradation within lysosomal compartments of macrophages (Elgrabli et al, ACS Nano, 2015). However comparative and long term studies of CNP lifecycle in vivo are lacking. A growing body of studies suggests that biopersistent CNPs can impact the endolysosomal and autophagic pathways (Stern et al, Part Fibre Toxicol 2012). Indeed, CNPs converge to the lysosome after cellular uptake, in an attempt to degrade what the cell perceives as foreign or aberrant (Song et al, ACS Nano 2014). Accumulation of biopersistent NPs in lysosomal compartments may induce enzyme inhibition and blockade of autophagy flux, due to NP overload and disruption of autophagosome-lysosome fusion (Wan et al, Toxicol Lett 2013). Therefore it can be hypothesized that NPs could interfere with lysosome-associated disorders, via autophagy dysfunction and could even be involved in their etiology due to chronic toxicity and default in protein degradation. To date, the precise implications of NP long-term sequestration on lysosomal functions are not understood and, conversely, the way NPs can be processed and degraded by endolysosomal pathways remains unclear. CYCCAR project will explore the interplay of the lysosome/autophagy pathway with CNP cellular uptake to address three major issues: (i) lysosomal adaptation to CNPs sequestration and biopersistence, (ii) mechanisms of long term degradation of CNPs in lysosomal compartments, (iii) potential interactions of CNPs with the genesis and/or severity of lysosome- and autophagy-associated diseases.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Our project aims at establishing the link between the long term structural and morphological transformations of 1D and 2D CNPs (CNTs and graphene) observed at the nanoscale within intracellular compartments and the biological outcomes at the cellular level by focusing on lysosome/autophagy pathways. We will develop cutting-edge approaches in nanophysics, nanotechnology and cell biology to unravel the emerging issue of lysosomal stress due to CNP accumulation. It addresses highly relevant and timely biological and nanotoxicology issues which may highlight the implications of CNPs in the genesis or aggravation of cell dysfunction and lysosomal/autophagy disorders.

Argumentation du choix des questions

NANO 3

Biological processes involved in the accumulation/degradation of CNPs, e.g. lysosomal sensing and autophagy, will be unraveled using molecular, cellular and biophysical techniques in normal and pathological cellular/mice models. New methodologies to assess lysosomal stress related to CNP biodegradation will be developed.

NANO 4

The project focuses on the long term fate of CNPs in the organism by developing advanced electron microscopy techniques (high resolution, in situ TEM, STEM-HAADF and EDX) and Raman microscopy to identify morphological evolution, aging and degradation of CNPs within intracellular compartments in cells and organs of accumulation at long term. Physical characterization will be coupled to advanced cell biology to assess lysosomal stress.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1(0-6 M) Preparation/characterization of 1D/2D CNPs with different sizes and fonctionnalization (P4)

WP2 (6-12 M) Addressing the comparative impact of CNP exposure on the lysosome-autophagy pathways in cells in vitro (pulmonary macrophages)

WP3 (6-24 M) Addressing the lysosomal degradation and long-term fate of CNPs in mouse models after lung exposure (broncho-alveolar lavage)

WP3 (12-36 M) Mechanistic study of lysosomal sensing, processing and degradation of CNPs.

Techniques: Exfoliation of graphite, Fonctionnalization of CNPs, Characterization (TEM, SEM, Raman, XPS, TGA), advanced electron microscopy (high resolution, correlative, in situ, spectroscopy), cell and molecular biology for identification of the lysosomal/autophagy responses, Imaging flow cytometry and confocal microscopy, Raman mapping, Lung exposure to CNPs in mice model, analysis of bronchoalveolar lavage and histology, analysis of gene expression, ultrastructural characterizations.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Diderot, Laboratoire Matière et Systèmes Complexes - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Florence Gazeau

Equipe 2 : Université Paris Diderot, Laboratoire matériaux et phénomènes quantiques, UMR CNRS

Responsable de l'équipe : M. Damien Alloyeau

Equipe 3 : CNRS UMR8250 Université Paris Descartes

Responsable de l'équipe : M. Bruno Gasnier

Equipe 4 : Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UPR9201 ICT - Strasbourg

Responsable de l'équipe : M. Alberto Bianco

Equipe 5 : Université Paris Sud 11, UMR CNRS 8612 - Châtenay-Malabry

Responsable de l'équipe : M. Elias Fattal

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 680 € TTC

Résumé *DENSOTOOL* - 2018_1_183

Responsable scientifique : M. Christophe Boete

Organisme : ISEM, Université de Montpellier, CNRS, IRD, EPHE, UMR 5554

1. Titre

Projet complet

36 mois

INTERACTIONS MOUSTIQUES/DENSOVIRUS/ENVIRONNEMENT: DES POPULATIONS NATURELLES AUX OUTILS DE LUTTE ANTI-VECTORIELLE

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Lutte anti-vectorielle et stratégies plus ciblées et plus durables : identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents, méthodes et intérêt d'une lutte par biocides alternatifs, gestion des résistances, lutte biologique, lutte génétique, lutte communautaire, identification et élaboration d'indicateurs d'efficacité des méthodes de lutte et d'impact sur les organismes non-cibles

3. Résumé

Objectif détaillé

L'utilisation des pesticides de synthèse reste largement répandue en lutte anti-vectorielle (LAV). Il existe toutefois un intérêt croissant pour les outils biologiques durables, respectueux de l'environnement et efficaces dans le contrôle des moustiques: les agents entomopathogènes. Parmi eux, les densovirus (des virus à ADN infectant naturellement les moustiques, parfois avec de fortes prévalences) sont considérés avec intérêt soit pour leur pouvoir pathogène soit en tant que vecteurs de gènes (paratransgénèse).

L'objectif du projet DENSOTOOL est de mieux comprendre les interactions entre les densovirus (DV) et les moustiques dans les populations naturelles en vue de leur utilisation en LAV.

Par une approche multidisciplinaire, nous évaluerons les paramètres écologiques et génétiques qui influencent les interactions moustique/DV, que ces derniers soient présents naturellement dans l'écosystème ou qu'ils soient introduits comme biopesticides.

Ainsi notre projet s'attachera à (1) mesurer la variation génétique des DV dans les populations naturelles d'*Aedes albopictus* collectés sur un gradient altitudinal sur l'île de La Réunion et (2) évaluer les effets de la température et de la résistance aux insecticides sur les interactions moustique/DV.

Prendre en compte les effets des facteurs environnementaux (altitude et température) et génétiques sur les interactions moustique/DV permettra de mieux comprendre la dynamique des processus infectieux et in fine leur impact sur l'efficacité des DV en tant que biopesticides.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

De nombreux travaux se sont penchés sur l'influence de la variabilité ou de la fluctuation des conditions de l'environnement sur la transmission des maladies vectorielles. Peu d'entre eux concernent leur effet sur les interactions entre moustiques et pathogènes spécifiques d'insectes, qu'ils soient présents naturellement dans l'environnement ou introduits comme biopesticides. Or il est essentiel de comprendre les réponses écologiques et évolutives des moustiques et de leurs pathogènes aux modifications de l'environnement afin de prévoir l'impact du changement climatique sur ces interactions, mais aussi d'évaluer l'efficacité et la faisabilité des méthodes de lutte biologique.

Nous nous appuierons sur l'étude des populations naturelles d'*Ae. albopictus* des parties Est (humide et plus arrosée) et Ouest (sèche et peu arrosée) de La Réunion selon un gradient altitudinal. Les différentes altitudes et les variations climatiques (température, hygrométrie) permettront de mimer les effets du changement climatique sur les relations hôte-parasite.

Argumentation du choix des questions

L'utilisation de nouveaux outils en LAV requière une bonne appréhension de la complexité de l'écologie des systèmes vectoriels. Il est donc essentiel de comprendre l'impact des facteurs environnementaux (biotiques et abiotiques) sur les populations de vecteurs et leurs interactions avec des pathogènes susceptibles d'être utilisés en LAV. C'est le but de ce projet à travers lequel nous allons répondre aux questions suivantes:

Quel est l'impact de l'environnement sur la prévalence et la diversité génétique des DV dans les populations naturelles d'*Aedes albopictus* ?

A partir d'échantillons de moustiques collectés sur un gradient altitudinal de 1000m dans les parties Est et Ouest de La Réunion, nous allons mesurer la prévalence et la diversité génétique des DV en populations naturelles. Ce volet de notre projet permettra de mieux comprendre les interactions moustiques/virus/environnement, dans un contexte variable.

Quel est l'influence de la température sur les interactions moustique/DV?

En mesurant l'impact de la température sur les interactions moustique/DV, notre objectif est ici comprendre comment les facteurs climatiques influencent le processus infectieux et sa cinétique et ainsi l'efficacité des DV en tant que biopesticides.

Quel est l'impact de la résistance aux insecticides sur les interactions moustique/DV?

L'intérêt renouvelé dans l'utilisation des DV intervient dans un contexte de résistance croissante aux insecticides chez les vecteurs. Il est alors essentiel de mesurer tout lien éventuel entre résistance aux insecticides et susceptibilité à l'infection par les DV en populations naturelles afin de gérer les résistances mais aussi d'évaluer l'intérêt des DV sur des populations de vecteurs résistantes.

Description des méthodes mises en œuvre

Année 1:

Collectes de moustiques à La Réunion (gradient altitudinal Est et Ouest). Etablissement de lignées de moustiques 'gradient' (bas/intermédiaire/haut) provenant des différentes populations (le choix Est / Ouest sera fonction des données préliminaires): 3 lignées sensibles et 3 lignées résistantes aux insecticides par groupe d'altitude. (Les données préliminaires montrent la présence de moustiques sensibles et résistants pour ces trois altitudes)

Année 2:

Mesure de la prévalence (la méthode de PCR quantitative sera mise au point par PIMIT) et de la diversité génétique des DV dans les populations d'*Ae. albopictus* (les marqueurs seront mis au point à l'ISEM).

Mesure de la résistance aux insecticides dans les populations de moustiques (tests diagnostic maîtrisés par PIMIT et l'ISEM).

Infection des lignées 'gradient' par différentes souches de DV (isolées ou synthétisées): mesure des interactions génétiques moustique/DV - mesure de l'influence de la résistance aux insecticides sur l'interaction moustique/DV.

Année 3:

Mesure de l'influence de la température sur le succès et la cinétique de l'infection par DV chez le moustique en utilisant 1) des lignées cellulaires de moustiques (C6/36 ou Aag2) et 2) des larves d'*Ae. albopictus* des lignées 'gradient'.

Rédaction d'articles.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : ISEM, Université de Montpellier, CNRS, IRD, EPHE, UMR 5554

Responsable de l'équipe : M. Christophe Boete

Equipe 2 : Université Lyon 1, CNRS UMR 5557 Ecologie Microbienne - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Patrick Mavingui

Equipe 3 : Inra, UMR DGIMI - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Mylene Ogliastro

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 149 999 € TTC

Résumé DIPP-Suf - 2018_1_250

Responsable scientifique : M. Jean-François Bardeau

Organisme : Institut des Molécules et Matériaux du Mans Faculté des Sciences - Université du Mans

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Surfaces nanostructurées pour la détection localisée et l'identification quantitative de polluants et pesticides

2. Questions à la recherche

PHYTO 1.1 - Améliorer la caractérisation de l'exposition des utilisateurs professionnels (expositions directes et indirectes) et des résidents proches des zones traitées, en apportant des connaissances sur les niveaux d'exposition et les déterminants des expositions

PHYTO 1.3 - Développer des méthodes et des outils de mesures de l'exposition aux substances phytopharmaceutiques chez l'homme, notamment en prenant en compte les multi-expositions et/ou les fenêtres d'exposition pertinentes

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Détecter des molécules d'intérêt dans des solutions extrêmement diluées, pour des applications de contrôles environnementales ou sanitaires (polluants, pesticides), constitue une problématique majeure relevée par la directive européenne sur l'eau. Parmi toutes les méthodes de détection, l'identification de molécules par analyses spectrales utilisant la diffusion Raman exaltée de surface (DRES ou SERS en anglais pour Surface-Enhanced Raman Scattering) grâce à des supports métalliques nanostructurés est l'une des voies les plus prometteuses. Nous proposons de développer une méthode d'analyse innovante basée sur l'utilisation couplée de supports spécifiques DRES et d'une analyse chimométrique robuste permettant la détection et l'identification quantitative de multi-résidus dans des solutions extrêmement diluées. Ces travaux devraient permettre de proposer des solutions optimisées (surface-traitement analytique) pour des analyses sur le terrain via des équipements portables.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Nous avons développé au sein de l'équipe PIMS (Physique des Interfaces et des MésoStructures, IMMM) une nouvelle méthodologie pour fabriquer des supports métalliques nanostructurés basée sur un principe de lithographie douce en utilisant un microscope à force atomique comme outil de nanostructuration. Cette méthode originale et peu coûteuse, autorisant le contrôle fin des formes et des espacements à l'échelle nanométrique a reçu le soutien de la SATT-OUEST Valorisation avant d'être breveté fin 2014. L'atout majeur de notre méthode de fabrication réside dans la possibilité de lithographier différentes architectures métalliques nanométriques sur un même substrat, ce qui présente actuellement un avantage discriminant par rapport aux substrats commerciaux pour réaliser des supports DRES efficaces à différentes longueurs d'onde. Les résultats obtenus avec des solutions diluées à 10^{-6} M de benzénethiol et de cristal violet (molécules modèles) ont démontré les propriétés DRES de nos supports. Les imageries Raman réalisées à plusieurs semaines d'intervalle ont permis de vérifier la stabilité dans le temps de nos surfaces sous irradiation et la conservation des facteurs d'exaltation sur l'ensemble des zones structurées.

Argumentation du choix des questions

Une prise de conscience récente de la menace écologique, environnementale et sanitaire, que peut entraîner la persistance des pesticides ou multirésidus notamment dans les sols et les eaux, est en train de changer les comportements individuels. La protection des consommateurs constitue un nouvel enjeu majeur de santé publique et les réglementations nationales et européennes (Directive du conseil de l'Union Européenne 91/414/CE) qui encadrent l'utilisation des produits phytosanitaires et qui fixent les limites maximales de résidus (LMR) de pesticides de plus en plus faibles obligent les laboratoires d'analyse à s'intéresser à des techniques analytiques innovantes pour détecter ces polluants. C'est dans ce cadre, que l'équipe PIMS (Physique des Interfaces et des MésoStructures) a développé des supports spécifiques pour la détection de molécule sous forme de trace. Ce projet vise donc à optimiser des supports DRES et des méthodes analytiques basées sur une approche chimiométrique (enveloppe Soleau déposée en décembre 2017) afin de proposer à terme des analyses sur le terrain (plus rapides et moins coûteuses) à partir d'un spectromètre Raman portable.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous proposons d'élaborer des surfaces métalliques (or, argent) nanostructurées afin de détecter, identifier et quantifier des espèces moléculaires en très faible concentration au sein de mélanges complexes. La première étape va consister à développer un support optimisé pour la détection des produits d'intérêt et nous mettrons ensuite au point une méthodologie d'analyse chimiométrique des données spectrales (cartographies Raman obtenues sur plusieurs structures et plusieurs longueurs d'onde incidentes) dite de « soft-modelling » permettant sans a priori sur le système chimique / biologique étudié (1) d'estimer le nombre d'espèces pures présentes dans le mélange complexe, (2) d'extraire l'ensemble des spectres d'espèces pures nécessaires à l'identification moléculaire et (3) d'estimer la concentration de chacune d'entre elles. La première année, notre principal objectif sera de valider ce concept d'analyse quantitative sur des solutions contenant des molécules modèles. Après validation de la méthode, nos travaux seront focalisés sur la détection simultanée de plusieurs polluants sur un même capteur. Nous envisageons de commencer par deux pesticides habituellement retrouvés dans les eaux (parmi l'atrazine, l'acétochlore et l'isoproturon) et deux polluants émergents (parmi le dichlorofénac, 17- β -estradiol), 17- α éthinyloestradiol). Nos travaux s'attacheront à vérifier la reproductibilité, la linéarité et la limite de détection pour des solutions diluées à plusieurs composants.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut des Molécules et Matériaux du Mans Faculté des Sciences - Université du Mans

Responsable de l'équipe : M. Jean-François Bardeau

Equipe 2 : Université des sciences et technologie de Lille 1, LASIR CNRS UMR 8516 - Villeeneuve d'Ascq

Responsable de l'équipe : M. Ludovic Duponchel

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 254 € TTC

Résumé DuoTOX - 2018_1_280

Responsable scientifique : Mme Axelle Cadieré

Organisme : Université de Nîmes

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Système dual d'évaluation de la toxicité aiguë et chronique dans l'environnement

2. Questions à la recherche

ACHIM 6 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition chronique

3. Résumé

Objectif détaillé

La présence de micropolluants (pharmaceutiques, pesticides...) dans l'environnement est bien documentée. Seul ou en mélange, leur présence présente un risque pour les écosystèmes et pour l'homme.

Des tests utilisant des bactéries luminescentes ont été développés pour évaluer ce risque. La norme ISO11348 décrit 3 méthodes de détermination de l'inhibition de la luminescence émise par *V. fischeri*. Bien que très sensibles, ces méthodes présentent des limites. Tout d'abord, le temps d'exposition très court ne permet pas d'évaluer un effet à long terme. De plus, les bactéries possèdent des systèmes cellulaires qui ne répondent pas aux facteurs environnementaux comme les eucaryotes. Et enfin, ces bactéries lyophilisées présentent des contraintes d'utilisation. Une alternative est l'utilisation de levures modifiées. L'utilisation de ces dernières a été déjà décrite (i) pour permettre la surveillance spécifique des produits chimiques présentant un pouvoir oestrogéniques (Routledge et al. 1996) ou (ii) pour détecter l'effet génotoxique de certains de stress chimiques (Suzuki et al. 2017). Cette dernière étude a montré l'intérêt de l'utilisation de la luminescence comme outil de mesure.

Le projet DuoTox (étude de faisabilité) a pour but de proposer un outil (une levure exprimant le gène de la luciférase sous le contrôle du promoteur du gène STB5) permettant d'étudier la toxicité globale d'un échantillon environnemental. Le test permettra à la fois de mesurer une toxicité aiguë (en quelques heures) dans le cadre de diagnostics de routine mais également d'évaluer la toxicité à long terme en utilisant le mode de culture continue (mode de culture qui permet de maintenir les levures en phase de croissance).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

La principale originalité du projet réside dans l'utilisation d'un dispositif DUAL pour l'évaluation de la toxicité aiguë ou chronique d'un échantillon. Dans ce projet, le modèle levurien est privilégié car il est facilement manipulable, les modifications génétiques sont intégrées de façon stable dans le génome et il s'agit d'un modèle eucaryote. De plus, les levures peuvent être conservées à température ambiante après séchage et utilisées rapidement après réhydratation, ceci constitue un réel avantage pour le développement d'un biocapteur utilisable sur site. L'une des originalités du projet, repose sur la construction génétique choisie. En effet, le gène de la luciférase est placé sous le contrôle du promoteur du gène STB5. Ce gène code pour un facteur de transcription de la famille des protéines à doigts de zinc (C6) impliqué dans le contrôle de nombreuses voies métaboliques en réponse aux stress. Son niveau d'expression varie en fonction de l'intensité et du type de stress. Par exemple, en réponse à un stress oxydatif, il induit l'expression des gènes de la voie des pentoses phosphate pour stimuler la production

de NADPH. Stb5p est également impliqué dans la réponse à l'exposition à des médicaments en activant la transcription de gènes codant pour des pompes à l'efflux de médicaments.

De plus, Stb5p lie son propre promoteur et semble s'autoréguler. En réponse à un stress l'augmentation de son niveau d'expression conduira à l'augmentation de la luminescence.

La deuxième originalité majeure du projet réside dans l'utilisation du mode de culture en continu. En effet, si le dispositif précédemment décrit peut être utilisé pour détecter la toxicité aiguë d'un échantillon, la culture en continu permettra d'évaluer la toxicité chronique. Les levures modifiées seront cultivées durant de très nombreuses générations et maintenues en phase exponentielle de croissance grâce à l'ajout continu de milieu de culture et de l'échantillon à caractériser ce qui permettra d'évaluer une toxicité chronique.

Argumentation du choix des questions

La finalité du projet est de développer un modèle in vitro (levure modifiée et luminescente) pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition aiguë et chronique. Ce dernier point est rendu possible grâce à l'utilisation de 2 modes de culture (batch pour la toxicité aiguë et continue pour la toxicité chronique).

Description des méthodes mises en œuvre

1/Évaluation de la réponse à différents composés chimiques

Dans un premier temps, un suivi de la luminescence des levures modifiées (souche disponible) sera réalisé suite à l'ajout, en début de croissance, de micropolluants organiques dans le milieu de culture. La croissance et la luminescence seront suivies durant 6H (temps total de croissance d'une levure).

Les cultures seront réalisées en microplaques et une 50aine de micropolluants sera testée. La liste des molécules a été élaborée en fonction de leur prévalence dans l'environnement et de leur impact sanitaire suspecté (médicaments -béta-bloquants, anti-inflammatoires, antibiotique-, pesticides-glyphosate, organochlorés-). Des molécules contrôles induisant l'expression de STB5 seront également utilisées (diamide, cycloheximide).

Afin d'évaluer, la concentration minimale pour induire une luminescence différentes gammes, s'échelonnant des concentrations environnementales aux concentrations trouvées après une concentration par SPE seront réalisées. Pour chaque molécule un seuil de réponse sera défini.

2/ Exposition aiguë et chronique à des mélanges

Sur la base des résultats obtenus précédemment, des mélanges de micropolluants représentatifs de ceux retrouvés dans l'environnement seront réalisés. La toxicité de ces mélanges sera évaluée de manière aiguë (en batch) et de manière chronique (fermenteur en continu). L'évaluation de la chronicité sera réalisée sur une 100aine de générations et de manière complémentaire une analyse du transcriptome sera réalisée pour évaluer la réponse cellulaire au cours d'une exposition prolongée (prélèvements à 5, 25, 50 et 100 générations).

3/ Validation de l'outil sur des échantillons réels

Une 50aine d'échantillons environnementaux sera prélevé (en sortie de station d'épuration, en sortie d'hôpitaux). Pour chaque échantillon, la concentration en micropolluant sera déterminée par LCMS. La toxicité aiguë et chronique sera déterminée grâce à l'outil développé. Pour la toxicité aiguë, une comparaison avec le test microtox (*V. fischeri*) sera réalisée.

5/ Écriture des rapports et valorisation scientifique.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Nimes

Responsable de l'équipe : M. Benoit Roig

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 943 € TTC

Résumé EMBRYORAD - 2018_2 RF_025

Responsable scientifique : Mme Monica Guxens

Organisme : Barcelona Institute for Global Health – Barcelona, Espagne

1. Titre

Projet complet

36 mois

Radiofréquences, autres facteurs environnementaux, et développement de l'embryon et du fœtus

2. Questions à la recherche

RFES 2.2 - Études épidémiologiques⁹ sur les effets possibles des radiofréquences sur la santé, notamment : les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives, les rythmes circadiens et les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil liées aux radiofréquences. On s'intéressera particulièrement aux populations potentiellement les plus vulnérables aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes, femmes enceintes, sujets âgés) ou particulièrement exposées (travailleurs)

RFES 2.3 - Étude des effets des co-expositions aux RF se rapprochant des situations réelles d'exposition et permettant d'analyser l'effet combiné des RF et d'autres facteurs environnementaux (physiques ou chimiques) sur l'organisme

3. Résumé

Objectif détaillé

The EMBRYORAD project aims to evaluate: i) the association between radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) exposure and embryo and fetal development including the first trimester of pregnancy, and ii) its combined association with other urban environmental factors. Specific objectives are:

- 1) To characterize exposure to RF-EMF and other urban environmental factors at different stages of pregnancy
- 2) To characterize embryo and fetal development using ultrasound measurements at different stages of pregnancy
- 3) To assess the associations between RF-EMF exposure and embryo and fetal development at different stages of pregnancy
- 4) To assess the combined role of RF-EMF exposure and other urban environmental factors on the fetal development at different stages of pregnancy

To achieve these objectives we will use a new mother-child cohort set up in the Netherlands in which we will collect new detailed personal data on RF-EMF exposure and other environmental factors in 10,000 pregnant women, as well as detailed embryo and fetal development including the first trimester of pregnancy.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

There is public health concern on the potential effects of RF-EMF exposure and embryonic and fetal development. Animal studies showed mixed results while epidemiological research is scarce. The few previous epidemiological studies used limited or non-validated RF-EMF exposure assessment (e.g. mobile phone calls by the pregnant women, which represent a minimal RF-EMF exposure to the fetus) or global measures of fetal development at birth (e.g. weight, length, or prematurity), which do not allow the identification of critical windows of exposure during pregnancy. Moreover, several other urban environmental exposures such as air pollution or temperature have been related with fetal development but their potential interaction effects with RF-EMF exposure are unknown.

Original and novel aspects of the project are: i) the detailed dosimetry and exposure characterization of the embryo and the fetus at different stages of pregnancy, different fetal positions, and different maternal body morphologies; ii) the detailed, objective, and longitudinal characterization of the embryonic and fetal development, including innovative measurements of early embryonic growth and morphogenesis in the first trimester of pregnancy; and iii) the combined effects of exposure to RF-EMF and to other urban environmental factors. The EMBRYORAD project builds upon one of the unique studies with longitudinal data on RF-EMF exposure, other urban environmental factors, and embryonic and fetal development, which will allow the exploration of this association at reasonably low cost.

Argumentation du choix des questions

Pregnancy is a sensitive period for studying the health effects of RF-EMF exposure for 3 main reasons: i) the use of wireless communication devices has dramatically increased during the last years; ii) fetal development, and early embryonic growth in the first trimester of pregnancy in particular, is known as a very vulnerable period for environmental stressors; and iii) fetal programming has widespread consequences for later health. Priorities should be focused on a detailed characterization of RF-EMF exposure at different stages of pregnancy, relevant for embryonic and fetal development, as well as on understanding its combined effect with other urban environmental exposures. Studies should also include a highly reliable and accurate characterization of the embryonic and fetal development at different stages of pregnancy using objective measurements such as by 3D ultrasound imaging, studying not only growth but also morphogenesis.

Description des méthodes mises en œuvre

The EMBRYORAD project will use a new prospective population-based mother-child cohort, the Dutch GENERATION R Next Study (n=10,000). Pregnant women and their fetus are being examined at several time points during pregnancy, where detailed embryonic and fetal development measurements, uniquely starting from early pregnancy onwards, are being collected. As part of the EMBRYORAD project, we will include a detailed RF-EMF exposure characterization and an exhaustive exposure assessment of other relevant urban environmental factors.

The embryonic and fetal development assessment will include four 3D ultrasound scans using innovative virtual reality applications (three during the first trimester and one at the third trimester of pregnancy), which provide detailed and accurate information on early embryonic and fetal growth, development, and morphology, as well as a 2D ultrasound scan in the second trimester.

The RF-EMF exposure characterization will include: i) use of wireless communication devices (e.g. mobile phone, tablet, laptop) close to the embryo and the fetus; ii) exposure to residential outdoor and indoor stationary sources based on a geospatial radio wave propagation model (e.g. NISMap) and on data on cordless phone base stations and WiFi access points; and iii) application of an embryonic and fetal growth modeling tool including segmentation, 3D modeling, deformation, interpolation, and dosimetry simulation models to estimate the total RF-EMF power absorbed by the embryo and the fetus and the specific absorption rate (SAR) distributions for different embryonic and fetal structures at different stages of pregnancy, fetal positions, and maternal body morphologies.

The exposure assessment of other urban environmental factors will include: i) daily residential outdoor air pollution levels (nitrogen oxides, particle matter, composition of particle matter), ii) traffic, airport, railway, and industry outdoor noise exposure, iii) outdoor temperature, iv) outdoor light-at-night pollution, v) proximity to green and blue spaces, and vi) built environment characteristics.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Barcelona Institute for Global Health – Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Monica Guxens Junyent

Equipe 2 : Telecom ParisTech - Paris
Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 3 : Barcelona Institute for Global Health – Barcelona, Espagne
Responsable de l'équipe : Mme Monica Guxens

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 399 950 € TTC

Résumé EPIEXPEL-SouRes - 2018_2 RF_032

Responsable scientifique : M. Etienne Cassagne

Organisme : SEPIA-Santé - Baud

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Etude épidémiologique sur les effets de l'exposition professionnelle aux champs électromagnétiques en lien avec le soudage par résistance

2. Questions à la recherche

RFES 2.2 - Études épidémiologiques⁹ sur les effets possibles des radiofréquences sur la santé, notamment : les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives, les rythmes circadiens et les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil liées aux radiofréquences. On s'intéressera particulièrement aux populations potentiellement les plus vulnérables aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes, femmes enceintes, sujets âgés) ou particulièrement exposées (travailleurs)

RFES 2.3 - Étude des effets des co-expositions aux RF se rapprochant des situations réelles d'exposition et permettant d'analyser l'effet combiné des RF et d'autres facteurs environnementaux (physiques ou chimiques) sur l'organisme

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif principal est de réaliser la faisabilité d'une étude épidémiologique auprès de soudeurs (sur machines à souder par résistance), cherchant à évaluer, si possible sous forme de fonctions dose-réponse, les liens entre exposition individuelle aux champs électromagnétiques et la survenue d'effets sanitaires aigus et subaigus.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Au sein de l'industrie, plusieurs procédés de soudage existent dont celui par résistance. Le parc français moyen de soudeuses par résistance industrielles est estimé à environ 100 000 unités. Utilisé pour souder sans métal d'apport des pièces métalliques entre elles, ce procédé s'accompagne de l'émission de champs électromagnétiques aux alentours du poste de travail. Le champ est produit à hauteur des câbles parcourus par le courant, des électrodes de soudage et dans une moindre mesure à hauteur du transformateur. Ces éléments sont ainsi à proximité (et dans de nombreux cas, en contact) avec le corps du soudeur : son tronc, son cou et sa tête étant les plus exposés. Pour les champs dont la fréquence est inférieure à 0,1 MHz, le risque est avant tout lié à des effets non thermiques tels que la stimulation du système nerveux central et périphérique ainsi que des effets sensoriels. Pour des champs dont la fréquence est supérieure à 0,1 MHz, le risque est principalement thermique. De nombreuses études ont cherché à mettre en relation la survenue d'effets à long terme avec la profession de soudeur avec, parfois, des résultats positifs. Mais l'absence de mesures, les difficultés méthodologiques et le manque de mécanismes physiopathologiques explicatifs ne permettent pas de conclure. L'intérêt reste cependant majeur de s'intéresser à ces populations de professionnels chez qui la problématique de symptômes non spécifiques et de troubles du sommeil en relation avec les ondes est largement débattue. Si plusieurs travaux d'évaluation des risques ont été développés dans ce milieu professionnel, aucune étude épidémiologique à notre connaissance n'a porté sur la mise en relation d'indices individuels d'exposition avec des événements sanitaires aigus.

Argumentation du choix des questions

Le projet s'inscrit dans la problématique « recherche d'effets physiologiques et sanitaires des radiofréquences ». Il s'agit de réaliser une « étude épidémiologique sur une population particulièrement exposée, les soudeurs en milieu industriel » et de se concentrer sur les effets aigus et subaigus. Le calcul de l'exposition est délicat dans la mesure où il doit prendre en compte le caractère impulsif du champ émis et dépend du placement du corps des opérateurs vis-à-vis des sources. L'étude nécessitera des mesures pour chacun des procédés de soudage et des modélisations sur les différentes parties du corps de soudeurs pourront être effectuées. Il sera également possible d'intégrer les indices professionnels obtenus dans des indices d'exposition journalière tenant compte des autres sources d'exposition (téléphonie mobile, etc.).

Description des méthodes mises en œuvre

L'étude de faisabilité permettra de :

- d'identifier les événements sanitaires à étudier, au travers d'une revue bibliographique, de contacts avec les professionnels/experts, d'un questionnaire renseigné par un échantillon de soudeurs.
- de réaliser un inventaire de l'intensité et du type de courant par procédé de soudage, et de la durée d'enclenchement (soit le % du temps total de travail durant lequel l'arc de soudage est allumé).
- de construire des indices individuels d'exposition, sur la base de mesures sélectives de champs EM (EXEM) et de modélisation (C2M).
- d'élaborer le protocole définitif de l'étude : avec le choix du type d'étude, le nombre de sujets nécessaires, le mode de recueil des données, le ou les indices individuels d'exposition, le plan d'analyse des données.

Calendrier prévisionnel :

Mois 0 à 2 : prises de contact, recherche bibliographique

Mois 3 à 10 : mesures, modélisation de l'exposition, questionnaire à renseigner auprès d'un échantillon de soudeurs

Mois 11 à 12 : rédaction du rapport de l'étude de faisabilité et du protocole définitif.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : SEPIA-Santé - Baud

Responsable de l'équipe : M. Etienne Cassagne

Equipe 2 : Exem - Labrègue

Responsable de l'équipe : M. Lamine Ourak

Equipe 3 : Telecom ParisTech - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 400 € TTC

Résumé EVALXEN - 2018_1_029

Responsable scientifique : Mme Françoise Lenfant

Organisme : CHU Rangueil, Inserm U1048-I2MC - Toulouse

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evaluation de l'activité estrogénique de xénoestrogènes -

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Le but de ce projet est d'étudier les effets estrogéniques génomiques et non génomiques *in vitro* et *in vivo* de perturbateurs endocriniens (PEs) suspectés et de déterminer si les effets à faible concentration de ces composés décrits dans la littérature pourraient passer par une activation du récepteur des œstrogènes alpha (ERα) au niveau membranaire.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les œstrogènes régulent de très nombreux effets physiologiques et les perturbateurs endocriniens comme le bisphénol A sont suspectés de pouvoir interférer avec ces différents processus développementaux en agissant à faible dose. Cependant leur affinité pour les différents récepteurs des estrogènes est faible, de 1000-10000 fois plus faibles que l'œstradiol (E2) qui est l'œstrogène naturel majeur circulant dans l'organisme. Ce faible niveau d'affinité ne peut théoriquement pas expliquer leurs effets à faible dose et le mécanisme d'action à ces faibles doses reste méconnu.

Des travaux récents (Madak-Erdogan et al, *Sci Signal* 2016) ont montré que la voie d'activation non génomique du récepteur ERα était plus rapide et plus sensible que la voie génomique. Il semble que son initiation nécessite seulement une interaction courte entre le ligand et le récepteur qui active ensuite des cascades de signalisation induisant des signaux intracellulaires. Cette voie pourrait donc être plus sensible, et du moins répondre à des estrogènes avec des concentrations plus faibles que celles de la voie d'activation génomique, qui pourrait nécessiter une interaction plus forte entre le ligand et le récepteur, afin d'induire le recrutement des co-régulateurs transcriptionnels. D'autre part la nature du ligand pourrait également influencer la capacité du récepteur à induire les deux voies d'activation.

Nous nous proposons dans ce projet d'étudier *in vitro* et *in vivo* les effets de quelques xénoestrogènes connus (bisphénols, alkylphénols, pesticides, cosmétiques phyto et mycoestrogènes) sur les différentes voies d'activation du récepteur ERα (génomique et non génomique) en comparaison avec l'œstradiol. Nous déterminerons ainsi si les effets à faible dose décrits dans la littérature peuvent s'expliquer par une action non génomique sur le récepteur ERα qui induit la majorité des effets physiologiques de l'E2.

Argumentation du choix des questions

Ce projet répond aux questions de recherche sur les effets de faibles doses de perturbateurs endocriniens sur l'homme et l'environnement ainsi que sur le développement de méthodes d'essai permettant d'identifier des perturbateurs endocriniens et de mieux connaître leurs effets.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet consiste à tester in vitro et in vivo (et en comparaison avec E2) l'effet de perturbateurs endocriniens (PEs) suspectés (bisphénols A, C et S, 4-tert-octylphénol, chlordécone, butyl-4-parabène, benzophénone 2, alpha-zéaralénol, ...) sur les voies d'activation génomique et non génomique du récepteur ERα. Le projet comporte 2 types d'approches, une étude in vitro sur un grand nombre de PEs et une étude in vivo sur un nombre limité de PEs.

L'étude in vitro sera réalisée par le partenaire 2 sur des lignées cellulaires déjà établies et exprimant soit ERα sauvage (médiant les 2 voies d'activation) soit ERα muté sur la cystéine 447 en alanine. Cette cystéine est connue pour être le site de palmitoylation du récepteur qui permet l'adressage membranaire de ERα et l'activation des voies de signalisation non génomiques. Dans ces lignées cellulaires, nous testerons l'effets des différents PEs à différentes concentrations (10⁻¹² à 10⁻⁵ M) sur l'expression de la luciférase ainsi que sur l'expression de gènes endogènes dont certains sont décrits comme étant induits par l'effet génomique (PS2, RARα, PR, GREB1) et d'autres par l'effet non génomique (LRRC54, HSPB6, MPAIP1) (Madak-Erdogan et al, Sci Signal 2016).

L'étude in vivo sera réalisée par le partenaire 1 sur 3 modèles de souris différentes: i) des souris de type sauvage, ii) celles portant la mutation ER[?]-C451A (mutation homologue de la C447A chez l'homme) et iii) celles dont la fonction de transactivation AF2 a été supprimée. C'est cette fonction AF2 qui permet le recrutement des co-régulateurs de manière ligand-dépendante et qui est donc nécessaire à l'action génomique des œstrogènes (souris ER[?]-AF2[°]). Le modèle ER[?]-C451A constitue donc un modèle de perte de fonction de l'activité membranaire d'ER[?] alors que le modèle ERα-AF2[°] constitue un modèle de perte de fonction de l'action nucléaire d'ER[?]. En effet, dans le modèle ER[?]-AF2[°], l'analyse à large échelle de l'expression génique dans l'utérus en réponse à l'E2 montre une perte quasi-totale des effets transcriptionnels; démontrant une abolition des effets génomiques, alors que l'accélération de la ré-endothélialisation en réponse à l'E2 est conservée. A l'inverse, dans le modèle C451A-ER[?], la prolifération utérine est conservée ainsi que cette régulation de l'expression génique alors que l'accélération de la ré-endothélialisation et la plupart des autres effets membranaires vasculaires des œstrogènes sont abolis. Dans ces 3 modèles de souris uniques et disponibles chez le partenaire 2, nous étudierons donc l'effet du BPA, BPS et d'un PE choisi au vu des résultats obtenus in vitro à 3 différentes doses (DJT, NOAEL et 10 NOAEL). Sur ces différents modèles, nous étudierons plus particulièrement des réponses génomiques comme la prolifération endométriale et non génomiques comme l'accélération de la ré-endothélialisation.

Globalement, les 2 approches devraient permettre de montrer si les PEs peuvent médier des effets à faible dose par leur action non génomique et de proposer des tests in vitro et in vivo de mesure de cette action.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHU Rangueil, Inserm U1048-I2MC - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Françoise Lenfant

Equipe 2 : INSERM IRCM-INSERM U1194-ICM - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Patrick Balaguer

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 988 € TTC

Résumé ExpOz - 2018_1_138

Responsable scientifique : Mme Magali Proffit

Organisme : Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive -CNRS - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Détermination des valeurs seuils d'exposition à l'ozone pour la résilience de la communication chimique plantes-insectes

2. Questions à la recherche

AIRR 4 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur)

CCLIM 1.2 - Impacts du changement climatique sur la santé : Impacts indirects via la qualité des milieux (air, eau, sols...) et de l'alimentation (conséquences de la sécheresse sur l'activité agricole...) et le développement de maladies émergentes (à transmission hydrique ou vectorielle)

3. Résumé

Objectif détaillé

Les activités anthropogéniques représentent une réelle menace pour la pollinisation, composante centrale de la biodiversité, et pour le service écosystémique crucial qu'elle représente. Une série de facteurs majeurs responsables du déclin des pollinisateurs et de la pollinisation ont été identifiés et des orientations politiques ont récemment été suggérées (IPBES, 2016). Néanmoins, alors que la vulnérabilité des interactions plantes-pollinisateurs est une conséquence importante des changements globaux, l'influence de l'augmentation des polluants atmosphériques comme l'ozone a été négligée. La reconnaissance des odeurs florales, mélange de composés organiques volatils (COVs), par leur pollinisateur est une étape décisive de la pollinisation mais peut être directement affectée par une augmentation de la concentration d'ozone ([O₃]). Il devient urgent de caractériser précisément l'impact d'une exposition à l'O₃ sur la résilience de la communication chimique et donc ses effets directs sur les interactions plantes-pollinisateurs et les services rendus.

L'objectif de ce projet est de comparer l'effet de plusieurs niveaux d'exposition à l'O₃ sur la communication chimique plantes-pollinisateurs. Deux types d'interactions très contrastées au niveau de leur spécificité seront étudiées : l'interaction hautement spécialisée entre le figuier cultivé et sa guêpe pollinisatrice; l'interaction généraliste entre la lavande et l'abeille domestique. L'hypothèse testée est que, l'O₃ par son fort potentiel oxydatif, doit avoir un impact sur la communication chimique plantes-pollinisateurs : (i) sur l'émission des COVs libérés par la plante, modifiant la quantité et qualité du signal ; (ii) sur leur transport dans l'atmosphère (iii) sur leur détection des COVs par l'insecte. Ces hypothèses seront testées par une approche interdisciplinaire alliant la chimie analytique (Eq. 1 et 4), l'écophysiologie végétale (Eq. 2), l'écologie sensorielle et comportementale (Eq. 1) ainsi que la chimie de l'atmosphère (Eq. 3).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

De nombreux travaux ont montré qu'une exposition à l'O₃ pouvait avoir des effets nocifs sur les populations humaines et sur la physiologie des plantes. Cependant, très peu de données existent sur l'impact d'une telle pollution sur la communication chimique entre espèces, et donc sur la résilience des interactions biotiques. Les résultats de quelques études récentes, incluant nos travaux, montrent qu'une

exposition à une forte [O3] a un impact sur certaines étapes de cette communication. Mais à ce jour aucune étude intégrative de l'impact de ce polluant majeur sur l'ensemble des étapes de la communication chimique plantes-insectes existe. Par conséquent, le risque de la pollution de l'air pour la résilience de la pollinisation a été négligé des lignes politiques suggérées par la communauté scientifique. La comparaison de la réponse à différents niveaux d'exposition à l'O3 de 2 interactions plantes-pollinisateurs contrastées au niveau de leur spécificité devrait permettre de combler en partie ces lacunes.

Argumentation du choix des questions

Plusieurs indices de pollution à l'O3, calculés grâce aux données fournies par les réseaux de surveillance de la qualité de l'air (AASQA), ont permis d'établir des valeurs seuils pour la protection de la santé humaine et de la végétation. Or dû au manque de données empiriques, aucune valeur seuil pour la protection des signaux chimiques entre espèces n'a été définie à ce jour. Face à une augmentation du niveau moyen ainsi que de la fréquence des épisodes d'O3 dans les décennies à venir, ce projet permettrait de définir de tels indicateurs (AIRR 4) afin d'évaluer les risques d'exposition à ce polluant (CCLIM 2) et les points de non-retour sur les services rendus par la pollinisation.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet s'appuie sur des travaux initiés en 2014 ciblant l'impact de la [O3] sur l'émission et la détection des COVs dans l'interaction figuier-pollinisateur, testant ainsi la faisabilité du présent projet et mettant en évidence un impact d'une exposition ponctuelle à ce polluant. Il s'agit dans ce projet de confirmer ces résultats, de vérifier s'ils peuvent être étendus à une relation plante-pollinisateur généraliste, d'identifier quelles étapes de la communication seront modifiées mais également de définir les valeurs seuils d'exposition pour la résilience de ces interactions. Trois tâches sont programmées.

T. 1 : Impact sur l'émission des COVs par les plantes. En profitant des variations naturelles de la [O3] en région méditerranéenne française (données horaires précises AASQA), les COVs émis par les inflorescences de nos espèces au sein de plusieurs populations seront collectés et analysés en chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (06-12/2019). Les résultats de cette 1ère étape descriptive seront confirmés par une étude expérimentale en conditions contrôlées sous serre avec différents niveaux d'exposition à l'O3 (06-12/2020).

T. 2 : Impact sur les COVs durant leur transport dans l'air. Afin d'analyser la dégradation des COVs floraux par l'O3, des mesures de COVs émis par les 2 espèces à différentes distances de leur source d'émission dans des environnements contrôlés avec différentes [O3] seront réalisées, en utilisant un Proton-Transfer Time-Of-Flight Mass Spectrometer. Des olfactomètres seront connectés au système afin de tester l'attraction des pollinisateurs vers ces odeurs probablement modifiées (04-07/2020).

T. 3 : Impact sur la détection des COVs par les insectes. L'effet direct de plusieurs niveaux d'exposition à l'O3 sur les 2 espèces de pollinisateurs sera testé sur (i) la perception des COVs par l'antenne des insectes grâce à des enregistrements électro-physiologiques (04-07/2021); (ii) l'orientation du pollinisateur grâce à des tests comportementaux (04-07/2020).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive -CNRS - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Magali Proffit

Equipe 2 : IMBE, Aix-Marseille Université, Fac St Charles - Marseille

Responsable de l'équipe : Mme Elena Ormeno Lafuente

Equipe 3 : Université Aix-Marseille, Laboratoire de chimie de l'Environnement - Marseille

Responsable de l'équipe : M. Henri Wortham

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 759 € TTC

Résumé FluoBIOME - 2018_1_172

Responsable scientifique : Mlle Nathalie Poupin

Organisme : INRA, Toxalim - Toulouse

1. Titre

Projet complet

30 mois

Exposition aux composés perfluorés : impacts métaboliques et prédictions de biomarqueurs d'effets associés par la combinaison d'approches in vitro, in vivo et in silico

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Les composés perfluoroalkylés (PFAS) sont utilisés dans de nombreuses applications industrielles et contaminent l'environnement et l'alimentation conduisant à l'Homme. Les données existantes suggèrent que les PFAS induisent des effets métaboliques pérennes chez l'homme, notamment au niveau du métabolisme lipidique, en lien avec la survenue de maladies métaboliques (obésité, diabète...). Ces altérations, particulièrement préoccupantes en santé humaine, sont vraisemblablement liées à une perturbation du métabolisme hépatique, dont les mécanismes d'action (voies métaboliques affectées) n'ont pas été clairement caractérisés.

Les objectifs de ce projet sont (1) d'élucider les effets métaboliques hépatiques induits par 3 PFAS majeurs (PFOA, PFOS et PFHxS), via une approche de modélisation mathématique basée sur des données omiques, et (2) proposer une liste de biomarqueurs accessibles (plasmatiques) chez l'homme, prédictifs des effets métaboliques précoces et pérennes de ces substances. Dans un 1er temps, les effets sur la modulation du réseau métabolique hépatique humain seront étudiés in vitro pour différents scénarios d'exposition afin de prédire des biomarqueurs spécifiques d'effets métaboliques. Dans un 2ème temps, une confirmation de ces biomarqueurs sera recherchée in vivo chez le rat, en vue de leur application pour des études chez l'Homme.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet repose notamment sur l'approche proposée qui consiste à développer des modèles mathématiques représentant le réseau métabolique hépatique global humain sous différents scénarios d'exposition aux PFAS, à partir de données métabolomiques et transcriptomiques obtenues in vitro. Cette méthodologie novatrice en toxicologie présente un intérêt indéniable pour lever des verrous méthodologiques dans ce domaine. En effet, les modèles mathématiques développés permettront (1) de calculer l'ensemble des flux métaboliques intracellulaires (quantités de métabolites produits ou consommés par chaque réaction métabolique, reflétant l'activité de chaque voie métabolique dans un contexte donné) et donc d'identifier, quantitativement et de manière globale (en prenant en compte l'ensemble des voies et leurs interactions), quelles voies sont modulées par les PFAS et (2) de prédire des biomarqueurs extracellulaires de modulations de ces flux métaboliques, qui seront accessibles chez l'homme au niveau plasmatique (étant attendu que les biomarqueurs extracellulaires prédits sur modèles

cellulaires hépatiques humains reflètent les signatures métaboliques plasmatiques). La pertinence des biomarqueurs identifiés in vitro sera validée in vivo chez le rat, en lien avec des effets phénotypiques. Le projet permettra également de comparer les modulations métaboliques induites par des expositions ponctuelles vs. sub-chroniques et d'identifier des biomarqueurs pertinents dans ces 2 scénarios.

Argumentation du choix des questions

Ce projet est centré sur l'étude des effets métaboliques de 3 PFAS (PFOA, PFOS et PFHxS), qui sont les 3 contributeurs principaux à l'exposition humaine aux PFAS et présentent des différences de structure chimique susceptibles d'influer sur leurs effets métaboliques. PFOA et PFOS ne sont plus utilisés au niveau industriel mais l'exposition de la population générale perdure du fait de leur persistance dans l'environnement et de l'usage toujours autorisé de leurs précurseurs (fluorotélomères). Les niveaux d'imprégnation plasmatique du PFHxS sont eux en augmentation.

PFOS et PFOA sont fortement suspectés d'agir sur les fonctions hormonales mais également d'induire des effets métaboliques néfastes durables sur la santé humaine. Des études expérimentales et épidémiologiques rapportent des altérations des profils lipidiques en lien avec l'exposition aux PFAS et avec les propriétés hépatotoxiques fortement suspectées de ces substances. Dans ce contexte, le projet permettra de progresser sur 2 questions soulevées par la question 10 :

(1) la compréhension des effets métaboliques induits par les perturbateurs endocriniens agissant au niveau hépatique et de leurs mécanismes d'action;

(2) la prédiction de biomarqueurs de ces effets métaboliques (précoces et long terme), accessibles chez l'Homme. Les biomarqueurs prédits in vitro et confirmés chez le rat in vivo pourront à terme être validés sur des cohortes humaines.

La méthodologie développée pourra être appliquée pour identifier des biomarqueurs d'effets métaboliques associés à d'autres perturbateurs endocriniens avérés ou suspectés.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet s'articulera en 3 étapes principales :

- M0-M12 : étude des effets métaboliques hépatiques in vitro de PFOA (3 doses d'exposition), PFOS et PFHxS. Des mesures de concentrations de métabolites seront réalisées dans le milieu extracellulaire après 24h et 7 jours d'exposition (métabolomique MS et RMN ; lipidomique). Ces analyses métabolomiques seront réalisées sur la lignée cellulaire humaine HepaRG, modèle pertinent car il conserve la plupart des fonctions métaboliques caractéristiques du foie et est compatible avec des études "long terme". La bioaccessibilité du PFOA au niveau cellulaire sera testée par l'incubation des cellules hépatiques avec du ¹⁴C-PFOA.

- M12-M24 : développement de modèles mathématiques du réseau métabolique pour chaque dose et durée d'exposition, à partir des données métabolomiques et transcriptomiques. Ces modèles permettront de (1) déterminer in silico les flux métaboliques intracellulaires dans chaque condition pour identifier les parties du réseau métabolique modulées; (2) prédire des variations de consommation ou production, par la cellule, de métabolites, qui constitueront des biomarqueurs de modulations métaboliques précoces (24h) et sub-chroniques (7j).

- M24-M30 : confirmation in vivo des biomarqueurs prédits in vitro, sur des rats exposés pendant 24h et 28j au PFOA (3 doses). Des analyses métabolomiques et lipidomiques seront réalisées sur des échantillons sanguins. Les paramètres biochimiques et physiologiques seront mesurés, afin de mettre en relation biomarqueurs et effets biologiques.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INRA, Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mlle Nathalie Poupin

Equipe 2 : Inserm U1048, I2MC - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Justine Bertrand-Michel

Equipe 3 : Insa, PF Métabolomique Fluxomique (EAD6) - Toulouse

Responsable de l'équipe : M. Floriant Bellvert

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 725 € TTC

Résumé Glycerin - 2018_1_084

Responsable scientifique : Mme Cecile Chevrier

Organisme : Inserm - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol et usages domestiques de produits cosmétiques et d'entretien

2. Questions à la recherche

ACHIM 5 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques en population générale pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement), aux perturbateurs endocriniens (uniquement en milieu professionnel)

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est de caractériser l'exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol – dont le 2-phénoxyéthanol – et ses sources d'exposition domestique, en étudiant la variabilité des concentrations urinaires de métabolites d'éthers de glycol, leurs associations avec d'autres composés chimiques, et en y associant un recueil détaillé des usages de produits cosmétiques et un schéma d'étude interventionnelle (avant/après) ciblant l'usage de produits d'entretien.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les éthers de glycol sont des solvants organiques oxygénés. Ils constituent une famille d'environ 80 molécules dont une trentaine est utilisée en France. Compte tenu de leur caractère amphiphile et de leur faible toxicité aiguë, ils sont présents dans de nombreux produits mis à disposition du grand public, tels que les peintures, les vernis, les encres, les produits d'entretien, de nombreux cosmétiques et les médicaments. Les éthers de glycol ont fait l'objet de plusieurs expertises collectives et recommandations, en particulier en France. Les plus récents avis préconisent d'« améliorer les connaissances sur la toxicité de certains des éthers de glycol les plus utilisés », ainsi que « sur l'exposition de la population : de poursuivre les études notamment sur les modalités d'usage des produits domestiques dans la population française » (AFSSET 2008).

Depuis ces expertises, les travaux menés dans notre équipe de recherche épidémiologique montrent la présence de métabolites urinaires d'éthers de glycol chez 100% des femmes enceintes (2002-2006 ; Cordier 2012, Garlantézec 2012), et 100% des enfants (2009-2012 ; non publié) – différents laboratoires ayant été impliqués dans ces dosages, l'existence d'un biais analytique est peu probable. Ces résultats sont corroborés par des travaux allemands et français récents en population générale adulte (Fromme 2013, Nisse 2017). D'autres travaux de notre équipe suggèrent un lien entre les concentrations urinaires maternelles à certains de ces métabolites d'éthers de glycol et une fécondabilité diminuée (Garlantézec 2013), un risque augmenté de malformations congénitales (Cordier 2012, Warembourg 2017) et des performances diminuées à des tests d'intelligence chez l'enfant de 6 ans (Béranger 2016). Or il est à ce jour difficile de communiquer ces résultats en terme de prévention des expositions.

Il apparaît ainsi nécessaire de mieux caractériser l'exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol, leurs co-expositions possibles et leurs sources d'exposition en population générale. Un intérêt particulier est identifié pour les précurseurs des métabolites urinaires PhAA (acide phénoxyacétique) et EAA/EEAA (acides éthoxy-/éthoxyéthoxy- acétiques), tels que le 2-phénoxyéthanol et le 2-(2éthoxyéthoxy)éthanol, présents dans les produits cosmétiques et/ou d'entretien.

Argumentation du choix des questions

Bien qu'ubiquitaire, l'exposition de la population générale aux éthers de glycol est à ce jour très peu caractérisée. Les études de variabilité des concentrations urinaires associées à un recueil détaillé des comportements et modes de vie des sujets sont des outils importants pour identifier les sources et usages qui évoluent dans le temps (intra-jour et inter-jour) et ont déjà été conduites pour d'autres composés à demi-vie courte (<3jours) tels que phtalates. Le projet présent est ainsi le premier à s'intéresser aux éthers de glycol, avec en outre l'originalité d'inclure un schéma d'étude interventionnelle, outil efficace pour évaluer la contribution des usages domestiques de produits d'entretien dans cette exposition.

Les résultats issus de ce projet pourraient à terme aider à améliorer les conseils de prévention primaire vis à vis du risque associé à ces agents chimiques, pour les femmes enceintes et leurs enfants en particulier.

Description des méthodes mises en œuvre

Une trentaine de femmes enceintes (effectif équivalent à la littérature existante sur les phtalates) seront recrutées en début de grossesse, avec l'aide d'un personnel dédié à l'étude qui se tiendra présent dans deux cabinets de gynécologie obstétrique à Rennes. Les femmes exposées professionnellement à ces composés seront exclues (e.g. esthéticienne, coiffeuse, femme de ménage, infirmière, aide-soignante).

Les femmes seront suivies une semaine à 3 temps (1er trimestre, 3ème trimestre avant/après intervention). Pour chacune des 3 semaines, tous les jets d'urine des journées de mardi, jeudi et dimanche seront collectés. Un kit (questionnaire, sac-glacière -20°) sera fourni et récupéré à chaque fin de semaine de suivi.

Un agenda précis rapportant l'usage de tous les produits cosmétiques (beauté, soins, hygiène, parfum, etc) par la femme elle-même sera rempli (heure, sur qui, durée d'utilisation, marque, nom). Des photos des produits seront prises (en moyenne 18-20 produits/femme) et associées, si besoin, à leur composition avec l'aide des fiches de données de sécurité (sur demande).

L'intervention devra remplacer le ménage habituel réalisé au foyer des femmes enceintes. Il s'agira de 4 heures de ménage au domicile de la femme le lundi de la 3è semaine, avec des produits sans éthers de glycol et inclura la substitution des produits d'entretien du quotidien pour une semaine.

Des dosages chimiques seront réalisés sur 17 prélèvements par femme (chaque miction pour 2 jours de la 2è semaine, mictions poolées pour les autres jours) à partir de GC/MSMS. Pour les prélèvements de la 2è semaine, d'autres composés contenus dans les produits cosmétiques (phtalates, parabènes, autres conservateurs) seront analysés.

Des analyses de variance à effet aléatoire (femme), incluant des calculs de coefficients de corrélation intra-classe seront mis en place pour estimer les variabilités intra-jour et intra-semaine (intra-femme), et comparer les concentrations en fonction des usages de cosmétiques, de début/fin grossesse, et de l'avant/après intervention.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Cecile Chevrier

Equipe 2 : CHU de Rennes, Service de Santé publique et épidémiologie

Responsable de l'équipe : M. Ronan Garlantezec

Equipe 3 : EHESP, LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Le Bot

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 174 293 € TTC

Résumé ICARE-VADS - 2018_1_207

Responsable scientifique : Mme Danièle Luce

Organisme : Inserm IRSET U1085, Faculté de médecine - Pointe à Pitre

1. Titre

Projet complet

36 mois

Expositions professionnelles à l'amiante, aux acides minéraux forts, au formaldéhyde, aux poussières de bois et de cuir et risque de cancer des voies aéro-digestives supérieures

2. Questions à la recherche

ACHIM 4 - Étude des effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses des agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) ou perturbateurs endocriniens et/ou en cumuls d'exposition

CANC 4 - Risque de cancers liés à des expositions environnementales et/ou professionnelles aux substances cancérogènes en favorisant une approche « vie entière » (effets d'expositions cumulées, faibles doses, multiples) et en y intégrant des données cliniques, biologiques, comportementales et socio-économiques

3. Résumé

Objectif détaillé

Avec environ 15000 nouveaux cas par an, l'incidence des cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) en France est parmi l'une des plus élevées au monde. Le tabac et l'alcool sont les facteurs de risque majeurs de ces cancers, mais le rôle des expositions professionnelles reste largement méconnu. Plusieurs substances sont cependant reconnues comme cancérogènes pour des localisations spécifiques. C'est le cas de l'amiante et des acides minéraux forts (pour le larynx), des poussières de bois (pour les cavités naso-sinusiennes et le nasopharynx), du formaldéhyde (pour le nasopharynx) et des poussières de cuir (pour les cavités naso-sinusiennes). Ces substances sont des facteurs de risque plausibles pour des cancers d'autres localisations des VADS, mais les données épidémiologiques sont pour l'instant insuffisantes.

L'objectif est d'étudier le rôle de substances cancérogènes pour certaines localisations des VADS (amiante, acides forts, formaldéhyde, poussières de bois, poussières de cuir) dans la survenue de cancer de localisations anatomiquement proches. Le projet est basé sur les données de l'étude Icare, une large étude cas-témoins en population (2415 cas de cancer des VADS et 3555 témoins), qui comporte des informations détaillées sur l'histoire professionnelle.

Le nombre important de sujets permettra d'étudier les associations avec les différentes substances en distinguant de façon précise les localisations anatomiques. Plusieurs indices permettant de résumer l'exposition sur l'ensemble de la vie professionnelle seront utilisés (exposition cumulée, durée, exposition moyenne, niveau maximum).

Pour les associations déjà reconnues, ou pour celles nouvellement mises en évidence, des analyses plus approfondies seront réalisées : modélisation des relations dose-effet, étude d'effets conjoints de plusieurs expositions professionnelles, interactions avec le tabac et l'alcool. Il sera également possible d'estimer pour la France les fractions de risque attribuables.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet apportera des informations nouvelles sur le rôle des expositions professionnelles dans la survenue des cancers des VADS. Les études cas-témoins portant sur les facteurs de risque professionnels de ces cancers sont rares, et les études de cohorte portant sur des travailleurs exposés à des substances

spécifiques comportent un faible nombre de cas de cancers des VADS et ne permettent pas de prendre en compte l'effet de confusion potentiel du tabac et de l'alcool. Les données épidémiologiques sur les relations dose-réponse ou sur les effets conjoints de plusieurs expositions, expositions professionnelles ou cancérigènes non professionnels comme le tabac et l'alcool, sont quasiment inexistantes.

Les proportions de cas de cancer attribuables aux substances d'intérêt n'ont jamais été estimées directement à partir de données françaises. Dans l'ensemble, les résultats contribueront à une meilleure compréhension du rôle spécifique de substances largement utilisées en milieu de travail, avec des implications potentiellement importantes pour la prévention.

Argumentation du choix des questions

Le projet s'inscrit principalement dans le thème « Cancers », question CANC 4 . Les données disponibles permettront d'évaluer les expositions professionnelles tout au long de la vie, d'évaluer l'effet d'expositions multiples et de faibles doses, en prenant notamment en compte des données cliniques (localisation précise des cancers) et comportementales (tabac, alcool). Ses objectifs, en particulier l'étude des relations dose-réponse, le rattachent aussi au thème agents chimiques (ACHIM 4)

Description des méthodes mises en œuvre

L'étude Icare est une étude cas-témoins multicentrique en population générale. Les cas ont été identifiés dans 11 départements couverts par un registre des cancers. Les témoins ont été tirés au sort dans les mêmes départements que les cas par une procédure d'appels téléphoniques au hasard. Le recrutement a été stratifié de façon à obtenir une répartition par âge et sexe des témoins comparable à celle des cas, et une répartition par catégorie socioprofessionnelle conforme à celle du département.

Les sujets ont été interrogés en face à face, à l'aide d'un questionnaire standardisé comportant notamment les caractéristiques socio-démographiques, les consommations de tabac et d'alcool sur la vie entière et une description très détaillée de tous les emplois exercés pendant la vie active.

Les expositions seront évaluées à l'aide de matrices emplois-expositions (amiante, formaldéhyde, poussières de cuir), ainsi qu'à partir d'une exploitation algorithmique des questionnaires (poussières de bois, acides forts).

Les données sont déjà disponibles, la faisabilité est assurée.

Des analyses concernant les expositions à l'amiante et aux poussières de cuir ont déjà été réalisées (sans financement spécifique). Les premiers mois du projet seront consacrés à la finalisation de ces analyses et à la publication de résultats.

Calendrier prévisionnel : amiante, poussières de cuir : 9 mois ; formaldéhyde, poussières de bois, acides forts : 6 mois évaluation des expositions ; 15 mois analyse statistique ; rédaction publication : 6 mois

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm IRSET U1085, Faculté de médecine - Pointe à Pitre

Responsable de l'équipe : Mme Danièle Luce

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 163 158 € TTC

Résumé IMMQUAP - 2018_1_285

Responsable scientifique : Mme Saadia Kerdine-Römer

Organisme : Université Paris-Sud 11, Faculté de pharmacie - Châtenay-Malabry

1. Titre

Projet complet

36 mois

Immunisation aux ammoniums quaternaires et allergies professionnelles

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Etudes des impacts des expositions à des risques chimiques en milieu de travail notamment les impacts des multi-expositions ou des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...)

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'étudier les associations entre exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires (AQ) et immunisation contre ces molécules avec deux objectifs spécifiques :

1) montrer le lien entre immunisation contre les molécules d'AQ et exposition dans deux cohortes différentes : une cohorte existante d'asthmatiques exposés (cohorte cas-contrôle EGEA2, n=1000) et une cohorte longitudinale nouvellement constituée d'apprentis-coiffeurs qui permettra de montrer l'évolution de l'immunisation aux AQ (n=600). La cohorte de naissance PARIS sera intégrée comme étude témoin de population générale (n=600).

2) Identifier les molécules les plus à risque de provoquer une immunisation par une étude mécanistique du potentiel immunogène de différents motifs d'AQ. Des études fonctionnelles permettront également de mesurer la réactivité chimique des AQ à former des structures immunogènes avec les protéines endogènes telles que l'albumine ou la kératine.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les AQ sont des substances aux propriétés tensio-actives et bactériostatiques retrouvés en particulier dans les produits de nettoyage et les cosmétiques. L'exposition professionnelle aux AQ est à l'origine de pathologies allergiques respiratoires et dermatologiques, en particulier l'asthme et est la première cause émergente de rhinite allergique professionnelle depuis 2000. De plus, l'exposition répétée aux AQ utilisés en coiffure a été décrite comme facteur de risque dans les cas d'allergie aux agents bloquants aux curares (AQ injectés lors d'anesthésies générales). Cependant le ou les mécanismes d'immunisation contre ces produits sont mal connus, il n'existe pas de marqueurs d'exposition reconnus, et l'effet cumulé des différents AQ entre eux ou associés à d'autres allergènes n'a pas été évalué. A ce jour, aucune recommandation ne limite l'exposition aux AQ, et rien ne permet de classer les AQ selon leur toxicité. Enfin, le lien entre exposition aux AQ et anaphylaxie n'a pas été formellement établi.

En combinant des disciplines complémentaires, cette étude permettra d'identifier les molécules les plus à risque et d'élucider leur mécanisme d'immunisation. L'étude longitudinale permettra de montrer pour la première fois l'évolution de l'immunisation aux AQ dans une cohorte d'apprentis-coiffeurs au cours de leur formation. Elle permettra également de mesurer par des tests allergologiques le risque de réaction croisée entre AQ retrouvés en milieu professionnel avec des molécules médicamenteuses.

Argumentation du choix des questions

Le projet satisfait les questions 'ACHIM1' relatives aux études des impacts des expositions aux AQ qui font partie des substances chimiques largement répandues pour lesquelles l'exposition professionnelle a été reliée à un risque allergique notable sans que les mécanismes en soient connus. L'identification des mécanismes toxicologiques d'immunisation contre les AQ devrait nous permettre de recommander des

mesures préventives limitant l'exposition professionnelle et de proposer des molécules alternatives qui seront testées en mesurant leur potentiel de liaison aux protéines. La mesure des IgE et IgG anti-AQ et leur corrélation à l'exposition permettront de proposer des marqueurs de suivi des expositions professionnelles.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet comporte la réalisation d'une étude épidémiologique auprès d'apprentis-coiffeurs. Les élèves volontaires de différents CFA de coiffure auront une consultation au début (2019) et à la fin de l'étude (2021). Un questionnaire sur l'exposition aux produits et un prélèvement sanguin seront réalisés au Centre d'Investigation Clinique à l'hôpital Bichat à Paris (échantillons et données déjà disponibles pour EGEA2). Dans les trois cohortes (EGEA2, coiffeurs, PARIS), la mesure des IgG et IgE anti-AQ sera faite (2021) et une corrélation des marqueurs avec l'exposition aux AQ et comparaison de la prévalence d'immunisation entre les cohortes (2021) sera établie.

Ce projet bénéficiera de tests allergologiques pour évaluer le risque de réactions croisées notamment aux médicaments (tests d'inhibition, test d'activation des basophiles, ELISPOT) (2020-2021).

Les études fonctionnelles permettront de mesurer la réactivité chimique de différents AQ (diméthylalkyl, triméthylalkyl- et alkyldiméthylbenzyl-ammonium) à se fixer à des protéines permettant la formation de structure immunogène (2019-2020). Pour ce faire, les AQ seront incubés avec des protéines purifiées (albumine, kératine) et des épidermes reconstruits (modèle 3D). L'étude et la caractérisation de la fixation des AQ aux protéines seront adressées par spectrométrie de masse (Q-TOF).

Une étude mécanistique sera menée afin de comprendre comment les cellules présentatrices d'antigène (CPAg) et les LT sont activés en réponse à différents motifs d'AQ (2019-2020). Ce projet bénéficiera d'un modèle in vitro (1) d'activation de CPAg (cellules THP1 et DC humaines) par des AQ, mesurant l'expression de marqueurs de surface et de gènes de cytokines inflammatoires et (2) d'activation des LT naïfs ou mémoires mesurant leur prolifération en réponse aux AQ.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris-Sud 11, Faculté de pharmacie - Châtenay-Malabry

Responsable de l'équipe : Mme Saadia Kerdine-Römer

Equipe 2 : Inserm U1168 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Le Moual

Equipe 3 : Université Paris-Sud, UMR CNRS BioCIS - Châtenay-Malabry

Responsable de l'équipe : Mme Delphine Joseph

Equipe 4 : Université Paris Descartes, Faculté de Pharmacie, EA4064, Epidémiologie environnementale : impact sanitaire des pollutions

Responsable de l'équipe : Mme Fanny Rancière

Equipe 5 : Hôpital Bichat - UF Autoimmunité et hypersensibilités - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Pascale Nicaise Roland

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 998 € TTC

Résumé IMPACT - 2018_2 RF_012

Responsable scientifique : Mme Anke Huss

Organisme : Utrecht University, Institute for Risk Assessment Sciences - Utrecht

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition perçue, exposition mesurée et symptômes: dans quel ordre est-ce que cela arrive, et quels sont les changements au cours du temps?

2. Questions à la recherche

RFES 3.5 - Recherche pour expliquer les relations entre EHS et syndrome d'intolérance aux odeurs chimiques (SIOC), migraine, acouphènes, fibromyalgie et, de manière générale, les syndromes médicalement inexpliqués

RFES 3.6 - Recherche de facteurs de vulnérabilité (études comparatives utilisant des populations témoins et des populations présentant des syndromes médicalement inexpliqués par exemple)

3. Résumé

Objectif détaillé

Electrohypersensitives (estimated prevalence 0.6-13%) attribute non-specific symptoms to electromagnetic field (EMF) exposure. A larger proportion (ca 25%) of the general population estimates their own exposure to EMF as high, and is uncertain about potential associated health effects. Given the absence of clear underlying mechanistic explanations, the characteristics that determine who develops EHS are unclear. A recent Dutch study (AMIGO population, n=14829) highlighted that perceived but not actual exposure was associated with symptom reporting (Martens AJE 2017). The presence of e.g. mobile phone base stations may have effects on symptom reporting through perceived exposure and negative health expectations (nocebo effect). At the same time, an existing symptom burden may lead to an increased awareness of potential environmental health risks and attribution to (RF-)EMF exposure. This means that the time course of risk and exposure perception and symptom experience needs to be assessed closely in longitudinal settings to understand what comes first.

Intriguingly, two recent studies observed a similar percentage of self-reported EHS in repeat surveys, although there was a large (>50%) turnover of the population reporting EHS within just a year, indicating that attribution of symptoms to EMF exposure is transient for many but not all persons. Again, underlying factors associated with developing or discarding EMF attribution is unclear. International surveys (Eurobarometer/INFAS) have shown that there are differences in RF-EMF risk perception levels between different countries. Differences in legislation, as well as cultural and lifestyle factors are likely to play a role in risk appraisal and perceived health.

Our suggested study tackles evaluating explanatory factors for changes in attributing symptoms to EMF exposure. The study aims are to:

- Produce a measured exposure surface in an area in Lyon, enhanced with NISMap for the 3D aspect of exposure
- In the same area of the exposure surface, invite participants (~20,000) to fill in a questionnaire on perceived exposure to EMF and other environmental factors, symptoms and lifestyle factors. This questionnaire will be repeated twice with time intervals of 12 to 24 weeks.
- Repeat the questionnaire and modelling in the Netherlands in the AMIGO sample. Previous modelling in this study sample did not include 5G. The 5G network will be rolled-out in the coming years and due to active instalment of new antennas may lead to differences in perception.

- Understand the longitudinal course of symptom reporting, perception, and actual exposure in both the French and the Dutch study populations. Differences in legislation, attitudes and lifestyle factors will be considered to improve understanding of the underlying mechanisms.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

The current study will produce a measured exposure surface in Lyon, analyze longitudinal associations between measured and perceived exposure and symptom reporting and assess the influence of cultural differences between France and the Netherlands. This project overcomes several limitations of previous work.

In recent years, there has been the development of LTE networks, exposure characterization in older studies is therefore no longer up to date. The exposure assessment in this project will incorporate recent technological developments and evaluate the potential effects on true and perceived exposure. The project will also develop methodologies for mapping RF-EMF exposure in (parts of) French cities which to date has been lacking.

The longitudinal comparison of true exposure, perceived exposure, symptom reporting as well as cultural differences between France and the Netherlands will improve our characterization of individuals who develop EHS. Cultural/lifestyle factors of interest include, but are not limited to: Trust in the government, relationship with health care provider, risk and exposure perception. Insights in these associations which can only be studied by contrasting settings provides potential leads for risk interventions.

Argumentation du choix des questions

By analyzing the time course of measured exposure, perceived exposure, symptoms, and attribution we will help to elucidate the origin and time course of EHS. This project will also improve our understanding of vulnerability factors for EHS through the comparison of cultural differences between France and the Netherlands in terms of attitude or lifestyle factors. The project will focus both on reporting of non-specific symptoms as such, and on reporting of non-specific symptoms attributed to RF-EMF exposure.

Description des méthodes mises en œuvre

Our research project will be performed in 5 steps:

- 1) Month 0-12: Do mobile RF-EMF measurements in Lyon and produce exposure surface, enhanced with the 3D NisMap model. Envisioned surface area will be about 2x3km².
- 2) Month 0-12: Questionnaire design and approval study protocol/ethical clearance by scientific committee.
- 3) Month 12-24: Invite inhabitants (all postal addresses) of the measurement area in Lyon to complete three questionnaires on RF-EMF perception/knowledge (and other potentially relevant factors) and symptoms with an interval of 12-24 weeks between questionnaires.
- 4) Month 14-22: Perform repeat questionnaire in the Netherlands in AMIGO cohort.
- 5) Month 22-36: Data analysis and paper writing.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Utrecht University, Institute for Risk Assessment Sciences - Utrecht

Responsable de l'équipe : Mme Anke Huss

Equipe 2 : Telecom ParisTech, Chaire C2M - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 3 : UMRESTTE - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Amélie Massardier-Pilonchery

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 834 € TTC

Résumé IMPERIAL - 2018_1_223

Responsable scientifique : Mme Sylvie Chevalier

Organisme : Université de Rouen, Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement - Evreux

1. Titre

Projet complet

36 mois

Impact de Perturbateurs EndocRiniens sur la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*, bactéries environnementales pathogènes pour l'homme.

2. Questions à la recherche

ACHIM 4 - Étude des effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses des agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) ou perturbateurs endocriniens et/ou en cumuls d'exposition

ACHIM 8.3 - Exposition aux contaminants et effets sur les écosystèmes : Effets de contaminants chimiques sur les écosystèmes en vue d'anticiper des risques pour la santé humaine

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'étudier l'impact de perturbateurs endocriniens (PE) sur la virulence, la formation de biofilm et la résistance aux antibiotiques (ATB) de 2 bactéries environnementales pathogènes opportunistes de l'homme ; *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) et *Legionella pneumophila* (Lp).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les phtalates sont des plastifiants des PVC. Ils entrent dans la fabrication de nombreux produits (automobile, cosmétique, agro-alimentaire), jouets ou dispositifs médicaux et sont libérés dans l'environnement, alors que certains sont des perturbateurs endocriniens (PE).

Pseudomonas aeruginosa (Pa) provoque chez les individus immunodéprimés des infections aiguës en produisant des facteurs de virulence, et des infections chroniques lorsqu'il se développe en biofilm. Cette bactérie ubiquitaire est capable de s'adapter à tous types d'environnements, une faculté liée à la présence de multiples systèmes de perception de signaux, les senseurs, qui lui permettent d'engager une réponse moléculaire complexe à l'origine du déclenchement d'infections aiguës ou chroniques. *Legionella pneumophila* (Lp) est un pathogène opportuniste de l'homme responsable de la légionellose. Lp peut se multiplier de manière intra-cellulaire dans des cellules pulmonaires ou dans des amibes, et survivre dans des environnements aqueux sous forme de biofilm. Sa virulence se traduit par son infectiosité vis-à-vis de ses hôtes (amibes, macrophages), sa résistance aux ATB et sa persistance (biofilms).

Les PE peuvent exacerber les maladies infectieuses mais les mécanismes moléculaires sous-jacents n'ont pas encore été décryptés. Ils pourraient inhiber l'action des macrophages, affaiblissant ainsi le système immunitaire. Les PE pourraient également agir directement sur la physiologie des bactéries pathogènes. En effet, chez les eucaryotes, les phtalates agissent sur les récepteurs nucléaires PPARalpha et PPARgamma impliqués dans l'inflammation, mais PPARgamma est également le récepteur d'une molécule de communication bactérienne, la 3-oxo-C12 homosérine lactone (3oC12HSL). Cette interaction pourrait entraîner l'inactivation de PPAR et augmenter l'inflammation au cours d'une infection par Pa. Chez Pa, la 3oC12HSL cible le régulateur de virulence LasR, conduisant à l'activation de tous les systèmes

du quorum sensing (QS) et à la production synchronisée des facteurs de virulence et/ou d'adhésion. La 3oC12HSL module également la prolifération de Lp et sa capacité à former des biofilms, le récepteur restant à identifier. Par comparaison de séquences, des protéines analogues à LasR possédant un domaine de type LuxR ont été détectées. Ces données suggèrent que les phtalates pourraient se fixer sur LasR ou sur ses homologues du QS, et ainsi moduler la virulence et/ou la formation de biofilm de Pa et de Lp.

Argumentation du choix des questions

Ce projet innovant et original vise à évaluer pour la 1ère fois les effets directs des PE sur la virulence et la résistance aux ATB de Pa et Lp, et à décrypter les modes d'action des PE sur les bactéries. Les résultats permettront d'évaluer de nouveaux risques sanitaires liés aux effets des PE sur le développement d'infections aiguës (planctonique) et chroniques (biofilm) dans le cas de Pa, et sur l'invasion, la persistance et le développement d'infections dans le cas de Lp.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1 (9 mois). Différents phtalates (entre 10⁻⁹ et 10⁻⁶ M) seront criblés seuls et en cocktails pour leurs effets sur la production de facteurs de virulence par Pa, et sur l'infectiosité de Lp vis-à-vis de son hôte naturel *Acanthamoeba castellanii*. Les molécules présentant le plus d'impact seront testées pour leurs effets sur la virulence globale des bactéries sur cultures in vitro de cellules pulmonaires et de macrophages, et sur la résistance aux ATB (concentrations minimales inhibitrices, CMI).

Tâche 2 (9 mois). Différents phtalates (entre 10⁻⁹ et 10⁻⁶ M) seront testés pour la capacité de Pa et Lp à former un biofilm en microplaques. L'impact des molécules les plus actives sur le biofilm sera caractérisé par microscopie confocale à balayage laser et la résistance aux ATB sera évaluée en biofilm (concentration minimale d'élimination du biofilm, MBEC).

Tâche 3 (12 mois). Les phtalates, seuls ou en cocktail ayant un impact significatif sur la virulence et/ou la formation de biofilm (Tâches 1 et 2), seront testés pour leurs effets in vivo sur la pathogénicité de Pa et Lp sur le nématode *Caenorhabditis elegans*. Si ces effets sont confirmés, l'impact des molécules d'intérêt sur la virulence de Pa sera analysé in vivo sur modèle murin d'infections chronique et aiguë, et la réponse inflammatoire locale de l'hôte sera évaluée. La souris n'étant pas un hôte naturel de Lp, sa virulence ne sera testée que sur le modèle *C. elegans*.

Tâche 4 (12 mois). Les mécanismes d'action des phtalates les plus actifs seront décryptés par analyses globales (RNA seq, protéomique) et quantification des molécules du QS (LC-MS). Les senseurs bactériens à ces molécules seront recherchés in silico (docking moléculaire) et in vivo (immunoprécipitation), puis identifiés (SDS-PAGE, MS/MS) et caractérisés (thermophorèse à microéchelle, MST).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rouen, Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement - Evreux

Responsable de l'équipe : Mme Sylvie Chevalier

Equipe 2 : Université de Nantes, Faculté de Médecine EA3826

Responsable de l'équipe : Mme Jocelyne Caillon

Equipe 3 : Université de Poitiers - EBI CNRS UMR7267

Responsable de l'équipe : M. Jean-Marc Berjeaud

Equipe 4 : Université de Bretagne-Sud, Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines - Lorient

Responsable de l'équipe : M. Alain Dufour

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 878 € TTC

Résumé INTER-CAL - 2018_2 RF_005

Responsable scientifique : M. Joachim Schüz

Organisme : Centre International de Recherche sur le Cancer, Section Environnement et Radiation - Lyon

1. Titre

Projet complet

24 mois

Téléphones portables et risque de gliome: Effet de diverses erreurs dans l'estimation du risque de l'étude multinationale de cas-témoins Interphone

2. Questions à la recherche

RFES 2.2 - Études épidémiologiques⁹ sur les effets possibles des radiofréquences sur la santé, notamment : les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives, les rythmes circadiens et les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil liées aux radiofréquences. On s'intéressera particulièrement aux populations potentiellement les plus vulnérables aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes, femmes enceintes, sujets âgés) ou particulièrement exposées (travailleurs)

3. Résumé

Objectif détaillé

The objective of the present proposal is to simultaneously model the effect of several identified errors and bias in the largest case-control study on mobile phones and the risk of brain tumours (Interphone), evidenced in several validation studies, to calibrate risk estimation and therefore contribute to resolving the question of how much of the observed association between heavy use of mobile phones and glioma risk may be attributable to bias. Up to now the impact of error and bias has been assessed individually by source of error, showing that their impact influences the relative risks in either direction depending on bias, so that only their simultaneous modelling will provide further essential insight. This insight is important for overall risk assessment as different assessors gave different weights to the findings of Interphone.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

It remains an open question if use of mobile phones is associated with an increased risk of developing glioma, most common brain cancer with very poor prognosis. While many risk assessments (eg EC SCENIHR) characterize the evidence as weak, IARC Monograph Program has characterised RF-EMF as possibly carcinogenic. This difference in assessment stems mainly from different weights the interpretations have given to results of Interphone. Interphone has collected a wealth of data on aiding the interpretation of results, such as collection some basic information from non-responders, validation studies comparing self-reported mobile phone use with traffic records from mobile phone operators both for contemporary and in some countries past use, and validation studies measuring typical output power of mobile phones in use. The proposal will utilize the Interphone dataset archived at the IARC and data from a validation study of the Italian Interphone component as the one country having collected the most informative data on the agreement of past mobile phone use of cases and controls with the respective operator records. New modelling techniques will be applied and for this purpose a study team created having vast experience in assessing the impact of measurement and other errors.

Novelty of the approach is addressing the impact of different errors in the risk estimation in the association between mobile phone use and glioma risk at the same time, giving more insight into how much of the observed association may be attributable to bias. To check performance they will be applied

to another field of challenging exposure assessment, namely pesticides, as done in a joint study of IARC and University of Rennes in a testicular cancer study.

Argumentation du choix des questions

While there were several papers published on these errors in the reporting stage of Interphone, these tend to be fragmentary, dealing with each error separately. Some errors were simply not addressed. The approach is to address three questions:

1. Null hypothesis simulation: generate a distribution of potentially observed results, under the null hypothesis of no biological effect, replicating the analysis of INTERPHONE data while including data uncertainty. This will provide a more realistic view of the range of outcomes compatible with chance, and provide corrected p-values for the existing analyses by placing them in the ranking of chance variation.
2. Bayesian reconstruction: attempt to provide less biased estimates based on a Bayesian approach to the various uncertainty parameters. We will proceed by making draws from estimated prior probabilities of true exposures given a specific set of reported values. This would include estimates of the correlations between observed errors in start of use, call duration and call frequency. Signal intensity will also be included, depending on a putative distribution of calls from urban or rural settings. This will result in a posterior distribution of effect sizes, with the median taken to represent the central estimate. Centiles of the distribution will provide the limits of the posterior credible interval, the Bayesian analogue of the confidence interval.
3. Assess performance of the error modelling in another setting, namely residential exposure to pesticides.

Description des méthodes mises en œuvre

INTERPHONE is an international population-based case–control study, conducted according to a common core study protocol in 13 countries, in people aged 30–59. Main analyses included 2708 glioma cases with 2972 matched controls. Non-responder questionnaires are available for 98 cases and 1,678 controls. 672 volunteers in 11 countries participated in a validation study allowing comparison of contemporary self-reported mobile phone use with operator records. More than 500 volunteers participated in a study using Software-modified phones to measure output power. For 79 brain tumour cases and 106 controls in Italy it was possible to reconstruct the mobile phone usage history from historic mobile phone records. All data are available to the project.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre International de Recherche sur le Cancer, Section Environnement et Radiation - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Joachim Schüz

Equipe 2 : Université de Rennes 1, Inserm U1085 - IRSET

Responsable de l'équipe : M. Rémi Béranger

Equipe 3 : Centro nazionale di epidemiologia, sorveglianza e promozione della salute, Istituto superiore di sanità – Rome, Italie

Responsable de l'équipe : Mme Susanna Lagorio

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 446 € TTC

Résumé IWW - 2018_1_242

Responsable scientifique : M. Riccardo Scorretti

Organisme : Ecole Centrale de Lyon, Laboratoire Ampère - Ecully

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Vêtement instrumenté pour la caractérisation de l'exposition humaine à des champs magnétiques basse fréquence

2. Questions à la recherche

RNIO 2 - Caractérisation des expositions aux champs électromagnétiques (du statique à 8 kHz) : quantification des expositions individuelles, définition d'indicateurs pertinents pour représenter l'exposition individuelle ou collective, exposition à des sources multiples

RNIO 4 - Etude de l'impact des nouvelles technologies pour l'énergie sur l'exposition des populations (production locale d'électricité en particuliers par les éoliennes, smart grid, véhicules électriques, etc.)

3. Résumé

Objectif détaillé

The aim of the projet is to develop an instrumented workwear and a methodology which allows to characterize easily and quickly the exposure to low frequency (< 8 kHz) magnetic fields. Among possible applications, we can mention the evaluation of exposure of workers to the magnetic field generated by resistance spot welding gun. Other applications are possible, even at much higher frequencies (approximately up to 1 MHz).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

At present time, numerical dosimetry has reached a certain maturity, and dedicated commercial software exist (among others, SEMCAD). However, fast and accurate characterization of exposure in real condition is still a problem. From the theoretical point of view many solution exist, provided that enough measurement points are available.

However reality is more complicated, in that taking many measurement points can be a very time-consuming task. Moreover, the exact posture of the "victim" with respect of the source magnetic field has to be taken into account so as to perform a realistic evaluation of exposure.

The classical approach is to estimate the source magnetic field, and then to perform a dosimetric computation with a postured phantom. The construction of a realistic postured phantom is by itself a very complex task, especially as long as articulations are concerned.

In this project it is proposed to explore a way for solving both these problems at one time (= field measurement and taking into account the exact posture of the victim).

Argumentation du choix des questions

RNIO2: The main application of our project is evaluation of exposure of workers to the magnetic field generated by resistance spot welding gun, the frequency of which spans from 50 Hz to 10 kHz (but the energy is mostly concentrated in the lower part of this range, well below 8 kHz). Another application is monitoring of exposure of operators working in proximity of high field MRI systems.

RNIO4: However, our project can find applications in any situation of exposure to a magnetic field, provided the classical hypothesis for "low frequency" dosimetry are respected (until approximately 1 MHz), for instance exposure of drivers to the magnetic field generated by electrical vehicles.

Description des méthodes mises en œuvre

The main idea is to use an instrumented workwear for performing the necessary measurements. The workwear should be taken by an operator (or by the victim) in the real position: in such a way, we hope that it will be possible to apply the measurements directly with a non-postured phantom.

This should be possible due to the specific properties of living tissues : that is, the magnetic field is practically not modified by the presence of the human body, as far as low frequencies are concerned. On the other hand, the map which takes the standing (= not postured) phantom to any specific posture can be locally approximated by a simple translation. In fact, we expect to have a moderate error on articulations (knees, elbows, etc.), which will hopefully be negligible.

The fact that all computations will be performed with a not postured phantom opens the way to using model reduction techniques. In particular, for any frequency of interest, a reduced basis could be generated one off-line, so as to speed up tremendously the computation time.

The project can be splitted in 5 workpackages:

- 1) Bibliographic research.
- 2) Generation of a reduced basis, and comparison between full and reduced solutions (the source field is perfectly known).
- 3) Comparison of the full and reduced solutions, assuming that the source magnetic field is known only by a limited set of measurements.
- 4) Generation of postured (simplified) phantoms, and comparison of reduced solution by using the not-postured phantom vs full solution computed with postured phantoms.
- 5) Construction of the instrumented workwear.

As a first step, we will concentrate on WP 1, 2 and 4 by using simplified antropomorphic phantoms composed of a few tissues. Postured phantoms will be generated by free-form deformations. Accurate models of simplified articulations will be built. We will limit us to the case of a single frequency source of magnetic field. WP3 is less important, and will eventually be postponed to a further project. In parallel, we will take on WP5.

WP1 and WP2 may be time-consuming, but risk is small. WP4, which is the most original part of the project, is of course more risky. As for WP5, we expect to find some practical issues, but no fundamental problem (risk is weak).

We will start working on this project without waiting the notification of acceptance/refusal of this application letter, and we hope to be able to present some preliminary results already in the full project.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ecole Centrale de Lyon, Laboratoire Ampère - Ecullly

Responsable de l'équipe : M. Riccardo Scorretti

Equipe 2 : Politecnico di Torino, Italie

Responsable de l'équipe : M. Fabio Freschi

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 40 564 € TTC

Résumé MacFibOsis - 2018_1_149

Responsable scientifique : Mme Valérie Lecureur

Organisme : UMR INSERM 1085- IRSET, Faculté de Pharmacie - Rennes

1. Titre

Projet complet

24 mois

Effets des fibres d'amiante courtes et longues sur le phénotype et les capacités d'efferocytose des macrophages

2. Questions à la recherche

FMIN 2 - Fibres courtes d'amiante : mécanismes d'action, biopersistance, génotoxicité et études des expositions professionnelles

AIRR 3 - Etudes ou développement d'outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail notamment les aérocontaminants ou agents chimiques allergisants du milieu de travail

3. Résumé

Objectif détaillé

L'inhalation répétée de fibres d'amiante durant les activités professionnelles contribue au développement de fibrose et de cancers mais aussi à la production d'auto-anticorps. Les effets immunotoxiques des fibres courtes d'amiante (FCA) qui proviendraient de la dégradation de fibres longues (FLA) sont peu connus alors que cette classe granulométrique est présente systématiquement, et dans des proportions importantes, lors des mesures métrologiques.

Le but de notre projet est d'étudier les effets des FCA sur le phénotype et les fonctions des macrophages (MA), cellules majeures de l'immunité innée.

La reconnaissance, la phagocytose et l'élimination des cellules apoptotiques par les MA (processus appelé efferocytose) est un mécanisme physiologique crucial qui permet l'élimination des cellules endommagées, la résolution de l'inflammation et la restauration de l'homéostasie. Les perturbations de son fonctionnement sont actuellement associées à des pathologies pulmonaires inflammatoires chroniques et à l'initiation de l'auto-immunité systémique; en effet une réduction de l'élimination des cellules apoptotiques aboutit à leur nécrose secondaire, à de l'inflammation et à la libération d'auto-antigènes pouvant activer des réponses auto-immunitaires non contrôlées.

Nos objectifs sont: 1) de déterminer et de comparer les effets de FCA et FLA sur le phénotype de MA humains; 2) d'étudier la capacité d'efferocytose de MA obtenus à partir de sang d'individus sains ou ayant été exposés professionnellement à des fibres d'amiante; 3) de déterminer les mécanismes cellulaires et moléculaires responsables de la perturbation de l'efferocytose par les MA différenciés in vitro et in vivo à partir de modèles expérimentaux chez les rongeurs exposés aux fibres d'amiante.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Nous proposons de manière originale que l'accumulation des cellules apoptotiques dans les tissus endommagés par les fibres toxiques et la nécrose secondaire pro-inflammatoire qui en découle, s'explique par le fait que le processus d'efferocytose des MA est affecté par les fibres elle-mêmes. Des résultats préliminaires obtenus par notre équipe montrent que l'exposition de MA humains à la silice cristalline diminue significativement leur capacité d'efferocytose, notamment en altérant la voie de signalisation RhoA-ROCK. Ainsi, nous émettons l'hypothèse que les fibres d'amiante, et en particulier les FCA, pourraient également altérer les capacités d'efferocytose des MA et ainsi participer au développement de l'inflammation chronique car 1) il existe des similitudes entre les effets de la silice cristalline et des fibres d'amiante (activation de l'inflammasome NALP3, fibrose et cancer pulmonaire); 2) des médiateurs inflammatoires connus pour réprimer la capacité d'efferocytose des MA comme

l'alarmine HMGB1 et l'ostéopontine représentent des biomarqueurs de diagnostic de la fibrose et du mésothéliome induit par l'amiante; et 3) des d'auto-anticorps anti-nucléaires résultant du processus de nécrose secondaire sont retrouvées chez des personnes exposées à l'amiante.

Argumentation du choix des questions

Notre projet, en lien avec la question 2 du champ « Fibres minérales » et avec la question 3 du champ d'action « Air », contribuera à caractériser les effets immunotoxiques des FCA, qui sont très peu connus. La dérégulation de l'efferocytose, essentielle à l'homéostasie tissulaire, par les FCA pourrait expliquer les effets auto-immuns et pro-fibrosant des fibres d'amiante mais aussi de manière plus générale des polluants particulaires.

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet, d'une durée de 24 mois comprendra 4 principaux work-packages (WP).

Les FCA et FLA dont les caractéristiques physicochimiques sont connues, seront gracieusement obtenues auprès de F.Turci (Université de Turin).

WP1 : Evaluation de la toxicité des fibres d'amiante et leurs effets sur la réponse inflammatoire et la polarisation de MA humains par cytométrie en flux (CMF) (P1, M1-5).

WP2 : Evaluation in vitro de la capacité d'efferocytose (CMF) des MA dérivés de monocytes

WP2.1 : d'individus sains: les MA seront exposés in vitro aux FCA et FLA (P1, M5-12)

WP2.2 : d'individus ayant été exposés professionnellement à des fibres d'amiante avec caractérisation de leurs expositions par questionnaires standardisés, et expertise secondaire des cursus laboris. Une trentaine de patients pourrait être inclus dans cette étude (P3). Des mesures de paramètres biologiques seront réalisées dans le cadre de leur suivi médical et, des dosages sériques de marqueurs de l'inflammation, des alarmines et de l'ostéopontine seront réalisés par ELISA. La présence de marqueurs de l'auto-immunité sera également recherchée (P1 : M4-23).

WP3 : Nous déterminerons la capacité d'efferocytose de MA, provenant des poumons et de la cavité péritonéale, de rongeurs traités aux fibres d'amiante (modèles de fibrose pulmonaire et mésothéliome péritonéal induit par l'injection de fibres chez la souris et le rat). Nous analyserons la présence de MA de type inflammatoire, d'HMGB1, d'ostéopontine et d'auto-anticorps après exposition aux fibres d'amiante. (P2, M3-12)

WP4. Etude des mécanismes d'action impliqués dans les altérations phénotypiques et fonctionnelles des MA exposés aux fibres d'amiante. Si les fibres d'amiante diminuent l'efferocytose, nous étudierons les mécanismes impliqués notamment en explorant la voie de signalisation RhoA-ROCK à l'aide d'inhibiteur pharmacologique à la fois in vitro (P1, mois 13-23) et in vivo et aussi en utilisant des souris déficientes pour l'ostéopontine ou des anticorps bloquant HMGB1 (P2, M13-23).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHU Rennes, Centre de Consultations de Pathologie Professionnelle et Environnementales

Responsable de l'équipe : M. Christophe Paris

Equipe 2 : Université catholique de Louvain, LTAP - UCL – Bruxelles, Belgique

Responsable de l'équipe : M. François Huaux

Equipe 3 : UMR INSERM 1085- IRSET, Faculté de pharmacie - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Lecureur

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 134 940 € TTC

Résumé MADONNA - 2018_1_199

Responsable scientifique : M. Jean-Baptiste Fini

Organisme : Muséum national d'Histoire naturelle, UMR7221CNRS/USM501 - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

IMpAct d'une mixture de molécules chimiques sur la Différenciation en Oligodendrocytes des cellules souches Neurales : lieN avec la sclérose en plaques

2. Questions à la recherche

ACHIM 6 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition chronique

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Depuis une trentaine d'années, il y a une augmentation inexplicée de l'incidence de la Sclérose en plaques (SEP) (Grimaldi et al, 2007), maladie neurodégénérative caractérisée par une démyélinisation focale et disséminée des axones. Dans le système nerveux central, la myélinisation est assurée par les oligodendrocytes, qui comme les neurones, sont produits au cours du développement et à l'âge adulte. Chez l'adulte, ces cellules sont générées à partir des cellules souches neurales adultes (CSN) localisées au sein de zones neurogéniques. Les hormones thyroïdiennes (HT) favorisent l'engagement des CSN vers un destin neuronal (Lopez-Juares 2012), alors que des mécanismes bloquant leur action, sont nécessaires pour la génération des précurseurs des oligodendrocytes à partir des CSN (Remaud et al 2017).

Parallèlement à la prévalence croissante de la SEP, il y a eu une augmentation spectaculaire de la quantité et de la diversité des produits chimiques commercialisés dans notre environnement (UNEP 2012). L'exposition chimique a atteint un point tel que des dizaines de molécules artificielles différentes se retrouvent dans le sang, l'urine voire le liquide amniotique des personnes prélevées (Woodruff 2011). Des centaines de ces produits chimiques ont été identifiés comme de potentiels perturbateurs endocriniens (PE), capables de mimer ou d'empêcher les actions physiologiques médiées par les différentes hormones et en particulier celles des HT. Dans l'un de nos modèles, l'embryon de xénope, nous avons récemment montré qu'un mélange de produits chimiques communs trouvés chez l'Homme affecte le ratio neurone/glie lors du développement (Fini et al., 2017). De plus, beaucoup de PE de ce mélange affectent la signalisation thyroïdienne (11 produits sur 15) et pourraient avoir un impact significatif sur la neurogenèse adulte, similaire à leur impact sur le développement embryonnaire chez le Xénope (Fini et al., 2017).

MADONNA testera l'hypothèse selon laquelle l'exposition chimique actuelle influence la détermination des CSN et la différenciation et la maturation des oligodendrocytes et ce, dans le cerveau en développement et chez l'adulte. Si un tel lien entre PEs et détermination gliale est démontré, à l'échelle moléculaire, cellulaire et d'organismes entiers, nos résultats pourraient non seulement contribuer à expliquer la prévalence accrue de la SEP, mais également conduire à une prise de décision de santé

publique, ainsi que stimuler les pistes thérapeutiques à l'aide de biomarqueurs pour lutter contre la progression de l'incidence de la maladie.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'hypothèse de MADONNA est distincte de celle des autres projets internationaux et nationaux traitant de la sclérose en plaques car :

- L'hypothèse centrale testée, à savoir que l'exposition généralisée aux mélanges de PE constituerait une composante environnementale non négligeable à l'augmentation croissante de l'incidence de la SEP, est une hypothèse de travail originale, non étudiée à ce jour.

- L'étude est basée sur trois séries de résultats sur des domaines de recherche distincts publiés en 2017 (Remaud neurosphères cellules souches adultes , Fini PE système nerveux et Mannoui impact de produits sur la remyélinisation spontanée).

- Bien que certaines recherches publiées ont identifié l'impact d'un PE isolé (BPA) sur la susceptibilité à développer la sclérose en plaques (Rogers 2017), aucun travail n'est actuellement effectué sur le rôle des mélanges aux concentrations retrouvées chez l'homme.

- De plus la combinaison d'approches in vitro et in vivo, menées dans deux groupes de vertébrés, permettra d'aboutir à une perspective comparative et évolutive de l'action des PE sur le développement des oligodendrocytes.

Argumentation du choix des questions

MADONNA permettra d'étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires altérés par des mélanges de perturbateurs endocriniens sur les cellules souches neurales. (ACHIM 10.2)

Des modèles in vivo et in vitro (dont les études transcriptomiques) sur deux espèces de vertébrés permettront de développer des biomarqueurs d'exposition et d'effets d'un cocktail de produits courants (ACHIM 6 et 10.3)

Description des méthodes mises en œuvre

Trois grandes séries d'expériences seront effectuées:

1)Année 1 et 2. Des cultures de neurosphères à partir de cellules souches neurales chez la souris adulte (Remaud et al 2017) seront utilisées pour étudier l'impact d'un mélange de divers produits chimiques de type perturbateurs thyroïdiens sur la détermination oligodendrocytaire. Cela permettra une étude des mécanismes cellulaires et moléculaires de leur impact sur (i) le choix du destin neurone/glie des CSNs adultes, (ii) la différenciation des oligodendrocytes et ce, par des techniques d'immunohistochimie (IHC) et de tri cellulaire (FACS).

2) Année 1 et 2. Nous utiliserons un modèle amphibien in vivo (la lignée de Xénope transgénique mbpGFP-NTR (Kaya et al 2012) pour étudier l'impact d'une exposition à ce mélange sur la mise en place de la myélinisation lors de l'embryogenèse mais également sur la dynamique de remyélinisation à l'âge adulte. Cette lignée a le double avantage d'exprimer (i) la GFP dans les oligodendrocytes et (ii) une enzyme qui permet une induction de l'apoptose spécifique des oligodendrocytes. De plus les cellules étant marquées elles peuvent être triées par FACS.

3) Année 3. une analyse transcriptomique des cellules gliales chez les deux modèles de vertébrés (neurosphères chez la souris et oligodendrocytes isolés dans le cerveau de xénope).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Muséum national d'Histoire naturelle, UMR7221CNRS/USM501 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean-Baptiste Fini

Equipe 2 : Université Pierre et Marie Curie, GH Pitié-Salpêtrière, ICM - Paris

Responsable de l'équipe : M. Bernard Zalc

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 193 893 € TTC

Résumé MASSIVE ATTACK - 2018_1_076

Responsable scientifique : M. Frédéric Chalmel

Organisme : Inserm U1085-Irset, Campus de Beaulieu - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Signatures métabolomiques et transcriptomiques à grande échelle : vers une intégration massive pour l'évaluation des risques

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

AIRR 5 - Etude des effets des cumuls d'exposition et développement d'indicateurs correspondants (air intérieur, polluants atmosphériques, ...)

3. Résumé

Objectif détaillé

MASSIVE ATTACK ambitionne de développer des approches innovantes in vitro/in silico combinant des signatures transcriptomiques et métabolomiques non-ciblées pour améliorer la classification de composés chimiques et la prédiction de leur toxicité. Ces méthodologies seront appliquées pour identifier des indicateurs toxicologiques pour l'étude des composés organiques semi-volatils (COSV) de l'habitat. Des études récentes ont déjà contribué à détecter 58 COSV présents dans plus de 10 % des logements français^{1,2,3} et à connaître leurs proportions relatives en terme d'exposition⁴. L'objectif est à présent d'étudier plus précisément les mécanismes de perturbation endocrinienne de ces molécules en combinant criblage systématique in vitro sur des lignées humaines avec des technologies de transcriptomique et métabolomique non-ciblée. Les données générées seront analysées par des approches prédictives et des modèles systémiques mises en place dans le projet ChemPSy (étude de faisabilité financée par PNR EST 2013) qui a démontré que l'intégration massive de données toxicogénomiques permettait de classer des substances chimiques et de prédire efficacement leur(s) effet(s) toxique(s) sur la base des gènes dont ils affectent l'expression. Ce travail a été valorisé par quatre publications et le développement de quatre outils pour la communauté scientifique parmi lesquelles : The ReproGenomics Viewer⁵ et TOXslgN (<http://toxsign.genouest.org>), un outil web multi-espèce de dépôt et de comparaison de signatures toxicogénomiques hébergeant les méthodes prédictives développées (Darde et al., en révision favorable).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce programme innovant de toxicologie prédictive constitue donc l'un des premiers à proposer une classification de composés chimiques sur la base d'approches bio-informatiques combinant à la fois des données toxicogénomiques et métabolomiques, et sur la base de données réelles d'exposition.

Argumentation du choix des questions

Nombre des COSV détectés dans les logements français sont déjà suspectés d'être des perturbateurs endocriniens. Les données métabolomiques et toxicogénomiques générées pour les COSV seront déterminantes pour l'évaluation des risques et pour envisager de les étudier ultérieurement en mélange (choix des substances à considérer ensemble, identification de leurs toxicités relatives).

Description des méthodes mises en œuvre

Travaux préliminaires - Ce projet s'appuie sur les méthodologies développées dans ChemPSy disponibles via TOXsIgN. De même, la liste des 58 COSV est déjà établie^{1,2,3} et les concentrations à tester ont été choisies sur la base des travaux en cours sur l'estimation des expositions de la population française⁴. Enfin, les premiers tests in vitro afin de déterminer la première dose non-cytotoxique des 58 molécules individuelles dans 8 lignées cellulaires humaines ont déjà été réalisés sur la plateforme ImPACcell.

Tâche 0 – Coordination et pilotage du projet (trim. 1-12).

Tâche 1 - Criblage in vitro systématique 1 (T1-2). Des cellules adrénocorticales humaines exprimant les enzymes de la stéroïdogénèse (lignée NCI-H295R) seront exposées pendant 48h, en triplicat (norme OCDE) aux 58 COSV (plateforme ImPACcell) à 6 doses non-cytotoxiques.

Tâche 2 - Analyses métabolomiques (T1-3). Les milieux de culture seront analysés au LERES (IRSET) sur une chromatographie liquide liée à un spectromètre de masse à haute résolution temps de vol (UHPLC-QTOF).

Tâche 3 – Modélisation dose-réponse (T4-5). Les données métabolomiques de stéroïdogénèse seront modélisées pour estimer les concentrations effectives (CE)^{6,7}, notamment CE50, de chaque COSV. Celles-ci permettront d'identifier la toxicité relative des COSV au regard de la réponse endocrinienne.

Tâche 4 - Criblage in vitro systématique 2 (T5-6). La lignée NCI-H295R sera exposée aux COSV à leur CE50 (tâche 3).

Tâche 5 – Identification des signatures métabolomiques et toxicogénomiques (T6-9). Les milieux de culture seront prélevés pour l'analyse métabolomique et les ARNs des cellules seront extraits et séquencés par une approche transcriptomique de type DGE-seq (Digital Gene Expression sequencing). Les signatures toxicogénomiques des COSV seront identifiées et comparées à celles déjà disponibles dans TOXsIgN afin d'étudier leurs mécanismes d'action.

Tâche 6 – Evaluation des performances de prédiction des effets toxicologiques de la nouvelle version de ChemPSy (T9-12). Les outils développés dans le projet ChemPSy seront mis à jour afin que la classification des composés tienne compte des signatures toxicogénomiques et métabolomiques.

Tâche 7 - Modélisation systémique in silico de la perturbation endocrinienne (T4-11). Les données métabolomiques seront utilisées pour évaluer et adapter des modèles quantitatifs informatiques de la perturbation de la stéroïdogénèse^{8,9}.

Tâche 8 – Mise en perspective des enseignements tirés en terme de méthodologies d'évaluation des risques cumulées (T9-12).

Références

- 1 Mandin 2013 EHP
- 2 Blanchard 2014 EST
- 3 Mandin 2016 Atmosph Env
- 4 Pelletier 2017 Environ Int
- 5 Darde 2015 NAR
- 6 Slob 2002 Tox Sci
- 7 Fournier 2016 RTP
- 8 Breen 2010 EHP
- 9 Saito 2016 J Toxicol

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1085-Irset, Campus de Beaulieu - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Chalmel

Equipe 2 : Université de Rennes 1, Inserm UMR 991 IFR140/INSERM U991

Responsable de l'équipe : M. Rémy Le Guével

Equipe 3 : EHESP - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Arthur David

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 202 436 € TTC

Résumé *MULTIASTHMANET* - 2018_1_055

Responsable scientifique : Mme Raphaëlle Varraso

Organisme : Inserm U1168 - Villejuif

1. Titre

Projet complet

36 mois

Clarifier les interrelations entre l'asthme et ses multiples déterminants dans l'étude NutriNet-Santé

2. Questions à la recherche

AIRR 5 - Etude des effets des cumuls d'exposition et développement d'indicateurs correspondants (air intérieur, polluants atmosphériques, ...)

SHS 4 - Facteurs d'inégalités d'expositions aux risques environnementaux et sanitaires

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif principal du projet est de réaliser une analyse intégrée basée sur l'étude simultanée de plusieurs déterminants environnementaux, comportementaux et sociaux de l'incidence et de l'évolution du contrôle de l'asthme, avec trois objectifs spécifiques :

1. étudier les interrelations entre plusieurs déterminants environnementaux et l'asthme
2. étudier les interrelations entre plusieurs déterminants comportementaux et l'asthme
3. étudier le rôle de médiation de ces déterminants environnementaux et comportementaux dans l'association entre le niveau socio-économique (NSE) et l'asthme.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'asthme, maladie complexe et hétérogène, concerne 340 millions de personnes dans le monde (GBD 2017). Les connaissances actuelles sur les déterminants de la maladie n'ont pas permis la mise en œuvre de mesure de prévention efficace (Pavord ID 2017). Le maintien du contrôle de l'asthme, objectif principal de la prise en charge de la maladie dans les recommandations internationales, n'est pourtant pas atteint chez 40 à 50% des patients (Braido F 2016).

L'augmentation de la prévalence de l'asthme au cours des 40 dernières années dans la plupart des pays industrialisés a soulevé l'importance du rôle de facteurs environnementaux et comportementaux ayant changé durant cette période (Beasley R 2015). L'urbanisation a entraîné des modifications majeures tant au niveau des expositions environnementales (expositions aux animaux de ferme, allergènes, tabagisme passif, pollution de l'air extérieur et intérieur, produits de nettoyage, expositions professionnelles, ...) qu'au niveau des habitudes de vie. De plus, il est maintenant reconnu que ces expositions ou ces « choix » de comportements ne dépendent pas de la responsabilité individuelle mais sont largement influencés par des déterminants sociaux (Marmot M 2015), qui peuvent être évalués soit au niveau individuel soit par le contexte social de résidence.

Malgré la multiplicité des déterminants de l'asthme, les études épidémiologiques portent généralement sur l'étude d'un seul déterminant, sans analyse des effets de cumuls d'exposition. Peu de travaux ont été conduits pour évaluer la contribution de l'environnement aux inégalités sociales de l'asthme (justice environnementale). Afin de mieux refléter la réalité, de nouvelles approches épidémiologiques considérant simultanément plusieurs déterminants sont indispensables pour une meilleure compréhension de l'incidence de l'asthme (prévention primaire) et de l'évolution du contrôle de la maladie (prévention secondaire).

Argumentation du choix des questions

- SHS4 : notre projet permettra d'évaluer la contribution des risques environnementaux aux inégalités sociales de l'asthme, en prenant en compte les contextes urbains et régionaux dans la mesure des inégalités socio-environnementales.

- AIRR5 : notre approche intégrée permettra de clarifier le rôle du cumul d'exposition (environnementales et comportementales), selon le NSE et/ou le contexte social de résidence, sur l'évolution de la santé respiratoire.

Ce projet interdisciplinaire aura des implications en termes de prévention primaire et secondaire, et pourrait permettre de réduire les inégalités de santé.

Description des méthodes mises en œuvre

POPULATION : Le projet est basé sur la cohorte Nutrinet-Santé pour laquelle de nombreuses informations sont déjà recueillies, notamment sur les facteurs comportementaux.

DETERMINANTS ENVIRONNEMENTAUX [2019] : Ce projet prévoit de caractériser finement les expositions à différents facteurs largement suspectés dans l'asthme : la vie à la ferme durant l'enfance (données individuelles et contextuelles), le tabac passif (questionnaire), l'exposition à long terme à la pollution atmosphérique (PM2.5, PM10, NO2, O3), la pollution de l'air intérieur (questionnaire), et les expositions domestiques aux produits de nettoyage (questionnaire et application Smartphone). Les expositions professionnelles seront recueillies dans le contexte du projet DEP-Asthma (financement Anses, PI : C Paris).

DETERMINANTS SOCIO-ENVIRONNEMENTAUX [2019] : Le NSE sera caractérisé au niveau individuel par questionnaire (niveau d'études) et au niveau contextuel de résidence par des indices de défaveur sociale et des indices d'environnement construit à l'échelle des Ilots Regroupés pour l'Information Statistique.

CARACTERISATION DE L'ASTHME [2019-2020] : En 2016, 40152 participants ont complété un questionnaire validé sur la santé respiratoire. Afin d'évaluer l'évolution des caractéristiques cliniques de l'asthme, les participants seront invités à répondre à deux questionnaires de suivi.

ANALYSES EPIDEMIOLOGIQUES [2020-2021] : Les analyses porteront sur l'étude : 1) des interrelations des déterminants environnementaux (indicateurs multi-expositions) sur l'asthme (incidence, évolution du contrôle) en utilisant des méthodes statistiques pour données corrélées (analyse de réseaux ; Patel CJ 2015) ; 2) des effets conjoints et indépendants des déterminants comportementaux sur l'asthme en utilisant des méthodes statistiques pour traiter la confusion dépendant du temps (Robins JM 2000) ; 3) du rôle de médiation des facteurs environnementaux et comportementaux dans l'association entre NSE et asthme, en utilisant des modèles de médiation dans le contexte contrefactuel (VanderWeele TJ 2017).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1168 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Raphaëlle Varraso

Equipe 2 : Inserm, Institut Albert Bonniot, Inserm/UJF U823 - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Siroux

Equipe 3 : UFR SMBH, Université Paris 13, Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle - Bobigny

Responsable de l'équipe : Mme Pilar Galan

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 238 447 € TTC

Résumé NEAR 5G - 2018_2 RF_007

Responsable scientifique : M. Maxim Zhadobov

Organisme : Université de Rennes 1, IETR - UMR CNRS 6164 - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evaluation réaliste de l'exposition des adultes et des enfants en champ proche en bande V pour les applications 5G

2. Questions à la recherche

RFES 4.2 - Recherche sur l'exposition réelle des enfants aux radiofréquences en situation d'usage des dispositifs radioélectriques (tablettes, téléphones, etc.)

3. Résumé

Objectif détaillé

By 2020, 5G networks will exploit, in addition to microwave bands, the wide bands available at millimeter waves (MMW), including V-band around 60 GHz. Operating powers of user terminals (e.g. smartphones) that may reach several hundreds of mW may locally result in very high exposure levels under near-field exposure conditions due to localized absorption at MMW, potentially exceeding exposure limits. Current exposure guidelines do not provide any clear recommendation for near-field exposure assessment at MMW. Proposing solutions for accurate exposure assessment in the forthcoming 5G near-field scenarios is of uppermost importance to assess potential overexposure risks that might be related the mass deployment of the MMW systems. To the best of our knowledge, the only existing solution for electromagnetic (EM) dosimetry in V-band is the field probe for free-space measurements recently introduced by SPEAG. However, in this solution, only the field radiated by a transceiver in free-space is measured without accounting for presence of a user (i.e. human body) that can dramatically increase local exposure levels in particular in the near-field (the highest exposure is expected when the user terminal is held by user hand close to head).

In this project, we will address the open questions related to accurate near-field dosimetry in realistic 5G exposure scenarios, in particular in case of children. The main objectives of the project are treefold:

1. To model EM field and temperature distributions at cellular level in the V band in order to gain insight into local micro- and submm-scale phenomena occurring during exposure of the human body to MMW.

2. To asses exposure of children to MMW. It was clearly demonstrated at lower microwave frequencies that the exposure levels can be exceeded in children even if they are not exceeded in adults. Our results will clarify in a quantitative way whether this may happen at MMW as well, in real 5G use cases.

3. To develop the first near-field dosimetry system and associated methodology accounting for the potential increase of exposure levels due to presence of human body. This makes the exposure assesment much more realistic and relevant, and therefore more accurate compared to existing free-space measurement solutions.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

The main novelty of the project consists in paving the way towards better understanding and developing new methodology for highly-accurate realistic assessment of exposure levels in emerging 5G near-field exposure scenarios in the V band. For the first time, child exposures will be studied at MMW.

The numerical and experimental developments performed in the frame of this project will move French research to the forefront in the field of MMW dosimetry.

Argumentation du choix des questions

This project is mainly related to the question "RFES 4 - Caractérisation des expositions" and will substantially contribute to realistic assessment of exposure to new V-band wireless communication systems. It will clarify whether the current MMW exposure limits are protective for children in realistic 5G use cases. Micro- and submm-scale dosimetry will also contribute to "RFES 1 - Recherche de mécanismes d'action des radiofréquences au niveau cellulaire".

Description des méthodes mises en œuvre

The project requires expertise in numerical modeling, MMW measurements and system design, and biology. Our consortium possesses these complementary expertise - this will ensure the feasibility and scientific quality of the project. It is divided in three complementary tasks.

Task 1. Micro- and submm-scale dosimetry in near-surface body layers [M1] – [M18]

1.1. Definition of high-resolution geometrical, EM and thermal models of human skin and subcutaneous layers.

1.2. Micro-scale EM analysis of dissipated power in numerical models of increasing complexity using generic V-band antenna modules.

1.3. Analysis of resulting local heating under near-field exposure conditions.

Task 2. Comparative study of exposure of children and adults [M6] – [M24]

2.1. Elaboration of a new methodology for numerical exposure assessment in realistic near-field scenarios for direct comparison with exposure limits in terms of incident power density.

2.2. Design specific high-resolution models of child skin accounting for morphological and free water concentration differences compared to adults.

2.3. Assessment of exposure levels in representative 5G use cases depending on age.

Task 3. Dosimetry system for near-field measurement of exposure levels accounting for presence of human body [M16] – [M36]

3.1. Design the first near-field dosimetry system in V band accounting for possible increase of exposure levels due to presence of human body. It is based on the concept of solid surface phantoms recently proposed by our group [1].

3.2. Numerical analysis and calibration of dosimetry system.

3.3. Fabrication of a proof-of-concept prototype and experimental validation.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes 1, IETR - UMR CNRS 6164 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Maxim Zhadobov

Equipe 2 : Université de Rennes 1, IRSET Inserm U1085, Equipe TrEC

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 190 661 € TTC

Résumé OccRF-Health - 2018_2 RF_035

Responsable scientifique : M. Francisco Javier Vila-Rodriguez

Organisme : ISGlobal PRBB – Barcelona, Espagne

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets sanitaires des expositions professionnelles aux RF – estimation de l'exposition et évaluation des effets possibles chez les travailleurs et leurs enfants

2. Questions à la recherche

RFES 2.2 - Études épidémiologiques⁹ sur les effets possibles des radiofréquences sur la santé, notamment : les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives, les rythmes circadiens et les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil liées aux radiofréquences. On s'intéressera particulièrement aux populations potentiellement les plus vulnérables aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes, femmes enceintes, sujets âgés) ou particulièrement exposées (travailleurs)

3. Résumé

Objectif détaillé

The overall objectives of the project are to derive a validated radiofrequency (RF) job-exposure matrix (JEM) for epidemiological studies and use it to assess the impact of occupational RF exposure on health.

To achieve these, we have the following operating objectives:

- Build upon a recent preliminary RF-JEM constructed within the EC-funded GERoNiMO project, measuring RF occupational exposure of workers in France, Spain and the Netherlands to validate/complement the current JEM estimates;
- Link the resulting JEM to occupational histories of participants from French and Dutch epidemiological studies and from the international INTEROCC case-control study, to derive individual estimates of occupational RF exposure;
- Evaluate the association between JEM-based estimates of RF exposure and health outcomes in these studies (cancer, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, sleep and well-being among workers and pregnancy and developmental outcomes in their offspring).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Estimation of occupational RF exposure in epidemiological studies is challenging. It has generally been based on expert judgements, with little/no quantitative information on exposure. Interpretation of study results is difficult and evidence of health effects to date is inadequate (4). In INTEROCC, a detailed source-based questionnaire was administered to identify participants occupationally exposed to RF and quantify their exposures. This, together with a Source-Exposure-Matrix (SEM) developed in GERoNiMO (1), allowed individual estimation of RF exposure for all participants and the study of the relation between RF and brain tumour risk (5).

Few epidemiological studies collect information on exposure sources in the workplace, but they usually collect participants' occupational histories. The development and validation of a comprehensive RF-JEM would be a novel and important asset to improve RF exposure estimation in epidemiology. Having developed the SEM and constructed a preliminary quantitative RF-JEM in GERoNiMO, we are uniquely placed to develop a comprehensive and validated RF-JEM.

Our access in France, the Netherlands and internationally to epidemiological studies of cancer, cardiovascular diseases, cognitive effects and sleep and well-being among workers, and pregnancy outcomes and development in their offspring places us in a unique position to 1) apply the JEM to estimate exposure in these studies; and 2) conduct analyses of the association between RF occupational exposure and the studied outcomes.

Argumentation du choix des questions

Our proposal directly addresses the question «Recherche d'effets [...] sanitaires des RF - Études épidémiologiques sur les effets possibles sur la santé, notamment: les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives [...] modifications physiologiques du sommeil» since our ultimate objective is to study the possible effects of RF exposure on these outcomes among workers («population particulièrement exposée») and their offspring. By developing, validating and applying the JEM to existing studies and making it widely available, we will greatly improve knowledge of potential health effects of RF

Description des méthodes mises en œuvre

The project will be conducted by 3 teams with complementary expertise and data in RF epidemiology and exposure assessment.

Months 0-6

Workplaces will be identified, contacted and informed about the study. Recruitment will be facilitated by major occupational health and safety consultancies. Selection of occupations will be based on available levels of exposure intensity and prevalence.

Months 7-18

RF personal meters (RadMan TX), specifically designed for measuring occupational exposures, will be leased for the time required to obtain the measurements. These meters cover a wide range of frequencies (a few MHz to several GHz), and detect electric and magnetic fields.

Measurement surveys will be carried out in parallel in the 3 countries to improve the representativity and validity of the data (several working days in the same and different workers to assess between-subject and within-subject variability). In each country, 400 measurements will be collected over one year. This will result in a total of 1200 measurements. The survey will allow validating exposure for all highly exposed (>90th centile) occupations in the current JEM (n=23), and as many occupations as possible within the middle (50-90th centile) (n=92) and low exposure (<50th centile) (n=116) levels, as well as 100 non-exposed jobs.

Months 18-24

The measurement data and estimates of prevalence and frequency of RF exposure will be used to calibrate/validate the current JEM and construct an improved and more comprehensive RF-JEM offered for use to epidemiologists within and outside the project.

Months 25-36

The use of the JEM in different epidemiological studies (ELFE, EIPAGE2, Constance and CERENAT in France, LIFEWORK in the Netherlands, INTEROCC...) will be considered and performed. Analyses of the association between RF exposure and the different outcomes will be conducted in parallel between the countries.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : ISGlobal PRBB - Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : M. Francisco Javier Vila-Rodriguez

Equipe 2 : ISPED - EA3672 Institut de Santé Publique, d'Epidémiologie et de Développement - Bordeaux

Responsable de l'équipe : Mme Ghislaine Bouvier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 963 € TTC

Résumé Operas - 2018_1_106

Responsable scientifique : M. Roel Vermeulen

Organisme : IRAS, Universiteit Utrecht, Division Environmental Epidemiology – Utrecht, Pays-Bas

1. Titre

Projet complet

24 mois

Evaluation de l'exposition professionnelle des grandes cohortes - un cas pour les codages d'emplois automatiques

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Etudes des impacts des expositions à des risques chimiques en milieu de travail notamment les impacts des multi-expositions ou des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...)

ACHIM 5 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques en population générale pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement), aux perturbateurs endocriniens (uniquement en milieu professionnel)

3. Résumé

Objectif détaillé

Paid occupation and employment is an essential component of adult life and a major determinant of health and healthy ageing. Occupational exposures are related to a significant proportion of diseases in adults including e.g. cancer, musculoskeletal diseases or cardiorespiratory diseases. Cohorts are rich resources for obtaining a detailed understanding if and how occupational determinants influence the onset and evolution of disease. Europe currently has some of the most valuable occupational, industrial, and population cohorts worldwide. Although large occupational exposure databases and job exposure matrices (JEMs) exist that could be used to assign exposures to occupations, their use has remained limited because of the time-intensive work necessary to link such exposure data to individual occupational histories of cohort participants. A particular problem is the fact that information of occupational histories is usually provided as free-text entry, which means that the information cannot be easily translated into a usable format.

Once standardised and validated methods exist to translate such free text information into usable formats (i.e. standardised occupational coding systems), they allow for the evaluation of many different types of exposures (e.g. chemical exposures such as benzene, or physical exposures such as extremely-low-frequency magnetic fields or electric shocks) on workers' health. The partners collaborate within two large ongoing European cohort studies: The French CONSTANCES cohort with >110,000 participants, and Lifeworks with about 90,000 participants. Once the participants' occupational histories have been coded, they can be used to evaluate a range of health effects from occupational exposures, such as cancer, mortality, but also e.g. well-being, symptoms or musculoskeletal disorders. Furthermore, it provides the opportunity to derive population based estimates of occupational exposure aiding the estimation of occupational burden of disease in the French and Dutch population. The inclusion of the two prospective cohorts provide also the opportunity for rapid replication of epidemiological results. The suggested project thus represents a toolbox that could be used for a range of studies evaluating health effects from occupational exposures.

The aim of this project is to

1) Develop algorithms to automatically code free-text entries of job titles, tasks and industries into international standard classification of occupations (ISCO) and industries (ISIC/NACE). The free text entries stem from two large ongoing prospective cohorts in France and the Netherlands.

2) Quality of automated coding will subsequently be tested by comparing a sub-sample of hand-coded occupations (the gold standard) with algorithm-derived occupational codes.

3) Based on these evaluations a self-learning algorithm will be developed allowing for continuous improvements of the automatic coding.

4) As a fourth step, we will link both types of occupational codes to existing job exposure matrices that describe occupational exposures. This will be done in order to quantify potential exposure misclassification introduced by automated coding on a multitude of occupational exposures.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Epidemiologists typically collect narrative descriptions of occupational histories because these are less prone than self-reported exposures to recall bias of exposure to a specific hazard. The task of coding these narratives can be daunting and prohibitively time-consuming in some settings. For example, experienced coders could code up to 200 jobs a day (~2500 jobs/month). A project like Constance with 1,000,000 job entries (200,000 subjects with an average 5 job-entries) would take more than 20 years for a single person to categorize the job histories into standard codes. However, advances in information technology may make the task more efficient and reproducible. Recently, automatic coding systems have been developed in the U.S. allowing free-text to be transferred into standardised codes used in the US. In Europe, more frequently used coding systems are ISCO and ISIC codes, but which were not included in the previous approaches. Furthermore, these systems were not adaptive in that they can learn themselves from training and comparison sets.

Argumentation du choix des questions

This project allows to link existing large European cohort studies with available occupational exposure databases and JEMs so that potential effects of these exposures (solely or combined) on health can be evaluated. These are e.g. multiple chemical exposures such as silica or pesticides, biological exposures such as organic dusts or physical exposures such as extremely-low-frequency magnetic field exposures or electric shocks at work.

Description des méthodes mises en œuvre

1) Month 1 - 12: Based on available free text entries of job titles, tasks and industries, we will develop automated algorithms that cluster these texts into classifiers. Subsequently, the classifiers will be applied to the CONSTANCES and Lifework cohort.

2) Month 1 - 12: In parallel to the algorithm development, a subsample of 5000 of the CONSTANCES and Lifework occupational histories will be hand-coded into ISCO and ISIC codes.

3) Month 13 - 18: Evaluate coding success as percentage successful coding on major, sub-major, minor and unit group job titles, comparing automated with hand-coding.

4) Month 13 - 18: In parallel to the above step, derived occupational codes will be linked to available job exposure matrices (for example ALOHA, DOMJEM, Matgene) and obtained exposure profiles will be compared. With this comparison, we will be able to quantify exposure misclassification introduced into epidemiological analyses in the cohorts based on automated coding.

5) Month 13 - 24: Analysis and reporting.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm Unité 1018-Equipe 11 - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Marcel Goldberg

Equipe 2 : Utrecht University Institute for Risk Assessment Sciences – Utrecht, Pays-Bas

Responsable de l'équipe : Mme Anke Huss

Equipe 3 : ACM Digital Library – Utrecht, Pays-Bas

Responsable de l'équipe : M. Egon L. Van Den Broek

Equipe 4 : CHU Angers, Service Pathologie professionnelle - Angers

Responsable de l'équipe : M. Yves Roquelaure

Equipe 5 : National Cancer Institute, Div Cancer Epidemiology & Genetics – Rockville, Etats-Unis

Responsable de l'équipe : Mlle Melissa Friesen

Equipe 6 : Imperial college London, Faculty of Medicine, National Heart & Lung Institute , Population Health & Gene Therapy – London, Grande-Bretagne

Responsable de l'équipe : Mme Sara De Matteis

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 992 € TTC

Résumé PE-Médiateurs - 2018_1_220

Responsable scientifique : M. Nicolas Glaichenhaus

Organisme : CNRS, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire - Valbonne

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Etude des cytokines comme possibles médiateurs des effets délétères des perturbateurs endocriniens sur le comportement de l'enfant

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

3. Résumé

Objectif détaillé

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'exposition à des perturbateurs endocriniens (PEs) pendant la grossesse était associée à des anomalies de croissance (Philippat, 2014, Botton, 2016), à la survenue de problèmes respiratoires (Vernet, 2017) et à des anomalies comportementales de l'enfant (Philippat, 2017). Toutefois, les mécanismes responsables de ces effets, et plus particulièrement des effets sur le comportement, n'ont pas été élucidés. Au moins deux types de mécanismes peuvent être envisagés : un mécanisme direct dans lequel les PEs agiraient directement sur les cellules du système nerveux pendant son développement, et un mécanisme indirect faisant intervenir un ou plusieurs médiateurs.

Les cytokines sont des polypeptides sécrétés par les cellules du système immunitaire et de nombreux autres types cellulaires. Elles comprennent des cytokines pro-inflammatoires (TNF-alpha, IL-6, ...) et des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF-beta,...). Outre leur rôle dans la réponse immunitaire, certaines cytokines peuvent perturber le développement du cerveau pendant la période anténatale. Ainsi, des souris nées de mères dont le système immunitaire a été stimulé pendant la gestation présentent à l'âge adulte des anomalies comportementales rappelant celles observées dans les troubles de spectre autistique (TSA). De même, des études épidémiologiques ont montré que les infections virales pendant la grossesse augmentaient le risque de TSA.

Etant donné 1) les associations observées par le partenaire 3 entre exposition in utero à des PEs et des anomalies comportementales chez l'enfant, 2) les associations observées par le partenaire 1 entre la nature et l'abondance de plusieurs cytokines dans le sérum et des anomalies comportementales chez l'enfant et 3) l'association décrite dans la littérature entre l'exposition à des PEs et des anomalies de la réponse immunitaire chez l'adulte, nous avons émis l'hypothèse que l'impact délétère de l'exposition in utero à des PEs sur le comportement de l'enfant est au moins en partie médié par une ou plusieurs cytokines.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Si l'association entre exposition in utero à des PEs et la survenue d'anomalies comportementales chez l'enfant a été démontrée, il reste à déterminer si les PEs perturbent directement le développement

neuronal, ou agissent indirectement en modifiant l'abondance d'autres molécules telles que les cytokines. Notre étude est à notre connaissance la première sur ce sujet.

Argumentation du choix des questions

Notre projet porte sur le mode d'action des PE pendant deux fenêtres d'exposition critique : la grossesse et l'enfance.

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet est niché dans la cohorte EDEN, une Etude longitudinale sur les Déterminants pré et post natal prénatals précoces du Développement et de la santé de l'Enfant. 2002 femmes enceintes ont été recrutées à la fin du premier trimestre de la grossesse, à Nancy et à Poitiers. Plusieurs échantillons biologiques ont été collectés: urines des femmes enceintes, sérum de sang de cordon, et sérum des enfants de 5 ans.

Mesure de l'exposition aux PE : Le partenaire 3 a analysé les urines de 604 femmes enceintes pour la concentration de 11 métabolites de phthalates et de 9 phénols (Philippat 2017). Ces concentrations, standardisées pour la créatine et pour les conditions de prélèvement, seront mises à disposition du partenaire 1.

Mesure des concentrations de cytokines : Le partenaire 1 a mesuré la concentration de 20 cytokines (IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-15, IL-16, IL-17, CCL2, CCL3, CCL4, CCL11, CCL13, CCL17, CCL22, CCL26, CXCL10, IFN-gamma, TNF-alpha et TNF-beta) dans le sérum de sang de cordon et dans celui des enfants de 5 ans.

Evaluation du comportement de l'enfant : Le comportement de l'enfant à 3 et 5 ans a été évalué sur la base des réponses au "Strength and Difficulties Questionnaires (SDQ) (Goodman 2001).

Analyses statistiques : Les scores SDQ à 3 et 5 ans, les concentrations sériques de 20 cytokines à la naissance et à 5 ans, et les concentrations standardisées de 20 PE dans les urines des femmes enceintes sont disponibles pour un total de 604 paires mères-enfants. Nous effectuerons des analyses de régression utilisant des modèles linéaires généralisés pour étudier l'association entre l'exposition aux PE et les niveaux de cytokines dans le sérum. Nous effectuerons ensuite une analyse statistique de médiation dans le cadre contrefactuel de l'inférence causale, en considérant comme variables dépendantes les scores SDQ et comme variables indépendantes les concentrations de PE dans les urines, et les concentrations de cytokines dans le sérum à la naissance et à 5 ans. Plusieurs facteurs d'ajustement seront pris en compte parmi lesquels le sexe de l'enfant, l'âge et l'indice de masse corporelle de la mère avant la grossesse, la consommation d'alcool et de tabac de la mère pendant la grossesse, les revenus du foyer et les niveaux d'éducation des deux parents. Etant donné le nombre de PE et de cytokines pris en compte, nous utiliserons des méthodes d'ajustement pour tests multiples.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre National de la Recherche Scientifique, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire - Valbonne

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Glaichenhaus

Equipe 2 : Inserm U1209 - La Tronche

Responsable de l'équipe : Mme Claire Philippat

Equipe 3 : - Inserm UMR1153 CRESS, Equipe 6 ORCHAD - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Heude

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé PENDORE - 2018_1_264

Responsable scientifique : Mme Valérie Siroux

Organisme : Inserm, ADR Rhône-Alpes Auvergne, Institut Albert Bonniot - Grenoble

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition précoce aux Perturbateurs ENDOocriniens et santé RESpiratoire : effets cocktail et rôle de mécanismes épigénétiques

2. Questions à la recherche

ACHIM 4 - Étude des effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses des agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) ou perturbateurs endocriniens et/ou en cumuls d'exposition

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet PENDORE est à la croisée des recherches sur les Perturbateurs Endocriniens (PE) chez l'humain et du concept DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease). Il vise à tester l'hypothèse selon laquelle les expositions précoces à des PE affectent la santé respiratoire des enfants, de façon isolée ou en synergie.

Les objectifs sont :

1) Caractériser les associations entre l'exposition prénatale à 3 familles de PE (phénols, phtalates et composés perfluorés, 45 composés parents) et des mesures objectives de la santé respiratoire de l'enfant à 3 ans, y compris par des méthodes permettant d'estimer les effets « cocktail »

2) Identifier des gènes et pathways biologiques différentiellement méthylés selon l'exposition aux PE, pour éclairer la recherche sur les mécanismes d'action de ces composés, voire identifier des biomarqueurs d'effets des PE considérés seuls ou en mélange.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les phénols, phtalates et composés perfluorés font partie des substances chimiques les plus produites dans le monde. La littérature toxicologique suggère qu'ils pourraient affecter le système endocrinien. Certains sont suspectés d'influencer la santé des populations, et notamment de favoriser le développement de symptômes respiratoires chez l'enfant, via leur effets immunomodulateurs et inflammatoires, qui, pour certains composés, pourraient être médiés par des altérations épigénétiques de gènes impliqués dans la différenciation des lymphocytes T auxiliaires Th2 (Jahreis S, 2017). Nous avons rapporté un effet possible de l'exposition prénatale à l'éthylparabène sur la santé respiratoire de l'enfant, première étude à avoir considéré l'effet possible des parabènes sur cet événement (Vernet C, 2017). Les études associant l'exposition prénatale à ces PE à la santé respiratoire de l'enfant sont peu nombreuses et présentent des limitations, tant sur la caractérisation phénotypique (souvent limitée à des questionnaires), que sur l'estimation de l'exposition, reposant généralement sur un unique prélèvement urinaire, entraînant, comme nous l'avons montré, un biais dans la relation dose-réponse pour les substances ayant une variabilité intra-individuelle élevée (Perrier F, 2016). La caractérisation d'éventuelles synergies entre substances est encore balbutiante en épidémiologie, alors que différentes approches statistiques, testées avec nos collègues du projet Européen Helix, ont été proposées (Barrera-Gomez J, 2017).

Au total, les recherches sur l'impact des PE sur la santé respiratoire nécessitent d'être conduites dans des cohortes permettant à la fois :

- des mesures objectives de la santé respiratoire dans les premières années de vie,
- des données précises sur l'exposition à différentes familles de PE sur l'ensemble de la période développementale, ce que permet l'approche de pooling intra-sujet que nous avons développée (Perrier F, 2016) ;
- de générer de nouvelles hypothèses sur les mécanismes d'action de ces composés ; la méthylation de l'ADN dans le tissu placentaire apparaît particulièrement pertinente.

Argumentation du choix des questions

L'objectif 1 (association entre PE, isolés ou en synergie, avec la fonction respiratoire à 3 ans) s'inscrit directement dans les questions ACHIM 4 et ACHIM 10.2.

L'objectif 2 (association entre PE et méthylation) répond aux questions ACHIM 10.2 et 10.3 car il pourrait permettre d'éclairer la recherche sur les mécanismes d'action de ces composés, et d'identifier des biomarqueurs épigénétiques d'effets.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet s'appuie sur le suivi à 3 ans de 400 enfants participant à la cohorte couples-enfant SEPAGES (484 familles recrutées en 2014-17). Si besoin, la cohorte HELIX (1200 enfants) pourra être utilisée pour répliquer.

- Fonction ventilatoire à 3 ans (2018-20) : mesure non invasive de paramètres mécaniques du système respiratoire (résistance et réactance) par la technique des oscillations forcées ; une mesure de la clearance pulmonaire réalisée à 6 semaines et questionnaires respiratoires détaillés.
- Expositions prénatales à 45 composés des familles de phénols, phtalates et composés perfluorés (déjà financé, dosage au NIPH Oslo) : à partir d'échantillons urinaires poolés à chaque trimestre de grossesse et dans la première année de vie de l'enfant et de sang maternel
- Méthylation de l'ADN (déjà financé, 2018) : sur le placenta par la puce Illumina de dernière génération (850 000 sites CpGs). Des données de transcriptome placentaire (séquençage) pourront aussi être utilisées.
- Analyse statistique (2020-21) : face au large nombre de substances étudiées, différentes méthodes de sélection de variables, telle que la méthode DSA dont nous avons montré la supériorité à d'autres méthodes dans le cadre d'une étude « exposome », seront appliquées pour estimer les effets isolés mais aussi synergiques entre substances sur la santé respiratoire (Agier L, 2016; Barrera-Gomez J, 2017). Des modèles "Bayesian profile regression" seront utilisés pour identifier des profils d'exposition (donc l'effet conjoint de plusieurs expositions) et leur impact sur la fonction ventilatoire. Des approches agnostiques (EWAS) puis candidates, en sélectionnant des gènes ou pathways biologiques selon les connaissances actuelles, seront conduites pour identifier les gènes, régions génomiques ou pathways biologiques différentiellement méthylés selon les expositions aux PE.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm, ADR Rhône-Alpes Auvergne Institut, Albert Bonniot - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Siroux

Equipe 2 : Université de Picardie Jules Verne-UFR de Médecine - Amiens

Responsable de l'équipe : M. Sam Bayat

Equipe 3 : Norwegian Institute of Public Health – Oslo, Norvège

Responsable de l'équipe : Mme Cathrine Thomsen

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 189 914 € TTC

Résumé PESTIFAT - 2018_1_313

Responsable scientifique : M. Bernard Fromenty

Organisme : Inserm U1241, Institut NuMeCan, Université de Rennes 1

1. Titre

Projet complet

24 mois

Effets d'une exposition chronique à faible dose d'un cocktail de pesticides sur l'accumulation hépatocytaire de lipides et le métabolisme des xénobiotiques

2. Questions à la recherche

PHYTO 1.2 - Caractériser les expositions de populations vulnérables (enfants, personnes âgées, femmes enceintes, personnes malades) en intégrant leurs spécificités physiologiques ou pathologiques

PHYTO 2.2 - Etudier les effets de santé au sein de populations vulnérables (enfants, personnes âgées, femmes enceintes, personnes malades), en prenant en compte les notions de faible dose, d'exposition chronique et d'association de substances

PHYTO 2.3 - Approfondir, au travers d'une approche par compartiment (sol, eau, air, consommation...) les connaissances sur les questions liées à la rémanence des substances et de leurs produits de dégradation et aux risques pour la santé et pour les écosystèmes

3. Résumé

Objectif détaillé

L'exposition aux pesticides et leurs effets sur la santé humaine est un problème de santé publique majeur. Les effets biologiques et métaboliques de faibles doses quotidiennes à ces cocktails de produits demeurent inconnus et imprévisibles. La plupart des pesticides sont métabolisés au niveau hépatique par les cytochromes P450 (CYPs) et cette biotransformation considérée comme une détoxification peut parfois conduire à une bioactivation et à de nombreuses interactions [1].

Des liens entre exposition aux pesticides et stéatose hépatique ont été récemment mis en évidence. La stéatose hépatique correspond à une accumulation de lipides sous forme de triglycérides. Bien que la stéatose soit à elle seule une lésion bénigne à court terme, elle peut évoluer à long terme vers d'autres formes de maladies parfois sévères, notamment la stéatohépatite, la cirrhose et le cancer. Certains pesticides pourraient de plus aggraver la stéatose liée à l'obésité (NAFLD) ou favoriser la progression de cette lésion en stéatohépatite non alcoolique (NASH). Le profil métabolique des CYPs est de plus altéré dans ces pathologies [2].

Dans le cadre du projet PENICA (CGO), nous étudions les effets d'un cocktail de 7 pesticides parmi les plus rencontrés dans l'alimentation européenne (Chlorpyrifos-Ethyl, Diméthoate, Diazinon, Iprodione, Imazalil, Manèbe, et Mancozèbe ; EFSA Journal 2010) sur la prolifération et la différenciation hépatique de cellules progénitrices. Il avait été mis en évidence récemment que ce cocktail pouvait favoriser une progression tumorale de cellules souches mésenchymateuses.

A notre connaissance, aucune investigation n'a étudié l'impact d'une exposition chronique à un cocktail de pesticides sur l'accumulation de triglycérides ou sur l'aggravation de la NAFLD liée à l'obésité. Notre projet PESTIFAT vise donc à analyser ces effets sur des cellules HepaRG différenciées stéatosées ou non, lors d'une exposition chronique avec ce cocktail ou avec chacune des substances actives (SA). Ainsi, les objectifs du projet visent à répondre à deux questions importantes:

1. Quel est l'impact de ces molécules à faible dose individuellement et en mélange sur l'apparition d'une stéatose ou l'aggravation d'une NAFLD?

2. Quel est l'impact de ces molécules sur le métabolisme des xénobiotiques et en particulier sur l'activité des cytochromes P450 et les cinétiques de disparition des SA du cocktail.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Si quelques études s'intéressent aux effets des mélanges, les effets cocktails chroniques de faible dose sur des modèles pertinents hépatiques sont encore très peu documentés.

Bien que les liens entre exposition aux pesticides et stéatose hépatique soient suspectés, peu d'investigation à ce jour ont étudié l'impact d'un cocktail présent dans notre alimentation dans l'apparition d'une stéatose ou l'aggravation de la NAFLD. Le projet PESTIFAT permettra d'en appréhender les mécanismes d'action.

Dans la mesure où les pesticides agissent sur les enzymes du métabolisme, et en particulier les CYPs, et que celles-ci sont perturbées lors d'une NAFLD, il apparaît évident que la connaissance des cinétiques de disparition des pesticides dans les diverses conditions de culture permettra de mieux comprendre les effets de ces molécules sur le foie.

Ce projet implique des équipes mettant en œuvre des expertises complémentaires : évaluation de la toxicité, mécanismes de la NAFLD, étude du métabolisme et mesure analytique des SA dans différentes matrices (biologique et environnementale).

Argumentation du choix des questions

Cette étude permettra de connaître l'impact d'une exposition chronique du cocktail mais également des pesticides individuellement sur l'accumulation de triglycérides ou l'aggravation d'une NAFLD présente chez les sujets obèses.

Afin de répondre à ces questions, le laboratoire dispose d'un modèle hépatocellulaire métaboliquement compétent: la lignée HepaRG. Ce modèle est à la fois pertinent pour étudier la stéatose induite par les xénobiotiques mais également pour en étudier l'aggravation puisqu'une transposition à la NAFLD humaine a été mise en évidence dans le laboratoire [2]. Des études de cinétiques sur une période de 24 h ont aussi été réalisées au laboratoire après une exposition aiguë et répétées à des médicaments [3].

Description des méthodes mises en œuvre

Tache 1 : Impact des pesticides sur la stéatose

Les cellules HepaRG, stéatosées ou non (par exposition à un mélange d'acides gras) seront exposées pendant 14 jours à de faibles doses, individuellement et en mélange, afin d'en établir les effets cellulaires sur le contenu en triglycérides, les concentrations d'ATP, la formation des espèces réactives de l'oxygène, l'expression de différents marqueurs d'inflammation et la respiration mitochondriale. L'apparition ou l'aggravation de la stéatose seront ainsi évaluées.

Tache 2 : Etude du métabolisme des pesticides

Des cinétiques de disparition des différents pesticides seront réalisées après des expositions uniques et répétées afin de déterminer si une exposition chronique influence l'élimination hépatique de ces molécules. Il en sera de même pour le mélange afin de connaître l'influence des interactions possibles entre les SA. Les mesures de concentrations seront réalisées sur les différents compartiments cellulaires (surnageants et cellules) par chromatographie. Les compétences analytiques du BRGM notamment sur l'analyse des pesticides et leurs métabolites autoriseront le développement ou la validation de méthodes existantes afin de quantifier les SA [4, 5].

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1241, Institut NuMeCan, Université de Rennes 1

Responsable de l'équipe : M. Bernard Fromenty

Equipe 2 : Inserm U1241, Institut NuMeCan, Université de Rennes 1

Responsable de l'équipe : M. Pascal Loyer

Equipe 3 : BRGM - ORLEANS

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Baran

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 943 € TTC

Résumé PolluHealth - 2018_1_075

Responsable scientifique : Mme Sophie Lanone

Organisme : Inserm U955, équipe 4 Faculté de Médecine - Créteil

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets respiratoires d'expositions à des épisodes simulés de pollution atmosphérique

2. Questions à la recherche

AIRR 4 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur)

CCLIM 1.1 - Impacts du changement climatique sur la santé : Impacts directs (conséquences sanitaires immédiates et à long terme de la chaleur et des événements climatiques exceptionnels, en particulier sur les populations vulnérables : épisodes caniculaires, inondations...)

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif général du projet est d'évaluer les effets respiratoires, sur la descendance, d'une exposition maternelle pendant la gestation à la pollution atmosphérique, à travers la génération d'atmosphères réalistes complexes. Plus spécifiquement, notre étude vise à 1/ générer et caractériser 3 types d'atmosphères polluées complexes, simulant celle d'une ville urbaine européenne (i.e. Paris), celle d'une mégapole fortement polluée (i.e. Pékin) et celle d'une "ville méditerranéenne du futur" (intégrant les effets du réchauffement climatique) ; et 2/ évaluer les conséquences respiratoires sur la descendance de l'exposition de souris à ces 3 atmosphères pendant la gestation, en caractérisant en particulier l'autophagie en réponse aux différentes atmosphères, et en évaluant le potentiel oxydant des atmosphères et notamment des aérosols générés.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

La pollution atmosphérique représente un risque environnemental majeur pour la santé. Elle est associée à des atteintes respiratoires, avec diminution de la croissance et de la fonction pulmonaires, ou encore morbidité et/ou mortalité exagérées pour certains patients. De plus la période intra-utérine apparaît comme une fenêtre de vulnérabilité clé.

D'un point de vue mécanistique, les processus biologiques principalement décrits comme sous-jacents aux effets respiratoires de la pollution atmosphérique sont l'induction d'une inflammation et la génération d'un stress oxydant. Des études récentes suggèrent que l'autophagie pourrait représenter un mécanisme à documenter, de par sa capacité à contrôler l'inflammation et le stress oxydant.

Un verrou des études des effets sur la santé de la pollution atmosphérique réside dans l'extrême complexité du mélange atmosphérique ; constitué d'un mélange multiphasique de plusieurs milliers de composés. Dans les zones urbaines, la qualité de l'air est notamment influencée par la proximité du trafic routier, avec comme contributeurs majeurs les oxydes d'azote (NOx) et les particules fines (par ex. PM2,5). Du point de vue de la santé, les constituants de la pollution atmosphérique le plus souvent associés à des effets délétères sont les polluants gazeux (ozone O3, dioxyde soufre SO2, monoxyde de carbone CO, les NOx, les composés organiques volatiles dont le benzène, ...) et les particules (PM). Cependant, la pertinence d'une telle approche basée sur l'étude des composants isolés de la pollution est entamée du fait de l'absence de considération de la synergie suspectée entre les différents constituants de la pollution atmosphérique.

Ainsi, nous proposons une étude originale basée sur le couplage d'une chambre de simulation atmosphérique dédiée à l'étude des processus atmosphériques multiphasiques (CESAM - www.lisa.upec.fr, instrument national CNRS) avec une enceinte d'exposition de souris. Ce montage expérimental est unique en France, en Europe et pour l'instant dans le monde. Il nous permettra d'aborder la question des impacts de la pollution de l'air sur la santé avec une approche particulièrement novatrice.

Argumentation du choix des questions

Notre projet s'inscrit pleinement dans la Question à la recherche "Impacts du changement climatique sur la santé - Climats et mesures de gestion". En effet, les 3 atmosphères prévues ont été choisies comme représentatives de la pollution atmosphérique présente dans une zone urbaine moyennement polluée (Paris), très polluée (Pékin), et une zone urbaine du futur dans un contexte de réchauffement climatique (Méditerranée).

D'autre part, si nous observons un rôle pour l'autophagie dans les effets observés, nous pourrions répondre à la Question "Identification d'indicateurs pertinents - Milieux et contaminations". Nous comptons également évaluer le potentiel oxydant des aérosols générés à la lumière des effets observés, afin de juger du caractère pertinent de ces indicateurs.

Description des méthodes mises en œuvre

Des souris C57/Bl6 gestantes seront exposées (corps entier) quotidiennement pendant toute la durée de la gestation aux différents aérosols générés par le CESAM. Les souriceaux seront étudiés 1 jour avant la délivrance spontanée (GD17,5), à J14 (adolescence) et à l'âge adulte (J60). À chaque temps, les poumons seront prélevés (ainsi que le placenta à GD17,5), et conservés pour analyses biologiques. Une analyse morphologique pulmonaire sera effectuée à J14 et J60, et un lavage broncho-alvéolaire et une analyse de la fonction respiratoire seront effectués sur les souris adultes. À chaque temps, des organes potentiellement cible (rein, foie, cerveau, cœur) seront aussi prélevés.

En ce qui concerne les analyses biologiques, nous focaliserons notre analyse en premier lieu sur les deux événements rapportés comme étant liés à une exposition à la pollution atmosphérique, et potentiellement en lien avec l'autophagie : inflammation et stress oxydant. D'autre part, l'autophagie sera caractérisée grâce à des méthodes statiques et dynamiques.

Le projet est prévu pour 3 ans, avec un plan du travail suivant les objectifs visés : génération et caractérisation des atmosphères (gaz et aérosols), exposition des animaux, et enfin analyse des différents paramètres biologiques et fonctionnels. L'exposition des animaux se fera séquentiellement, la chambre CESAM ne pouvant générer qu'un seul type d'atmosphère à la fois.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U955, équipe 4, Faculté de Médecine- Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Lanone

Equipe 2 : LISA LISA - Campus Centre UPEC - Créteil

Responsable de l'équipe : M. Patrice Coll

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 399 € TTC

Résumé PRECEPT - 2018_1_230

Responsable scientifique : M. Nicolas Venisse

Organisme : Centre d'Investigation Clinique, INSERM 1402, CHU Poitiers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Développement d'un modèle pharmacocinétique à base physiologique pour évaluer l'exposition des femmes enceintes aux dérivés chlorés du bisphénol A (Clx-BPA)

2. Questions à la recherche

ACHIM 7 - Développement de méthodes de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques et en particulier aux CMR

ACHIM 10.3 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement de biomarqueurs d'exposition ou / et d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées

CoEm 1 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition

3. Résumé

Objectif détaillé

Développer un modèle pharmacocinétique (PK) à base physiologique (PB) pour mesurer l'exposition des femmes enceintes aux dérivés chlorés du bisphénol A (Clx-BPA) afin de prédire l'exposition interne pour les principales voies d'exposition. Pour cela, seront conduites des expérimentations préliminaires in vitro (fixation protéique, clairance hépatique, coefficient de partage ...) et in vivo chez le rat pour développer et valider le modèle PBPK chez le rat. L'extrapolation du modèle rat à l'humain sera réalisée et validée grâce à une étude chez le volontaire sain après administration orale et percutanée.

Le modèle PBPK sera extrapolé au cas de la femme enceinte afin de tenir compte des modifications physiologiques survenant au cours de la grossesse et validé avec les données de concentration dans les urines et le lait déjà disponibles des femmes de la cohorte EDDS (Endocrine Disruptors in Deux-Sèvres)

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Le bisphénol A (BPA) est un perturbateur endocrinien bien connu. Lors du traitement de l'eau par chloration, le BPA présent dans l'environnement peut réagir avec le chlore pour former des dérivés chlorés (mono, di, tri et tétrachlorés) ou Clx-BPA (Gallard H et al, Chemosphere 2004). Ces Clx-BPA ont un effet sur les récepteurs estrogéniques jusqu'à 100 fois plus élevé que le BPA (Takemura H et al, Toxicology 2005). Les Clx-BPA sont aussi des ligands des récepteurs PPAR (Riu A et al, Environ Health Perspect 2011). Ils sont essentiellement d'origine hydrique et sont des sous-produits de la chloration de l'eau. Ils sont présents dans les eaux usées et l'eau potable (Fan Z et al, Environ Sci Technol 2013). Ces polluants émergents ont également été retrouvés chez l'Homme, dans l'urine (Liao C, Environ Sci Technol 2012), le colostrum (Migeot V et al, Environ Sci Technol 2013) et le placenta (Jimenez-Diaz I et al, J Chromatogr 2010). La présence de Clx-BPA dans les urines humaines a été associée au diabète de type 2 (Andra SS et al, J Environ Sci Health A 2015), à l'obésité (Andra SS et al, J Environ Sci Health A 2015) et à l'infarctus du myocarde (Venisse N et al IATDMCT congress, 2017, Kyoto, Japan).

Argumentation du choix des questions

-La PK chez l'homme des Clx-BPA n'a jamais été étudiée et aucune donnée animale expliquant les processus déterminant l'exposition interne aux Clx-BPA n'est disponible. L'étude PK chez le volontaire sain est justifiée en raison de l'absence de données in vivo et du caractère préoccupant de ces polluants émergents. Un analogue deutéré du dichloro-bisphénol A (DCBPA) sera administré pour s'affranchir de la contamination endogène. La dose administrée sera 100 fois inférieure à la NOAEL. Les voies orale et percutanée correspondent aux voies d'exposition à ces polluants d'origine hydrique. Les données in vitro et animales préliminaires permettront d'avoir une estimation préalable des paramètres PK chez l'homme. Les paramètres PK humains pour les autres Clx-BPA seront extrapolés.

-L'ensemble des données PK (in vitro et in vivo) sera utilisé pour développer le modèle PB-PK permettant d'estimer la dose interne aux Clx-BPA. Cela constituera une avancée importante dans l'évaluation du risque lié à ces polluants émergents, ayant pour origine l'eau potable.

-Le modèle PB-PK adapté à la femme enceinte sera validé grâce aux données de la cohorte EDDS déjà disponibles: concentrations urinaires, dans le lait/colostrum, dans l'eau du domicile des femmes et questionnaire de consommation d'eau. Cela constituera une avancée importante dans l'évaluation du risque dans cette population particulièrement à risque.

Description des méthodes mises en œuvre

Expérimentation in vitro et animales: 9 mois

Autorisations nécessaires, synthèse et préparation des formes à administrer, publicité pour recrutement, étude PK chez volontaire sain après administration PO (n = 6) et percutanée (n = 6): 9 mois

Mesure des concentrations dans milieux biologiques: 6 mois

Modélisation PB-PK: modèle rat 15 mois, modèle humain 12 mois, adaptation femme enceinte, validation avec données de la cohorte EDDS 9 mois

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre d'Investigation Clinique, INSERM 1402, CHU Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Venisse

Equipe 2 : Ecole de santé publique, Département de Santé environnementale et santé au travail – Montréal, Canada

Responsable de l'équipe : M. Sami Haddad

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé PROMPT - 2018_1_194

Responsable scientifique : M. Guillaume Brotons

Organisme : Université du Maine, IMMM - UMR CNRS 6283 - Le Mans

1. Titre

Projet complet

36 mois

Suivi des polluants microplastiques aux interfaces des milieux biologiques

2. Questions à la recherche

NANO 3 - Ecotoxicologie et toxicologie des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études

NANO 4 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants

CoEm 2 - Cas des microplastiques. Diffusion dans la chaîne alimentaire et le cycle de l'eau

3. Résumé

Objectif détaillé

Plusieurs millions de tonnes de débris plastiques micrométriques, se retrouvent chaque année dans l'eau ou les sédiments. Les études en cours suggèrent une plus grande concentration des "petits" microplastiques (MP < 10 µm) et l'existence de nanoplastiques (NP < 300 nm) dans les eaux océaniques. Par leurs tailles, ils soulèvent de graves préoccupations pour la santé et l'environnement car ils peuvent être ingérés par les organismes aquatiques et s'accumuler dans la chaîne alimentaire animale et humaine. De plus les NP peuvent s'adsorber et/ou traverser certaines membranes biologiques. Malgré le grand nombre de travaux engagés, on constate le manque d'études des mécanismes moléculaires et des interactions bio-colloïdales impliquant les MNP. Ceci provient principalement de: i) leur taille et des signaux faibles associés en analyse et en imagerie; ii) l'absence de quantités suffisantes de particules MNP modèles, contrôlées en taille et forme ; iii) la méconnaissance de la nature chimique des surfaces des MNP une fois dans l'environnement, après formation d'une "corona" issue du milieu et qui affecte drastiquement leurs interactions.

Nous proposons une approche pluridisciplinaire de l'étude de ces interactions :

Tache I Des MNP constitués des principaux plastiques polluants (ex polyéthylène) de tailles entre 0,1 et 5 µm stabilisés par une "corona" de nature biochimique maîtrisée seront préparés en émulsion selon un protocole mis au point. Des milieux protéiques et biomimétiques de complexité différente permettront de comprendre l'évolution des corona.

Tache II Pour relier nature de la corona et propriétés de migration-interaction des MNP, nous développerons une microscopie optique originale (3DVM) permettant le suivi d'une particule unique dans des milieux biologiques modèles (gel protéique greffé, ...) et à l'approche d'une membrane biomimétique supportée.

Tache III. Cette technique pourra se déployer sur des systèmes cellulaires complets (hémocytes d'huître, ...) suivant les conditions d'un test écotoxicologique. En parallèle, des mesures sur l'intégrité membranaire et biologique seront menées suivant différentes natures de MNP-corona.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

- Les particules réalisées (MNP) seront stabilisées par des protéines naturelles attendues. Nous espérons ainsi réaliser des modèles plus représentatifs des conditions environnementales réelles.

- L'approche adoptée pour comprendre les mécanismes encore peu discutés de l'adsorption/désorption des protéines sur les MNP, sera menée avec la volonté de fonder les bases moléculaires de l'entrée des MNP dans le milieu vivant.

- Le suivi de l'interaction de MNP individuelles sera réalisé en fonction de leur corona avec des interfaces biomimétiques (biomembrane, gel protéique, ...) et biologiques (modèles dont l'hémocyte d'huître).

Argumentation du choix des questions

1. La petite taille des MNP pose la question de leur capacité à franchir nos différents mécanismes de défense et à migrer dans l'organisme. Pour aborder cette question, il faut réaliser des MNP de référence, stables en conditions biologiques et de structures et surfaces contrôlées.

2. Nous voulons profiter de l'avance méthodologique maîtrisée par nos équipes pour aborder les questions liées à l'interaction protéines-MNP et MNP-corona avec membranes et organismes.

3. Des développements méthodologiques visent la meilleure compréhension des mécanismes de migration et d'interaction des MNP en présence de protéines et membranes.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche I (24 premiers mois). Synthèse des MNP (3 polluants sélectionnés : polyéthylène, polypropylène et polystyrène). Stabilisation des MNP par des coronas protéiques formées à partir d'extrait de complexité variable (extrait circulant purifié d'hémoglobine de vers marins, extrait excrété du mucus de moule, extrait intracellulaire total de levure, ...) et analyses protéomiques shotgun combinées à de une étude statistique comparative.

Tâche II (24 premiers mois). Microscopie 3DVM permettant la reconstruction 4D (espace et temps) des trajectoires des MNP à haute vitesse. Par rapport à la microscopie confocale classique, nous suivons des trajectoires 3D sur de grandes distances (centaine de μm) in-situ. De plus la maîtrise d'une interface de référence par une unique biomembrane supportée ou un gel de protéines biomimétiques, permettra le suivi des temps de séjour et parcours à l'interface, pour mesurer des constantes cinétiques et thermodynamiques.

Tâche III (24 derniers mois). Suivi des MNP sur leur chemin vers et à l'intérieur des cellules vivantes d'intérêt pour les expériences d'écotoxicité marine. Des hémocytes d'huîtres et gamètes seront immobilisées sur l'interface de référence et gardées vivantes.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université du Maine, IMMM - UMR CNRS 6283 - Le Mans

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Brotons

Equipe 2 : CEA, Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie - Gif-sur-Yvette

Responsable de l'équipe : M. Yves Boulard

Equipe 3 : Université de Brest, LEMAR-IUEM-UBO - Plouzané

Responsable de l'équipe : M. Philippe Soudant

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 174 874 € TTC

Résumé PUF-EXPOmiR - 2018_1_073

Responsable scientifique : M. Guillaume Garçon

Organisme : Université du droit et de la santé (Lille 2), Laboratoire de Toxicologie, Santé publique et Environnement

1. Titre

Projet complet

36 mois

Utilisation des profils des miARN circulants comme indicateurs d'exposition chroniques des particules ultrafines dans un modèle murin

2. Questions à la recherche

ACHIM 6 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition chronique

AIRR 4 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur)

CANC 1 - Interactions gènes/environnement : impact des facteurs de risque environnementaux ou professionnels (y compris horaires de travail atypiques)

3. Résumé

Objectif détaillé

Dans la continuité de nos précédentes recherches (i.e., PARTICLES-InCA/INSERM et NANATMOPATH-ANSES), l'objectif de ce projet consistera à apporter des éléments novateurs sur la toxicocinétique et la toxicodynamie des particules ultrafines (PUF) atmosphériques à l'aide d'un modèle murin et l'utilisation des microARN (miARN) circulants comme indicateurs d'exposition ou d'effets. Des PUF, prélevées en milieu urbain et caractérisées seront administrées de manière subchronique (90 jours) à un modèle murin afin d'étudier :

- Leur distribution dans des organes-cibles (poumons, cœur, système nerveux central, foie, reins) 24 heures et 90 jours après l'exposition.
- Leur potentiel oxydant et leur capacité à induire des lésions oxydatives, inflammatoires et mitochondriales dans ces organes cibles.
- Les modifications des profils d'expression des miARN circulants induites et la contribution des différents organes-cibles à ces dernières.
- Les effets organo-spécifiques des modifications des profils d'expression des miARN par les PUF sur l'activation de voies de signalisation impliquées dans le remodelage tissulaire voire la cancérogenèse.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de ce projet réside dans le fait qu'il utilisera des PUF prélevées en milieu urbain, représentatives de celles auxquelles nous sommes exposés. Son caractère novateur consiste à associer une caractérisation physicochimique approfondie de ces PUF à une exposition subchronique pulmonaire (90 jours) d'un modèle murin afin d'évaluer leur toxicocinétique et leur toxicodynamie dans les différents organes-cibles et la capacité des profils d'expression des miARN circulants à refléter leurs organo-toxicités. En accord avec la littérature, l'utilisation des miARN circulants, très stables, en tant qu'indicateurs d'exposition ou d'effets est pertinente et représente un élément fort de ce projet. Les miARN bénéficient d'une haute conservation inter-espèces et, en interagissant avec les ARNm, jouent un rôle critique dans l'activation des voies de signalisation impliquées dans le remodelage tissulaire et la

cancérogène. En plus d'éléments novateurs sur les mécanismes impliqués dans l'organo-toxicité des PUF, les profils d'expression des miARN circulants pourraient constituer des indicateurs spécifiques d'exposition ou d'effets des PUF, applicables, après validation à la biosurveillance des populations humaines.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit en réponse à trois des questions à la recherche : Agents chimiques (Q6), Milieux et Contamination - Air (Q4) et Cancers (Q1). Les PUF étant des mélanges de nombreuses substances présentes à très faibles doses, il est nécessaire d'utiliser un modèle in vivo, exposé de manière contrôlée à ces « cocktails de polluants à très faibles doses » afin de mieux évaluer leur organo-toxicité et de rechercher des indicateurs globaux d'exposition ou d'effets. D'après la littérature, la distribution des PUF dans l'organisme reste peu décrite et l'évaluation de leur exposition déplore un manque d'outils adaptés. Il est donc important d'avoir des indicateurs pertinents pour évaluer des expositions chroniques et/ou cumulées à ces polluants de l'air, si possible détectables au niveau systémique, tels que des modifications de profils d'expression de miARN circulants. Les profils d'expression des miARN circulants ont récemment été décrits comme biomarqueurs d'atteintes tissulaires voire de cancérogène. Les miARN contribuant à la régulation de régulation du transcriptome, une altération de leur profil d'expression par les PUF refléterait donc les interactions gènes/environnement dans les organes cibles et l'activation de voies de signalisation impliquées dans leurs effets toxiques voire leur cancérogène.

Description des méthodes mises en œuvre

Les PUF seront prélevées au 1er semestre (S1) par impaction en cascade à bas débit sur un site urbain déjà identifié (Lille-Hauts de France) puis leur caractérisation physicochimique approfondie sera réalisée (S2). En parallèle, l'autorisation relative à la réalisation des procédures d'expérimentation animale sera sollicitée et le protocole d'exposition sera validé. L'exposition subchronique (90 jours) et les prélèvements (à 24 heures et 90 jours après l'exposition) seront effectués au S2/début S3. La distribution des PUF (histologie/microscopie), leur potentiel oxydant (DTT, Ac ascorbique, DCFH), et l'induction des lésions oxydatives (8-OHdG, 4HNE, Prot-CO, NRF-2, SOD), inflammatoires (cytokines) et mitochondriales (glycolyse/respiration) seront étudiées au S3. Le S4 sera consacré à l'étude des miARN (OpenArray) et des interactions miARN/ARNm (RT-qPCR). La validation des miARN circulants candidats (RT-qPCR) et l'activation des voies de signalisation (Western-blot; ELISA) auront lieu aux S5/début S6. Les quatre équipes impliquées de ce consortium ont déjà collaboré et collaborent encore dans plusieurs projets de recherche. Elles disposent des connaissances, compétences et équipements nécessaires pour mener à bien ce projet ambitieux dans les délais impartis.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Lille 2, Faculté de Pharmacie

Responsable de l'équipe : M. Sébastien Anthérieu

Equipe 2 : Ecole des Mines de Douai, Département Chimie et Environnement

Responsable de l'équipe : M. Laurent Alleman

Equipe 3 : Université du droit et de la santé - Lille 2 - Faculté de Médecine, Pôle Recherche

Responsable de l'équipe : M. Jerome Kluzza

Equipe 4 : Université du droit et de la santé - Lille 2, Faculté de médecine, Pôle recherche, Département de pharmacologie médicale INSERM UMR_S 1171 CHRU de Lille

Responsable de l'équipe : M. David Devos

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé PURE-SNOW - 2018_1_094

Responsable scientifique : M. Pascal Andujar

Organisme : CHI Créteil, Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle - CRETEIL

1. Titre

Projet complet

36 mois

Remodelage pulmonaire après exposition à des nanoparticules de silice chez des travailleurs du bâtiment et travaux publics

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Etudes des impacts des expositions à des risques chimiques en milieu de travail notamment les impacts des multi-expositions ou des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...)

3. Résumé

Objectif détaillé

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie respiratoire chronique très fréquente et en constante progression (3,5 millions de sujets en France), conduisant à une insuffisance respiratoire chronique sévère. Souvent occultée face au poids du tabagisme, la fraction de risque attribuable des étiologies professionnelles est estimée à environ 15%. Parmi les secteurs à risque, figure le bâtiment et travaux publics (BTP), mais sans en connaître les déterminants toxiques. Certaines professions du BTP sont exposées à des aérosols composés notamment de microparticules et nanoparticules (NP) de silice cristalline et amorphe (SiO₂) provenant de matériaux de construction non nano-structurés, suite à l'action humaine (perçage notamment), ou nano-structurés lors de leur mise en œuvre.

L'objectif principal de ce projet est d'étudier le remodelage et l'inflammation pulmonaires liés à une exposition répétée à des NP de SiO₂ afin de déterminer les effets de ses NP dans la survenue des lésions pulmonaires observées dans la BPCO chez l'Homme. Pour répondre à cet objectif, une approche translationnelle et multidisciplinaire est proposée (cf méthodologie proposée et partenaires du projet).

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet ambitieux est original et innovant, car l'approche est :

- multidisciplinaire alliant des métrologistes, des biologistes, des toxicologues et des médecins spécialistes en pathologies respiratoires professionnelles, notamment dans le secteur du BTP
- translationnelle allant du terrain à l'expérimentation animale et à l'application en recherche clinique chez l'Homme
- novatrice, par des analyses spécifiques des NP à partir de dispositifs de prélèvements métrologiques innovants et simples (Particlever®) développés par l'un de nos partenaires, sachant que la métrologie des nanomatériaux dans le secteur du BTP très peu explorée sur le terrain. Ce point fait partie de l'action 1.12 du Plan Santé Travail 3 (2016-2020)
- originale, par la reconsidération de la toxicité de la silice au travers de la nanotoxicologie qui confère une toxicité aux NP de silice non seulement cristalline mais également amorphe

Une approche similaire avait été proposée par l'équipe porteuse chez les soudeurs exposés à des NP d'oxydes métalliques et avait permis de montrer l'implication de ces NP dans les altérations pulmonaires observées (Andujar & al PFT, 2014; Presume & al, Nanotoxicology 2016).

Argumentation du choix des questions

Le projet PURE-SNOW est sans équivalent sur le plan national ou international, car il porte sur une thématique de recherche Santé-Travail dans le secteur du BTP non explorée à ce jour sous l'angle de la nanotoxicologie. Il répond à la question pour la recherche : ACHIM 1. En effet, son approche translationnelle et multidisciplinaire permettra d'étudier de façon ciblée l'impact sur la santé respiratoire des NP de SiO₂.

Description des méthodes mises en œuvre

La méthodologie consistera à réaliser :

- campagnes de mesurage des nanomatériaux en situations réalistes d'exposition sur le terrain dans le secteur BTP (tâches émissives de NP lors d'interventions sur des matériaux non nanostructurés ou nanostructurés composés de SiO₂ : Fin 2018 - 1er semestre 2019
- analyses métrologiques (comptage, granulométrie, caractérisation physico-chimique), notamment en microscopie électronique à transmission couplée à la diffraction de rayonnements X (MET-EDX) : fin 2018 - 1er semestre 2019
- caractérisation de la rétention pulmonaire en NP (biométrie), des lésions pulmonaires (remodelage pulmonaire, notamment bronchique) et de l'inflammation à partir de tissus pulmonaires sains de travailleurs du BTP exposés (n = 25) et de sujets témoins non exposés à des aérosols particuliers (n = 25) appariés sur l'âge et le tabagisme (cohorte déjà constituée avec curriculum laboris) : 2019
- études expérimentales du remodelage pulmonaire et de l'inflammation chez des souris exposées à des doses réalistes (issues de l'extrapolation des données de terrain et celles observées chez l'Homme) et répétées de NP de SiO₂ cristalline et amorphe seules ou présentes dans des matériaux de construction (ciment Portland et brique réfractaire) : 2nd semestre 2019 et 2020
- étude comparative des effets pulmonaires observés chez la souris et chez l'Homme : 2nd semestre 2019 et 2020
- Analyse et valorisation des résultats : 1er semestre 2021

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHI Créteil, Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle - CRETEIL

Responsable de l'équipe : M. Pascal Andujar

Equipe 2 : Inserm U955, équipe 4, Faculté de Médecine- Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Lanone

Equipe 3 : LEPI / Département de Paris - Paris

Responsable de l'équipe : M. Laurent Martinon

Equipe 4 : Particlever - Paris

Responsable de l'équipe : M. Raphaël De Thoury

Equipe 5 : Cramif - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Catherine Hedouin - Langlet

Equipe 6 : Action santé travail - Lens

Responsable de l'équipe : Mlle Stephanie Pinte

Equipe 7 : Pôle santé travail - Wasquehal

Responsable de l'équipe : M. Christian Morel

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé RadioFlow - 2018_2 RF_003

Responsable scientifique : Mme Delia Arnaud-Cormos

Organisme : Xlim, UMR 7252 CNR - Limoges

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Imagerie ultrasonore fonctionnelle du cerveau de rongeurs sous exposition RF

2. Questions à la recherche

RFES 2.1.8.2 - Études in vivo ou cliniques sur les réponses physiologiques aux radiofréquences, notamment : sur les fonctions cognitives (mémoire, raisonnement, fonctions exécutives, attention) chez l'Homme : en réalisant des études de provocation chez l'adulte et l'enfant, à différents âges du développement, en situation d'exposition ou non à des radiofréquences, à l'aide d'instruments psychométriques bien étalonnés, de techniques d'imagerie cérébrale et/ou d'enregistrements de l'activité électrique cérébrale (EEG) (y compris potentiels évoqués), en condition basale ou de stimulation (tâches cognitives)

RFES 2.1.9 - Études in vivo ou cliniques sur les réponses physiologiques aux radiofréquences, notamment : pour vérifier des travaux antérieurs qui suggèrent des effets sur la physiologie humaine (voir liste dans le rapport « radiofréquences et santé »⁸ (Anses, octobre 2013, pages 342 et suivantes)

3. Résumé

Objectif détaillé

The RadioFlow project proposes the development of an experimental device to study rodent brain activation and functional connectivity in anesthetized, awake or even freely moving animals, in real-time under radiofrequency (RF) exposure. We will take advantage of a recently introduced technology, the functional ultrasound (fUS) imaging by ultrasensitive Doppler detection of brain hemodynamics. This powerful technique offers a way to monitor adult rodent brain activation and functionality with unprecedented spatio-temporal resolution and unique sensitivity (~80 µm, 1 ms) (Sieu L-A, Nat. Methods. 2015; 12(9): 831–834). While only minimally invasive for rats or mice, such system nonetheless needs to be adapted to allow simultaneous RF exposure and brain activity monitoring.

The project has two distinct objectives:

- the development, modeling and characterization of exposure systems that will permit "head-only" and potentially "whole-body" exposure of animals to RF fields (LTE signal for example) during the recording of cerebral activity.

- obtaining preliminary results of cerebral activity during exposure to RF allowing to propose a complete project in future calls for research projects.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

The rapid development of wireless communications has raised questions about potential increased health risks related to exposure to RF fields. The close proximity between the mobile phone and the brain of the user, combined with the fact that neurons are excitable cells, make the central nervous system (CNS) a potential goal of RF exposure investigations.

Two types of RF effects may occur: thermal or non-thermal. The former, which are prominent in case of high-level RF exposures, are well established and understood, while the latter are still controversial

(SCENIHR 2015). In this context, our research consortium previously published an in vitro pilot study on neuronal networks exposed to a GSM signal at 1800 MHz (Moretti et al. 2013). We found a 30% reversible decrease in firing and bursting rates during 3-min GSM 1800 MHz exposures of neuronal cultures from rat embryonic cortices. Until now, the mechanisms underlying these effects are still unknown and we do not know yet whether such effects occur in-vivo. Variations in the EEG power spectrum during and/or after RF exposure in resting EEG and during sleep have been reported, suggesting that RF exposure may directly influence brain dynamics (Ghosn et al., Journal of Neurophysiology, 2015). In this context, real-time monitoring of brain functioning under RF exposure has yet to be explored. The developed system would be a highly valuable tool for in vivo investigations.

Argumentation du choix des questions

The RadioFlow project is replying to the question: Investigation of physiological or health effects of RF: In vivo or clinical studies of physiological responses to RF (RFES 2.1.8.2 and RFES 2.1.9).

In this project, we will implement a new imaging technic to explore in real-time the brain activity of small animals simultaneously to RF exposure. Thanks to fUS, this RadioFlow project will provide a tool to rapidly determining whether the exposure to low level RF fields affects brain activity without any specific hypothesis about a potential mechanism. This would also allow verifying or completing previous in vivo studies of RF effects (Moretti et al. 2013). In the quest for understanding the human mind, imaging with fUS of the human brain will be the focus of future works.

Description des méthodes mises en œuvre

Ultrasound imaging exposes a part of the body to pulsed ultrasonic waves and displays the amplitude of the ultrasonic echoes backscattered by tissues or fluids. In fUS, the use of ultrasonic plane-wave illumination as opposed to classical focused beam scanning, permits to determine regions of brain activity based on increased blood volume due to neurovascular coupling. As a result, subtle hemodynamic changes in the brain vascularization can be visualized without being restricted to large vessels and without the need of any contrast agent. This technique, originally developed at Langevin Institute (Grenoble) has been patented and is now distributed by Neuroflows company (<http://neuroflows.com/>). The fUS probe will be provided by Neuroflows company to establish the RadioFlow proof of concept.

The adaptation of fUs to "head-only" or potentially "whole-body" exposure to RF will require numerical and experimental developments and dosimetry. For "head-only" exposures, the main originality of the RadioFlow system will consist in a RF system adapted from a loop antenna (Leveque P., IEEE Trans. on Microwave Theory and Tech., 52(8), 2004) and specifically designed to integrate the fUS probe. For "whole-body" exposures, existing systems such as reverberating chamber will be considered.

Specifications and design of the RadioFlow system: To - To+3.

Development and dosimetry of the RadioFlow system: To+3 - To+9.

In vivo experiments under RF exposure: To+9 - To+12.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Xlim, UMR 7252 CNR - Limoges

Responsable de l'équipe : Mme Delia Arnaud-Cormos

Equipe 2 : Université de Bordeaux I, IMS CNRS UMR 5218 - Talence

Responsable de l'équipe : M. Yann Percherancier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 712 € TTC

Résumé SeasonDisruptor - 2018_1_069

Responsable scientifique : Mme Valerie Simonneaux

Organisme : CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives - Strasbourg

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets des perturbateurs endocriniens thyroïdiens sur la reproduction et le métabolisme ; de l'utilité des espèces saisonnières

2. Questions à la recherche

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

3. Résumé

Objectif détaillé

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des composés exogènes capables d'interférer avec la fonction de certaines glandes endocrines en exerçant leurs effets à plusieurs niveaux, de la synthèse de l'hormone à sa liaison sur ses récepteurs. L'activité de la glande thyroïde et les effets biologiques des hormones thyroïdiennes (HT) sont particulièrement sensibles à l'action des PE. Or les HT ont un rôle essentiel dans plusieurs fonctions biologiques telles que le développement, la reproduction, le métabolisme ou la cognition. Il est donc essentiel d'examiner les effets des PE qui interfèrent avec les fonctions thyroïdiennes (PE-HT) et de déterminer leurs mécanismes d'action. Plusieurs travaux ont décrit des effets néfastes des PE-HT, cependant le nombre d'études réalisées ainsi que l'hétérogénéité des populations étudiées et des doses testées ne permettent pas encore d'apporter des conclusions solides sur leurs effets et mécanismes d'action (Calsolaro et al., 2017).

Ces dernières années, notre équipe a démontré que la production saisonnière d'HT par les tanocytes de l'hypothalamus agit sur des structures centrales pour contrôler les rythmes saisonniers de reproduction et du métabolisme (Hazlerigg et Simonneaux, 2014). Aussi, l'objectif de cette étude est d'utiliser les rongeurs saisonniers, dont les fonctions reproductrices et métaboliques peuvent être activées ou inhibées en quelques semaines par une simple modulation de la durée du jour, comme nouveau modèle d'étude pour investiguer les effets, les cibles cellulaires et les mécanismes d'action des PE-HT.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

Les mammifères vivant en milieu naturel présentent des cycles saisonniers d'activation/d'inactivation de leurs fonctions reproductrice et métabolique. Il a été récemment montré que les variations saisonnières de la production nocturne de mélatonine contrôlent la production d'HT tanocytaire qui en aval agit sur des populations neuronales impliquées dans le contrôle central de la reproduction (kisspeptine, RFRP) et du métabolisme (somatostatine). Dans ce contexte, l'originalité de ce projet est d'utiliser notre connaissance des phénomènes d'activation et d'inactivation des fonctions biologiques des rongeurs saisonniers pour proposer un nouveau modèle d'étude des effets des PE-HT chez les mammifères.

Argumentation du choix des questions

Ce projet se rattache à la question des recherches sur les effets des PE, en tant qu'agents chimiques agissant sur la santé humaine et animale. L'effet des PE-HT sera testé sur la capacité des rongeurs saisonniers à activer en photopériode longue d'été ou inactiver en photopériode courte d'hiver, leur fonction de reproduction et leur métabolisme énergétique. La nature des cellules cibles et les mécanismes d'actions des PE-HT seront établis en utilisant nos connaissances sur les mécanismes neuroendocriniens qui sous tendent la saisonnalité. Ainsi ce projet répond aux questions 10.1 du développement de méthodes pour caractériser les mécanismes d'action des PE et 10.2 de l'étude de leurs modes d'action pour identifier des perturbations endocriniennes.

Description des méthodes mises en œuvre

L'exposition aux PE-HT sera réalisée sur des animaux adultes pendant 10 semaines, durée nécessaire pour observer les changements saisonniers des fonctions reproductrices et métaboliques. Parmi les produits industriels reconnus comme interférant avec la fonction thyroïdienne, nous testerons le bisphenol-A (BPA) et les phtalates car ils sont largement utilisés (jouets, cosmétiques, emballages, etc) et ils sont suspectés de diminuer les taux de T4/T3 chez les humains et les animaux (Meeker et al., 2011). Si ces produits n'ont pas d'effets seuls, ils seront testés ensemble car ils se retrouvent sous forme de cocktail dans l'environnement.

Objectif 1 : Effet des PE-HT sur la régulation photopériodique de la reproduction et du métabolisme (semestres 1, 2 et 3). Des hamsters Djungariens mâles élevés en photopériode longue, seront transférés en photopériode courte inhibitrice pendant 10 semaines. Pendant cette période ils seront traités ou non avec différentes doses de BPA ou phtalates. A la fin du traitement, plusieurs paramètres physiologiques et hormonaux seront mesurés. L'expérience inverse sera réalisée avec des hamsters sexuellement inactifs en photopériode courte transférés en photopériode longue activatrice avec les mêmes traitements. Des séries d'expériences similaires seront réalisées chez des hamsters femelles afin d'évaluer l'effet sexe-dépendant des PE-HT.

Objectif 2: Identification des cibles cellulaires des PE-HT (semestres 3 et 4). Pour les traitements expérimentaux montrant une altération de la régulation photopériodique des axes reproducteurs et/ou métaboliques, nous identifierons les structures cellulaires (tanocytes, divers neurones peptidergiques de l'hypothalamus, cellules hypophysaires), altérées par les PE-HT en utilisant nos connaissances sur les mécanismes neuroendocriniens impliqués dans le contrôle des fonctions saisonnières.

Objectif 3 : Mécanismes d'action des PE-HT (semestres 5 et 6). Nous choisirons un type cellulaire dont l'activité est altérée par un PE-HT afin d'établir ses mécanismes d'action en utilisant des approches in vitro combinées à des analyses génétiques et épigénétiques.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Valerie Simonneaux

Equipe 2 : IFR37-CNRS, Centre de neurochimie - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Dominique Ciocca

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 192 338 € TTC

Résumé SMARTTIQ - 2018_1_154

Responsable scientifique : M. Gaëtan Deffontaines

Organisme : Caisse Centrale de la Mutualité Sociale Agricole - Bobigny

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude de séroprévalence de *Borrelia burgdorferi* s.l., *Borrelia miyamotoi*, du virus de l'encéphalite à tiques, d'*Anaplasma phagocytophilum*, de *Babesia microti* et *Babesia divergens* chez des professionnels forestiers en France

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Documenter l'exposition des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes). Améliorer les connaissances sur les situations d'exposition

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'estimer les séroprévalences régionales de *Borrelia burgdorferi* s.l., *Borrelia miyamotoi*, du virus de l'encéphalite à tiques, d'*Anaplasma phagocytophilum*, de *Babesia microti* et *Babesia divergens*, chez des professionnels forestiers dans la moitié Nord de la France, le Limousin et l'Auvergne et de déterminer les facteurs socioprofessionnels associés au statut sérologique.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de cette étude est d'étudier par la séroprévalence l'exposition à six agents pathogènes transmis par les tiques chez des professionnels forestiers sur un vaste territoire. Ces séroprévalences sont peu documentées, voire inconnues, dans le Grand Ouest de la France, le Centre, l'Auvergne et le Limousin. L'étude apportera aussi de nouvelles données pour le Grand Est, sachant qu'une étude méthodologiquement similaire y a été conduite en 2003. *Borrelia miyamotoi* agent pathogène de découverte récente, n'a pas fait l'objet de ce type d'étude à ce jour en France.

Argumentation du choix des questions

Les maladies transmises par les tiques présentent depuis de nombreuses années un véritable enjeu de santé au travail et de santé publique. La borréliose de Lyme, la plus fréquente, est source d'inquiétudes et de débats, tant dans la population générale que chez les professionnels exposés, les instances et les organisations professionnelles. De façon plus générale, le besoin de connaissances précises sur le risque de transmission à l'homme de l'ensemble des agents transportés par les tiques soulèvent de façon légitime de nombreuses questions et nécessitent une recherche collaborative entre les différents professionnels de santé, de prévention et les chercheurs.

Les études de séroprévalence participent à l'évaluation du risque de transmission des agents pathogènes par la mise en évidence d'anticorps dans le sang, signe d'une exposition à l'agent pathogène. La présente étude s'intéressera à déterminer les activités à risque, les régions à risque et à évaluer la connaissance et les pratiques de prévention afin de permettre aux équipes de santé-sécurité au travail de cibler leurs actions d'information et de prévention.

Par ailleurs, cette étude peut contribuer à une meilleure connaissance des co-expositions à ces agents.

Description des méthodes mises en œuvre

Après obtention de l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes et autorisation de la CNIL nécessaires à la mise en œuvre de cette étude et au traitement des données, après information des organisations professionnelles et formation des investigateurs, les professionnels forestiers tirés au sort seront invités à participer à cette étude au cours de l'année 2019. L'investigateur (médecin du travail ou infirmière de santé au travail de la caisse de MSA) interrogera le professionnel à l'aide d'un questionnaire et un(e) infirmier(ière) de laboratoire effectuera un prélèvement sanguin. Les sérums seront analysés selon les méthodes de référence existantes ou en cours de développement selon les agents étudiés en 2019-20. Les résultats individuels seront transmis et expliqués au fur et à mesure à chaque participant par le service de santé au travail de la caisse de MSA. La saisie des données des questionnaires et des résultats des analyses sérologiques sera effectuée en 2020-21 ainsi qu'un rapport financier complet et un premier bilan scientifique.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Caisse Centrale de la Mutualité Sociale Agricole - Bobigny

Responsable de l'équipe : M. Gaëtan Deffontaines

Equipe 2 : Université de Strasbourg

Responsable de l'équipe : M. Benoit Jaulhac

Equipe 3 : Santé Publique France – Saint Maurice

Responsable de l'équipe : Mme Alexandra Septfons

Equipe 4 : Institut de Virologie - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Samira Fafi-Kremer

Equipe 5 : Goethe University Frankfurt - Allemagne

Responsable de l'équipe : M. Klaus-Peter Hunfeld

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé TOXCHEM - 2018_1_095

Responsable scientifique : M. Patrick Balaguer

Organisme : INSERM U1194-ICM - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evaluation des activités de perturbation endocrinienne de composés industriels

2. Questions à la recherche

ACHIM 4 - Étude des effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses des agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) ou perturbateurs endocriniens et/ou en cumuls d'exposition

ACHIM 10.1 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Développement et test de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action, en vue de caractériser des modes d'action perturbateurs endocriniens

ACHIM 10.2 - Recherches sur les perturbateurs endocriniens : Etude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de certaines pathologies. Etude des « effets cocktail »

3. Résumé

Objectif détaillé

L'exposition humaine à des perturbateurs endocriniens (PEs) comme les bisphénols (BPA, BPS), les alkylphénols (4-tert-octylphénol, nonylphénol), les phtalates (BBP, MEHP), les composés perfluorés (PFOA, PFOS), les produits cosmétiques (parabènes, benophénones), les retardateurs de flamme (TBBPA et TCBPA) ou les pesticides (HPTE, chlordécone, clotrimazol, organoétains) est suspectée de perturber la reproduction (infertilité, puberté précoce), le métabolisme (obésité, diabète) et de conduire à des cancers hormonaux (sein, ovaire, prostate). La toxicité des PEs est majoritairement due à leur interaction avec les récepteurs nucléaires. La synthèse de nouveaux composés conservant leurs caractéristiques industrielles mais dénués de propriétés hormonales est devenue indispensable.

Dans le cadre d'un programme ANSES 2013 (projet EVALPE), nous avons caractérisé à l'aide de méthodes biochimiques, cellulaires et structurales, l'interaction de PEs représentatifs avec les récepteurs ER α (BPA, TCBPA, benzophénone 2, chlordécone, 2,4'DDE, octylphénol, etc) et PPAR γ (TCBPA et TBBPA, MEHP, PFOA, TBT), et pu identifier des analogues sans effet hormonal pour chacune de ces classes de molécules. Dans le cadre de TOXCHEM, nous proposons d'augmenter le nombre de composés à tester et d'appliquer notre démarche à d'autres récepteurs nucléaires cibles potentielles de PEs comme les récepteurs des hormones stéroïdiennes AR, PR, GR et MR, les récepteurs des hormones thyroïdiennes TR α et b, les récepteurs des xénobiotiques PXR et CAR, le récepteur PPAR α , les récepteurs des oxystérols LXR α et b et le récepteur des acides biliaires FXR. Afin d'évaluer l'impact à la fois toxicologique et écotoxicologique, nous nous proposons de tester l'effet de ces PEs sur les formes humaines et de poisson-zèbre des récepteurs.

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

En s'appuyant sur des techniques biochimiques, cellulaires et cristallographiques, TOXCHEM permettra de caractériser l'activité de 320 composés industriels sur un grand nombre de récepteurs nucléaires humains et de poisson-zèbre, et d'identifier parmi ceux-ci des analogues dépourvus d'effets hormonaux.

Argumentation du choix des questions

Ce projet répond à deux des questions de recherche, l'une sur l'étude des effets de perturbateurs endocriniens sur l'homme et l'environnement (le poisson) et la seconde sur le développement de méthodes d'essai (biochimiques, cellulaires, cristallographiques et informatiques) permettant d'identifier des perturbateurs endocriniens et de mieux connaître leurs effets.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet consiste à tester in vitro l'effet d'une banque de 320 composés industriels (bisphénols, alkylphénols, cosmétiques, phtalates, composés perfluorés, pesticides, phytoestrogènes, et certains de

leurs analogues) sur une douzaine de récepteurs nucléaires humains et de poisson-zèbre qui sont des cibles potentielles de ces molécules. L'étude sera réalisée dans un premier temps sur des lignées cellulaires déjà établies et validées au laboratoire (excepté les lignées cellulaires hFXR et zFXR qui sont à créer) qui expriment les différents récepteurs nucléaires humains et de poisson-zèbre (ERs, AR, GR, PR, MR, ERRg, PXR, CAR, PPARa, PPARg, LXRs et FXR) et le gène de la luciférase placé sous le contrôle du récepteur correspondant. Pour les composés les plus actifs, nous confirmerons les effets par des tests de liaison (par déplacement d'un ligand radioactif ou fluorescent par le composé industriel, ou par microcalorimétrie), des tests cellulaires de prolifération (ERa-, AR-, PXR-screen) ou d'expression de gènes endogènes cibles des récepteurs (RT-PCR de pS2, PR, GREB1 pour ERa ; CYP3A4, UGT1A1, MDR pour PXR ; etc). Nous déterminerons les structures cristallographiques des récepteurs en complexe avec les composés les plus actifs afin de caractériser leur mode de liaison au niveau atomique et de faciliter la modélisation de l'interaction des récepteurs nucléaires avec des molécules apparentées. Globalement, TOXCHEM permettra d'identifier les PEs qui ont la capacité de moduler l'activité des récepteurs nucléaires testés, qu'ils soient d'origine humaine ou de poisson-zèbre. Le projet permettra d'évaluer si le récepteur humain est proche en terme de reconnaissance du ligand de celui d'une autre espèce (le poisson-zèbre). Nos résultats préliminaires montrent que c'est le cas pour les récepteurs ERs, AR et ERRg. Par contre, pour les récepteurs PPARg, PXR, PR, GR et MR, nous avons clairement observé des différences inter-espèces. Enfin, pour les récepteurs LXR et PPARa, nous n'avons pas encore obtenu assez d'information pour conclure. Enfin, le récepteur CAR n'existe pas chez les poissons.

Ce type d'étude de l'effet de molécules environnementales sur un grand nombre de récepteurs nucléaires n'a pas encore été réalisé en Europe. Elle est en cours aux Etats-Unis (programme TOXCAST) mais elle n'est effectuée que sur des formes humaines de récepteurs nucléaires alors que dans notre étude, nous nous proposons également de mesurer l'impact sur des récepteurs de poisson.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INSERM U1194-ICM - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Patrick Balaguer

Equipe 2 : Centre de Biochimie Structurale, CNRS UMR5048 Inserm U1054 - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. William Bourguet

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 659 € TTC

Résumé TROPHIPLAST - 2018_1_017

Responsable scientifique : Mme Amélie Chatel

Organisme : Université Catholique de l'Ouest, EA 2160 - MMS - Angers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Toxicité des micro et nanoparticules de plastiques vis à vis d'organismes aquatiques le long du continuum eau douce-eau marine : évaluation du transfert trophique

2. Questions à la recherche

CoEm 1 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition

CoEm 2 - Cas des microplastiques. Diffusion dans la chaîne alimentaire et le cycle de l'eau

3. Résumé

Objectif détaillé

Depuis les années 90, la présence de débris plastiques (macroplastiques) dans les rivières, les rivages et les océans ne cesse d'augmenter. Ces dernières années, la présence de débris appelés microplastiques (MP) et nanoplastiques (NP) dans les écosystèmes aquatiques a été signalée et ouvre la porte à de nouveaux enjeux environnementaux et socio-économiques. Connaissant les propriétés considérables que peuvent avoir les matériaux dans cette gamme de taille (MP, NP), les craintes sur l'impact des plastiques sont considérablement amplifiées.

La majorité des études s'intéresse aux effets de ces débris en milieu marin, alors que les milieux estuariens et d'eau douce sont peu étudiés malgré leur rôle important dans le transfert des plastiques vers le milieu marin.

L'objectif du projet est de répondre à ce manque en étudiant les impacts (éco)toxicologiques des MP et NP sur différents organismes de la chaîne trophique vivant dans le continuum eau douce-eau marine: des algues (*Scenedesmus subspicatus*, *Thalassiosira weissflogii*), des bivalves (*Scrobicularia plana*, *Corbicula fluminea*) et l'anguille (*Anguilla anguilla*). L'anguille est un organisme d'intérêt car il s'agit d'une espèce menacée et en tant qu'espèce comestible, l'être humain pourrait être exposé par son ingestion. Par rapport aux études récentes sur les effets des MP et NP plusieurs enjeux ont été soulignés dus: (i) au manque d'échantillons de MP et NP représentatifs de ceux dans l'environnement ; (ii) aux concentrations rencontrées ; (iii) au manque d'outils analytiques de caractérisation dans les systèmes complexes (e.g gradient de salinité).

Alors que la plupart des études utilisent des particules peu représentatives de ce qui est trouvé dans le milieu naturel, nous utiliserons des particules allant du micro au nanomètre à partir de débris échantillonnés sur le terrain, à des concentrations similaires à celles susceptibles d'être observées dans l'environnement (0,008 à 100 µg/L).

Les questions abordées sont :

- Comment les particules sont transférées des micro-algues aux bivalves et des bivalves aux anguilles?
- Quelles sont les cinétiques de bioaccumulation et de dépuration des particules chez les bivalves et les anguilles?

- Quels sont les impacts toxiques des particules sur les différents maillons trophiques étudiés : les micro-algues (1er maillon), les bivalves (2ème maillon) après exposition aux particules via la

consommation d'algues contaminées, et les anguilles (3ème maillon) après exposition aux particules via la consommation de bivalves contaminés?

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet réside dans :

- L'étude de l'impact des MP et NP au sein du continuum eau douce – eau marine car la grande majorité des études porte sur le milieu marin et les sources de plastiques proviennent essentiellement des eaux continentales.

- Le développement de stratégies analytiques pour identifier et quantifier les NP dans les organismes alors que la plupart des études porte sur la contamination en MP dues aux difficultés pour prélever et caractériser les nanomatériaux dans l'environnement. Le partenaire 3 a été le premier à développer des stratégies analytiques pour identifier les NP.

- L'évaluation du risque pour les écosystèmes à travers l'étude de la bioaccumulation, du transfert et de la toxicité de contaminants émergents (MP et NP), chez des organismes de différents maillons de la chaîne trophique, en caractérisant précisément l'exposome, tenant compte des zones de gradient en estuaire qui conditionnent le comportement (agrégation, dégradation) et la biodisponibilité des plastiques.

- La multidisciplinarité grâce à la complémentarité disciplinaire (caractérisation, bioaccumulation, transfert dans la chaîne trophique, toxicité) et les compétences de chacun des partenaires.

L'objectif du projet est de valider les approches méthodologiques et d'évaluer les risques d'exposition aux MP et NP pour les écosystèmes au sein du continuum eau douce – eau marine, ce qui, in fine, permettra d'estimer l'exposition potentielle de l'être humain à travers la consommation d'anguilles.

Argumentation du choix des questions

Ce projet porte sur la diffusion des particules de plastique de tailles micrométriques et nanométriques dans la chaîne alimentaire. Il fournira des informations sur les risques potentiels pour les écosystèmes au sein du continuum eau douce – eau marine et sur l'exposition potentielle de l'être humain via la consommation d'anguilles.

Description des méthodes mises en œuvre

- Toxicité des MP et NP sur les algues : la croissance de deux espèces de micro-algues sera mesurée par numération et par absorption UV à 750 nm. L'évaluation des dommages cellulaires se fera en microscopie électronique à transmission et par étude transcriptomique.

- Toxicité des MP et NP pour les bivalves et les anguilles : elle sera évaluée sur les bivalves (indice de condition, filtration, enfouissement) et anguilles (indice de Fulton, indice hépato-somatique) aux niveaux individuel et sub-individuel (biomarqueurs enzymatiques et moléculaires).

- Analyse quantitative et qualitative des MP et NP dans les organismes : elles seront menées dans les organismes par pyrolyse-GC-MS ou par un traceur métallique caractéristique d'un type de particule, qui sera analysé par ICP-OES. D'autres outils dédiés à la caractérisation de nano-objets dans des matrices naturelles complexes seront utilisés (ex : asymmetrical flow field flow fractionation, Differential mobility analyzer, DLS coupled to Raman).

- Évaluation du transfert trophique au niveau du continuum eau douce – eau marine: les calculs du facteur de bioaccumulation et du transfert des particules d'un niveau trophique à un autre seront déterminés chez les organismes.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Catholique de l'Ouest, EA 2160 - MMS - Angers

Responsable de l'équipe : Mme Amélie Chatel

Equipe 2 : Université Bordeaux 1, UMR CNRS 5805 EPOC - Arcachon

Responsable de l'équipe : Mme Magalie Baudrimont

Equipe 3 : CNRS/Université de Rennes 1, Laboratoire Géosciences Rennes (UMR6118) - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Julien Gigault

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé WIFIDEV - 2018_2 RF_027

Responsable scientifique : M. Bruno Bontempi

Organisme : UMR CNRS 5293, IMN Université de Bordeaux, Centre Broca Nouvelle-Aquitaine - Bordeaux

1. Titre

Projet complet

24 mois

Exposition prénatale aux signaux radiofréquences de type Wifi: effets sur le développement neuronal et le comportement à l'âge adulte chez la souris

2. Questions à la recherche

RFES 2.1.7 - Études in vivo ou cliniques sur les réponses physiologiques aux radiofréquences, notamment : sur le développement fonctionnel et cérébral en fonction de l'âge (in utero, juvénile, adulte et sujet âgé) en passant par l'âge adulte, en engageant des études longitudinales chez l'animal, afin d'identifier des périodes de sensibilité/vulnérabilité éventuelles

RFES 2.1.8.1 - Études in vivo ou cliniques sur les réponses physiologiques aux radiofréquences, notamment : sur les fonctions cognitives (mémoire, raisonnement, fonctions exécutives, attention) chez l'animal, en association avec l'étude de la morphologie et de la plasticité cérébrale (approches électrophysiologiques, marqueurs métaboliques, hémodynamiques ou immunohistochimiques, etc.)

3. Résumé

Objectif détaillé

The life-long exposure to Wi-Fi radiofrequency fields emitted by wireless communication devices raises the question of the particular sensitivity of young children to these radiations, especially during brain development. This project will test the hypothesis that chronic Wi-Fi exposure during brain development might alter neurogenesis and/or the formation of neural circuits, leading to abnormal brain functions and behaviors later in life (deficits in social interaction or memory formation, hyperactivity or attentional disorders). After modelling the specific absorption rates (SAR) experienced by mouse embryos (numerical dosimetry), the following key questions will be addressed: What is the impact of Wi-Fi exposure on neuronal development? Does Wi-Fi exposure alter neuronal progenitor proliferation, neuronal migration and differentiation? What are the behavioral consequences of developmental Wi-Fi exposure in young adults?

Argumentaire de l'originalité et/ou caractère novateur du projet

None of the questions above have been tackled so far in the context of Wi-Fi signals and this project aims at breaking this knowledge frontier. It relies on a highly integrative approach which incorporates multiple levels of analyses ranging from cellular level to behavior. Should the proposed experiments reveal evidence of a neurological impact of Wi-Fi exposure during brain development, findings could have a major scientific and societal impact and provide novel insights into the validity of the current Wi-Fi exposure limits.

Argumentation du choix des questions

Wi-Fi signals, operating at 2.45GHz, have now become ubiquitous in our daily life environment. The current young population is the very first being exposed during its entire life, beginning prenatally, which raises public concern regarding potential Wi-Fi-induced health hazardous effects. The neurological effects associated with Wi-Fi exposure occurring during the gestation period are not well established and

require further investigations. Importantly, data on brain development under continuous exposure to Wi-Fi signals are lacking. Its objectives fall perfectly within the scope of the PNR EST program by targeting one of its highlighted section, namely the « Recherche d'effets physiologiques ou sanitaires des radiofréquences ». Our project methodology is designed to address key questions related to the effects of radiofrequencies on the « Développement fonctionnel et cérébral en fonction de l'âge (in utero) en passant par l'âge adulte chez l'animal ». The combined techniques (in utero electroporation coupled to innovative behavioral tasks) and fields of expertise (electromagnetics and bioelectromagnetics, developmental neuroscience and cognitive neuroscience) will provide a unique opportunity to explore the impact of continuous exposure to domestic Wi-Fi on brain development and functioning during adulthood.

Description des méthodes mises en œuvre

Wi-Fi exposure of embryos and dosimetry. Freely moving pregnant CD-1 mice will be placed in a reverberation chamber and either sham-exposed or continuously whole-body exposed to Wi-Fi, 24 hours per day at an environmental level of 8 mW/kg, from the first day of gestation to birth. Advanced numerical models of pregnant mice and embryos will be developed from existing models and/or Magnetic Resonance Imaging segmentation dataset. The SAR of embryos will be evaluated for embryos as previously described by Collin et al., 2016.

Impact of Wi-Fi on neuronal development. New neurons produced in the ventricular zone of the cerebral cortex will be electroporated in utero at E14.5 and tagged with a constitutive GFP-expressing plasmid to label the electroporated cells, when neurogenesis reaches a peak in mice. Neuronal progenitor cell proliferation will be studied using the proliferative marker Ki67 at E15.5 and E16.5. Analysis of the distribution of electroporated cells at E17.5 in the different zones of the cortex will allow to examine the impact of Wi-Fi on cortical migration (Pacary et al., 2011).

Behavioral consequences of developmental Wi-Fi exposure in young adult mice. Screening will rely on a test battery comprising eight main behavioral paradigms targeting motor functions (balance, coordination and motor control), anxiety, social interaction (as described in neuropsychiatric diseases such as social phobias and schizophrenia) as well as some aspects of depression and learning and memory functions (Nicole et al., 2016; Bessieres et al., 2016) will be used.

Calendar: Numerical and experimental dosimetry: months 1 to 6; Wi-Fi exposure and neuronal development: months 6 to 18; Behavioral consequences of in utero Wi-Fi exposure: months 8 to 22.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : UMR CNRS 5293, IMN Université de Bordeaux, Centre Broca Nouvelle-Aquitaine - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. Bruno Bontempi

Equipe 2 : XLIM CNRS-Université de Limoges - Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

Equipe 3 : Inserm - Bordeaux

Responsable de l'équipe : Mlle Emilie Pacary

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 228 800 € TTC