



Appels à projets de recherche sur la santé environnement et la santé au travail 2015

Résumés des dossiers retenus pour financement¹

¹ La décision finale de financement de ces projets est conditionnée au succès des procédures de conventionnement propres à chaque financeur

SOMMAIRE

Résumé 3E-Gen.....	3
Résumé ACCEDERA	5
Résumé ADULTILAV	7
Résumé ALTERNATIFS	9
Résumé AMeCE.....	12
Résumé ASK-PARIS.....	14
Résumé BADGERM.....	16
Résumé BarBaPAhR	18
Résumé BIEAUTOX.....	20
Résumé BisphIm.....	22
Résumé BPSfetalExpo	24
Résumé Cardionoise	26
Résumé COBANET	28
Résumé DecoNano.....	30
Résumé EIIBE.....	32
Résumé ELFSTAT	34
Résumé ERICC	36
Résumé ETNA 2.....	38
Résumé EVAMOVAIRE 2	40
Résumé EXTI.....	42
Résumé GERMRISKTOX.....	44
Résumé ICarE	46
Résumé ICP-Nano.....	48
Résumé MAMBO.....	50
Résumé MicroBti.....	52
Résumé MOTUS	54
Résumé Neurinf-1800	56
Résumé OxAirDirect.....	58
Résumé PUF-TAXIS.....	60
Résumé SANTECHS-FR	62
Résumé SATORI.....	64
Résumé SEISMIC-COPD	66
Résumé silimmun.....	68
Résumé SKIN-RF	70
Résumé VESITOX.....	72
Résumé VigiExpo.....	74

Résumé 3E-Gen

Responsable scientifique : Mme Catherine Lecomte

Organisme : IRSN - PRP-ENV/SERIS/LECO - Saint paul Lez Durance

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude des Effets d'une Exposition chronique à de faibles doses de stressseurs GENotoxiques à l'aide du modèle biologique *Caenorhabditis elegans*

2. Questions à la recherche

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces d'effet et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 6 - Risque de cancers liés à des expositions environnementales et/ou professionnelles aux substances cancérigènes 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

Une meilleure compréhension des effets induits par une exposition chronique à de faibles doses de substances génotoxiques est un enjeu majeur pour l'évaluation du risque de cancer chez l'homme. Toutefois, ces études sont difficiles à mettre en œuvre et se heurtent notamment au choix du modèle biologique. En effet, sur des modèles animaux vertébrés les coûts et la durée d'exposition ne sont pas toujours compatibles avec la notion de chronicité et les études *in vitro* ne reflètent pas complètement la pathologie sur organisme entier. Le programme de recherche proposé repose sur l'utilisation du nématode *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) comme modèle biologique pour étudier les effets d'agents génotoxiques (stressseurs physiques et chimiques avérés) dans un contexte d'exposition chronique à faibles doses. L'étendue des connaissances sur la biologie et la physiologie de *C. elegans* associée aux nombreux outils moléculaires et génétiques disponibles en font un organisme modèle particulièrement adapté pour mener ce type de recherche. De plus, un grand nombre de voies de régulation sont communes entre *C. elegans* et l'homme. Cette conservation moléculaire et a permis de mettre en œuvre des stratégies d'études fonctionnelles de nombreuses pathologies humaines telles que le cancer (Une homologie a été relevée pour près de 65 % des gènes impliqués dans des pathologies humaines). La durée de vie courte (2 à 3 semaines) de *C. elegans* est particulièrement adaptée aux études de toxicité chronique conduites sur une ou plusieurs générations. Les réponses moléculaires seront explorées par (i) une analyse globale du transcriptome suivie (ii) de l'utilisation de lignées modifiées de *C. elegans* (mutants/transgènes) afin de valider la contribution de certains gènes candidats impliqués dans les mécanismes moléculaires de réponse au stress génotoxique et plus particulièrement dans les voies de signalisation oncogéniques. A terme, les données extraites de notre étude doivent apporter des connaissances spécifiques sur les conséquences d'une exposition de longue durée (vie entière) à un agent génotoxique. Ces données seront utilisées pour développer des biosenseurs de génotoxicité précoces et sensibles en lien avec une exposition chronique à des doses modérées d'agents cancérigènes.

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

La force de ce projet repose sur la stratégie d'exposition qui est représentative d'une exposition environnementale chronique sur une ou plusieurs générations. De plus ce projet s'adresse de façon originale

et ambitieuse au domaine des faibles doses dont les conséquences sont d'autant plus délicates à évaluer que leurs effets sur l'ADN sont rapidement réparés et deviennent non détectables. Les outils que nous souhaitons mettre en place permettront de mesurer des réponses moléculaires faibles et transitoires et leur conséquences, à plus ou moins long termes, sur l'organisme.

Les gènes spécifiquement impliqués dans la réponse au stress génotoxique seront utilisés pour le développement de lignées modifiées (mutants, transgènes) pouvant servir de biosenseurs pour la caractérisation de nouvelles substances cancérigènes. Ces nouveaux outils seront également applicable dans un contexte d'expologie afin de déterminer le pouvoir cancérigène d'un cocktail de polluants rejeté dans l'environnement.

Argumentation du choix des questions

Le projet proposé s'inscrit dans la question de recherche « cancers » puisqu'il a trait à la caractérisation des mécanismes de toxicité de substances génotoxiques.

Le mode d'exposition choisi permettra d'apporter des éléments de réponses aux questions posées dans l'ITEM 6 notamment sur les conséquences d'une exposition à long terme (vie entière) et à de faibles doses des tresseurs.

Parallèlement, le développement de lignées modifiées pour des gènes identifiés comme jouant un rôle prépondérant dans la réponse au stress génotoxique constituera un point d'entrée pour le développement de biosenseurs pertinents associés aux risques de cancer comme suggéré dans l'ITEM 5.

Description des méthodes mises en œuvre

Action 1: Etude des mécanismes génotoxiques induits en réponse à une exposition chronique à un agent génotoxique sur un cycle de vie complet. Identification des cibles moléculaires (Mois 1–9)

Les nématodes seront exposés depuis le stade embryonnaire jusqu'à leur fin de vie à des doses sub-létales de rayonnements gamma (stresseur physique) ou de cadmium (stresseur chimique). La réponse du transcriptome sera analysée par RNAseq à différents stades de vie afin d'identifier des cibles moléculaires spécifiques de la réponse au stress génotoxique chronique. L'interprétation des données issue de l'analyse transcriptomique sera réalisée dans un contexte intégré incluant notamment la mesure de dommages à l'ADN, les taux d'apoptose et de prolifération cellulaire.

Action 2: Développement d'outils spécifiques (Mois 10–24)

Les niveaux de sensibilité et de spécificité des gènes cibles identifiés dans l'action 1 seront évalués en réponse à une gamme de doses de stresseurs (courbe de type dose-réponse). Les tests d'induction des gènes cibles seront facilités par la possibilité de se procurer le gène choisi sous la forme d'un gène rapporteur GFP (CGC, University of Minnesota, MN, USA). En parallèle, cette étude sera réalisée sur des lignées KO pour des gènes spécifiques impliqués dans des processus majeurs de régulation pouvant impacter les capacités de résistance au stress génotoxique.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : IRSN - PRP-ENV/SERIS/LECO - Saint paul Lez Durance

Responsable de l'équipe : Mme Catherine Lecomte

Equipe 2 : University of Life Sciences - Isotope Laboratory - Department of Environmental Science – Ås, Norvège

Responsable de l'équipe : M. Dag Anders Brede

Equipe 3 : Université de Montpellier - Laboratoire de Toxicologie – I.B.M.M CNRS UMR 5247

Responsable de l'équipe : M. Simon Galas

Résumé ACCEDERA

Responsable scientifique : M. Martin Röösl

Organisme : Swiss Tropical and Public Health Institute – Bâle, Suisse

1. Titre

Projet complet

36 mois

Amélioration de la précision des mesures personnelles aux fréquences radio et caractérisation des niveaux d'exposition dans divers environnements et différents pays

2. Questions à la recherche

RFES 5.1 - Caractériser l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

RFES 5.2 - Engager des travaux permettant de croiser la description spatiale des niveaux de champs électromagnétiques avec la répartition géographique de la population, en vue d'offrir une première caractérisation de l'exposition résidentielle.

3. Résumé

Objectif détaillé

1. Extend and further develop a prototype of a body-worn distributed radiofrequency (RF) exposure meter (BWDM) with higher accuracy than previous meters.
2. Application of the BWDM in parallel with previously used personal RF exposimeters and conducting measurements in various indoor and outdoor microenvironments in five different countries.

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

We have submitted a similar project to the 2014 call, which was not considered. The reviewers acknowledged that the new measurement devices will be very powerful and that relevant exposure data will be collected at places representative for the population's exposure. The proposal was judged as state of the art. However, the project duration was considered to be too short and it was criticized that a sub-band of GSM900 (GSM-rail) was not included.

For that reason we suggest an improved study which covers a longer time period and includes repeated measurements within the countries to obtain more robust data over a period of 2 years. The measured frequency range will be expanded to Wifi in the 5 Gigahertz band, which is expected to be relevant for the future. We will also add an additional exposimeter for validation (EME SPY 200), thus providing comparisons of the two types of portable RF-EMF exposure meters, which are mostly used in research nowadays.

The BWDM device, which we will develop, represents a highly innovative approach to obtain more reliable exposure data. It substantially reduces body shielding, has a considerable lower detection limit, a higher precision and cross-talks between frequency band is significantly reduced.

Argumentation du choix des questions

A recent electromagnetic field exposure assessment in Europe for the frequency range of 10 MHz–6 GHz (Gajsek, JESEE, 2015) has just demonstrated knowledge gaps and concluded "it remains a challenge to predict whether groups in the population with elevated exposure exist and, if so, to what extent they are exposed above the normal background level." Better knowledge of the exposure of the general population RF-EMF exposure has also been identified as a research priority by the World Health Organization (WHO) for its research agenda for RF-EMF.

By applying a standardized protocol, carried out in five different countries, exposure characterization of the population will be improved by quantifying RF exposure contributions from specific microenvironments

such as railway stations or public places with numerous WLAN hot spots. Our approach allows collecting numerous spatially distributed measurements within a short time frame. Further, local sources such as FEMTO mobile phone base stations, WLAN and DECT cordless phones, which cannot be modelled, can also be captured. The approach avoids a problem of volunteer studies: volunteers may not comply with study protocols and could even manipulate measurements by putting the device close (or far) from RF-EMF sources resulting in over- (or under-) estimation of the true exposure.

Description des méthodes mises en œuvre

A body-worn distributed exposure meter (BWDM) has been developed and tested for GSM900 and will be further developed and extended with the following bands: mobile phone downlink frequency bands (800 MHz, 1800 MHz, 2100 MHz, 2600 MHz), DECT cordless phone, and WLAN (2 GHz band) and WIFI (5 GHz band) frequency bands. The antennas are distributed in an optimal way on the upper body to eliminate body shielding. It will consist of three antennas per frequency band. Such a combination of multiple antennas reduces uncertainty by several orders of magnitude. The BWDM design will be optimized and calibrated on-body of each of the researchers conducting the measurements in the different participating countries in an anechoic room (Ghent, Belgium).

The application study will be conducted in Belgium, France, The Netherlands, Spain, and Switzerland representing a wide range of urban architectures and different RF exposure regulations. In each country about 80 comparable microenvironments in urban, suburban, and rural areas will be selected, including different types of residential areas, town centres, business areas, trains, buses, subway, railway stations, and airports. Measurements will be performed by a trained researcher during ca. 15 minutes per microenvironment, which was demonstrated to yield highly reproducible data (Urbineallo et al, 2014). In each microenvironment measurements will be repeated two times on different working days and times of the day in a synchronized manner in all participating countries in order to obtain comparable measurements. The measurement campaign will be repeated 3 times in each country within two years resulting eventually in six repeated measurements per microenvironment. In parallel with the BWDM, we will collect RF exposure data with the two established, mostly used personal RF meters EXPOM and EME SPY 200.

Schedule:

Month 0-6: Definition of measurement procedure, production of measurement devices and training of research assistant for conducting measurements

Month 7-30: Conduct of measurements in each country and data cleaning

Month 24-36: Data analysis and paper writing

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Swiss Tropical and Public Health Institute – Bâle, Suisse

Responsable de l'équipe : M. Martin Rössli

Equipe 2 : iMinds – Gent, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Wout Joseph

Equipe 3 : Utrecht University - Institute for Risk Assessment Sciences – Utrecht, Pays-Bas

Responsable de l'équipe : Mme Anke Huss

Equipe 4 : CREAL – Barcelone, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Elisabeth Cardis

Equipe 5 : Ineris - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. René De Sèze

Equipe 6 : CETIM - Senlis

Responsable de l'équipe : M. Paul Mazet

Résumé ADULTILAV

Responsable scientifique : M. Manuel Etienne

Organisme : Conseil Général - Service Démoustication - Fort-de-France

1. Titre

Projet complet

24 mois

Évaluation de l'efficacité en laboratoire et en semi-opérationnel de quatre candidats adulticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle sur *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus* à la Martinique.

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Stratégies de contrôle des vecteurs et de la transmission, plus ciblées et plus durables (identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents pour la LAV, 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

La dengue a longtemps constitué l'unique arbovirose menaçant la santé publique en Martinique. Fin 2013, l'émergence du chikungunya a fortement aggravé le contexte sanitaire de ce département d'outremer. En effet, en l'absence de vaccin ou médicament, la réponse à ces deux maladies repose uniquement sur la lutte contre le vecteur local, *Aedes aegypti*. En Martinique, cette lutte antivectorielle (LAV) intègre différentes méthodes complémentaires (mobilisation communautaire, protection individuelle, suppression de gîtes larvaires, biocides...). Or, la résistance très marquée d'*Ae. aegypti* vis-à-vis de la deltaméthrine, seul adulticide autorisé dans l'Union Européenne, compromet fortement la lutte biocide.

Pour répondre à ces enjeux sanitaires et opérationnels, le projet propose d'évaluer l'efficacité de quatre substances actives adulticides reconnues potentiellement utilisables par la LAV (Avis de l'ANSES/Saisine n°2012-SA-0028) : l'alléthrine, le dinotéfurane, l'indoxacarbe et l'imidaclopride, vis-à-vis de deux espèces locales d'intérêt : *Ae. aegypti*, vecteur de dengue, de chikungunya et de zika ; *Cx. quinquefasciatus*, espèce nuisante potentiellement vectrice de West-Nile, arbovirose sévissant dans les Amériques.

Le premier objectif consiste à évaluer selon les procédures standard OMS, l'efficacité en laboratoire de chaque substance sur des souches locales d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* issues de 10 à 15 sites représentatifs de l'île : au stade larvaire (tests larvaires OMS) et adulte (tests tubes OMS), afin d'établir un état des lieux de la sensibilité pour les quatre substances.

Dans un second temps, l'efficacité des deux meilleurs candidats en laboratoire sera testée en conditions semi-opérationnelles (terrains et locaux isolés) en pulvérisation spatiale autoportée et intradomiciliaire.

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

En testant l'efficacité de ces quatre substances actives, identifiées comme potentiellement utilisables par la LAV (Avis de l'ANSES/Saisine n°2012-SA-0028), sur des souches martiniquaises résistantes à la deltaméthrine, le projet ADULTILAV propose de fournir des réponses indispensables aux instances devant statuer sur le devenir de ces molécules.

Il prévoit également d'évaluer la synergie éventuelle de leur usage combiné en pulvérisation spatiale.

Il prend en compte les éventuels impacts écotoxicologiques méconnus de chaque candidat en réalisant ces tests en conditions contrôlées : en laboratoire selon des procédures standard OMS et en conditions semi-opérationnelles (locaux ou terrains isolés).

Un volet écotoxicologique complet pourra être conduit par la suite sur les meilleurs candidats.

Le choix des cibles (*Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*) répond à un enjeu sanitaire et économique local fort (dengue, chikungunya et nuisance) à l'origine du savoir-faire et des ressources humaines et matérielles disponibles localement pour la réalisation du projet.

Argumentation du choix des questions

ADULTILAV correspond aux thèmes :

« Identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents pour la LAV » en contribuant à fournir des données sur l'efficacité de quatre candidats adulticides prometteurs vis-à-vis de moustiques localement vecteurs de dengue, de chikungunya et sources de nuisance.

« Gestion des résistances » : l'efficacité éventuelle d'un ou plusieurs candidats offre une perspective de sortie de l'impasse constituée par la disponibilité actuelle d'un unique adulticide. Une stratégie alternative de lutte biocide, basée sur l'usage en rotation ou en combinaison d'adulticides efficaces, pourrait être envisagée et favoriser une meilleure gestion de la résistance à l'échelle nationale (Métropole et Outremer).

Description des méthodes mises en œuvre

Année 1 :

Obtention des quatre produits techniques et des doses diagnostiques.

Échantillonnage des populations d'*Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* sur sites retenus (selon données existantes sur résistance à la deltaméthrine).

Réalisation des tests larvaires/tubes OMS. Souches de référence : Bora-Bora (*Ae. aegypti*)/S-LAB (*Cx. quinquefasciatus*). Insecticide de référence : deltaméthrine.

Année 2 :

Suite et fin des tests larvaires/tubes.

Sélection des deux candidats les plus efficaces.

Obtention des formulations opérationnelles. Évaluation d'efficacité en condition semi-opérationnelles, dans des locaux (pulvérisation intradomiciliaire) ou des terrains isolés (pulvérisation autoportée).

Valorisation :

Présentation des résultats aux opérationnels et aux décideurs (locaux et nationaux).

Communications

Publications

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Conseil Général - Service Démoustication - Fort-de-France

Responsable de l'équipe : M. Manuel Etienne

Résumé ALTERNATIFS

Responsable scientifique : M. Vincent Laudet

Organisme : Observatoire Océanologique - Unité BIOM - UMR 7232 du CNRS - Banyuls-sur Mer

1. Titre

Projet complet

36 mois

Les récepteurs alternatifs du bisphénol A et des Xénoœstrogènes: pertinence sur la perturbation endocrinienne

2. Questions à la recherche

PEST 1.4 - Développer des indicateurs d'exposition (dont des marqueurs biologiques) aux substances phytopharmaceutiques chez l'homme, ayant une mise en oeuvre et un suivi simples et permettant la prise en compte des multi-expositions et des fenêtres d'exposition critiques. Proposer des stratégies pour leur déploiement et l'exploitation des données correspondantes. Proposer des stratégies pour la mise en relation de ces indicateurs d'exposition avec les expositions environnementales à partir de modèles pharmacocinétiques et leur interprétation sanitaire.

ACHIM 3.2 - Développer les biomarqueurs d'effets spécifiques des perturbateurs endocriniens.

ACHIM 5 - 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

Les xénoœstrogènes (XE) sont des molécules étrangères au corps humain qui compromettent la reproduction masculine, en altérant le développement des organes sexuels ou la production de gamètes. Cette classe de perturbateurs endocriniens contient probablement de nombreuses molécules dont des pesticides, des substances naturelles végétales, des plastifiants dont la toxicité est plus ou moins bien caractérisée. Le XE le plus étudié est le bisphénol A (BPA), utilisé pour la fabrication industrielle de matières plastiques. Le BPA est désormais interdit pour tout usage alimentaire. Il est remplacé par d'autres bisphénols, peut-être tout aussi toxiques.

Il est couramment admis que les XE agissent comme des antagonistes des récepteurs nucléaires des œstrogènes, ER α et ER β (ERs). Il est cependant établi qu'une partie de la signalisation œstrogénique ne passe pas par l'activation de ces récepteurs nucléaires. De plus, la capacité du BPA d'agir comme un antagoniste des ERs ne peut expliquer toute son activité biologique. En premier lieu, l'affinité du BPA pour les ERs (environ 0.1 μ M) est 10 000 fois faible que celle du ligand naturel, l'œstradiol. Or des effets biologiques du bisphénol A ont été observés à des doses de l'ordre du nM. Deux voies alternatives sont envisageables :

-Les œstrogènes peuvent agir par le biais d'un récepteur membranaire, GPER, et activer la voie ERK. Le BPA est capable d'interagir avec ce récepteur et de l'activer à des doses de l'ordre de 100 nM.

-Les ERRs sont des récepteurs nucléaires dont les ligands naturels sont inconnus, et qui sont apparentés à ERs. Nous avons montré que ERR γ a une forte affinité (5.5nM) pour le BPA.

L'existence de ces voies alternatives a rarement été envisagée pour l'étude du mode d'action des XE. Elle pourrait expliquer des effets à faible dose et/ou des relations dose/réponse non-monotones souvent observées. Pour une bonne évaluation du risque lié à l'exposition à ces molécules il est donc critique de préciser la pertinence de ces cibles alternatives.

Le projet présenté utilisera des tests simples et spécifiques qui permettent de tester l'action d'une collection de XE potentiels sur les 3 voies de signalisations décrites, en se basant sur les résultats préliminaires:

-L'observation de la fluorescence de poissons rapporteurs transgéniques, exprimant la GFP d'une manière dépendante de l'activité des ERs, permet de mesurer le niveau de signalisation de la voie canonique.

-Toujours chez le poisson-zèbre, l'action du BPA sur ERRg altère le développement des otolithes de l'oreille interne. Il suffit donc d'exposer les embryons pendant 48 heures à un XE et d'observer la taille et le nombre des otolithes sous la loupe pour tester l'action sur cette voie de signalisation.

-Des fibroblastes de peau humaine en culture expriment GPER mais pas les ERs. L'activation de cette voie de signalisation par les œstrogènes s'accompagne d'une phosphorylation de ERK1/2, et d'une altération rapide de la forme des cellules qui peut être très précisément quantifiée, à l'aide d'une analyse d'image automatisée.

L'analyse sera approfondie et complétée pour les XE avérés. Une lignée cellulaire humaine sera transfectée pour exprimer de manière permanente ERa, ERRg ou GPER. L'analyse complète du transcriptome (RNAseq) permettra de définir très précisément la toxicité des XE. Nous avons démontré que cette approche procure une puissance statistique inégalée. Elle permet également de découvrir de nouveaux biomarqueurs, et de détecter des effets indépendants des trois voies de signalisation.

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

Nous allons révéler de nouveaux mécanismes d'action des XE connus pour avoir des effets néfastes chez l'homme. Notre projet combine de façon unique des outils de criblages et une analyse génomique détaillée pour lequel nous possédons collectivement une expertise particulière. Cela permettra de détecter rapidement le potentiel toxique de nombreuses molécules (en particulier les substituts du BPA) et de caractériser de nouveaux biomarqueurs d'exposition spécifiques de chacune de ces voies. Par ailleurs ce projet donnera une première idée des synergies possibles entre ces voies et permettra de redéfinir le concept de XE avec un impact important en ce qui concerne l'évaluation du risque.

Argumentation du choix des questions

La question pertinente à ce projet est celle des agents chimiques et notamment les XE. Notre projet se distingue par son intérêt pour les mécanismes d'action des XE et notamment pour les récepteurs alternatifs, ERRg et GPER, qui sont conservés chez toutes les espèces vertébrées. Nous espérons découvrir des biomarqueurs spécifiques de ces différentes voies.

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet est organisé en 6 tâches testant une cinquantaine de XE: dérivés du BPA, bisphénols chlorés et bromés, alkylphénols (nonylphénol et 4-tert-octylphénol), parabènes (propyl et butyl), pesticides (chlordécone, 2,4'DDE, méthoxychlore etc...), phthalates (BBP, DBP etc...), phytoœstrogènes (genistéine, férutinine etc...) et mycoœstrogènes (zearalenone et dérivés hydroxylés). Pour les composés actifs, la limite inférieure d'exposition conduisant à un effet détectable sera ensuite définie.

Année 1 :

- Crible des effets via ERa chez le poisson zèbre transgénique rapporteur (ERE-gfp).
- Crible des effets via ERRg sur les otholites.
- Cribles des effets via GPER sur les fibroblastes humains.

Année 2 :

- Test de mélanges à faible dose des composés actifs dans chaque système.
- Etablissement des lignées humaines rapporteur pour les 3 voies.

Année 3 :

- Analyse transcriptomique des XE les plus actifs (i.e. 2 ou 3 seulement) sur les lignées humaines rapporteur pour ces 3 voies. Analyse bioinformatique complète.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Observatoire Océanologique - Unité BIOM - UMR 7232 du CNRS - Banyuls-sur Mer

Responsable de l'équipe : M. Vincent Laudet

Equipe 2 : Institut de Génomique Fonctionnelle - CNRS UMR 5242 - Lyon

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

Equipe 3 : Institut de Génomique Fonctionnelle - CNRS UMR 5242 - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Flamant

Résumé AMeCE

Responsable scientifique : Mme Elena Gomez

Organisme : Université Montpellier 1 - UMR 5569 HSM - Equipe ContEm - Montpellier

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Faisabilité de l'approche métabolomique pour la mise en évidence de marqueurs d'exposition aux contaminants émergents

2. Questions à la recherche

ACHIM 6.1 - Milieux aquatiques. On privilégiera les résidus de produits pharmaceutiques et de soin dont, notamment de nouvelles approches sur le diclofénac, le 17-bêta-estradiol (E2) et le 17-alphaéthynylestradiol (EE2).

ACHIM 6.3 - Effets de contaminants chimiques sur les écosystèmes en vue d'anticiper des risques pour la santé humaine.

3. Résumé

Objectif détaillé

La stratégie nationale en Environnement Santé s'intéresse depuis des années à la qualité des milieux dans une perspective d'amélioration de la qualité de vie et la santé des populations en France. Parmi les substances préoccupantes, les micropolluants et les résidus de médicaments ont fait l'objet de plans spécifiques, désormais regroupés dans un plan unique visant la pollution des eaux (plan micropolluants) et en lien étroit avec le Plan National Santé Environnement (PNSE3). Dans ce dernier, la notion d'exposome est introduite pour attirer l'attention sur l'importance de connaître toutes les sources d'exposition susceptibles de concourir à l'altération de la santé des individus. Dans le domaine de la recherche, des méthodes innovantes capables de rendre compte de l'exposition sont à développer, notamment pour les contaminants émergents. Certaines substances se trouvent ainsi répertoriées comme prioritaires sans que l'exposition soit suffisamment renseignée ; c'est par exemple le cas du diclofénac, qui fait partie de la liste de vigilance de la Directive Cadre sur l'Eau (2013/39/EC).

L'approche métabolomique permet de renseigner sur l'exposition des organismes par la mise en évidence de marqueurs directs d'exposition (contaminants et métabolites) et de marqueurs indirects (marqueurs de réaction physiologique à l'exposition). Cette méthodologie innovante peut permettre une investigation plus fine de l'exposition à des contaminants émergents. Elle sera mise en œuvre pour étudier sa faisabilité sur des produits issus de la conchyliculture, organismes filtreurs exposés dans des milieux souvent confinés et destinés à la consommation humaine.

L'objectif de cette étude de faisabilité est d'investiguer le potentiel de l'approche métabolomique pour identifier des marqueurs d'exposition d'une contamination des milieux aquatiques aux résidus de médicaments avec un organisme modèle *M. galloprovincialis*. Nous nous proposons de réaliser cette étude sur le diclofénac, afin i) de développer une nouvelle approche pour proposer in fine de nouveaux outils de surveillance de la qualité des denrées et ii) d'acquérir des données sur l'exposition via la consommation des produits issus de la conchyliculture.

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

Notre équipe possède le savoir-faire en vue d'étudier l'exposition des organismes aquatiques aux molécules cibles. Le projet PEPSEA (coordinateur E. Gomez), financé par l'ANR de 2009 à 2013 a permis de caractériser la présence de médicaments et leurs métabolites en milieu côtier méditerranéen et dans ses organismes filtreurs [1, 2]. Nous nous proposons aujourd'hui de compléter cette approche par la recherche

de marqueurs directs et indirects d'une exposition aux résidus de médicaments. L'originalité se situe également dans la validation en situation « terrain » de ce type de marqueurs. Si la pertinence de l'approche métabolomique est démontrée au cours de cette étude pilote sur le diclofenac, la méthodologie développée pourra par la suite être appliquée à d'autres contaminants présents dans les milieux aquatiques dans le cadre de projets de recherche de plus grande envergure. Trouver une combinaison de marqueurs d'exposition renseignant sur la qualité des denrées alimentaires permettrait d'anticiper le risque sanitaire lié à la consommation de produits issus de la conchyliculture. L'enjeu de cette approche est de déterminer des marqueurs précoces permettant le diagnostic de situations préoccupantes.

[1] Martinez-Bueno et al. Environmental Science and Pollution Research, 2015, sous presse.

[2] Martinez-Bueno et al. 2013, J. Chromatography A 1305:27-34.

Argumentation du choix des questions

Au cours de cette étude, nous exposerons en milieu contrôlé des moules méditerranéennes au diclofenac. Il s'agit d'une molécule modèle dans cette étude de faisabilité. Ce projet permettra de d'acquérir des données originales qui reflètent le devenir de cette substance dans les organismes, substance déclarée prioritaire dans la DCE. De plus, la qualité des denrées alimentaires dépendant du milieu dans lequel elles sont produites, ce projet ambitionne de développer une nouvelle approche pour proposer de nouveaux outils applicables à la surveillance de la qualité des milieux. Ce dernier point justifie la conduite d'une étude terrain.

Description des méthodes mises en œuvre

Tache 1 (M1 à M21) : Validation des méthodes d'acquisition des empreintes métaboliques et de traitement de l'information pour l'identification de marqueurs. Application aux échantillons générés dans les taches 2 et 3.

Tache 2 (M4 à M12): Expositions contrôlées en laboratoire de *M. galloprovincialis* au diclofenac. Deux expériences permettront d'étudier la concentration et la durée d'exposition pertinentes pour identifier les marqueurs.

Tache 3 (M12 à M15) : Campagne terrain : des organismes seront exposés sur deux sites de l'étang de Thau dont un situé à proximité d'un rejet de station d'épuration. Les marqueurs mis en évidence dans les taches 1 et 2 seront recherchés.

Tache 4 (M18 à M24) : Critique et voies d'amélioration de la méthode proposée, conclusions sur l'applicabilité sur d'autres contaminants.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Montpellier 1 - UMR 5569 HSM - Equipe ContEm - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Elena Gomez

Equipe 2 : Université Montpellier 1 - EA 2415 LBERC - Equipe Génomique fonctionnelle des gènes soumis à empreinte génomique parentale - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Christelle Reynes

Résumé ASK-PARIS

Responsable scientifique : Mme Isabelle Momas

Organisme : Université Paris Descartes - Département "Santé publique et biostatistique" - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Évolution de la sensibilisation au cours des premières années de vie et facteurs de risque liés au mode et à l'environnement de vie, dans la cohorte PARIS

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ABIO 1 - Caractérisation du danger (techniques de détection notamment approches quantitatives, outils moléculaires, indicateurs) liés à la présence d'agents biologiques pathogènes pour l'homme.

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

3. Résumé

Objectif détaillé

En vue de prévenir les allergies, ce projet vise à explorer l'histoire naturelle de la sensibilisation allergénique et les facteurs associés chez les enfants de la cohorte PARIS (Pollution and Asthma Risk : an Infant Study) et, dans cette optique, à :

- 1) étudier l'incidence de la sensibilisation allergénique à 18 mois et à 8 ans et identifier les profils de sensibilisation à ces âges, en fonction des catégories d'allergènes impliqués et de leur nombre,
- 2) décrire les différentes trajectoires de sensibilisation chez ces enfants entre ces deux âges,
- 3) étudier l'impact du mode et du cadre de vie, en particulier de l'environnement intérieur et extérieur aux locaux, sur la sensibilisation et son évolution.

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

La cohorte de naissances PARIS offre l'opportunité (rare) d'étudier l'histoire naturelle de la sensibilisation allergénique au cours des premières années de vie, grâce au dosage de marqueurs sanguins d'atopie, à 18 mois (données peu souvent disponibles à cet âge) et à 8 ans. Parallèlement, l'évolution du mode et du cadre de vie des enfants a été prospectivement documentée.

La deuxième originalité du projet tient au recours à une puce à protéines développée dans le cadre du programme européen MeDALL (Mechanism of the Development of ALLergy), qui permet un dosage sensible et spécifique des IgG et des IgE dirigées contre plus de 170 allergènes, ce qui donnera la possibilité de déterminer par des méthodes de classification, des profils de sensibilisation en fonction des catégories d'allergènes impliqués, ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été décrit.

Argumentation du choix des questions

Il est nécessaire de développer des stratégies de diagnostic précoce, de prévention et de prise en charge des sensibilisations allergéniques afin de limiter le développement des maladies allergiques (rhinite, dermatite atopique, asthme et allergie alimentaire) qui en découlent, ce qui est très pertinent en matière de santé publique, au regard de la prévalence de ces maladies que l'Organisation Mondiale de la Santé classe en

quatrième position en termes de nombre de cas dans le monde. Cette démarche suppose une meilleure compréhension de l'histoire naturelle de la sensibilisation allergénique qui reste mal connue. Dans cette optique, il apparaît indispensable de mieux caractériser le danger en mettant en évidence de nouveaux indicateurs de profils et de trajectoires de sensibilisation aux trophallergènes et aux pneumallergènes (question agents biologiques - point 1) dès le plus jeune âge (fenêtre immunologique particulièrement propice) (question agents chimiques - point 2) et en identifiant les facteurs associés (question air - point 1).

Description des méthodes mises en œuvre

Le présent projet porte sur les enfants de la cohorte PARIS pour lesquels les marqueurs biologiques de l'atopie auront pu être dosés à 18 mois et à 8 ans (un millier d'enfants environ) par des techniques complémentaires : immuno-enzymatiques pour les IgE totales et spécifiques de différents trophallergènes et pneumallergènes (système ImmunoCAP®) et à l'aide d'une puce à protéines, la MeDALL allergen-chip, pour les IgG et IgE dirigées contre plus de 170 allergènes (Lupinek et al., 2014). Les dosages sont planifiés pour 2016. Des tests cutanés allergologiques sont aussi effectués lors du bilan médical à 8 ans (résultats disponibles mi-2015). Ces données feront ensuite l'objet d'analyses (logiciels Stata® et R) de classifications transversales et longitudinales afin d'établir respectivement des profils de sensibilisation à 18 mois et à 8 ans ainsi que des trajectoires de sensibilisation. La recherche d'associations entre la sensibilisation allergénique et les facteurs de risque potentiels (renseignés par auto-questionnaires réguliers) se fera par analyse multivariée (régressions linéaires et logistiques).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Descartes - Département "Santé publique et biostatistique" - Paris
Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Momas

Résumé BADGERM

Responsable scientifique : Mme Virginie Rouiller-Fabre

Organisme : Université Paris Diderot-Paris 7 - Inserm U967/CEA - LDG/iRCM. - Fontenay aux Roses

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets d'un substitut potentiel du BPA, le BADGE, sur le développement des cellules germinales fœtales chez la souris et l'homme

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - 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 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif général de notre projet est de fournir des informations expérimentales sur l'innocuité ou la toxicité potentielle d'un substitut du bisphénol A (BPA) le Bisphénol A diglycidyl ether (BADGE) sur les cellules germinales (CG) mâles et femelles murines et humaines. Le BADGE est le composant majeur des résines époxy liquides commerciales, utilisé pour le revêtement des conserves et canettes. Son utilisation risque d'être étendue puisqu'il a été proposé comme potentiel substitut du BPA (Rapport d'expertise collective ANSES 2013).

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

Les gonades fœtales sont extrêmement sensibles à de très nombreux perturbateurs endocriniens (PE), dont le BPA. Dans les deux sexes, leur développement constitue une étape clef pour l'acquisition du potentiel reproducteur de l'individu. Au cours de ce projet nous proposons de déterminer les effets du BADGE sur la survie et la différenciation des CG fœtales femelles et mâles. Il est maintenant reconnu chez de nombreux mammifères que le BPA altère les CG femelles et mâles pouvant ainsi avoir des répercussions sur les générations suivantes. D'une part, Le BPA affecte la prophase I de méiose et entraîne des problèmes d'aneuploïdie. D'autre part, il est suspecté de modifier les marques épigénétiques apposées lors de la différenciation germinale conduisant à des modifications d'expressions géniques dans la descendance. Actuellement si les effets reprotoxiques du BPA sont reconnus, la littérature concernant les effets de substituts du BPA et notamment du BADGE qui présente une structure chimique proche du BPA est quasi inexistante, malgré le fait que la population est déjà exposée à cette substance. Nos résultats préliminaires, obtenus en culture organotypique suggèrent d'ores et déjà que le BADGE a un effet très délétère sur les CG femelles murines.

Argumentation du choix des questions

Notre projet s'inscrit totalement dans le cadre du présent appel d'offre et des thématiques développées depuis de nombreuses années par le Partenaire 1.

Q1: "Effets des PE sur l'homme" : Nous allons réaliser une étude toxicologique des effets du BADGE sur un modèle de xénogreffes de gonades fœtales humaines mâles et femelles. Ce modèle de greffe de gonades

dans le dos d'une souris athymique autorise la différenciation des gonades de manière similaire à ce que l'on observe physiologiquement et permet une exposition longue au BADGE.

Q2: "Etudes sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques reprotoxiques pour les populations sensibles (fœtus)". Afin de caractériser les effets reprotoxiques du BADGE sur les CG fœtales murines et humaines, nous allons tester plusieurs doses de BADGE et quantifier les taux sériques des souris exposées (normales et athymiques).

Q3: "Etude des effets des perturbateurs endocriniens". Nous allons réaliser une étude toxicologique des effets reprotoxiques du BADGE dans un modèle d'exposition in vivo de souris gestantes.

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet s'articule autour de deux grands axes. Le premier axe repose sur l'exposition in vivo au BADGE de souris gestantes. Le BADGE sera dilué dans l'eau de boisson et trois doses seront administrées au cours de la deuxième moitié de la gestation. Cette période d'exposition couvrira l'ensemble des étapes de différenciation germinale fœtale. En fin de vie fœtale, nous évaluerons les effets toxiques du BADGE sur 1/ le nombre et l'apoptose des CG (mâle et femelle), 2/ sur la progression méiotique (femelle) et 3/ sur la méthylation de l'ADN (mâle). Le deuxième axe concerne l'étude des effets à long terme du BADGE sur les gonades fœtales humaines issues d'interruptions volontaires de grossesse (IVG) et obtenues grâce à la collaboration établie depuis plus de 10 ans avec le service de gynécologie obstétrique de l'hôpital Antoine Beclère à Clamart (Partenaire 3). Pour cela nous utiliserons un modèle in vivo de gonades fœtales humaines greffées dans le muscle du dos de souris athymiques. Ce modèle, déjà validé dans notre laboratoire, autorise la différenciation et le maintien des gonades sur une longue période (jusqu'à 10 semaines de greffe). Ainsi, il permettra de suivre pour la première fois l'effet d'une exposition longue et contrôlée du BADGE (eau de boisson) pendant une période couvrant l'ensemble des événements de différenciation germinales mâles ou femelles. Les données préalablement obtenues chez la souris nous permettront d'affiner les doses de BADGE utilisées et de nous orienter vers le processus de différenciation germinale le plus affecté (i.e. méiose ou défaut de méthylation). Les taux sériques de BADGE seront déterminés par le Partenaire 2.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Diderot-Paris 7 - Inserm U967/CEA - LDG/iRCM. - Fontenay aux Roses

Responsable de l'équipe : Mme Virginie Rouiller-Fabre

Equipe 2 : Université Paris Diderot - Unite BFA CNRS EAC 4413 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Fernando Rodrigues-Lima

Equipe 3 : Hôpital Antoine Beclere - Médecine de la Reproduction - Clamart

Responsable de l'équipe : Mme Alexandra Benachi

Résumé BarBaPAhR

Responsable scientifique : M. Xavier Coumoul

Organisme : Université Paris Descartes - Inserm UMR-S 1124 - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets du B(a)P seul ou en co-exposition avec des nanoparticules et implication du récepteur Ah (ou AhR) dans l'intégrité et la fonction de deux barrières physiologiques: broncho-pulmonaire et placentaire

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - 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 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ACHIM 5 - 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

Le benzo(a)pyrène (BaP) est un Polluant Organique Persistant présent dans l'air. C'est un agent CMR, tératogène et perturbateur endocrinien dont l'action au niveau des barrières est peu étudiée. Il peut y être métabolisé mais aussi altérer leurs fonctions. Le BaP est en effet un ligand puissant du récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR), un facteur de transcription qui régule l'expression de nombreux gènes du métabolisme des xénobiotiques (EMX) et de l'inflammation. La première cible du BaP inhalé est la barrière pulmonaire qui protège des polluants inhalés. L'exposition de cellules épithéliales respiratoires à des ligands de AhR augmente l'expression des EMX, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et de mucus et peut induire des lésions nécessitant des réparations par différenciation des cellules basales. Le BaP peut donc altérer cette barrière et passe en partie celle-ci pour se concentrer dans le sang. La barrière placentaire représente une protection fondamentale pour le fœtus et assure diverses fonctions physiologiques importantes pour son développement telles que la fonction endocrine. Celles-ci sont assurées par le syncytiotrophoblaste (ST) qui constitue une cible majeure des contaminants environnementaux dont le BaP. Toutefois, l'influence du BaP sur l'intégrité et la fonction de cette barrière demeure insuffisamment comprise. Pour une évaluation du risque sanitaire du BaP, il est important de prendre en compte le mode d'exposition à celui-ci; le BaP est rarement un contaminant unique de l'air extérieur (souvent associé par exemple à des particules atmosphériques); des co-expositions du BaP avec des particules pourraient modifier sa toxicité ou celle des particules. En effet, le BaP est formé par la combustion incomplète de composés organiques et il peut s'adsorber à la surface de particules émises lors de la combustion modifiant sa pénétration et biodisponibilité. Des particules inhalées (notamment des nanoparticules ou NP) peuvent être internalisées par les cellules et franchir la barrière pulmonaire. Des NP de CeO₂ sont utilisées comme additifs (gazole, cigarettes) favorisant l'adsorption des HAP à leur surface lors de la combustion. Notre objectif est de caractériser le danger du BaP, ligand du AhR en étudiant ses effets, seul ou en co-exposition avec des NP de CeO₂, sur les barrières pulmonaire et placentaire. L'expression du AhR sera caractérisée dans l'épithélium bronchique au cours de sa différenciation et dans le placenta humain au cours des différents stades de la grossesse de sorte à définir les fenêtres de sensibilité pour l'épithélium bronchique et pour

l'embryon/fœtus. L'influence du mélange NP/BaP ou d'une pré-exposition au BaP ou aux NP sur les mécanismes de transport, la cinétique de biotransformation et les fonctions de ces barrières sera ensuite étudiée.

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

Les effets mutagène et carcinogène du BaP ont été bien établis permettant son classement comme carcinogène de classe 1. Cependant son effet sur le fonctionnement des barrières physiologiques n'a été que peu étudié. L'expression du récepteur du BaP, le AhR, est avérée au niveau du placenta et du poumon mais son expression au cours de la différenciation de ces tissus est inconnue. Le pouvoir des NP à adsorber de nombreuses molécules à leur surface a clairement été démontré mais les conséquences de cette propriété lors de co-expositions avec le BaP ne sont pas encore connues.

Argumentation du choix des questions

Notre projet vise à répondre aux questions liées aux agents chimiques mais aussi « Nanoparticules » et « Air ». Les effets du BaP (CMR de groupe 1 et perturbateur endocrinien du placenta (résultats récents de S. Gil), classé polluant hautement prioritaire de l'air intérieur) sur les barrières bronchiques et placentaires, sont peu étudiés. Nous étudierons les effets du mélange pertinent « BaP + NP de CeO₂ » (créé lors de combustions variées) sur des modèles in vitro d'épithéliums bronchiques normaux ou pathologiques et des cultures de cellules placentaires humaines pour évaluer le risque sanitaire des populations sensibles ce qui pourrait également permettre d'identifier des biomarqueurs spécifiques pour des plans de prévention.

Description des méthodes mises en œuvre

L'un des points forts de ce projet est la maîtrise de modèles humains in vitro de différenciation des barrières étudiées: 1) des cytotrophoblastes humains seront isolés et différenciés en syncytiotrophoblastes in vitro. 2) des cultures différenciées d'épithéliums muco-ciliaires seront établies à partir de cellules primaires épithéliales bronchiques humaines cultivées en interface air-liquide. En modulant les facteurs de croissance utilisés, il est possible d'obtenir un épithélium hypersécréteur mimant ainsi des conditions pathologiques telles que l'asthme ou les BPCO. 3) des modèles plus simples utilisant des lignées (BeWo, NCI-H292) seront également utilisés.

- L'expression du AhR sera caractérisée in situ (coupes histologiques humaines) et in vitro au cours de la différenciation (RT-qPCR, WB, HIS et ICC; mois 1-12)
- L'effet du BaP sur : 1) l'intégrité des barrières (résistance électrique trans-épithéliale, passage de traceurs), 2) la différenciation (RT-qPCR, ICC) et 3) les fonctions (production de facteurs endocrines, pro-inflammatoires, EMX, mucus) des deux barrières (mois 6-24) sera ensuite étudié.
- Les NP de CeO₂ seront étudiées du fait de leur pertinence à moduler l'internalisation du BaP, sa biopersistance et son franchissement des barrières. De plus, nous évaluerons si une pré-exposition au BaP ou aux NP potentialise les effets toxiques de l'un ou l'autre de ces deux polluants (mois 12-36).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Descartes - Inserm UMR-S 1124 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Xavier Coumoul

Equipe 2 : Université Paris Diderot - Laboratoire de Biologie Fonctionnelle et Adaptative - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Sonja Boland

Equipe 3 : Université Paris Descartes - Faculté de Pharmacie - UMR-S1139 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Gil

Résumé BIEAUTOX

Responsable scientifique : Mme Emilie Lance

Organisme : Université Reims Champagne Ardennes - Unité Stress Environnementaux et BIOSurveillance des milieux aquatiques - Reims

1. Titre

Projet complet

36 mois

Cyanobacteries et cyanoTOXines : intérêt des Bivalves pour évaluer le transfert du risque des EAUX douces aux estuaires

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Caractérisation du danger (techniques de détection notamment approches quantitatives, outils moléculaires, indicateurs) liés à la présence d'agents biologiques pathogènes pour l'homme.

ABIO 3 - Connaissances du comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'eutrophisation des écosystèmes aquatiques, associée au changement climatique, entraîne des proliférations de cyanobactéries de plus en plus fréquentes. Ces organismes photosynthétiques produisent des endotoxines (neurotoxines, hépatotoxines, dermatotoxines, cytotoxines) et constituent un réel danger pour les organismes cibles dont l'Homme. La bioaccumulation des microcystines (MCs), cylindrospermopsines (CYN), nodularines (NOD), anatoxines-a (ANTX-a) et saxitoxines (STXs), ainsi que leurs effets sur les organismes, est globalement bien documentée. Cependant, la neurotoxine β -methylamino-L-alanine (BMAA), suspectée d'être impliquée dans des maladies humaines neuro-dégénératives, est encore peu étudiée, alors qu'elle a récemment été mise en évidence dans les eaux douces et saumâtres aux USA et en Europe, y compris en France, avec une biomagnification démontrée dans le réseau trophique (zooplancton, moules, huîtres, poissons). Ce projet de recherche exploratoire, à l'interface environnement-santé publique, intègre une double approche, expérimentale et in situ. Il a pour premier objectif d'évaluer la contamination de mollusques par les cyanotoxines, dont la BMAA, le long de continuum fluviaux, depuis des retenues d'eau douce utilisées pour la potabilisation, jusqu'aux zones estuariennes sièges de pêche à pied et de mytiliculture. L'approche in situ consistera donc à évaluer : 1) la fréquence des proliférations de cyanobactéries et de production de cyanotoxines dans ces différents écosystèmes dulcicoles et saumâtres, 2) la bioaccumulation de cyanotoxines principalement chez le bivalve dulcicole *Dreissena polymorpha* et le bivalve marin *Mytilus edulis* (populations naturelles/cultivées ou encagées). Ce projet présente également une étude en laboratoire des effets de la neurotoxine BMAA sur le fonctionnement physiologique chez *D. polymorpha*. Ces acquisitions permettront la facilitation des suivis à long terme de la contamination des milieux, ce qui apportera une avancée des connaissances sur l'écodynamique des cyanotoxines et les modalités d'exposition de l'Homme. Ceci constituera un outil d'aide à la décision pour les autorités publiques chargées de la gestion des risques sanitaires.

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

Le transfert potentiel du risque lié aux cyanobactéries toxiques et la contamination des organismes le long des continuums eaux douces-estuaires ont été très peu étudiés. Un apport essentiel de notre projet sera d'acquérir des données originales sur les niveaux et la fréquence de bioaccumulation de cyanotoxines chez des organismes filtreurs dulcicoles mais aussi marins, et notamment ceux issus des mytilicultures. Cet état des lieux réalisé le long d'un gradient inter-sites de contamination par les cyanobactéries toxiques sera

associé à une recherche en laboratoire sur les effets de la neurotoxine BMAA, encore très peu étudiée. La finalité de ce projet pourra être de valider l'intérêt des deux bivalves *D. polymorpha* et *M. mytilus* en biosurveillance environnementale et en évaluation des risques sanitaires liés aux cyanotoxines.

Argumentation du choix des questions

Ce projet de recherche est pertinent vis-à-vis des enjeux sociétaux actuels de maintien de la qualité de la ressource, car il s'intègre dans une problématique scientifique ayant des retombées économiques et de santé publique. À ce jour, les connaissances concernant les sources d'exposition potentielles de l'Homme (eau et chair des organismes aquatiques) sont ténues et concernent principalement les hépatotoxines microcystines (MCs). Ce projet privilégie une optimisation dans la méthode de dosage des cyanotoxines MCs, NODs, Anatoxines, Saxitoxines ainsi que de la BMAA pour laquelle l'acquisition de données relatives à la contamination des organismes est fortement limitée par l'absence de méthodes validées. Ces travaux permettront l'émergence d'un outil analytique de quantification des cyanotoxines présentes dans les eaux ou bio-accumulées dans les compartiments biotiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Cette étude prospective propose un couplage d'expérimentations en milieu contrôlé (e.g., exposition de *D. polymorpha*), en conditions semi-naturelles (e.g., encagement) et en milieu naturel (prélèvement de mollusques). L'approche écosystémique sera menée pendant deux saisons de prolifération dans deux sites de la région Bretagne. L'identification et la quantification par CL-SM/SM des cyanotoxines dans différentes matrices (e.g., eau, cyanobactéries, mollusques) seront réalisés par le laboratoire Phycotoxines d'IFREMER-Nantes. L'étude en laboratoire des effets de la BMAA sur le fonctionnement physiologique chez *D. polymorpha* sera menée par le partenaire UMR-I-SEBIO.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Reims Champagne Ardennes - Unité Stress Environnementaux et BIOsurveillance des milieux aquatiques - Reims

Responsable de l'équipe : Mme Emilie Lance

Equipe 2 : Ifremer - Laboratoire Phycotoxines - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Zouher Amzil

Equipe 3 : Université de Rennes 1 - UMR CNRS 6553 ECOBIO - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Myriam Bormans

Résumé BisphIm

Responsable scientifique : Mme Laurence Guzylack

Organisme : Inra Toxalim - Toulouse

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets d'une exposition au bisphénol S (BPS) et au bisphénol F (BPF) par voie transcutanée versus orale, sur le développement des réponses immunitaires : comparaison avec le BPA

2. Questions à la recherche

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

ACHIM 3.2 - Développer les biomarqueurs d'effets spécifiques des perturbateurs endocriniens.

ACHIM 3.4 - Meilleure prise en compte de la sensibilité particulière des enfants dans les tests de toxicité utilisés pour l'évaluation des substances et des produits.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le papier à impression thermique est recouvert de Bisphénol A (BPA, 20mg/g papier) utilisé comme révélateur, ou par l'un de ses substituts (BPS ou BPF), trois composés classés comme perturbateurs endocriniens (PE). Ces modes d'impression sont utilisés pour les reçus de cartes de paiement et de guichets automatiques, les tickets de caisse, témoignant d'une exposition ubiquitaire à ces produits. Dans son évaluation des risques pour la santé humaine, associés au BPA (2013), l'Anses a conclu que l'exposition cutanée aux tickets à base de BPA augmentait le risque de perturbation endocrinienne pour l'enfant à naître de la femme enceinte, tout en soulignant le besoin de mieux caractériser les différentes voies d'exposition. Selon l'exemple du BPA, le BPS et le BPF peuvent être directement absorbés dans la circulation sanguine par voie transcutanée, ou sublinguale après un contact « main-bouche » (Hormann et al., 2014). Dans ces conditions, ces composés ne sont pas métabolisés par un premier passage hépatique, et restent biologiquement actifs pendant une période prolongée en comparaison d'une exposition oro-digestive par l'alimentation seule. Le projet BisphIm propose de comparer, pour chaque bisphénol, l'effet d'une administration par gavage (méthode par défaut utilisée pour tester les dangers des substances chimiques ingérées) en comparaison à l'administration sous-cutanée (passage lent dans la circulation générale mimant une exposition transcutanée) sur une fonction cible du BPA préalablement identifiée : la réponse immunitaire systémique et locale (Ménard et al 2014a, b). Des études in vivo chez la souris (exposition de l'adulte versus périnatale) combinées à une analyse « dose-effet » in vitro sur des cultures primaires ou des lignées cellulaires humaines (lymphocytes, entérocytes, kératinocytes) permettront de caractériser les effets immunomodulateurs du BPS et du BPF en comparaison avec le BPA, et les voies de signalisation supportant ces réponses.

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

Les substituts BPS et BPF étant des molécules d'utilisation récente, peu d'études toxicologiques existent à ce jour, bien qu'ils présentent une activité œstrogéno-mimétique (Eladak, 2014). L'originalité de notre projet repose sur l'apport de données nouvelles sur leurs effets dans l'organisme par rapport au BPA de référence et selon deux voies d'exposition justifiées en milieu professionnel comme domestique, dont une très peu étudiée, la voie cutanée. Pour les doses efficaces, une exposition périnatale permettra de définir si les effets immunomodulateurs après exposition directe se retrouvent dans la descendance de mères exposées pendant la gestation et l'allaitement. Au niveau cellulaire, les voies de signalisation des récepteurs aux œstrogènes (ER) et des hydrocarbures arylés (AhR), tous deux d'expression ubiquitaire et importants

dans le développement des réponses immunitaires (Juillard, 2014), seront évaluées dans des cellules humaines. Le caractère novateur du projet repose sur la capacité : 1) d'identifier les voies d'action des bisphénols dans les cellules immunitaires, les entérocytes (intestin) et les kératinocytes (peau), 2) d'expliquer les réponses observées in vivo et 3) de caractériser l'interaction entre les récepteurs nucléaires ER et AhR susceptibles de supporter leurs effets.

Argumentation du choix des questions

BisphIm propose de comparer, in vivo, les effets de faibles doses de BPS et BPF à ceux du BPA selon deux voies d'administration, orale et sous-cutanée sur le développement de la réponse immunitaire. L'implication des ER et du AhR dans les effets immunomodulateurs de ces PE sera évaluée à l'aide d'outils spécifiques à ces voies de signalisation (pharmacologie des récepteurs, souris KO). Ces résultats seront comparés à une analyse in vitro d'activation et de polarisation des lymphocytes humains. L'implication des récepteurs AhR dans la réponse au BPA, BPS et BPF en lien ou non avec les ER, sera appréciée in vitro dans ces lymphocytes, des cellules humaines intestinales et des kératinocytes. De plus, la sensibilité particulière du système immunitaire en développement pendant la vie in utero et néonatale sera analysée au niveau de la réponse immunitaire basale et induite dans la descendance F1 de mères exposées au BPS ou BPF par rapport au BPA. Nos résultats publiés pour le BPA aux faibles doses (Ménard et al, 2014a,b) justifient ce questionnement dans le projet BisphIm. Ces travaux novateurs nous permettront d'identifier des biomarqueurs immunitaires d'une exposition aux bisphénols.

Description des méthodes mises en œuvre

Années 1 et 2 : Effets d'une administration par gavage et/ou sous-cutanée (BPA, BPS, BPF) chez la souris adulte sur la réponse immunitaire systémique et locale suite à un challenge à l'ovalbumine (OVA). Analyse de la réponse spécifique anti-OVA (IgG, prolifération, cytokines). Analyse in vitro de la réponse immunitaire chez l'Homme après exposition de lymphocytes en culture primaire aux bisphénols (prolifération, activation et polarisation) et aux milieux de culture conditionnés de kératinocytes ou entérocytes exposés aux bisphénols. Rôle des récepteurs AhR et/ou ER dans l'immunomodulation au niveau systémique et intestinal après traitement BPS, BPF et BPA. Utilisation d'antagonistes/agonistes pharmacologiques spécifiques et KO mice. Évaluation mécanistique in vitro des effets des bisphénols sur cellules épithéliales intestinales (Caco2) et kératinocytes (HaCaT) humains.

Années 2 et 3 : Conséquences d'une administration par gavage et/ou sous-cutanée de BPA, BPS ou BPF chez la souris gestante et allaitante sur la réponse immunitaire systémique et locale suite à un challenge OVA dans la descendance F1.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inra - Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Guzylack

Equipe 2 : Université Rennes 1 - Irset UMR Inserm 1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Lydie Sparfel

Equipe 3 : Inserm UMR-S 1124 – Université de Paris Descartes

Responsable de l'équipe : M. Xavier Coumoul

Résumé BPSfetalExpo

Responsable scientifique : Mme Nicole Hagen-Picard

Organisme : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Toxalim- Toulouse

1. Titre

Projet complet

36 mois

Développement d'une approche intégrative pour évaluer l'exposition interne foetale humaine au Bisphénol S

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

ACHIM 3.4 - Meilleure prise en compte de la sensibilité particulière des enfants dans les tests de toxicité utilisés pour l'évaluation des substances et des produits.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les objectifs du projet BPSfetalExpo sont:

(1) de développer une approche modélisatrice de l'exposition foetale humaine au bisphénol S qui s'appuiera sur les données toxicocinétiques obtenues sur le modèle intégratif ovin et qui intégrera des données quantitatives de transfert placentaire obtenues sur le modèle de placenta humain perfusé.

(2) de caractériser des biomarqueurs phénotypiques d'exposition foetale et/ou d'effet du BPS à partir d'une signature stéroïdomique.

(3) de caractériser la relation entre l'exposition externe au BPS de la femme au cours de la grossesse et le niveau des biomarqueurs de l'empreinte prénatale au BPS afin d'évaluer la pertinence pour l'homme des résultats obtenus chez l'ovine.

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

L'originalité de notre projet réside dans son caractère intégré et multidisciplinaire. La combinaison de différentes compétences (physiologie, toxicocinétique, chimie analytique) et de différentes approches est essentielle pour prédire l'exposition foetale humaine au BPS. Par ailleurs, sur des systèmes biologiques complexes, la recherche de biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets des perturbateurs endocriniens nécessite le développement d'approche phénotypique globale. Compte tenu de l'importance de l'équilibre stéroïdien au cours de la gestation et des processus métaboliques communs aux bisphénols et aux stéroïdes, nous évaluerons la signature stéroïdomique comme biomarqueur de l'empreinte prénatale au BPS.

Argumentation du choix des questions

L'évaluation de l'exposition interne foetale au BPS est critique pour l'extrapolation des données de l'animal à l'Homme. Seule une approche modélisatrice, qui s'appuie sur des modèles physiologiques (modèle ovin, placenta humain), est capable de prédire l'exposition foetale humaine au BPS pour une exposition maternelle environnementale et d'identifier des biomarqueurs pertinents de l'empreinte prénatale au BPS. Les résultats de ce projet pourront être exploités dans une démarche d'évaluation quantitative du risque pour la santé humaine liée à l'exposition in utero au BPS.

Description des méthodes mises en œuvre

Disposition du bisphénol S et de ses métabolites dans les compartiments materno-foeto-placentaire (18 mois)

Les paramètres toxicocinétiques (transfert placentaire et métabolisme materno-foeto-placentaire) du BPS et de son principal métabolite, le BPS glucuronide (BPS-G), seront déterminés dans des conditions d'exposition contrôlées, sur le modèle physiologique de brebis gravide instrumentée à 110 j de gestation, qui autorise la réalisation d'administrations et de prélèvements sanguins et amniotiques du côté foetal. Pour prendre en compte les différences interspécifiques de placentation, les mécanismes de transfert placentaire du BPS et du BPS-G seront déterminés sur le modèle ex vivo de perfusion de placenta humain. L'ensemble des résultats permettra la construction d'un modèle toxicocinétique qui intégrera des données quantitatives des processus de transfert placentaire et des activités métaboliques du complexe foeto-materno-placentaire et qui permettra de prédire l'exposition interne foetale humaine à la forme active du bisphénol S pour des expositions maternelles environnementales.

Ce projet nécessite le développement et la validation d'une méthode de dosage par chromatographie liquide à ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse multidimensionnelle permettant l'identification et la quantification simultanée du BPS et de ses métabolites conjugués dans des matrices biologiques ovines et humaines. Le BPS-G n'étant pas disponible dans le commerce, il sera purifié par Flash chromatographie à partir d'urines de brebis exposées au BPS (Axiom).

Evaluation de signature stéroïdique d'exposition et/ou d'effets engendrés par une exposition au BPS (12 mois)

Pour évaluer l'hypothèse selon laquelle l'exposition au BPS pourrait modifier l'équilibre stéroïdien nécessaire au développement normal du fœtus, une approche globale de type stéroïdique sera développée. Sur le modèle du fœtus ovin cathétérisé, l'impact du BPS sur l'équilibre stéroïdien sera évalué en comparant la signature stéroïdique (1) dans le plasma maternel et foetal et dans le liquide amniotique avant et après une perfusion foetale de BPS et (2) dans les liquides biologiques maternels et foetaux (urine, plasma, liquides amniotique et céphalorachidien) et dans le système nerveux central qui constitue un organe cible des stéroïdes, chez des animaux exposés ou non au BPS. Le scénario d'exposition retenu sera celui qui mime l'exposition chronique foetale humaine, prédite dans la 1ère partie du projet.

Les analyses stéroïdiques, réalisées par le LABERCA sur les échantillons biologiques, nécessiteront le développement d'une stratégie de purification des extraits incluant extraction et partitionnement solide-liquide et liquide-liquide ainsi que le fractionnement sur SPE et HPLC et la mesure par chromatographie de masse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) et une quantification des stéroïdes selon les principes de la dilution isotopique.

Données observationnelles humaines (6 mois)

Les données d'exposition obtenues sur le modèle ovin seront ensuite confrontées à des données sur 40 couples mères-nouveaux nés (échantillons collectés dans le cadre du projet ANR « ModelExpo » relatif au bisphénol A). Cette étude nous permettra de caractériser la relation entre d'une part, l'exposition externe globale au BPS de la femme au cours de la grossesse, les concentrations de BPS et de ses métabolites dans le sang maternel et le sang du cordon ombilical et, d'autre part la signature stéroïdique de l'exposition foetale au BPS.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Hagen-Picard

Equipe 2 : ENVT - UMR181 Inra - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Marlene Lacroix

Equipe 3 : Oniris - Laboratoire d'étude des résidus et des contaminants dans les aliments - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Bruno Le Bizec

Equipe 4 : CHU Paule de Viguière - Service de Gynécologie Obstétrique - Toulouse

Responsable de l'équipe : M. Christophe Vayssière

Résumé Cardionoise

Responsable scientifique : Mme Christelle Monteil

Organisme : Université de Rouen - ABTE/Toxemac - Rouen

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Effets cardiovasculaires des nuisances sonores liées aux transports dans un modèle expérimental d'hypertension primaire chez le rat : étude de faisabilité

2. Questions à la recherche

NSON 1 - Évaluation des effets extra-auditifs du bruit pour la population, liés aux transports terrestres (dont le transport ferroviaire) et aérien, aux équipements de proximité (stands de tir, terrains de sport), aux lieux de travail (notamment secteur tertiaire) et aux installations classées pour la protection de l'environnement (notamment éoliennes).

NSON 2 - Etudier les mécanismes d'action du bruit pour les effets à long terme, associés à une exposition prolongée du bruit, qui tiennent compte des facteurs modificateurs identifiés (caractéristiques du bruit, contextes environnementaux, territoriaux et humains, contextes individuels) et documenter les chaînes de causalité bruit-gêne-stress-effet. Ceci, notamment pour les travailleurs.

NSON 4 - Évaluation des bénéfices sur la santé des mesures de lutte contre le bruit, des améliorations technologiques des véhicules routiers et ferroviaires, de l'isolement des bâtiments contre les bruits issus de l'environnement extérieur.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les nuisances sonores induites par les transports peuvent engendrer des effets sanitaires et en particulier des effets cardiovasculaires. L'hypertension artérielle (HTA) est le principal facteur de risque de morbidité et de mortalité dans le monde. Parmi les facteurs de risques responsables de l'augmentation de la prévalence de l'HTA, les nuisances sonores pourraient être incriminées comme le suggèrent des études épidémiologiques récentes même si la part imputable à d'autres facteurs de risque telle que la pollution de l'air reste encore soumise à débat (Münzel et al. 2014*). Les nuisances sonores nocturnes en particulier peuvent agir directement en affectant à la fois le système nerveux autonome (via une activation de l'activité sympathique et/ou une atténuation de l'activité parasympathique) et la fonction vasculaire mais aussi de façon indirecte via le système émotionnel et la perception cognitive du son pouvant conduire à une altération de l'homéostasie neuroendocrine. Il est connu que ces altérations peuvent avoir une valeur pronostique chez des patients atteints d'HTA, de syndromes coronariens aigus ou de maladies coronariennes chroniques. Par ailleurs, il est connu qu'une variabilité de la pression artérielle (PA) peut représenter un facteur aggravant l'hypertension artérielle. Ces observations suggèrent une association forte entre nuisances sonores et maladies cardiovasculaires, même s'il existe encore très peu d'études expérimentales qui permettraient d'établir un lien direct et d'étudier les mécanismes d'action mis en jeu.

Dans ce contexte, l'objectif est de développer un modèle expérimental permettant d'examiner le lien entre l'exposition à des nuisances sonores induites par les transports et les effets cardiovasculaires et en particulier l'aggravation d'une HTA modérée à une HTA sévère. Pour cela, nous nous intéresserons au bruit urbain, représenté par un niveau sonore continu, entrecoupé d'événements impulsionnels, qui pourraient engendrer des modifications hémodynamiques à l'origine d'une évolution de la pathologie.

* Münzel et al. Eur Heart J. 2014. 35 829-836.

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

L'originalité de ce projet réside dans le fait qu'il associe de façon complémentaire et innovante différentes compétences qui permettront de caractériser de manière exhaustive, en fonction du temps, les effets cardiovasculaires de nuisances sonores dans un modèle expérimental exposé à une pollution sonore contrôlée suivant un protocole représentatif de l'exposition humaine aux dites nuisances en milieu urbain (contenu fréquentiel, niveau de bruit aérien et forme de signal continu et impulsionnel). Notre préoccupation pour les effets sanitaires induits par les nuisances sonores nous paraît être un complément indispensable à nos travaux basés sur les effets cardiovasculaires liés à la pollution de l'air. Dans ce cadre, notre projet s'inscrit dans une démarche exploratoire qui permettra de compléter au mieux nos connaissances dans le domaine de l'impact environnemental sur la santé grâce au développement d'un outil expérimental innovant.

Argumentation du choix des questions

Les résultats de cette étude pilote permettront de progresser dans la connaissance des effets extra-auditifs du bruit pour la population, liés aux transports terrestres (question 1) en particulier les effets cardiovasculaires. Par ailleurs, l'exposition contrôlée au bruit (contenu fréquentiel, niveau de bruit et forme de signal), associée à des mesures en continu de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque pendant 3 mois permettront d'apporter de nouveaux éléments dans la compréhension des mécanismes d'action du bruit pour les effets à long terme, associés à une exposition prolongée du bruit, qui tiennent compte des facteurs modificateurs identifiés (question 2). A terme, l'outil expérimental ainsi développé permettra d'envisager l'évaluation des bénéfices sur la santé des mesures de lutte contre le bruit (question 4).

Description des méthodes mises en œuvre

Première phase (3 mois, CEVAA). Nous souhaitons dans un premier temps définir un protocole d'exposition au bruit représentatif des conditions réelles (contenu fréquentiel, niveau de bruit aérien et forme de signal continu et impulsionnel). Pour cela, une recherche bibliographique permettra de définir les signaux représentatifs des nuisances urbaines qui pourront ensuite être synthétisés en utilisant des générateurs de sons et rejoués à proximité des cages d'exposition à l'aide de haut-parleurs. Une étape d'optimisation de ce protocole sera ensuite réalisée pour valider la pertinence des signaux au niveau des rats.

Deuxième phase (4 mois, U1096/EA 4651) : Implantation des capteurs de télémétrie (mesures de la PA en continu) chez des rats hypertendus SHR âgés de 10 à 12 semaines, et randomisés en 2 groupes, un groupe contrôle et un groupe exposé pendant 12 semaines (24h/24, 7j/semaine) selon le protocole d'exposition sonore défini ci-dessus. L'aggravation éventuelle de l'HTA pouvant s'accompagner d'une hypertrophie cardiaque et d'une altération de la fonction rénale, nous réaliserons mensuellement des échocardiographies et des dosages de la créatinine et de l'urée sériques et urinaires.

Troisième phase (5 mois, U1096/EA 4651): Euthanasie des animaux – prélèvement des cœurs et analyses histologiques et biologiques (remodelage cardiaque et stress oxydant).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rouen - ABTE/Toxemac - Rouen

Responsable de l'équipe : Mme Christelle Monteil

Equipe 2 : UFR de Médecine et de Pharmacie Inserm U1096 - Rouen

Responsable de l'équipe : M. Paul Mulder

Equipe 3 : CEVAA – Saint-Etienne-du-Rouvray

Responsable de l'équipe : M. Tarik Ait Younes

Résumé COBANET

Responsable scientifique : Mme Nicole Le Moual

Organisme : Inserm U1168 - Villejuif

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Utilisation de COdes-BARres pour évaluer les expositions professionnelles ou domestiques aux produits de NETtoyage et de désinfection, étude de faisabilité

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

AIRR 3 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur).

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet vise à évaluer la faisabilité de développer une méthode novatrice pour estimer à partir de codes-barres l'exposition professionnelle et domestique aux produits de nettoyage et de désinfection dans les études épidémiologiques. Les 3 objectifs spécifiques sont:

(1) développer des bases de données de produits de nettoyage/désinfection associant leurs codes-barres à la liste de leurs substances actives

(2) développer une application pour téléphone portable pour simultanément scanner les codes-barres et répondre à un questionnaire pour collecter des données sur l'usage de ces produits

(3) tester cette méthode d'évaluation des expositions dans une cohorte épidémiologique mère-enfant et chez des personnels hospitaliers

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

L'exposition aux produits de nettoyage est un facteur de risque émergent (NETA - Afsset EST-09-15; 2009-13), avec de très nombreuses personnes exposées dans le monde, tant au travail qu'à domicile, et particulièrement les femmes. Ces produits sont composés d'agents chimiques très réactifs et peuvent être des biocides notamment les désinfectants. S'il est maintenant établi que ces produits sont associés à l'asthme professionnel, les produits spécifiques en cause ne sont pas toujours identifiés. L'exposition domestique à ces produits pourrait également avoir un important impact de santé publique, notamment chez les femmes et les enfants. Chez les adultes, des associations ont été mises en évidence entre l'utilisation hebdomadaire de sprays et l'apparition de l'asthme ou un asthme mal contrôlé. La même tendance a été observée pour l'utilisation de sprays par les parents et de produits de nettoyage par la mère durant la grossesse, et la santé respiratoire de jeunes enfants.

L'évaluation des expositions est difficile et pose des problèmes méthodologiques. La déclaration des sujets est la méthode la plus utilisée dans la littérature notamment pour les produits spécifiques (eau de javel, sprays ...), mais elle peut être source de biais d'estimation ou de mémoire, avec potentiellement des erreurs de classement différentielles de l'exposition entre les asthmatiques et les non asthmatiques. De plus,

les participants ne connaissent pas toujours la composition des produits qu'ils utilisent. De ce fait, l'évaluation des associations entre exposition et maladie pourrait être biaisée.

Des travaux sont nécessaires pour améliorer l'évaluation des expositions en minimisant l'effet des biais. La possibilité d'utiliser les codes-barres dans les études épidémiologiques pour accéder à la composition détaillée de produits a été proposée récemment, mais n'a encore jamais été mise en œuvre.

Argumentation du choix des questions

Le projet COBANET portera sur la caractérisation des expositions environnementales, en population générale et au travail, en utilisant des outils provenant de différentes disciplines et des nouvelles technologies. Le projet répond à 'AIRR1&3' avec l'évaluation de l'exposition à des agents pathogènes présents dans l'air notamment en établissements de soins, l'identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques à la pollution de l'air intérieur; et à 'ACHIM2' avec l'évaluation de l'exposition à des substances toxiques pour les populations sensibles (enfants, femmes enceintes).

Description des méthodes mises en œuvre

La méthode proposée pour évaluer l'exposition aux agents chimiques contenus dans les produits de nettoyage est novatrice et pourrait parer aux limites des méthodes actuellement utilisées. Dans cette étude de faisabilité, nous testerons 3 étapes clés (voir objectifs):

(1) mettre en place des bases de données pour ces produits (2016-2017), à partir de plusieurs sources selon le type d'exposition:

- Expositions domestiques: photos (recto/verso du contenant, codes-barres, composition) des produits de nettoyage recueillies dans l'étude SEPAGES

- Expositions professionnelles en milieu hospitalier: des informations précises (usage, principe actif ...) sont disponibles sur le site ProdHyBase® (<http://prodhybase.chu-lyon.fr>) pour plus de 500 produits et sur accès privé pour 200 autres. Les codes-barres, étiquettes des produits et leurs fiches de données de sécurité sont disponibles au siège du site, et sont actualisés lors des échanges avec les industriels.

Afin de construire une base aussi exhaustive que possible, nous prendrons contact avec des grandes surfaces, des grandes marques, l'association européenne des produits d'entretien (<http://fr.cleanright.eu>), l'INRS, les centres antipoison et consulterons des sites (<http://simmbad.fr/> ...)

(2) développer une application pour téléphone portable (2016), adaptée au lieu d'utilisation (domicile ou travail), qui permettra à l'utilisateur de (a) scanner le code-barres des produits utilisés de façon hebdomadaire et (b) remplir un questionnaire pour chaque produit scanné pour recueillir le nom, la fréquence d'utilisation, le type de présentation (spray, lingette ...), l'usage (vitre, four ...), et l'utilisation de protection (gants, aération ...). Ces travaux seront réalisés en lien avec Epiconcept (www.epiconcept.fr)

(3) tester cette méthode (application, exhaustivité des bases de données) dans des études épidémiologiques (2017), par des participants d'une cohorte mère-enfant (SEPAGES) et en milieu hospitalier (A Descatha, AP-HP). L'exposition des participants aux produits potentiellement à risque pour la santé respiratoire sera évaluée de façon détaillée en faisant le lien entre les données recueillies par l'application et la composition des produits disponible dans les bases de données, via les codes-barres

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1168 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Le Moual

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

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Siroux

Equipe 3 : CHU - Unité d'Hygiène et Epidémiologie - Hospices Civils de Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Raphaele Girard

Equipe 4 : EPICONCEPT - Paris

Responsable de l'équipe : M. Etienne Sévin

Résumé DecoNano

Responsable scientifique : M. Philippe Barthélémy

Organisme : Université Bordeaux Inserm U869 - Bordeaux

1. Titre

Projet complet

24 mois

Systèmes bioinspirés pour la décontamination des nanoparticules

2. Questions à la recherche

NANO 1 - Détection, identification et caractérisation des nanoparticules, notamment des nanoparticules manufacturées (dans des fluides biologiques, tissus, compartiments environnementaux) : en particulier aspects métrologie, méthodes de référence, comparaison de techniques.

NANO 4 - Toxicologie des nanoparticules et des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études.

NANO 5 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanoparticules auxquelles est exposée la population générale.

3. Résumé

Objectif détaillé

Owing to the potential benefits of nanotechnologies in various fields, there is a significant increase in the production and utilization of nanomaterials. The rapidly growing application of nano-products results in a potential increased exposure of human and environment to nanomaterials. Hence, there is a strong demand to remove and/or subtract nano-particles (NPs) from contaminated wastes and/or environments including aqueous samples and/or surfaces. In this proposal we propose a breakthrough technology based on bioinspired systems for the decontamination of Nanoparticles

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

Despite the strong demand only few types of decontamination devices have been seriously considered and investigated. The decontamination systems envisioned so far involve mainly three processes: i) physical filtration, ii) coagulation-flocculation and iii) inverse osmosis. None of the approaches developed so far have been able to remove nanoparticles from contaminated samples.

A key element is that the decontamination systems should be efficient to trap cocktail of very small particles (few nanometers), thus allowing the decontamination of samples without modulation of the system to the nature the origin and/or the size of nanoparticles.

We choose to develop decontamination devices based on bioinspired materials applied to nanoparticles because firstly we discovered that NPs featuring solid metallic core, which are released in the environments, can be genotoxic and uptaken by different animals including mammals and small invertebrates (ANR PNANO 2008, "NANAN"/ANR P2N 2010 "MESONNET"), secondly we demonstrated the proof of concept concerning the trapping of NPs in hydrogels (ANR Emergence 2012, "NanoDecongel").

Hence, this new project corresponds to the next step after our previous ANR projects. Two families of operational prototypes, namely natural (jellyfish mucus) and artificial materials (synthetic lipids) will be developed. The resulting prototypes will serve for the next manufacturing phase and market exploration.

Argumentation du choix des questions

Today, there is no filtration/flocculation system on the market capable of removing quantitatively nanoparticles from waste. The performance levels observed with supramolecular and natural gels (see our references below) in removing NPs from contaminated effluents could address the nano risk issues and open

many new industrial opportunities. Our project aims at developing new decontamination solutions as alternatives to filtration and dialysis devices with demonstrators for samples containing different nanoparticles below 100 nm in diameter.

Description des méthodes mises en œuvre

An important aim of this program will be to demonstrate the efficacies of our technology in different situations mimicking different conditions including natural environment, laboratories, nanoparticle production sites, wastes etc. For this purpose we propose to achieve our 24 months project organized in three tasks:

Task 1 Formulations (T0-T12). Our research plan is to engineer and optimize both families of materials (synthetic and natural) in order to use these systems for the capture of NPs under different formats, including powders, solutions, gels and sprays. This research will lead to a set of design requirements for the rational design of the platforms (characterization of supramolecular assemblies, sol-gel transition, minimum gel concentration, etc).

Task 2 Removal efficacies (T9-T18). Two types of contaminated samples will be investigated, aqueous suspensions and surfaces. Experiments will be achieved at relevant concentrations and by evaluating the following parameters: kinetics, size distribution, and sediment volume. Similar studies will be achieved in the case of surfaces.

Task 3 Prototypes (T18-T24). In parallel, to determine whether the selected formulations containing our natural and synthetic systems can remove NPs from actual contaminated suspensions and/or surfaces, we will prepare several prototypes systems, which will serve as the demonstrators for the next manufacturing phase and market exploration. The efficacy of these prototypes in terms of toxicity and ecotoxicity will be evaluated before and after treatment of the nano-wastes. The ecotoxicological tests will concern several biological models such as marine jellyfish (*Aurelia aurita*) or freshwater invertebrates Platyhelminths (*Mesostoma* sp.), planktonic crustaceans (*Daphnia* sp.). Several classical aspects will be highlighted as LD50 [Lethal dose 50], alteration of the mobility, reproduction, and teratology.

The novelty of the project is illustrated by the very limited literature concerning decontamination applications of NPs. The overall ambition of this project is to be able, at the end of the program, to propose prototypes (powders, gels, solutions, sprays) capable to decontaminate nano wastes.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Bordeaux Inserm U869 - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. Philippe Barthélémy

Equipe 2 : Aix Marseille Université - Faculté des sciences St Charles - Marseille

Responsable de l'équipe : M. Alain Thiéry

Résumé EIIBE

Responsable scientifique : M. Pierre Le Cann

Organisme : Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique - Département Santé, Environnement et Travail - Rennes

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Elaboration d'un indice environnemental d'exposition aux biocontaminants en environnement intérieur

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Caractérisation du danger (techniques de détection notamment approches quantitatives, outils moléculaires, indicateurs) liés à la présence d'agents biologiques pathogènes pour l'homme.

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif de cette proposition est d'étudier la faisabilité d'un indice environnemental composite rapide et innovant reflétant la charge biologique globale à laquelle les individus peuvent être exposés pour anticiper les problèmes respiratoires en particulier chez les allergiques et asthmatiques.

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

Depuis plusieurs années, une recrudescence des pathologies respiratoires, notamment de l'asthme et des broncho-pneumonies chroniques obstructives est observée dans la population. La pollution atmosphérique et l'augmentation de la sensibilité allergique individuelle sont clairement impliquées. Mais, récemment, de nombreuses études ont également montré le rôle de l'environnement intérieur dans ces pathologies, et en particulier certains composés chimiques et microbiens. De plus, l'amélioration des performances énergétiques des logements a également entraîné une augmentation du confinement et donc de l'exposition aux contaminants intérieurs. Cette exposition est d'autant plus importante que nous passons près de 90% de notre temps à l'intérieur.

Les conditions de survenue de ces affections respiratoires, d'origine allergique ou non, sont complexes. La présence d'animaux domestiques ou nuisibles (acariens), ou encore l'hérédité allergique sont souvent rapportés comme facteurs de risque. L'irritation des voies aériennes et l'inflammation associée à certaines substances chimiques favorisent le développement d'une hyperréactivité bronchique et d'une allergie respiratoire. Le rôle des moisissures a aussi été clairement établi dans la survenue de troubles respiratoires et, en particulier, l'exacerbation de l'asthme. Les allergènes (acariens, animaux domestiques, cafards) sont aussi impliqués, ainsi que les bactéries, et en particulier les endotoxines bactériennes.

La qualité de l'air intérieur est une préoccupation majeure de la population mais aussi des pouvoirs publics. Elle a entraîné une évolution de la réglementation avec la recherche des polluants de l'air dans les établissements recevant du public en particulier les écoles et les crèches. Cette recherche se limite aujourd'hui aux polluants chimiques en raison de la difficulté de mesurer les contaminants biologiques, en particulier des allergènes. En effet, les outils de mesure existants sont soit considérés comme peu pertinents (exemple de l'Acarex Test toujours en débat), soit lourds et coûteux à mettre en œuvre (prélèvements d'air par impacteur sur gélose ou prélèvements de poussières et culture puis identification de moisissures ou détection d'allergènes par techniques ELISA sur poussières, par exemple). L'avènement des techniques moléculaires en particulier la PCR quantitative en temps réel et plus récemment le séquençage haut débit

permet d'envisager la mesure de plusieurs types de contaminants dans la même matrice environnementale. Un indice d'exposition aux moisissures basé sur la détection par PCR quantitative de certaines espèces dans les poussières a été développé aux Etats-Unis et a récemment montré sa pertinence en France par notre équipe en collaboration avec l'Environmental Protective Agency aux USA. D'autres indicateurs ont également été développés, par exemple basés sur la détection des composés organiques volatils d'origine microbienne, mais cet indice n'est pas, en l'état actuel, suffisamment discriminant pour être utilisé en routine.

Nous proposons ici de mettre au point un nouvel indice d'exposition, global vis-à-vis des contaminants biologiques susceptibles d'être responsables de troubles respiratoires, et basé sur un test de détection par séquençage haut débit des gènes 16S (procaryotes) et 18S (eucaryotes) d'échantillons de poussières collectées par aspirateur dans les logements. Les techniques de séquençage haut débit ont montré leur capacité à identifier les bactéries présentes dans un échantillon mais aussi des moisissures et de séquences 18S d'origine animale pouvant signaler une présence animale et potentiellement la présence d'allergènes comme les acariens par exemple. Il s'agira de définir un indice en fonction de la proportion des séquences d'intérêt et ensuite d'établir la pertinence clinique de cet indice reflétant la charge allergénique globale à laquelle les individus peuvent être exposés.

Argumentation du choix des questions

Cet indice permettra aux conseillers en environnement intérieur de disposer d'un outil quantitatif de mesure fiable de l'exposition des individus aux biocontaminants, outil qui n'existe pas aujourd'hui.

Il pourra être utilisé dans tous les types d'environnements intérieurs (domiciles, bureaux, commerces, établissements de soins, ...) et permettra de documenter l'exposition des individus à un spectre large d'allergènes et d'agents infectieux.

Description des méthodes mises en œuvre

La première partie du travail consistera à vérifier la faisabilité de l'identification des espèces d'intérêt sanitaire par séquençage 16S pour les bactéries et 18S pour les moisissures, acariens voire chat et chien à partir des banques de séquences comme GenBank par exemple (3 mois). Il s'agira ensuite de tester la faisabilité sur séquençage haut débit sur des poussières de logements (9 mois) puis en conditions réelles (12 mois) sur des logements sélectionnés à partir de l'étude ECENVIR en cours (Projet PHRC consistant à évaluer l'action des Conseillers en Environnement Intérieur mené par le CHU de Rennes et l'EHESP).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique - Département Santé, Environnement et Travail - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Pierre Le Cann

Equipe 2 : Université Rennes 1 - Laboratoire de Parasitologie-Mycologie - UMR Inserm U1085-Irset- Rennes

Responsable de l'équipe : M. Jean-Pierre Gangneux

Résumé ELFSTAT

Responsable scientifique : M. Ravazzani Paolo

Organisme : Consiglio Nazionale delle Ricerche IEIT CNR – Milano, Italie

1. Titre

Projet complet

36 mois

Évaluation approfondie de l'exposition des enfants à ELF (40-800 Hz) des champs magnétiques et les implications pour le risque de la santé des nouvelles technologies

2. Questions à la recherche

RNIO 2 - Caractérisation des expositions aux champs électromagnétiques basses fréquences ou fréquences intermédiaires (du statique à 8 kHz), pour le milieu professionnel et pour la population : évolution des sources, quantification des expositions individuelles, définition d'indicateurs pertinents pour représenter l'exposition individuelle ou de population, exposition à des sources multiples.

3. Résumé

Objectif détaillé

Extremely low frequency magnetic fields (ELF-MF) have been classified as possibly carcinogenic to humans based on reasonably consistent epidemiological data for childhood leukaemia. Despite this situation, there is still scarce knowledge of levels and temporal patterns of exposure of children. These issues have been recently addressed in the framework of the FP7 EU Project ARIMMORA (<http://arimmora-fp7.eu>). Other personal ELF-MF data have been collected in the French study EXPERS in 2029 subjects.

ELFSTAT is aimed to complement the activities of those two projects to develop statistical models capable to provide exposure assessment of children considering ample variation of the exposure conditions, based on both experimental and computational data available. Stochastic methods, such as the polynomial chaos, sound as promising techniques, capable in providing the exposure assessment in complex exposure scenario.

The stochastic models will be developed on the exposure data from 6-12 years old children, including activity and geographic (GPS) information (e.g., data from 300 recordings are available from ARIMMORA). Similar stochastic models will be also used to estimate tissue dosimetry in children exposed to ELF MF, both from far and near-field sources. This will also allow investigating the impact of new technologies on the children's exposure to ELF-MF.

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

Deterministic exposure assessment by personal measurement campaigns is a time-consuming process. Hence, the measured data are quite limited, with the consequence that the information about the level of ELF-MF to which children are exposed in Europe is quite unknown.

Stochastic exposure assessment will allow overcoming this limit, providing information about personal exposure and exposure at tissue level as a function of the variability of parameters like the distance from the sources, the activity of the child, the orientation of the magnetic field, the dielectric properties of the tissues, etc..

This study is the first one providing statistical modelling of the exposure of children to ELF-MF in different environments. Such knowledge is also needed for assessing the impact of new technologies like smart grids, electric vehicles and devices closed to the body.

Argumentation du choix des questions

The project plans to close three main knowledge gaps on children's exposure to ELF-MF :

1) Characterisation of the children exposure to low-frequency MF (from 40 to 800 Hz) considering the variations of the exposure scenario, such as distance and type of the sources and their evolution, exposure

to multiple sources. This will be done for exposure to ELF far-field sources of children, considering global exposure at personal level and, for both far- and near-field sources, considering tissue dosimetry.

2) Identification of appropriate indicators to represent children's exposure based on the stochastic exposure assessment.

3) Prediction of the impact of new technologies on children exposure. The ELFSTAT stochastic models will allow prediction of the children exposure to new upcoming scenarios, such as local production of electricity, smart grid and diffusion of electric vehicles.

The very poor knowledge of the ELF-MF exposure of the population could result in inappropriate risk mitigation. Possible health risks and exposure to ELF-MF is likely to shift in the focus of the public, because changes in the European energy system will require the adaptations of the distribution network including the construction of new power lines. Therefore the availability of accurate exposure information is crucial.

Description des méthodes mises en œuvre

Three work packages will be envisaged.

WP1: Development of stochastic models to model exposure measurement scenario and tissue dosimetry. The output metric will be the MF amplitude at personal level and the electric field induced for tissue dosimetry.

WP2: Characterisation of the children's exposure to low-frequency MF (from 40 to 800 Hz) using the stochastic models developed in WP1. Appropriate indicators will be developed to represent children's exposure based on the stochastic exposure assessment.

WP3: Impact of new technologies for energy on children exposure. The models developed will be also used to evaluate how new upcoming technologies could change the exposure scenario for the young population. The indicators of exposure previously identified will be also applied. In particular the new generation systems for energy production, including smart grid, and the exposure to the MF generated by electric vehicles will be considered.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Consiglio Nazionale delle Ricerche IEIT CNR - Milano

Responsable de l'équipe : M. Ravazzani Paolo

Equipe 2 : Swiss Tropical and Public Health Institute - Epidemiology and Public Health - Bâle, Suisse

Responsable de l'équipe : M. Martin Rössli

Equipe 3 : Supelec - Laboratoire des signaux et systèmes (L2S, UMR CNRS 8506) - Gif-sur-Yvette

Responsable de l'équipe : M. Laurent Le Brusquet

Résumé ERICC

Responsable scientifique : M. Jean-Marc Brignon

Organisme : Ineris – Verneuil-en-Halatte

1. Titre

Projet complet

24 mois

Evaluation économique de Risques Chimiques Complexes et incertains : cas de perturbateurs endocriniens et de substances PBT/vPvB.

2. Questions à la recherche

CANC 2 - Développement des méthodes de quantification des coûts/bénéfices appliquées à la prise en charge des cancers, et à la suppression et/ou la diminution des expositions aux agents cancérigènes.

1. - Quantification des bénéfices pour la santé de mesures de gestion (diminution de la pollution des milieux, espaces verts en ville, biodiversité etc...).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif du projet est d'améliorer les méthodes d'évaluation socio-économique des dommages sanitaires liés aux substances chimiques et des opportunités d'actions publiques dans ce domaine.

Il s'agit de développer et tester une méthode exploitant notamment les études ou éléments épidémiologiques disponibles, y compris en situation d'ambiguïté sur les relations de causalité, et d'incertitudes sur les données.

Par ailleurs, certains polluants mal connus ou complexes rendent très problématique l'évaluation des impacts (exemple des nanomatériaux, des substances PBT ou vPvB). Le projet propose un questionnement méthodologique sur les possibilités de développer dans ce cas une analyse économique capable d'aider à la décision publique.

Ces questions sont traitées via deux études de cas :

La première a pour but d'estimer l'ensemble des conséquences sanitaires et économiques des expositions au Bisphénol A (BPA), en considérant l'ensemble des sources d'exposition, en mobilisant non seulement les évaluations de risque mais aussi les études épidémiologiques, et d'étendre l'analyse au Bisphénol S (BPS) utilisé en remplacement du BPA. Peu de données toxicologiques, épidémiologiques et économiques sur le BPS étant disponibles, on testera des approches d'extrapolation reposant sur une comparaison toxicologique et des usages des deux composés. On s'attachera dans l'analyse économique à gérer l'incertitude voire l'ambiguïté générée par le recours aux données épidémiologiques et à l'extrapolation. Une autre question méthodologique traitée sera la répartition des impacts sanitaires et économiques, en relation avec les inégalités pré-existantes (point également novateur vis-à-vis de la pratique actuelle de l'analyse économique dans REACH, sur cette question centrale de l'analyse coûts/bénéfices).

On traitera un second cas où l'impact sanitaire d'une action de retrait du marché d'une substance ne peut être évalué (cas des PBT/vPvB). Une alternative à l'analyse des dommages est alors l'analyse coût/efficacité, mais elle pose des questions nouvelles de recherche, qui seront traitées à travers le cas des PFOAs (perfluorés). On étudiera si tout essai d'estimation économique des dommages sanitaires (cancers, reproduction) est d'une incertitude le rendant inopérant (par comparaison avec la précision avec laquelle est

connue l'utilité économique de la substance). Ensuite, on évaluera si, malgré ces difficultés de l'analyse coût/efficacité, il peut s'agir d'une alternative plus opérationnelle.

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

L'originalité du projet réside d'abord dans l'ambition de dépasser le cadre habituel des analyses des impacts économiques. Dans le cadre de référence qu'est REACH, l'analyse économique prolonge une évaluation des risques qui repose sur des preuves d'effet toxicologiques et des données d'exposition. Les évaluations des risques opèrent une double réduction du problème. D'une part sont sélectionnés quelques (ou un seul) effets sanitaires « critiques » parmi une variété d'effets potentiels. En second lieu une sélection (normative) des études relatives à l'effet sanitaire pris en compte est opérée.

Cette pratique évite que des études biaisées « contaminent » les analyses économiques, mais elle informe insuffisamment en ignorant ou décrivant de façon peu explicite des impacts sanitaires qui peuvent avoir un enjeu socio-économique. Elle focalise l'attention sur la preuve des mécanismes, et donc les données d'imprégnation des populations ou les données épidémiologiques disponibles sont peu exploitées. Les études économiques ayant exploité les études épidémiologiques existent mais se situent très majoritairement dans le champ de la pollution atmosphérique. Une étude récente aux USA a exploité des données épidémiologiques, dans le cas du BPA, et une tentative (encore théorique) a été réalisée sur l'ensemble des perturbateurs endocriniens dans l'UE. Les travaux sur le BPA de l'ANSES ont aussi ouvert la voie, mais le projet proposé est le premier à intégrer l'ensemble des connaissances disponibles et le BPS dans l'analyse, dans un cadre économique.

Des questions ouvertes nouvelles seront étudiées dans le second cas, portant sur l'analyse coût/efficacité en absence d'évaluation des impacts : quelle référence pour le ratio coût/efficacité ? comment comparer des actions touchant des PBT/vPvB très différents ? comment gérer le temps long et des différences temporelles entre substances de ce type ? Si des premières réflexions ont été entamées dans REACH, les experts de l'ECHA sont assez démunis face à ces questions.

Argumentation du choix des questions

Le projet a pour objectif de faire progresser les méthodes et pratiques de la quantification des bénéfices pour la santé des actions de réduction des expositions aux risques chimiques.

Le BPA et les PFOAs étant impliqués dans certains cancers, le projet travaillera également sur les méthodes de quantification des coûts/bénéfices de réduction des expositions aux cancérigènes.

Description des méthodes mises en œuvre

Les études de cas seront alimentées en données par les études citées (études US et France pour le BPA), les dossiers réglementaires REACH.

Des enquêtes de littérature seront menées pour obtenir des données épidémiologiques et économiques. Pour le BPA, les données récentes d'imprégnation de la cohorte ELFE seront exploitées.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ineris – Verneuil-en-Halatte

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

Equipe 2 : Ineris - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : Mme Céline Brochot

Equipe 3 : Institut des Sciences de la Communication - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Laura Maxim

Equipe 4 : Université Paris 1 - Centre d'Economie de la Sorbonne

Responsable de l'équipe : M. Philippe Gagnepain

Résumé ETNA 2

Responsable scientifique : M. Franck Vandebulcke

Organisme : Université des sciences et technologie de Lille 1 - LGCgE - Villeneuve d'Ascq

1. Titre

Projet complet

36 mois

Ecotoxicologie terrestre (boues d'épuration, sols) des nanoparticules d'argent et de l'argent

2. Questions à la recherche

NANO 3 - Evaluation de l'exposition des travailleurs et de la population générale aux nanoparticules manufacturées (mesures, modélisation) tout au long du cycle de vie.

NANO 4 - Toxicologie des nanoparticules et des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études.

NANO 5 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanoparticules auxquelles est exposée la population générale.

3. Résumé

Objectif détaillé

1) Etudier pendant 3 ans le niveau de contamination par l'Ag des boues d'épuration d'une grande métropole française liée à l'usage croissant de nanoparticules d'argent (Ag-NP)

2) Evaluer l'écotoxicité terrestre de l'argent et des Ag-NP

3) Déterminer si une contamination des sols par l'Ag et les Ag-NP entraîne des changements dans la microflore du sol

4) Réaliser une évaluation plus écotoxicologique de cette contamination, s'appuyant sur un modèle ver de terre : pour cela, des expositions in vitro et in vivo (en microcosmes) seront réalisées en utilisant de l'argent et des Ag-NP différentes parfaitement caractérisées et des boues d'épuration.

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

En France, les boues issues des stations d'épuration (STEP) sont notamment valorisées (55%, MEDDE, 2001) par l'épandage sur des parcelles agricoles ; ces boues étant particulièrement riches en matières fertilisantes. Cette pratique d'épandage est strictement encadrée d'un point de vue réglementaire et des valeurs limites ont été définies au niveau français pour certains contaminants (métaux, polychlorobiphényles et quelques Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques). En ce qui concerne les métaux, notons que 7 métaux sont pris en compte mais que l'argent pour l'instant, n'est ni recherché, ni réglementé.

L'OCDE a pris en considération les risques éventuels de l'utilisation des nano-objets et créé le «Working Party on Manufactured Nanomaterials» qui priorise, comme les autres groupes de travail sur les NP, les axes de recherche suivants: définir les NP prioritaires, développer des matériaux de référence, déterminer les caractéristiques physico-chimiques essentielles à leur évaluation toxicologique...

Parmi ces produits, les nanoparticules d'argent (Ag-NP) sont parmi les plus employées (dans plus de 300 produits différents) et les plus produites (plus de 500 tonnes/an). Concernant l'évaluation des risques pour l'Homme et l'Environnement, ces Ag-NP ont été reconnues comme prioritaires. Utilisées surtout pour leurs propriétés antimicrobiennes, elles entrent dans la composition de textiles, dispositifs médicaux, contenants alimentaires, électroménagers, peintures...

Au cours de leur cycle de vie, certains de ces produits libèrent des Ag-NP dans l'environnement, comme les textiles via les eaux de lavages. La modélisation de leur devenir dans l'environnement montre que ces produits sont pris en charge par les infrastructures classiques de traitement des déchets de la même manière que des produits conventionnels. Des Ag-NP peuvent se retrouver à terme dans les usines de

traitement des eaux usées. Les stations d'épuration retiendraient ainsi dans leurs boues l'argent entrant comme le montre des analyses effectuées sur des boues de la métropole Lilloise. De par leurs propriétés antimicrobiennes (qui justifient leur utilisation massive), les Ag-NP de mêmes que les ions Ag, après l'épandage des boues contaminées sur les sols, pourraient entraîner des changements dans la flore microbienne du sol et la sélection de bactéries résistantes même si l'on ne peut pas véritablement parler d'antibio-résistance dans ce contexte. Cet aspect est essentiel car les boues, même traitées, ne sont pas neutres d'un point de vue microbiologique et la microflore est un acteur majeur du fonctionnement des sols.

Argumentation du choix des questions

25% des nano produits contiennent des AgNP, reconnues prioritaires pour l'évaluation des risques pour l'Homme et l'Environnement. En France, les boues de STEP épandues sur les sols agricoles constitueraient une source de contamination par l'Ag. En 2010, l'AFSSET soulignait qu'il s'avérait difficile de conclure à leur sujet vu la rareté des études publiées et préconisait des travaux en écotoxicologie en micro/ mésocosmes utilisant des temps d'exposition longs, des doses réalistes et qui corréleraient les interactions des NP avec les composants du milieu, leurs transformations et leur biodisponibilité. Ce projet répondrait à ces lignes directrices en développant une approche pluridisciplinaire associant compétences en écotoxicologie terrestre, en caractérisation des NP et en microbiologie environnementale.

Description des méthodes mises en œuvre

Phase 1-En se basant sur les PEC éventuellement disponibles (au niveau européen) et sur les résultats d'analyses effectuées sur les boues de STEP de la LMCU, nous choisirons des concentrations d'argent et de nanoparticules pour étudier leurs toxicités et leurs interactions avec les matrices sols, boues & organismes.

Les effets de l'ion Ag, d'AgNP différentes (coatées par exemple de PVP, de citrate...) et d'une Ag-NP représentative (NM-300K, matériau de référence commercialisé ou disponible auprès du JRC : Joint Research Centre - European Commission) seront comparés.

L'ensemble des caractérisations des AgNP s'effectuera en partenariat avec l'IMBEcologie sur les équipements des Labex SERENADE et Equipex NanoID (MET équipé d'un mode cryogénique et outil de séparation FFF couplé ICP-MS (LITEN), spectromètre de masse (Api-TOFMS), imageurs X 3D et tomographie).

Phase 2-Parallèlement à des essais d'écotoxicité terrestres (tests normalisés ou maîtrisés au laboratoire - expositions in vitro et in vivo), nous réaliserons une évaluation plus écotoxicologique de l'Ag et des Ag-NP en microcosmes. Cette approche s'appuie sur des organismes clés du fonctionnement des sols et impactés par les contaminations chimiques : les vers de terre et les micro-organismes. Ces ingénieurs des sols ont été adoptés par la communauté scientifique internationale pour le diagnostic des impacts environnementaux des contaminants. Des approches transcriptomiques et génomiques seront mises en oeuvre.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université des sciences et technologie de Lille 1 - LGCgE - Villeneuve d'Ascq

Responsable de l'équipe : M. Franck Vandembulcke

Equipe 2 : CEREGE – UMR 7330 Europôle de l'Arbois - Aix-en-Provence

Responsable de l'équipe : M. Clément Levard

Equipe 3 : Université de Pau et des Pays de l'Adour - EEM, UMR IPREM 5254 - Pau

Responsable de l'équipe : M. Rémy Guyoneaud

Résumé EVAMOVAIRE 2

Responsable scientifique : Mme Barbara Charbotel

Organisme : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMRESTTE - Lyon

1. Titre

Projet complet

36 mois

Cancer de l'ovaire et exposition à l'amiante : approches épidémiologique et mécanistique

2. Questions à la recherche

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces d'effet et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 6 - Risque de cancers liés à des expositions environnementales et/ou professionnelles aux substances cancérigènes 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

En France, le cancer de l'ovaire est la 4ème cause de mortalité par cancer chez la femme. Bien que les fibres d'amiante aient été classées par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) comme cancérigène certain pour l'ovaire, les mécanismes spécifiques et l'implication des caractéristiques histologiques restent à approfondir.

L'étude EVAMOVAIRE[1] nous a permis de quantifier la prévalence de l'exposition à l'amiante chez des patientes atteintes d'un cancer ovarien et de décrire l'exposition par type histologique. Sur les 162 patientes incluses, 135 avaient une tumeur épithéliale de l'ovaire : 19,2% d'entre elles ont été exposées professionnellement à l'amiante et 5,2% ont pu être exposées indirectement à l'amiante via un proche. L'exposition à l'amiante semble plus particulièrement associée aux tumeurs épithéliales séreuses : ce type histologique représentait 67% des tumeurs mais 71,4% des sujets exposés.

Les mécanismes moléculaires impliqués dans le développement des cancers ovariens associés à l'exposition à l'amiante sont actuellement inconnus mais les mécanismes suspectés incluent (1) la génération de radicaux libres génotoxiques; (2) l'interaction physique des fibres d'amiante avec l'appareil mitotique ; (3) des effets indirects induisant une inflammation persistante produisant des dommages tissulaires et (épi)génétiques. Le groupe Mécanismes Moléculaires et Biomarqueurs (MMB) du CIRC est expert dans l'identification par séquençage nouvelle génération des signatures mutationnelles des cancérigènes environnementaux et leur impact biologique. Il travaille sur les tissus tumoraux humains et sur des systèmes cellulaires de mutagenèse in vitro [2,3]. Ces approches sont applicables à l'identification des signatures mutationnelles à l'échelle du génome chez des patients exposés à l'amiante.

Au regard des connaissances qui restent incomplètes, notre étude comprenant un volet épidémiologique et un volet mécanistique, vise à :

-Affiner les connaissances sur l'association entre l'exposition à l'amiante et un sous-type histologique de cancer ovarien.

-Etudier si l'exposition à l'amiante induit des signatures mutationnelles spécifiques au niveau du génome.

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

La part des cancers de l'ovaire liée à l'amiante est imprécise. EVAMOVAIRE2 permettra de mieux caractériser ces expositions, à la fois en terme de prévalence qu'en terme histologique. L'approche mécanistique novatrice permettra de déterminer s'il existe une signature mutationnelle spécifique de l'amiante au niveau du génome entier.

Argumentation du choix des questions

Le questionnaire, utilisé pour EVAMOVAIRE, permettra de caractériser l'exposition à l'amiante durant la vie professionnelle des patientes et celle de leurs proches (expositions indirectes). L'approche mécanistique permettra d'identifier des marqueurs d'exposition à l'amiante, ce qui aura un impact sur la recherche de l'origine professionnelle et la compréhension des mécanismes biologiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Volet épidémiologique : une population de 270 patientes atteintes d'une tumeur épithéliale de l'ovaire permettra de mettre en évidence un ratio de prévalence de 1.91 avec un risque alpha à 0.05 et un risque beta à 0.8. 135 patientes ayant été incluses dans EVAMOVAIRE, EVAMOVAIRE 2 inclura 135 patientes supplémentaires. Une analyse poolée sera réalisée.

Volet mécanistique : 20 tumeurs de patientes exposées à l'amiante et 20 tumeurs de patientes non exposées à l'amiante parmi les 270 patientes.

Les 135 patientes seront recrutées en prospectif au CLB et aux HCL. Il sera proposé à toute patiente suivie pour une tumeur épithéliale de l'ovaire de remplir par téléphone un questionnaire colligeant les métiers et tâches effectués tout au long de sa carrière professionnelle ainsi ceux de ses proches. Un hygiéniste industriel définira ensuite une probabilité (possible, probable, certain) et un niveau (très faible, faible, moyen à fort) d'exposition à l'amiante.

Les tumeurs seront analysées par séquençage à haut débit. L'ADN tumoral sera isolé des tissus fixés en paraffine et l'ADN contrôle sera isolé des cellules sanguines. Nous emploierons des tests expérimentaux de mutagenèse in vitro [2] et le séquençage d'exome à haute couverture, pour caractériser les signatures mutationnelles induites par les fibres d'amiante de type chrysotile. Les signatures de mutations spécifiques à l'ovaire et de mutations induites dans le système expérimental seront identifiées et comparées pour identifier celles pouvant être des marqueurs d'exposition à l'amiante.

Recrutement, recueil des données : M1-M30

Volet mécanistique : M1-M30

Statistiques, valorisation : M31-M36

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMRESTTE - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Charbotel

Equipe 2 : Centre Léon Bérard - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Béatrice Fervers

Equipe 3 : Centre International de Recherche sur le Cancer - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Jiri Zavadil

Résumé EXTI

Responsable scientifique : M. Riccardo Scorretti

Organisme : Ecole Centrale de Lyon - Laboratoire Ampère - Ecully

1. Titre

Projet complet

36 mois

EXposition des Travailleurs aux champs électromagnétiques Industriels

2. Questions à la recherche

RFES 5.1 - Caractériser l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet scientifique vise à étudier l'exposition des travailleurs en milieu industriel.

Le décret 2013/35/EU a défini des valeurs limites d'exposition (VLE) et des valeur déclenchant l'action (VA) pour les différentes bandes de fréquences. Pour les ondes de téléphonie mobile, les sources sont bien caractérisées. Par contre, dans le cas des machines industrielles (chauffage RF pour soudure diélectrique...) les sources ne sont pas toujours bien caractérisées et l'exposition des travailleurs dépend de l'environnement de travail: i) les sources de rayonnement sont souvent distribuées (machines de grande taille), ii) la position / posture de l'opérateur sont variables. Parmi ce type d'installation, il en existe certaines particulièrement « critiques » (= les VA peuvent être dépassées) pour lesquelles des solutions pour réduire l'exposition (éloignement de l'opérateur, blindage magnétique...) ne peuvent être mis en place. Dans ce cas, la directive 2013/35/EU impose le recours à la dosimétrie pour vérifier que les VLE ne sont pas excédées: il existe donc un réel besoin d'un outil de dosimétrie, qui est la finalité de notre projet.

Nous proposons un programme de recherche organisé autour de plusieurs actions:

1. Recensement de situations critiques d'exposition de travailleurs, dans le cas où les VA sont dépassés.
 2. Caractérisation précise des sources, pour un nombre limité de systèmes industriels rayonnants parmi ceux qui ont été identifiés.
 3. Prédiction de l'exposition d'un opérateur en fonction de sa position par simulation électromagnétique.
 4. Validation expérimentale en utilisant un mannequin articulé instrumenté.
- Le cas particuliers de travailleurs avec prothèses métalliques ou implants électroniques sera considéré.

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

Nous proposons une approche novatrice alliant prédiction de l'exposition et validation sur un mannequin instrumenté avec des sondes électrooptiques, mesurant les 3 composantes du champs électrique dans un volume de quelques cm².

Argumentation du choix des questions

- L'utilisation de sondes électrooptiques dans un mannequin articulé instrumenté permet une métrologie du champ électromagnétique en différent point d'un milieu biologique.
- A la fin du projet, nous disposerons d'une base de données de machines industrielles concernées, leur spectre de rayonnement, ainsi que les paramètres constitutifs qui vont varier l'amplitude et/ou le spectre du rayonnement.
- Notre outil de dosimétrie de l'exposition du travailleur en fonction de sa position permettra de éventuellement d'adapter le poste de travail pour limiter l'exposition des travailleurs.
- La possibilité de prise en compte d'implants / prothèses sera un atout de l'outil de dosimétrie.

Description des méthodes mises en œuvre

WP 1 (T0 / T0+24): Identification et caractérisation du rayonnement de machines industrielles (IMEP, Ampère, INRS)

Une étude bibliographique tenant en particulier compte des études préalables à l'INRS permettra de recenser les machines industrielles concernées. Des contacts avec quelques entreprises qui les utilisent permettront d'alimenter la base de données. Quelques configurations typiques feront l'objet du développement dédié.

Rendus:

- étude bibliographique
- caractérisation du rayonnement pour un nombre limité de machines industrielles (mesures + modèle des sources rayonnantes).

WP 2 (T0 / T0+36): Simulation électromagnétique / développement d'un outil de prédiction (Ampère).

Un outil de dosimétrie numérique spécifique sera mis en place: cet outil sera composé d'un code de calcul prenant en compte les modèles de sources (WP 1) et d'un fantôme de calcul dont la posture peut être modifiée, qui reproduit spécifiquement le mannequin (WP 3). Cet outil de dosimétrie pourra prendre en compte la présence de prothèses métalliques à l'intérieur du fantôme.

Rendus:

- code de calcul dosimétrique adapté
- fantôme numérique « posturable ».

WP 3 (T0+24 / T0+36): Validation avec un mannequin instrumenté (IMEP, Ampère).

L'instrumentation d'un mannequin articulé sera mise en place en complément du projet DOSIT (ANSESAPR2013)

qui a pour objet un scanner pour dosimétrie DAS utilisant des sondes électrooptiques. L'utilisation d'une quinzaine de sondes permettra d'identifier les zones critiques (= où les VLE sont excédées) en fonction de la position du travailleur. Les résultats des mesures seront comparés avec les calculs dosimétriques (WP 2), d'abord dans des cas « canoniques » (validation), ensuite sur l'un des systèmes réels identifiés dans le WP 1.

Rendus:

- Validation de la chaîne: code dosimétrique + système de mesure sur des cas canoniques
- Mesures et simulation numérique du DAS et/ou de courants à l'intérieur du mannequin dans un cas d'exposition critique, identifiées dans le WP 1
- Rapport scientifique final.

A terme, l'outil permettra de:

- Prédire les valeurs de DAS, courants et champs induits dans des systèmes industriels rayonnants, afin de délimiter les zones du travailleur, en relation avec sa position, l'utilisation d'outillages, le port de prothèses...
- Etre utilisé en phase de conception de systèmes électriques, pour y intégrer les contraintes relatives à l'exposition de travailleurs.
- Etre utilisé avec des fantômes numériques plus réalistes

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ecole Centrale de Lyon - Laboratoire Ampère - Ecully

Responsable de l'équipe : M. Riccardo Scorretti

Equipe 2 : Université Joseph Fourier - Département Génie Électrique et Informatique Industrielle - St-Martin-d'Hères

Responsable de l'équipe : M. Fabien Ndagijimana

Equipe 3 : INRS - Département Ingénierie des équipements de travail - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Patrice Donati

Résumé GERM RiskTOX

Responsable scientifique : M. Pierre Fouchet

Organisme : CEA- IRCM/LRTS - Fontenay aux roses

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Evaluation du risque génotoxique dans les cellules souches germinales mâles humaines

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - 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 4 - Etudes des impacts des expositions à des risques chimiques en milieu de travail sur la reproduction et le développement, notamment les impacts des multi-expositions.

CANC 8 - Recherche sur les facteurs de risques environnementaux/professionnels des cancers pour les populations ciblées d'hommes et de femmes en âge de procréer, de jeunes enfants, d'adolescents et de jeunes adultes (y compris effets transgénérationnels si pertinents).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'évaluation du risque pour le génome des cellules germinales suite à une exposition chronique aux polluants présents dans l'environnement est un enjeu important de santé publique pour nos sociétés industrialisées. Les lésions génétiques et épigénétiques générées peuvent en effet être transmises à travers les générations, conduisant à la prédisposition à des maladies multifactorielles chez les descendants. Les travaux sur les modèles animaux ont clairement démontré l'induction de mutations dans la lignée germinale en présence de génotoxiques et les effets transgénérationnels. Cependant, le manque de données épidémiologiques claires montrant une augmentation du risque héréditaire n'a pas permis de conclure chez l'homme.

Nous proposons de développer un modèle expérimental permettant l'étude *in vitro* et *in vivo* du risque toxicologique et génétique des cellules souches germinales (CSGs) mâles humaines chez l'adulte. Pour cela, nous développerons des outils sous deux axes : (i) création *in vitro* d'un système de culture des CSGs humaines afin de les amplifier et de pouvoir tester leur intégrité génétique et fonctionnelle en présence d'agents toxiques, (ii) création d'un modèle de xénogreffe de tissu testiculaire humain adulte dans des testicules de souris immunodéficientes, afin d'élaborer un modèle *in vivo* de contamination.

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

L'absence de test toxicologique expérimental sur la lignée germinale humaine chez l'adulte, période d'exposition aux toxiques potentiellement la plus longue, est un verrou important dans le processus d'évaluation du risque. Des effets toxiques sur les cellules germinales humaines et la physiologie testiculaire ont été observés suite à une exposition du testicule fœtal ou adulte à des substances chimiques comme les phtalates par exemple, mais ces travaux n'ont pas abordé le risque de mutations notamment dans les CSGs adultes. Dès la puberté, les CSGs s'autorenouvellent et s'engagent dans le processus de différenciation afin de produire des spermatozoïdes. Suite à un stress génotoxique chronique, le risque est critique si les CSGs sont touchées pouvant conduire soit à la stérilité, soit à un risque héréditaire permanent et croissant dû aux dommages à l'ADN s'accumulant dans ces cellules. Le fait que certaines malformations congénitales soient associées à un âge avancé du père (tel le syndrome d'Apert) et à la survenue de mutations dans les CSGs, illustre ce risque.

Argumentation du choix des questions

L'élaboration de tests de génotoxicité sur les CSGs humaines permettrait l'évaluation du risque pour les descendants d'une exposition des pères aux xénobiotiques. L'âge paternel avancé (accumulation de mutations dans la lignée germinale) a été associé à la prédisposition à certains cancers chez l'enfant. Ainsi, ce projet répond à plusieurs questions de l'appel d'offre :

- Cancers - Question 8
- Agents chimiques - Questions 1, 3

Description des méthodes mises en œuvre

Ces travaux seront réalisés à partir de fragments de biopsies testiculaires humaines destinés à la recherche (Cecos Cochin -Partenaire 2), issus des patients atteints d'azoospermie excrétoires/obstrucives présentant donc une spermatogenèse normale. Nous avons développé une méthode actuellement réalisée en routine dans nos laboratoires permettant de purifier par cytométrie en flux une fraction très enrichie en CSGs humaines en quantité suffisante pour l'analyse par différentes techniques de biologie cellulaire et moléculaire (manuscrit en préparation).

Les deux axes de recherche sur les modèles in vitro et in vivo seront développés en parallèle la première année du projet. Nous développerons un système de culture in vitro des CSGs humaines en nous appuyant sur l'expérience des modèles de culture que nous avons développés pour les CSGs murines. Nous testerons l'effet de facteurs de croissance tels que le GDNF, FGF2, EGF et LIF et de différents supports de culture. Pour le modèle in vivo d'étude des CSGs humaines, nous proposons de réaliser des xénotransplantations de fragments testiculaires humains dans le testicule de souris immunodéficientes NOD-Scid/IL2Rgc^{-/-} (NSG). Par rapport au modèle de greffe sous-cutanée généralement utilisé, ce modèle présente l'avantage de reproduire au mieux les différents processus physiologiques qui régissent la biodisponibilité du toxique au niveau des cellules germinales humaines lors de tests de contamination des souris. Des résultats préliminaires montrent une bonne conservation de la structure du fragment testiculaire humain 3 mois après greffe. Nous testerons notamment si le volume de la greffe et le conditionnement du testicule murin receveur (déplétion en cellules germinales après injection de busulfan) ont une influence sur la qualité de la greffe du tissu humain et les CSGs.

Une fois ces modèles développés, nous les validerons en étudiant l'effet de divers génotoxiques (ENU, mitomycin C, irradiation, ...) sur les CSGs humaines (2ème année) par des analyses tels que les génotypes à haut débit à l'aide de puces SNP (Plateforme Institut Cochin), des analyses cytogénétiques, ou la quantification des dommages à l'ADN via le test des comètes (Plateforme Cytogénétique U967 Fontenay aux roses).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CEA – IRCM/LRTS - Fontenay aux roses

Responsable de l'équipe : M. Pierre Fouchet

Equipe 2 : Hôpital Cochin – CECOS - Service de biologie de la reproduction - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean Philippe Wolf

Résumé ICarE

Responsable scientifique : M. Julien Verdon

Organisme : Université de Poitiers - Laboratoire EBI - UMR CNRS 7267 - Poitiers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Identification et caractérisation de molécules produites par des souches de *Pseudomonas* environnementales pour la lutte biologique contre *Legionella pneumophila*

2. Questions à la recherche

ABIO 3 - Connaissances du comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif du projet proposé est d'isoler et de caractériser de nouveaux agents antimicrobiens naturels, produits par une collection de souches environnementales appartenant à la même niche écologique que *L. pneumophila*, en particulier de *Pseudomonas*. Le but est ainsi de lutter contre ce pathogène de manière directe et/ou indirecte par action contre les amibes qui les abritent (*Acanthamoeba*, *Hartmannella*) afin de contrôler sa prolifération dans les environnements aqueux artificiels notamment au sein des biofilms.

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

Les réseaux d'eau subissent épisodiquement des problèmes de contamination pouvant entraîner une dégradation de la qualité microbiologique des eaux circulantes. Ils peuvent ainsi constituer des sites de prolifération et de dissémination pour des pathogènes opportunistes tels que *L. pneumophila*. Ce sont des bactéries d'origine hydrotellurique retrouvées dans les sols humides et dans les eaux douces à partir desquels elles colonisent des sites hydriques artificiels. La présence de cette bactérie est généralement associée à deux types d'interactions : avec des biofilms et des protozoaires tels que les amibes libres. La légionellose est un problème de santé publique d'actualité avec, chaque année en France, environ 1400 cas et un peu plus d'une centaine de décès. Les réseaux d'eau nécessitent donc des traitements de désinfection afin de limiter le développement microbien. Ces traitements actuels, qu'ils soient oxydants ou non, sont utilisés soit en traitement préventif, évitant ainsi l'apparition d'une concentration critique en *Legionella*, soit en traitement curatif, lorsque le seuil d'alerte est dépassé. Cependant et bien qu'efficaces, ils sont aspécifiques et présentent un impact écologique négatif. Récemment, nous avons isolé des souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas* actives contre *L. pneumophila*. Un composé actif a été entièrement caractérisé, il s'agit de la surfactine, un lipopeptide bien décrit mais sans activité antibactérienne attestée jusque là. De manière intéressante, ce biosurfactant possède un spectre d'activité restreint contre *L. pneumophila*, la capacité de lyser les trophozoïtes d'*A. castellanii* et d'éradiquer un biofilm monoespèce de légionelles. Cette découverte ouvre la porte à l'utilisation de biosurfactants comme agents de biocontrôle sachant qu'ils sont déjà utilisés en bioremédiation des sols contaminés et étudiés pour d'autres applications telles que la lutte contre le cancer ou la vectorisation de molécules d'intérêts.

Argumentation du choix des questions

Ce projet, de par l'étude de microorganismes pathogènes opportunistes d'origine hydrique et la mise en évidence de molécules sélectives antibactérienne s'inscrit naturellement dans la Question à la Recherche Agents Biologiques, Axe 3. Les biosurfactants comme la surfactine sont déjà considérés comme d'importance écologique (bioremédiation) et sont de plus en plus étudiés dans le domaine clinique. Le

présent projet s'inscrit dans cette mouvance et permettrait d'apporter une contribution significative à ce champ d'étude notamment dans le domaine de la lutte biologique qui reste encore à explorer.

Description des méthodes mises en œuvre

Tache 1 (3 mois). Le criblage d'une collection de bactéries environnementales du genre *Pseudomonas* notamment pour leur activité anti-*Legionella* et/ou anti-amibes sera réalisé (test de diffusion sur boîte pour *Legionella* et test de plages de lyses pour les amibes). En parallèle, l'identification des souches sélectionnées sera réalisée par séquençage 16S (séquençage multi-locci pour l'espèce si nécessaire).

Tache 2 (9-12 mois). Les substances d'intérêt produites par les souches antagonistes sélectionnées seront isolées à partir des surnageants de culture en utilisant un arsenal de techniques séparatives, en particulier chromatographiques. La caractérisation structurale de ces molécules purifiées sera alors réalisée au moyen de diverses techniques biochimiques et analytiques (digestions enzymatiques, spectrométrie de masse en tandem couplée à la chromatographie liquide à ultra haute performance (UPLC-MS/MS, spectroscopie infrarouge et RMN). Les molécules antimicrobiennes seront testées, tout au long du processus, pour leurs activités vis-à-vis des microorganismes cibles sessiles et planctoniques. Leur spectre d'activité sera également déterminé contre une collection de microorganismes.

Tache 3 (18-24 mois). Le mode d'action des molécules les plus actives sera étudié, dans un premier temps, par divers techniques (ATR-FTIR, PWR, fluorescence, Cryo-TEM) pour évaluer l'interaction molécule/membrane sur un modèle de membrane supportée mimant la membrane bactérienne. De la cytométrie de flux couplée à du dénombrement sera également utilisée pour déterminer la viabilité et l'intégrité membranaire des cellules traitées. Les molécules sélectionnées seront testées également pour vérifier leur action vis-à-vis de *L. pneumophila* et *A. castellanii* se trouvant dans un biofilm. Pour cela, des biofilms modèles multi-espèces seront réalisés au laboratoire et l'activité sera analysée par microscopie confocale et dénombrement. Dans un deuxième temps, les molécules antimicrobiennes produites seront évaluées in-situ pour leur efficacité dans le contrôle du développement de *L. pneumophila* dans un pilote de réseau d'eau chaude sanitaire.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Poitiers - Laboratoire EBI - UMR CNRS 7267 - Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Julien Verdon

Equipe 2 : Université de Bordeaux - Institut de Chimie et Biologie des Membranes & des Nano-objets - UMR CNRS 5248 - Pessac

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Lecomte

Résumé ICP-Nano

Responsable scientifique : Mme Françoise Pons

Organisme : Université de Strasbourg - UMR 7199, CNRS - Illkirch

1. Titre

Projet complet

36 mois

Étude in vivo et in vitro de l'Impact des Caractéristiques Physicochimiques sur l'effet inflammatoire et pro-allergisant respiratoires des Nanoparticules manufacturées

2. Questions à la recherche

NANO 4 - Toxicologie des nanoparticules et des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études.

AIRR 2 - Etudes ou outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail en général notamment les aérocontaminants ou agents chimiques allergisants du milieu de travail.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les nanotechnologies suscitent des inquiétudes pour la santé respiratoire des travailleurs et de la population générale. Selon la littérature, l'inhalation de nanoparticules (NPs) manufacturées faites de silice, titane, zinc, argent ou carbone conduirait à une inflammation et/ou une augmentation de la sensibilisation respiratoire à un allergène. Mais, des résultats contradictoires ont été parfois décrits. Ceci n'est pas surprenant quand on sait que des NPs de même nature peuvent présenter des caractéristiques physicochimiques (taille, charge, hydrophobie, forme, état de surface) très variables. Or, à ce jour, peu d'études se sont intéressées aux caractéristiques physicochimiques (hormis la taille) qui affectent les propriétés inflammatoires et pro-allergisantes des NPs dans les voies respiratoires. Beaucoup de NPs manufacturées sont peu hydrophiles (voire totalement hydrophobes), si bien qu'en milieux biologiques elles sont à l'état d'agglomérats micrométriques, et non plus de NPs, ce qui peut expliquer la discordance de résultats entre les études. Enfin, certaines données de la littérature ont été obtenues in vitro, alors que d'autres sont issues d'études in vivo, ce qui peut être une autre source de variabilité. Ainsi, l'objectif du projet ICP-Nano est d'étudier l'impact des caractéristiques physicochimiques sur l'effet inflammatoire et pro-allergisant respiratoires d'une NP manufacturée modèle, le carbon-dot (C-dot), et ceci dans des modèles in vivo et in vitro.

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

Un des points novateurs de ce projet est le choix des C-dots comme NP. Découvertes en 2004, ces NPs carbonées sont notamment produites lors de la pyrolyse de la matière organique, et sont ainsi présentes dans les suies. Elles peuvent être produites de façon intentionnelle à l'échelle nanométrique (1-10 nm), une gamme de taille de NPs dont la toxicité reste très peu étudiée. Elles font à l'heure actuelle l'objet de nombreuses recherches, notamment pour des applications dans le domaine médical (thérapeutique ou imagerie), alors que leur statut en terme de sécurité n'a fait l'objet d'aucune étude sérieuse. Selon le processus de synthèse, il est possible d'obtenir des objets de taille, charge et état de surface différents. Par ailleurs, ces NPs sont solubles dans l'eau, ce qui facilite leur étude dans des systèmes biologiques, et surtout l'interprétation des résultats obtenus. Enfin, dans une certaine gamme de taille, les C-dots présentent des propriétés de fluorescence tout à fait remarquables, ce qui permet d'étudier leur devenir dans des modèles cellulaires ou des tissus, sans avoir à faire appel à l'ajout de marqueurs qui pourraient modifier leurs propriétés physicochimiques, et donc l'interprétation des résultats obtenus. Une autre originalité de notre projet est l'utilisation de modèles in vivo et in vitro. L'apport des essais in vitro à l'étude de la toxicité des

NPs est parfois discuté. Ainsi, l'utilisation de cette double approche expérimentale nous permettra de mieux appréhender la pertinence des modèles cellulaires comme outils d'évaluation de la toxicité des NPs.

Argumentation du choix des questions

Le projet ICP-Nano apportera des connaissances essentielles pour l'évaluation et la compréhension des dangers respiratoires liés aux NPs, et notamment sur le rôle de certaines caractéristiques physicochimiques encore peu étudiées des NPs (NANO 4). Ces connaissances concerneront le sujet sain, mais également le sujet allergique qui constitue un des sujets les plus vulnérables face à la pollution de l'air, qu'elle soit environnementale ou liée au travail. De plus, ce projet permettra d'évaluer la pertinence des outils in vitro pour l'étude des risques sanitaires liés à l'exposition aux NPs présentes dans l'air (AIRR 2).

Description des méthodes mises en œuvre

Des C-dots seront synthétisés selon des protocoles permettant de faire varier leur taille (c.a. 1 nm à plusieurs centaines de nm), leur charge (positive, neutre ou négative) et leur état de surface (présence de différentes fonctions chimiques à différentes densités). Les particules synthétisées feront l'objet d'une caractérisation approfondie : composition (analyse élémentaire C,H,N,O), nature chimique de la surface (XPS), charge et taille (DLS), forme (TEM), propriétés de fluorescence (T0-T12 mois). L'activité inflammatoire et pro-allergisante des C-dots sera étudiée dans différents modèles cellulaires humains pertinents : cellules épithéliales bronchiques ou alvéolaires, macrophages, et cellules dendritiques dérivées de monocytes isolés du sang périphérique de sujets sains (T6-T30 mois). Pour l'approche in vivo, des souris naïves ou exposées aux allergènes d'acarien, recevront des administrations respiratoires uniques ou répétées de C-dots en doses croissantes. L'inflammation sera évaluée notamment par dosage des médiateurs inflammatoires, pro-fibrotiques ou de l'allergie (in vitro et in vivo) et/ou par étude de l'infiltrat inflammatoire cellulaire (in vivo). L'activité pro-allergisante sera étudiée par mesure de la différenciation et la maturation des cellules dendritiques (in vitro), par dosage des IgE sériques (in vivo), et culture et restimulation des splénocytes de souris par l'allergène (ex vivo) (T12-T36 mois). Pour les C-dots présentant des propriétés de fluorescence adéquates, des études par imagerie de fluorescence seront menées afin de mettre en relation l'activité de ces NPs avec leur devenir cellulaire ou tissulaire (T6-T36 mois).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Strasbourg - UMR 7199, CNRS - Illkirch

Responsable de l'équipe : Mme Françoise Pons

Equipe 2 : CNRS - Unistra - CAMB - VSAT UMR 7199 - Illkirch

Responsable de l'équipe : M. Luc Lebeau

Résumé MAMBO

Responsable scientifique : M. Patrick Dabert

Organisme : Irstea - UR GERE - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Maîtrise des émissions d'Ammoniac en usine de Méthanisation-compostage de déchets, Biodéchets et effluents Organiques

2. Questions à la recherche

DECH 2 - Impacts sur la santé des travailleurs des émissions des procédés mis en oeuvre dans les filières de valorisation des déchets et sous-produits (polymères, Déchets d'équipements électriques et électroniques, véhicules hors d'usage, compostage, méthanisation et valorisation du biogaz, bâtiment et travaux publics...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Une étude récente conduite par l'INRS a mis en évidence la présence de polluants majoritaires (poussières, ammoniac et endotoxines) dans les usines de méthanisation-compostage avec des valeurs mesurées en ammoniac (NH₃) préoccupantes (supérieures à la Valeur Limite d'Exposition Professionnelle). Ces concentrations provoquent couramment des irritations oculaires et respiratoires et requièrent la mise en place de mesures de prévention.

L'objectif du projet est de maîtriser les émissions d'ammoniac en usine de méthanisation – compostage de déchets et effluents organiques en 4 tâches : i) un audit de 4 usines de méthanisation-compostage, ii) la recherche de paramètres de fonctionnement permettant de réduire les émissions de NH₃ et l'édition de recommandations, iii) la mise en oeuvre et validation d'une solution curative de biofiltration sur composts et iv) la mise en pratique des recommandations sur site réel.

Bien que centrées sur les émissions de NH₃, les mesures d'émissions du projet concerneront également d'autres composés gazeux délétères pour l'environnement et la santé des travailleurs tels que N₂O, H₂S, CH₄ et COV...

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

L'originalité du projet repose sur la volonté de travailler sur l'ensemble de la filière de traitement des usines de méthanisation-compostage, de l'entrée des déchets à la sortie du compost, en conjuguant les connaissances techniques des procédés avec celles de l'aéroulque des bâtiments et de la santé des travailleurs. Cette approche systémique est nécessaire pour réduire efficacement les émissions de NH₃ à la source.

Le caractère novateur repose aussi sur les essais de biofiltration de l'air au travers des composts. Cette solution est avantageuse car : i) l'utilisation d'une cellule de compostage comme biofiltre ne requiert a priori que des aménagements aéroulques, ii) le matériau biofiltrant est produit in-situ, à coût très réduit, et renouvelable à volonté, iii) la maîtrise des performances de la biofiltration est accrue (homogénéisation du matériau par retournement, maîtrise de la porosité, de l'humidité).

Argumentation du choix des questions

La gestion des déchets par méthanisation-compostage engendre des émissions de NH₃ néfastes pour la santé et l'environnement, pouvant remettre en cause la santé des travailleurs, le maintien de l'activité et le déploiement des usines. L'enjeu est donc multiple, sanitaire, environnemental, sociétal et économique.

Les travaux réalisés permettront d'analyser l'origine des émissions, d'élaborer des recommandations pour réduire à la source l'émissivité et de tester le concept de biofiltration in situ de l'air des usines par le compost comme traitement curatif.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Audit de sites - année 1

Cette tâche identifiera les causes possibles de dysfonctionnement des usines par l'audit de 4 sites aux fonctionnements différents et ayant des problèmes de maîtrise des concentrations en NH₃. Ces audits comporteront :

- la collecte de données de fonctionnement (schéma des filières, données des procédés, composition des intrants, digestat et compost, pics d'émissions)

- l'identification des zones et personnes exposées, analyse de l'aéroulque des installations, observation des pratiques des opérateurs, existence de mesures de prévention

- campagnes de mesures avec recueil des paramètres de fonctionnement des sites et pratiques des opérateurs.

2. Recherche de paramètres de fonctionnement permettant de réduire les émissions gazeuses, notamment NH₃ - mois 6 à 24

A partir des données recueillies, nous proposerons des pratiques alternatives supposées moins émettrices et compatibles avec les contraintes opérationnelles des sites. L'aéroulque des bâtiments sera modélisée et une étude paramétrique sera menée en vue de maîtriser les émissions fugitives.

D'autre part, la phase de stockage-compostage des digestats étant la plus émettrice d'ammoniac, des essais seront réalisés en pilotes de compostage (300L) afin de l'optimiser. Les déterminants opérationnels tels que le ratio structurant-déchet, le sens de l'aération (positive/négative), des procédés alternatifs d'aération pour une meilleure circulation de l'air dans la matière, la gestion des structurants pour éliminer le NH₃ qu'ils absorbent, seront testés. En plus des émissions de NH₃, les émissions de N₂O, CH₄, COV, H₂S et la qualité des composts seront analysées.

A partir des données des tâches 1 et 2, des recommandations seront établies pour maîtriser les émissions de NH₃ sur les sites audités.

3. Validation d'une solution curative innovante, la biofiltration sur compost mature - mois 6 à 30

Plusieurs travaux démontrent les capacités épuratoires des composts pour quelques polluants tels que NH₃, H₂S, DMS et quelques COV. Nous utiliserons les composts matures comme biofiltres pour traiter l'air chargé en NH₃ émis par les andains en phase active de compostage.

4. Essais sur site - mois 18 à 36

Il est toujours difficile d'intervenir sur un site réel. Les partenaires du projet proposeront aux usines partenaires de tester les modifications issues des recommandations et outils proposés dans les tâches 2 et 3.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Irstea - UR GERE - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Patrick Dabert

Equipe 2 : INRS - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Patricia Dirrenberger

Equipe 3 : Carsat Bretagne - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Gerard Petegnief

Résumé MicroBti

Responsable scientifique : Mme Gladys Massiera

Organisme : Laboratoire Charles Coulomb UMR 5221 - Université de Montpellier

1. Titre

Projet complet

24 mois

Formulation flottante de biopesticide pour une démoustication efficace et durable

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Stratégies de contrôle des vecteurs et de la transmission, plus ciblées et plus durables (identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents pour la LAV, 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

Le projet est une contribution à la lutte anti-vectorielle et vise une application à court terme. Il a pour but d'optimiser l'utilisation de biopesticides pour la lutte anti-moustique. Il s'agit de formuler un produit biolarvicide, *Bacillus thuringiensis* (Bti), sous forme de microencapsules flottantes afin de le maintenir sur le site de nourriture des larves de moustiques, pour en prolonger l'action et en réduire le coût d'application et l'accumulation dans l'environnement.

Deux stratégies de formulation sont proposées. La première stratégie consiste à préparer des colloïdosomes de Bti : des microparticules de cire à la surface desquelles les particules submicroniques de Bti sont piégées. Une formulation en poudre est possible, plus facilement transportable et applicable.

La seconde stratégie repose sur l'encapsulation de Bti : des microgouttes d'une suspension de Bti sont encapsulées dans une coque composée d'huile, de lipides ou de monomères, et rendue solide par changement de température ou par photopolymérisation. Cette stratégie s'appuie sur un procédé de production de capsules breveté par l'équipe Matière Molle du Laboratoire Charles Coulomb.

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

Bti est un biolarvicide qui réunit plusieurs avantages en matière de stratégie de contrôle des vecteurs: il est très spécifique des moustiques et n'a pas d'impact sur les autres insectes ni sur les vertébrés. Son efficacité, basée sur l'action conjointe de plusieurs toxines, évite le développement d'une résistance chez les organismes cibles. L'efficacité de Bti dépend de sa présence et rémanence dans les zones où les larves de moustiques se nourrissent. La plupart des larves de moustiques se nourrissent à la surface de l'eau ou filtrent les particules organiques en suspension dans l'eau lorsqu'elles viennent à la surface pour respirer. Or la densité du Bti est telle que ce pesticide sédimente rapidement après son application dans les gîtes larvaires. Les avantages considérables de Bti ne sont pas assez optimisés dans les formulations actuellement disponibles. Si des formulations flottantes existent, elles ne permettent pas de prolonger la présence de Bti à la surface de l'eau au-delà de quelques jours. Le principe actif libéré de son excipient sédimente rapidement. Cela est suffisant pour traiter l'émergence saisonnière des moustiques, mais inefficace contre des espèces comme *Aedes albopictus* qui ont des pontes continues donc plusieurs générations par saison. Les traitements doivent donc être répétés et conduisent à l'accumulation du produit actif.

Une originalité de la démarche est d'utiliser, dans le cas des colloïdosomes, le principe actif comme stabilisant des microparticules ingérées par les larves, limitant ainsi le nombre de constituants de la

formulation et son coût. Les colloïdosomes appartiennent à un domaine récent et très actif de mise en forme de nanomatériaux par autoassemblage. A notre connaissance ils n'ont pas été appliqués en tant que formulation insecticide.

Argumentation du choix des questions

Certaines espèces de moustiques sont vecteurs de parasites ou de virus responsables de maladies mortelles : le paludisme, la dengue... Les stratégies de lutte anti-vectorielle constituent un outil majeur de prévention pour la santé publique et justifie l'intérêt de notre projet pour les thématiques santé-environnement. La question concerne la possibilité d'associer le Bti à des composés inoffensifs susceptibles d'en modifier suffisamment sa densité pour le maintenir à la surface de l'eau tout en préservant son efficacité larvicide. Les réponses que nous proposons relèvent de la physique et de la physico-chimie des interfaces.

Description des méthodes mises en œuvre

La stratégie d'encapsulation repose sur un procédé breveté (2009) de production de microcapsules dont le contenu et la coque peuvent être contrôlés. Le choix du composé d'enrobage devra répondre aux spécificités de la physico-chimie de la digestion des larves de moustiques. Nous envisageons par exemple une coque dont la dégradation se produit à pH basique et donc spécifiquement dans l'estomac des larves.

L'efficacité des colloïdosomes de Bti a d'ores et déjà été démontrée, sur des échantillons à base d'huiles silicones. Il faudra généraliser leur obtention à d'autres huiles ou cires, de préférences produites ou disponibles à bas coût sur le lieu d'application, ce qui fera intervenir des additifs à choisir de manière rationnelle sur la base d'études fondamentales de capillarité autour de la ligne de contact eau-huile-Bti. La taille des colloïdosomes devra être optimisée, le mode d'ingurgitation fonctionnant comme un filtre. Les deux stratégies seront menées parallèlement avec des tests et des applications possibles dès la première année pour les colloïdosomes et sur la seconde année pour la stratégie d'encapsulation.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Laboratoire Charles Coulomb UMR 5221 - Université de Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Gladys Massiera

Equipe 2 : Institut de Recherche pour le Développement - UMR MIVEGEC - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Chandre

Résumé MOTUS

Responsable scientifique : Mme Noelle Lewis

Organisme : Université de Bordeaux - Laboratoire IMS - Talence

1. Titre

Projet complet

30 mois

MODulation du Signal RF et effets sur le cerveau : approche in vivo et in vitro

2. Questions à la recherche

RFES 1.1.5 - les pathologies associées à la dégénérescence cellulaire.

RFES 2.1.2 - le métabolisme et le débit sanguin cérébral, les fonctions cognitives.

RFES 1.1.7 - Études vérifiant des travaux antérieurs sur des effets biologiques (voir liste dans le rapport « radiofréquences et santé »6 (Anses, octobre 2013, pages 342 et suivantes).

3. Résumé

Objectif détaillé

Les connaissances sur les effets biologiques à bas niveau d'exposition aux radiofréquences (RF) des communications sans fil sont décrites dans les derniers rapports des comités d'experts [1] : leurs conclusions sont que les effets observés concernent le système nerveux, plus précisément l'EEG chez l'homme. Des effets des signaux GSM ont été récemment rapportés sur le spectre EEG, alors que le signal continu non pulsé (CW) ne produisait pas de tels effets [2, 3, 4].

Nos travaux ont porté sur l'interaction des RF avec le cerveau et le principal résultat obtenu in vitro a été une diminution significative (-30%) de l'activité électrique en bursts de réseaux de neurones, pendant l'exposition à des ondes GSM, effet réversible après 3 min d'exposition à 3,2 W/kg [5]. À des niveaux de puissance moindres, les effets du GSM sont supérieurs à ceux d'un signal CW de même puissance moyenne. Par ailleurs, nos travaux préliminaires in vivo sur la neurogenèse ont montré que la prolifération des cellules souches dans le cerveau du rat était diminuée par l'exposition à un signal GSM, mais pas par l'exposition au signal UMTS [6].

L'objectif du projet MOTUS est donc :

- d'approfondir la caractérisation de l'effet différentiel GSM/CW in vitro sur les réseaux de neurones et in vivo sur la neurogenèse adulte,
- d'élucider le mécanisme d'interaction biophysique à l'origine de l'effet observé in vitro par une approche pharmacologique,
- d'étudier l'effet in vitro de l'exposition RF sur les cellules souches neuronales murines en temps réel.

[1] AGNIR 2012, <http://wifiinschools.org.uk/resources/HPAmobile2012.pdf>; SCENIHR 2013, http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_041.pdf

[2] Agence de Radioprotection suédoise 2010, <http://www.stralsakerhetsmyndigheten.se/Publikationer/Rapport/Stralskydd/2010/201044/>

[3] Schmid et al. 2012 J Sleep Res, 21: 50-58.

[4] Suhhova et al. 2013 Bioelectromagnetics, 34:264-274.

[5] Moretti et al. 2013 Bioelectromagnetics, 34:571-578

[6] Rapport final TEMCER remis à Bouygues Telecom et transmis à l'ANSES.

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

L'objectif et les méthodes du projet MOTUS se situent au front de la recherche en bioélectromagnétisme et sont originaux et innovants : la recherche des mécanismes des effets différentiels des signaux pulsés (type GSM) et non pulsés (CW) sur le cerveau peut maintenant être menée avec profit grâce à notre expérience

acquise sur l'animal et la cellule. Nous disposons pour cela de moyens modernes et puissants qui sont uniques au monde (électrophysiologie et impédance-métrie sous exposition RF).

Argumentation du choix des questions

Le projet MOTUS a pour but de confirmer les effets des RF pulsées que nous avons observés sur les réseaux de neurones (RFES 1.1.7) et d'étudier les mécanismes sous-jacents in vitro. Les effets des RF pulsées recherchés sur la neurogenèse in vivo ont un lien avec de possibles effets sur la neuro-dégénérescence (RFES 1.1.5) et la cognition (RFES 2.1.2).

Description des méthodes mises en œuvre

Le groupe Bioélectronique (laboratoire IMS), déjà interdisciplinaire (biologistes, physiciens et électroniciens), s'associe aux laboratoires IMN (neurosciences, pharmacologie) et XLIM (biophysique, systèmes d'exposition) pour combiner compétences et méthodes.

L'approche in vitro repose sur l'utilisation éprouvée d'un banc expérimental couplant électrophysiologie et exposition RF. Des cultures de neurones primaires de rat sont réalisées sur des Micro-Electrodes Arrays (MEA) qui sont placés dans une cellule transverse électromagnétique (TEM), où se propage un signal RF caractérisé [7]. Un système d'acquisition permet d'enregistrer l'activité neuro-électrique, en présence de RF, puis le traitement et l'analyse des enregistrements permettent d'évaluer le niveau de cette activité, à l'aide de métriques classiques (nombre de spikes, de bursts, etc.). Afin de progresser dans la compréhension du mécanisme d'interaction, il s'agira :

1) de caractériser systématiquement l'effet de l'exposition en fonction de la puissance RF et du type de modulation (GSM, CW, UMTS) : année 1,

2) de rechercher par une approche pharmacologique le site d'action des ondes et le mécanisme mis en jeu (ex : modulation GABAergique ou TRPV) [8] : années 1 et 2,

3) d'effectuer une réplique des investigations déjà publiées, dans un laboratoire indépendant : année 1.

L'approche in vivo visera à confirmer l'effet différentiel observé entre signaux pulsés et non-pulsés, en testant le GSM et la porteuse CW à 900 MHz [9]. De jeunes rats (6 semaines) seront exposés 2 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 4 semaines. Il s'agira :

1) de confirmer l'effet sur la prolifération des cellules souches, dans l'hippocampe et le bulbe olfactif : année 1,

2) d'étudier l'expression des protéines majeures impliquées dans la neurogenèse adulte : année 2.

De plus, une approche complémentaire in vitro sera mise en œuvre, permettant de mesurer, en temps réel, la prolifération de cellules souches neuronales murines exposées aux différents signaux RF par impédance-métrie [10] : année 2.

Outre la présentation de résultats intermédiaires dans des congrès de Bioélectromagnétisme et de Neurosciences, les 6 mois de l'année 3 permettront de faire une synthèse des résultats (rapport final et rédaction d'articles).

[7] Merla et al., 2011 IEEE MTT, 59: 755-762

[8] GABA : acide gamma-aminobutyrique et TRPV : Transient receptor potential channels vanilloid

[9] Rapport final TEMCER remis à Bouygues Telecom et transmis à l'ANSES

[10] Système d'exposition développé dans le cadre du projet ANSES RF-Biocell EST-2013-195.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Bordeaux - Laboratoire IMS - Talence

Responsable de l'équipe : Mme Noelle Lewis

Equipe 2 : Université de Bordeaux - IMN, CNRS UMR 5293 - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. André Garenne

Equipe 3 : Université de Limoges - XLIM CNRS - Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

Résumé Neurinf-1800

Responsable scientifique : M. Michel Mallat

Organisme : Hôpital de la Salpêtrière - Inserm U.1127 - Paris

1. Titre

Projet complet

30 mois

Effets des ondes GSM 1800MHz sur des réactions neuroinflammatoires aiguës ou chroniques

2. Questions à la recherche

RFES 1.1.2 - l'oxydation de l'ADN nucléaire et mitochondrial.

RFES 1.1.3 - l'expression des gènes et en particulier la réponse adaptative.

RFES 1.1.5 - les pathologies associées à la dégénérescence cellulaire.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les réactions neuroinflammatoires conditionnent l'évolution de très nombreuses pathologies touchant directement ou indirectement le système nerveux central (SNC). Elles impliquent l'activation des cellules microgliales (macrophages cérébraux), sources de cytokines et de radicaux libres pouvant influencer sur l'intégrité le développement ou l'activité des réseaux neuronaux. Nos travaux récents révèlent que chez des rats sujets à une neuroinflammation transitoire induite par injection intrapéritonéale de LPS, une exposition unique « tête seule » au GSM 1800 MHz d'une durée de 2h à un DAS de l'ordre 2W / kg est suffisante pour entraîner une modulation significative du déroulement de la réaction neuroinflammatoire marquée par des modifications de la morphologie des cellules microgliales et des variations de l'expression intracorticale de gènes codant pour des cytokines ou des enzymes productrices de radicaux libres (projet Microg-1800 soutenu par ANSES A0 2013). Notre objectif est 1) sur ce modèle LPS, d'élargir l'analyse des effets du GSM par une description des modifications du transcriptome cérébrocortical couvrant tous les gènes exprimés, 2) de caractériser l'impact des signaux GSM 1800 MHz sur la production de médiateurs de l'inflammation et sur les réactions microgliales et astrocytaires chez des rats transgéniques modélisant une neuropathologie humaine chronique à forte composante neuroinflammatoire, la sclérose latérale amyotrophique (SLA), 3) de caractériser l'effet direct des radiofréquences (RF) sur la prolifération et les fonctions proinflammatoires ou prooxydantes de la microglie, par exploitation d'un nouveau système d'exposition de cultures microgliales primaires d'origine murine.

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

Très peu de travaux publiés ont examiné les effets du GSM sur le SNC affecté par des pathologies. En continuité avec nos résultats récents, notre projet vise à préciser un nouvel effet modulateur des signaux GSM 1800MHz sur les réactions neuroinflammatoires, par une combinaison originale d'approches expérimentales, qui tire parti de modèles validés de neuroinflammations aiguës ou chroniques et qui exploite une méthodologie récemment développée pour exposer des cultures cellulaires aux RF. Les analyses du transcriptome que nous proposons sont de nature à révéler de nouveaux effets biologiques des RF qui ne peuvent pas être anticipés sur la base des connaissances actuelles.

Argumentation du choix des questions

Recherche des mécanismes d'actions des RF au niveau cellulaire. Détermination exhaustive de la modulation de l'expression de gènes dans un contexte inflammatoire. Utilisation de modèles in vivo (injection LPS, rats SLA) et in vitro (cultures cellulaires) pour caractériser des effets directs ou indirects des signaux GSM sur les réactions et fonctions microgliales, pouvant influencer sur l'activité ou l'intégrité des

réseaux neuronaux ou sur l'évolution de la neuroinflammation. Les résultats élargiront les connaissances relatives aux effets des RF selon l'état de santé des sujets exposés.

Description des méthodes mises en œuvre

Analyse différentielle du transcriptome de rats adultes injectés au LPS : comparaison entre des animaux exposés (GSM 1800 MHz, 2h DAS 2W/kg) et pseudo-exposés (DAS nul) (n= 6 animaux par groupe) par séquençage à haut débit des ARN codant du cortex cérébral (1er semestre). Comparaison de rats SLA sacrifiés 4h ou 24h après exposition ou pseudo-exposition en phase neuroinflammatoire presymptomatique (n= 6 par groupe), par analyse immunohistologique des réactions microgliales et astrocytaires et mesures RT-QPCR, ELISA et Western blot de l'expression de médiateurs de l'inflammation choisis selon les données acquises sur le modèle LPS (2ème et 3ème semestre). Cultures primaires de cellules microgliales purifiées et activées, dans des plaques du dispositif Xcelligence adapté pour exposition des cellules au GSM 1800 MHz: calibration et analyses dosimétriques (1er semestre). Détermination d'effets du GSM selon la dose, sur la prolifération et sur le phénotype des cellules microgliales activées, dont leur production de cytokines pro-ou anti-inflammatoires, de métabolites lipidiques dérivés de l'acide arachidonique ou de formes réactives de l'oxygène générées par les enzymes de type NO synthase ou NADPH oxydase (2ème- 4ème semestres). Six derniers mois: fin des expériences et rédaction d'articles.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Hôpital de la Salpêtrière - Inserm U 1127 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Michel Mallat

Equipe 2 : Hôpital de la Salpêtrière - Inserm U 1127 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Severine Boillee

Equipe 3 : Centre de Neurosciences de Paris-Sud - UMR CNRS 8195 - Orsay

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

Equipe 4 : Université de Limoges - XLIM CNRS- Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

Résumé OxAirDirect

Responsable scientifique : M. Guillaume Suarez

Organisme : Institut universitaire romand de Santé au Travail - Epalinges-Lausanne, Suisse

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Dispositif de détection portatif pour la mesure directe de marqueurs du stress oxydant (ROS) dans l'air expiré

2. Questions à la recherche

NANO 4 - Toxicologie des nanoparticules et des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études.

DECH 2 - Impacts sur la santé des travailleurs des émissions des procédés mis en oeuvre dans les filières de valorisation des déchets et sous-produits (polymères, Déchets d'équipements électriques et électroniques, véhicules hors d'usage, compostage, méthanisation et valorisation du biogaz, bâtiment et travaux publics...).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'exposition par inhalation à certaines substances chimiques, poussières, fibres minérales ou gaz peut entraîner l'apparition de pathologies respiratoires, telle que la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) qui est une maladie insidieuse, très fréquente et handicapante. La BPCO sera, selon l'OMS, la 3ème cause de mortalité en 2020 dans les pays occidentaux. Le tabagisme est la principale cause de BPCO, mais il est avéré que certains facteurs professionnels contribuent à son aggravation ou à son apparition (contribution des facteurs professionnels = 15% selon l'American Thoracic Society). Il existe dans la BPCO une composante inflammatoire chronique importante souvent induite par la présence élevée dans les tissus d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Au-delà des mesures de paramètres physiques comme la mise en évidence d'une obstruction bronchique lors d'une exploration fonctionnelle respiratoire (EFR), l'analyse biochimique – dont les ROS – du liquide de lavage broncho-alvéolaire reste l'une des approches de référence permettant d'accéder indirectement au « poumon profond » mais cette technique reste très invasive.

Dans ce contexte, l'objectif du projet consiste à optimiser un système innovant non invasif de détection de marqueurs du stress oxydant à travers l'analyse directe de l'air expiré chez des patients atteints de BPCO professionnelle, puis d'évaluer l'efficacité de ce système. Le projet s'articule en deux phases consécutives qui consistent à i) optimiser/caractériser le système de détection de ROS en phase aérosol actuellement en cours de développement à l'IST Lausanne afin d'aboutir à un système intégré/automatisé permettant des mesures sensibles et rapides directement dans un échantillon d'air expiré, puis ii) conduire une étude pilote consistant à prélever puis analyser des échantillons d'air expiré (10-40 L) sur des patients BPCO et des sujets témoins non malades travaillant dans des secteurs à risque de BPCO (ex BTP) bien caractérisés sur le plan fonctionnel et sur leurs expositions professionnelles (+ tabagisme) suivis par l'IST-PE, afin de tester la fiabilité de la technique de détection d'effets oxydatifs de pathologies pulmonaires. Une fois accomplie, cette étude de faisabilité conduira à l'élaboration d'un projet de recherche complet plus ambitieux dans lequel le système de détection serait intégré comme outil de dépistage d'effets oxydatifs précoces dans le poumon permettant d'évaluer sur site de manière rapide (à faible coût) l'impact d'une exposition donnée (e.g. nanoparticules, agents chimiques, rejets industriels) sur la santé respiratoire des travailleurs.

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

L'originalité du projet réside dans l'approche alternative non invasive que représente l'utilisation d'un système de détection portatif et particulièrement sensible (limite de détection < 10 nM éq. H₂O₂) permettant de mesurer sur site et de manière non-invasive des paramètres biologiques liés au stress oxydant dans la région broncho-alvéolaire chez des sujets exposés à des aérosols professionnels. La technologie photonique innovante de détection des ROS se base sur l'amplification de l'absorption lorsque l'élément absorbant est contenu dans un milieu optiquement aléatoire (Suárez et al. 2011, 2013, 2014). Cette stratégie de conversion d'essais colorimétriques en systèmes de détection photoniques significativement plus sensibles a été adaptée à la mesure automatisée de ROS aérosolisés (publication en cours). Le recours à la cohorte de patients BPCO suivie au sein de l'IST-PE lors de l'étude pilote de mesures renforce la capacité d'interprétation des données par leur recoupement avec les données étiologiques et physiologiques déjà disponibles.

Argumentation du choix des questions

Cette étude pilote consiste à générer un système portatif capable de mesurer des marqueurs d'effet de l'exposition comme indicateurs d'un état inflammatoire des voies broncho-alvéolaires et de le tester sur une population de travailleurs atteints de BPCO. Selon l'efficacité obtenue, un tel outil permettrait d'effectuer des mesures à bas coût et faciles à réaliser sur toute population de travailleurs afin d'établir l'impact d'une exposition respiratoire à des aérocontaminants. A ce titre, selon son cadre d'utilisation dans un projet complet, il contribuerait à déterminer l'effet biologique de nanomatériaux/particules ou déchets et rejets industriels sur les travailleurs exposés (poussières de chantier, ciment catalytique, industrie TiO₂/SiO₂).

Description des méthodes mises en œuvre

Mois 1-4: a) Optimisation/caractérisation système de détection ROS dans air expiré. b) Sélection de sujets pour l'étude : travailleurs BTP exposés (BPCO + témoins) (20+20).

Mois 5-10: a) Consultation pneumologie générale pour sujets étude (spirométrie ou EFR). b) Prélèvement et analyse air expiré & condensat. c) Analyse/Interprétation données.

Mois 11-12: Rédaction article/projet

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut universitaire romand de Santé au Travail - Epalinges-Lausanne, Suisse

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Suarez

Equipe 2 : CHI Créteil - Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle - Créteil

Responsable de l'équipe : M. Pascal Andujar

Résumé PUF-TAXIS

Responsable scientifique : Mme Isabelle Momas

Organisme : Université Paris Descartes - Département "Santé publique et biostatistique" - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition aux particules ultrafines et au carbone suie des chauffeurs de taxis parisiens : déterminants de l'exposition et impact sur la santé respiratoire

2. Questions à la recherche

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet s'intéresse à des expositions professionnelles à la pollution atmosphérique d'origine automobile et vise à :

1. quantifier l'exposition de professionnels de la conduite automobile (des chauffeurs de taxis) aux particules ultrafines (PUF - particules de diamètre inférieur à 0,1 μm) et au carbone suie (traceur du trafic) et identifier les variations spatio-temporelles et les déterminants de cette exposition liés aux modalités d'exercice ;

2. étudier l'impact de l'exposition aux particules ultrafines et au carbone suie mesurée de façon personnalisée sur les performances ventilatoires et la symptomatologie respiratoire de ces professionnels.

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

Cette recherche épidémiologique vise à étudier, grâce à des mesures répétées, l'impact sanitaire à court terme de l'exposition professionnelle aux PUF et au carbone suie liés au trafic routier. Cette thématique a été peu examinée au regard des effets à long terme sur la santé cardiovasculaire et les cancers, beaucoup plus documentés dans la littérature. Cette démarche avec mesures répétées est novatrice et particulièrement pertinente pour pouvoir aborder la question de la causalité de la relation entre l'exposition et l'effet. Toutefois, une quantification précise de cet effet suppose une évaluation fiable de l'exposition. Dans ce projet, celle-ci sera mesurée très précisément, d'une façon individuelle tout au long du temps de travail, grâce à des dispositifs portatifs adaptés développés ces dernières années.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit dans le champ de la recherche sur le rôle, non encore entièrement élucidé, des pollutions atmosphériques, notamment d'origine automobile, sur le développement/déclenchement de symptômes respiratoires et de perturbations fonctionnelles, d'où le choix de s'intéresser à des chauffeurs professionnellement et donc longtemps exposés, au cœur du trafic. La question des polluants impliqués se pose. Une première étude réalisée par l'équipe (Zagury* et al, 2000) avait mesuré l'exposition de ces professionnels au monoxyde de carbone, aux oxydes d'azote et aux fumées noires. Les particules sont actuellement de plus en plus évoquées. Leur fraction ultrafine fait l'objet d'un intérêt récent en raison de la forte déposition pulmonaire des PUF et de leur aptitude à induire stress oxydatif et inflammation des voies aériennes. Le carbone suie est quant à lui, un traceur du trafic.

Par ailleurs, le recours à des mesures personnalisées réalisées en continu et couplées à une géo-localisation permettra de décrire la variabilité spatiale et temporelle (très peu documentée dans la

littérature) des niveaux d'exposition aux PUF et au carbone suie dans les voitures (lieux peu étudiés jusqu'alors).

Zagury* E, Le Moullec Y, Momas I. Exposure of Paris taxi drivers to automobile air pollutants within their vehicles. *Occup Environ Med* 2000;57:406-410

Description des méthodes mises en œuvre

La recherche comportera deux volets. Le premier sera une étude d'exposition au trafic routier conduite auprès d'un échantillon aléatoire d'une centaine de professionnels de la conduite automobile (des chauffeurs de taxis artisans), pendant la première année (2016). L'évaluation de l'exposition concernera les PUF et le carbone suie mesurés en continu, par des capteurs portatifs, pendant le temps de travail (11 heures en moyenne). La mesure des PUF (nombre, diamètre moyen, surface de déposition pulmonaire) sera effectuée grâce au DISCmini (Diffusion Size Classifier Miniature - Matter aerosol) tandis que celle du carbone suie (concentration) se fera par un éthalomètre (microAeth Model AE51 - AethLabs). L'équipe a testé la faisabilité de l'utilisation de ces appareils (augmentation de la durée d'autonomie avec batteries externes, ... article en cours de finalisation; projet UFP INMA PARIS). Parallèlement, un GPS et un questionnaire budget espace-activités-temps précis renseigneront tous les déplacements. L'analyse statistique fournira les distributions des niveaux d'expositions, leur variabilité spatio-temporelle. La recherche des déterminants de ces expositions se fera par analyse multivariée.

Le deuxième volet se déroulera pendant les 2 années suivantes, auprès d'une cohorte constituée d'un sous-échantillon des chauffeurs de taxis, sélectionné d'après les résultats obtenus dans le premier volet (niveaux contrastés d'exposition). Il comportera des mesures répétées, à 2 ou 3 saisons distinctes, à la fois de l'exposition et de la santé respiratoire. Celle-ci sera étudiée par questionnaire standardisé (European Community Respiratory Health Survey), par des explorations fonctionnelles respiratoires, par la mesure de la fraction du NO dans l'air expiré (FeNO) et complétée par des tests cutanés allergologiques. Des modèles multivariés (GEE) permettront d'étudier l'association entre (1) les indicateurs d'expositions et (2) les symptômes, les performances ventilatoires et le FeNO, en tenant compte des facteurs de confusion/d'interaction potentiels, notamment du statut atopique et du curriculum laboris.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Descartes - Département "Santé publique et biostatistique" - Paris
Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Momas

Equipe 2 : AP-HP - Service de pathologie professionnelle - Paris
Responsable de l'équipe : M. Dominique Choudat

Résumé SANTECHS-FR

Responsable scientifique : Mme Anne Perrin

Organisme : Université Joseph Fourier - IMEP-LAHC, Minatec - Grenoble

1. Titre

Projet complet

24 mois

Troubles de la santé et représentations de l'environnement et des technologies : un état des lieux de l'hypersensibilité électromagnétique en France

2. Questions à la recherche

RFES 3.3 - Recherche de facteurs de vulnérabilité (études comparatives utilisant des populations témoins et des populations présentant des syndromes médicalement inexplicables par exemple).

RFES 3.4 - Recherche d'outils de diagnostic et de marqueurs spécifiques.

RFES 4.1 - Impact des changements organisationnels et de conditions de travail liés aux nouvelles technologies sans fil sur le stress, le sommeil, la fatigue, des symptômes psychiques, l'addiction, etc. (en population générale et professionnelle).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'hypersensibilité électromagnétique (EHS) est une cause de plaintes et de souffrances pour une partie de la population qui attribue des symptômes divers à l'exposition aux ondes électromagnétiques, notamment aux radiofréquences (RF) utilisées dans les technologies de communications sans fil récentes, telles que le Wifi et la téléphonie mobile. En l'absence de relation causale démontrée entre symptômes et RF, l'OMS a rattaché ce syndrome à la catégorie des « intolérances idiopathiques environnementales » (IEI). Ces IEI représentent un problème de santé qui semble s'amplifier. En Allemagne et au Danemark des études ont montré une augmentation du nombre de consultations médicales de l'ordre de 20 % liée aux inquiétudes pour la santé contemporaines (« modern health worries »).

En France, comme à l'étranger, la situation reste imprécise. La proportion réelle de la population concernée, le degré de sensibilité des personnes (niveau de gêne ressentie, répercussions sociales), ne sont pas connues sauf de manière très indirecte et approximative. Ont-elles un rapport particulier à la technologie ? S'agit-il d'une sous-population particulière avec un profil type prédisposant à ce syndrome ? La prévalence de l'EHS serait de 1,5% à 10% de la population selon les pays. Cette incertitude provient en partie du manque de paramètres objectifs permettant d'établir un diagnostic précis et l'hétérogénéité des critères utilisés selon les études.

L'objectif du projet est d'estimer et décrire la population dite hypersensible, notamment en définissant les critères psychosociaux et environnementaux pertinents pour appréhender la représentation de l'environnement et des technologies par les individus EHS ainsi que leur perception des risques.

Pour cela une étude quantitative sera réalisée afin d'identifier les symptômes, les caractéristiques psychologiques (connaissances, attitudes, croyances), sociologiques (données socioéconomiques, démographiques et culturelles) et environnementales (conditions de vie) des personnes dites hypersensibles sur ces aspects par rapport à l'ensemble de la population Française.

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

A ce jour la majorité des études sur l'EHS émane d'équipes des pays Scandinaves, de Grande Bretagne, Autriche, Suisse et Allemagne. En France, l'étude en cours dite « étude Cochin » vise à développer un protocole de prise en charge, le diagnostic étant déjà fait par le patient. En particulier, aucune étude quantitative n'a jamais été menée à ce jour.

Ces lacunes justifient qu'un effort de recherche soit fait en France, pour une prise en compte de l'EHS sur des bases objectives et avec des données fiables en termes d'impact et de prévalence.

Le caractère novateur tient dans l'idée d'aborder santé (symptomatologie), perception du risque et rapport aux technologies RF dans une même étude de manière à progresser dans la compréhension des conditions d'émergence des IEI.

Les résultats fourniront un état des lieux de l'hypersensibilité, grâce à une approche sociologique, psychosociale et environnementale permettant d'améliorer la caractérisation et la compréhension de cette pathologie dans le but d'améliorer la prise en charge de ce problème sanitaire.

Le projet repose sur une collaboration multidisciplinaire.

Argumentation du choix des questions

Une analyse minutieuse de la littérature permettra de cerner les paramètres d'intérêt.

Des entretiens semi-directifs seront réalisés auprès de sujets EHS et de sujets indifférents aux radiofréquences afin de caractériser la symptomatologie, d'identifier les usages et représentations au quotidien des technologies et la perception du risque et de l'environnement.

A l'issue de ces premiers résultats un questionnaire quantitatif sera adressé au public, au niveau national, pour estimer la proportion de la population sujette à cette pathologie et voir s'il existe des profils types ou des sous-groupes selon le degré de sensibilité des personnes et leur rapport à l'environnement et aux technologies. Une attention particulière sera portée au mode de diffusion du questionnaire tenant compte des attitudes d'évitement des personnes hypersensibles à l'égard de certains moyens de communications.

Description des méthodes mises en œuvre

1 - Etat de l'art

Analyse bibliographique

2 – Entretien semi-directifs

Les questions porteront sur

-La symptomatologie et les représentations du corps (symptômes, autres maladies et IEI, ressenti, attrait pour une pratique médicale particulière...)

- Les sources de nuisance suspectées

- Les attitudes par rapport à la technologie (usage, perception)

-La perception des risques environnementaux (au sens large : alimentation, pollution, qualité de l'air, etc.)

3 – Enquête nationale

- choix des questions pertinentes

- construction et mise en forme du questionnaire

- diffusion du questionnaire et recueil des réponses (recours à un organisme spécialisé tel que Kantar Health)

4 – Bilan

Analyse des résultats et synthèse globale de l'étude

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Joseph Fourier - IMEP-LAHC, Minatec - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Anne Perrin

Equipe 2 : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMRESTTE - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Amélie Massardier-Pilonchery

Equipe 3 : EHESP - Département SHSCS - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Jocelyn Raude

Equipe 4 : Sciences Po - Cevipof - Paris

Responsable de l'équipe : M. Daniel Boy

Résumé SATORI

Responsable scientifique : M. Jean-Pierre Le Bourhis

Organisme : Université de Picardie - CURAPP-ESS UMR CNRS 7319 - Amiens

1. Titre

Projet complet

36 mois

Savoirs toxicologiques et régulations en situation d'incertitude

2. Questions à la recherche

ACHIM 7 - Évaluation de l'efficacité des mesures de gestion sur la maîtrise du transfert des contaminants présentant un risque pour la santé humaine (polluants secondaires et métabolites) vers les milieux aquatiques.

SHS 3 - Conséquences médiatiques, institutionnelles et sociétales de l'expression des incertitudes dans les expertises sur les risques sanitaires : transparence et communication des risques, déni et amplification des risques.

SHS 8 - Gestion pluraliste pour minimiser l'occurrence de risques chroniques ou en situation de crise. Un thème prioritaire pour cet appel à projet portera sur la gestion pluraliste des risques de santé impliquant la faune sauvage.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet vise à accroître la connaissance des usages localisés des savoirs toxicologiques à des fins de régulation et en situation d'incertitude. Il répond au besoin d'une compréhension plus fine des configurations et processus situés de mise en œuvre de l'expertise, permettant un retour d'expérience similaire à ceux conduit à l'échelle nationale ou européenne.

Pour cela, SATORI propose une analyse comparative d'une série de cas en France centrés sur des activités de planification et de surveillance des milieux aquatiques mobilisant des savoirs toxicologiques. Le projet porte de façon privilégiée sur les situations où demeurent des incertitudes fortes et non réductibles, qu'elles soient liées à la nature des substances et des causalités en jeu (perturbateurs endocriniens) ou à celle des situations concernées (pollutions diffuses ou combinées). A partir d'un inventaire de sites de pollutions de l'eau correspondant à ce profil, l'analyse comparera une série limitée de cas pertinents, sélectionnés pour couvrir des configurations variées d'emploi des savoirs sur différents ressorts d'intervention (cadre local ou régional).

En s'appuyant sur une collaboration étroite entre spécialistes des sciences humaines et toxicologues, on s'intéressera en particulier à la configuration des acteurs locaux en charge de l'administration du risque comme de l'expertise et au rôle des autres parties prenantes, leur accès à l'information spécialisée et leurs interventions. La description des cas inclura la façon dont les savoirs toxicologiques relatifs aux polluants sont intégrés à la décision publique, les pratiques de prise en charge de l'information et de traitement des signes précurseurs. Par la comparaison, l'objectif est de faire émerger des régularités dans la prise en compte des dangers toxicologiques et les principales formes d'interaction des savoirs avec d'autres éléments d'ordre sociopolitique dans les décisions de régulation.

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

Le projet innove en remplaçant les questionnements sur l'expertise dans un cadre local et comparatif en adoptant une approche empirique des situations d'usage public de savoirs spécialisés. Il vise également à dépasser le caractère majoritairement monographique des études menées en introduisant une comparaison

entre plusieurs instruments de gestion mobilisant des connaissances (autorisation administrative, planification) et plusieurs échelles. Il repose sur l'association entre une équipe en science humaine et sociale et un laboratoire réunissant des spécialistes et praticiens de l'expertise toxicologique et écotoxicologique, parties prenantes des situations de régulations étudiées.

Argumentation du choix des questions

Par son domaine d'enquête SATORI se centre en partie sur la question de « l'évaluation de l'efficacité des mesures de gestion » dans le domaine de la « maîtrise du transfert des contaminants (...) vers les milieux aquatiques ». Par la production des données sur les configurations locales d'usage des savoirs, il répond principalement aux interrogations relatives à « l'expression des incertitudes dans les expertises » et aux modalités d'une « Gestion pluraliste pour minimiser l'occurrence de risques chroniques ».

Description des méthodes mises en œuvre

La recherche se développera en trois phases principales. 1. La constitution d'une grille d'analyse et de description des configurations locales sera réalisée par un travail commun via des ateliers entre spécialistes des activités gouvernementales et des analyses toxicologiques, destinée à caractériser les situations d'usage des savoirs toxicologiques. Ce travail sera complété durant les 6 premiers mois par un inventaire large des situations concernées et la sélection collective des cas pertinents. 2. La deuxième phase sera consacrée à l'investigation systématique des cas d'usage des savoirs toxicologiques en différenciant les échelles d'observation. 3 Sur la base des résultats produits, on produira un ensemble de recommandations sur l'usage des savoirs dans le contexte de décisions publiques, qui feront l'objet d'une validation en commun avec les producteurs d'expertise.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Picardie - CURAPP-ESS UMR CNRS 7319 - Amiens

Responsable de l'équipe : M. Jean-Pierre Le Bourhis

Equipe 2 : Ineris - Verneuil en Halatte

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

Résumé SEISMIC-COPD

Responsable scientifique : M. Pascal Andujar

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

1. Titre

Projet complet

24 mois

Marqueurs de sénescence et d'inflammation systémiques des bronchopneumopathies chroniques obstructives d'origine professionnelle

2. Questions à la recherche

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

AIRR 2 - Etudes ou outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail en général notamment les aérocontaminants ou agents chimiques allergisants du milieu de travail.

AIRR 3 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur).

3. Résumé

Objectif détaillé

Analyser les profils d'inflammation et de sénescence systémiques par des approches génomiques et protéomiques pour mieux caractériser les bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) professionnelles (secteur du BTP et milieu agricole) à partir de la première cohorte multicentrique française de sujets atteints de BPCO professionnelles MB2PROF

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

La BPCO est une maladie respiratoire chronique lentement progressive, très fréquente et en progression constante avec un fort impact en santé publique (5% de la population adulte, soit 3,5 millions de sujets atteints en France). Le principal facteur étiologique de la BPCO est le tabagisme. Cependant, la responsabilité de facteurs professionnels dans la genèse ou l'aggravation de certaines BPCO est désormais établie (notamment dans le secteur du BTP et en milieu agricole), mais il n'existe pas à l'heure actuelle d'étude associant un phénotype clinique, fonctionnel et/ou biologique à certaines BPCO professionnelles (Ameille et al, 2006). Pour quelques nuisances ou secteurs d'activités, il existe des éléments de plausibilité biologique (arguments expérimentaux). En effet, des études expérimentales ont démontré que plusieurs agents, connus comme pouvant être associés à la BPCO chez l'homme, sont susceptibles d'induire des lésions bronchiques ou de l'emphysème chez l'animal, notamment la silice, la poussière de charbon, le cadmium, le vanadium et les endotoxines.

La BPCO est caractérisée par une altération des balances protéases-antiprotéases et oxydants-antioxydants et une inflammation chronique importante liée notamment à des aérocontaminants (fumée de tabac, poussières minérales ou organiques, gaz) aboutissant à une destruction alvéolaire, une hypersécrétion de mucus et/ou une fibrose des petites voies aériennes. Ces phénomènes inflammatoires ont été mis en évidence localement dans le parenchyme pulmonaire, mais aussi dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et la circulation systémique. Récemment, plusieurs auteurs ont identifié un autre phénomène biologique intervenant dans la physiopathologie de la BPCO : le sénescence cellulaire accéléré par l'analyse de la longueur des télomères (Ansellem et al, 2011 ; Savale et al, 2010). Ces différents processus biologiques s'observent aussi bien sur le plan local, c'est-à-dire in situ dans le poumon, mais également à distance dans la circulation systémique.

A partir de ces éléments, nous émettons l'hypothèse qu'il existerait des phénotypes biologiques différents dans la survenue des BPCO selon les expositions professionnelles et le tabagisme. Ainsi, la recherche de biomarqueurs sanguins spécifiques (notamment protéiques et/ou génomiques), associés au développement de certaines BPCO professionnelles, bien étiquetées du point de vue clinique et étiologique, apparaît essentielle.

Ce projet de recherche est particulièrement original et novateur, puisqu'il est sans équivalent à notre connaissance dans la littérature. Les enjeux importants, car ils visent à mieux caractériser les BPCO professionnelles, à identifier des sous-types de BPCO professionnelles en fonction des expositions professionnelles et du tabagisme, à partir du profil clinique et biologique (inflammation et sénescence) et de mettre en évidence des marqueurs biologiques associés au développement et/ou à l'aggravation de ces BPCO.

Argumentation du choix des questions

Le projet présenté répond aux 3 questions de recherche (AIR 1, 2 et 3). Les partenaires de ce projet ont des compétences reconnues dans le champ de la BPCO, de la biologie (inflammation/sénescence), de la pneumologie et de la santé au travail (toxicologie respiratoire des aérocontaminants).

Des résultats encore très préliminaires, à partir de la cohorte MB2PROF, suggèrent des phénotypes inflammatoires (fibrinogénémie) et sénescents systémiques différents selon les types d'exposition (tabagisme/ secteur BTP et milieu agricole).

Description des méthodes mises en œuvre

Les patients BPCO et les sujets témoins ont été tous inclus et caractérisés du point de vue fonctionnel et de leurs expositions professionnelles et de leur tabagisme dans le cadre de la constitution de la cohorte MB2PROF avec un financement antérieur (APR ANSES N°EST-2009/1/101).

La sérothèque et la DNAtèque sont déjà constituées au Centre de ressources biologiques à Créteil.

- Analyse de la longueur relative des télomères des leucocytes systémiques (DNAtèque) par PCR quantitative (1er semestre 2016)
- Approche protéomique (2016- mi-2017) a) analyse de l'inflammation systémique par LUMINEX b) Screening de marqueurs protéiques par des techniques à haut débit
- Interprétation des résultats et publications (fin 2017)

4. Membres participants au projet

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

Responsable de l'équipe : M. Pascal Andujar

Equipe 2 : IMRB – Inserm U955 - Faculté de Médecine de Créteil

Responsable de l'équipe : M. Serge Adnot

Equipe 3 : IMRB – Inserm U955 - Faculté de Médecine de Créteil

Responsable de l'équipe : M. Jorge Boczkowski

Equipe 4 : Hôpital Henri Mondor - Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Hue

Equipe 5 : Université Paris Diderot - UMR7592 CNRS - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean-Michel Camadro

Equipe 6 : Hôpital Henri Mondor - Service de Santé Publique - Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Sylvie Bastuji-Garin

Résumé silimmun

Responsable scientifique : M. Thierry Rabilloud

Organisme : CEA - UMR 5249 iRTSV/LCBM - Grenoble

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effets des nanoparticules de silice amorphe sur le système immunitaire inné

2. Questions à la recherche

NANO 4 - Toxicologie des nanoparticules et des nanomatériaux. Recherches méthodologiques, méthodes de référence, matériaux de référence. Comparaison d'études.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif de ce projet est de caractériser les effets immunotoxiques des nanoparticules (NPs) de silice amorphe, en utilisant des modèles *in vitro* de macrophages et de cellules dendritiques. Ces cellules sont présentes au niveau de toutes les portes d'entrée des NPs dans l'organisme, et jouent un rôle fondamental dans les réponses immunitaires. Nous évaluerons leur action immunosuppressive ou au contraire leur action adjuvante, pro-allergisante. Via une approche protéomique, nous rechercherons également des voies possibles de toxicité croisée entre ces NPs et des produits couramment rencontrés dans la vie courante ou professionnelle, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), par exemple le benzo-a-pyrene.

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

La problématique des effets indirects et des effets en mélange des NPs est encore peu abordée, alors même qu'elle est un volet important dans la sécurité de la population générale et des travailleurs. A titre d'exemple, la silice amorphe, qui ne présente pas de persistance à long terme et n'induit pas à elle seule de réaction inflammatoire chronique ni de fibrose, est considérée comme non toxique. Cependant elle présente une toxicité sélective vis à vis des cellules du système immunitaire inné. Au vu des quantités produites et utilisées, ceci laisse augurer de possibles effets immunitaires indirects (immunosuppression ou au contraire potentiel pro-allergisant). D'autre part, la toxicité intrinsèque des NPs n'est pas le seul déterminant de leur potentiel toxique en conditions réelles, car elles peuvent vectoriser d'autres toxiques (effet cheval de Troie) et interférer avec la toxicité d'autres substances (synergie toxique).

Le projet Silimmun propose d'aborder ces deux problématiques, d'une part en étudiant l'effet de ces NPs sur la fonctionnalité du système immunitaire inné, et d'autre part en tentant de déterminer des synergies toxiques avec les HAP.

Argumentation du choix des questions

La silice amorphe précipitée (production : 100.000 tonnes/an) est une des NPs présentant le plus fort potentiel d'exposition, à la fois pour la population générale (pharmacie, peinture, cosmétiques, aliments) mais surtout pour les travailleurs. Elle présente des effets sélectifs vis à vis des macrophages, suggérant de possibles effets indirects via des effets immunotoxiques passant par le système immunitaire inné, essentiellement les macrophages et les cellules dendritiques, impliqués dans les défenses anti-infectieuses et dans la réponse aux antigènes.

Le projet Silimmun s'appuie sur les conclusions du rapport de l'ANSES sur les nanomatériaux paru en 2014, qui recommande le développement d'études d'immunotoxicité des NPs. Il se place dans la

problématique générale de l'évaluation de la toxicité des mélanges, car la silice amorphe pourrait majorer ou démasquer les effets toxiques lors d'une exposition combinée avec d'autres molécules.

Description des méthodes mises en œuvre

Pour répondre à ces enjeux, nous utiliserons une combinaison d'approches ciblées évaluant la fonctionnalité des cellules immunitaires, ainsi que de leur cytotoxicité et leur génotoxicité (volet 1) et d'approches protéomiques, aptes à mettre en évidence les points de toxicité croisée (volet 2).

Dans le premier volet (années 1 à 3), des macrophages et cellules dendritiques primaires humaines ou murines, ainsi que des lignées continues seront exposés de façon aiguë ou répétée à des NPs de silice dûment caractérisées dans les conditions d'exposition cellulaire. Puis les fonctions principales des macrophages et cellules dendritiques seront évaluées, à savoir i) la production de cytokines, chimiokines et médiateurs pro- ou anti-inflammatoires ; ii) la capacité phagocytaire et iii) la présentation antigénique et les conséquences sur l'activation des lymphocytes T.

Le second volet (années 1 et 2) consistera, par l'utilisation d'analyses protéomiques, à mettre en évidence les réponses cellulaires à des doses non-toxiques de NP de silice. Les réponses mises à jour suggèreront des points de sensibilité des cellules à d'autres toxiques, qui seront vérifiés par des expériences ciblées (années 2 et 3). Nos expériences préliminaires ont ainsi montré une diminution de la détoxification de nucléotides altérés, induisant une hypersensibilité aux agents alkylants. Nous testerons donc spécifiquement la synergie d'action de la silice amorphe et des HAP dans l'endommagement de l'ADN, en identifiant les lésions par HPLC/MS-MS, la cytotoxicité et l'inflammation.

Pour représenter au mieux les expositions professionnelles, nous utiliserons des expositions aiguës, suivies ou non d'une phase de récupération, fractionnées (dose délivrée sur 3-4 jours) et chroniques (dose délivrée sur 10-15 jours).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CEA - UMR 5249 iRTSV/LCBM - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Thierry Rabilloud

Equipe 2 : Université Paris-Sud 11 - Inserm UMR 996 - Châtenay-Malabry

Responsable de l'équipe : Mme Saadia Kerdine-Römer

Equipe 3 : CEA - DSM/INAC/SCIB/LAN - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Marie Carrière

Résumé SKIN-RF

Responsable scientifique : M. Georges Thuroczy

Organisme : National Research Institute for Radiobiology (NRIRR) - Directorate for Radiobiology and Radiohygiene - Budapest, Hongrie

1. Titre

Projet complet

36 mois

Réponse cellulaire à la co-exposition de radiofréquence (RF) et solaire ultraviolet (UV) chez l'homme modèle in vitro de la peau

2. Questions à la recherche

RFES 1.1.1 - la réparation de l'ADN, en utilisant des modèles déficients pour des facteurs clés des systèmes de réparation.

RFES 1.1.3 - l'expression des gènes et en particulier la réponse adaptative.

3. Résumé

Objectif détaillé

Skin is the body's first line of defence. It is protecting the body against any external aggressors such as bacteria, fungi and physical agents (e.g. solar radiation). At the frequencies used by mobile telecommunication systems, most of radiofrequency (RF) energy is absorbed by the skin and other superficial tissues. The new emerging wireless technologies (3G, 4G, WiFi) use continually higher and higher frequencies therefore the exposure of skin and cutaneous tissues is considerably increased.

The objective of present proposal is to determine whether exposure to RF alone or in combination with other environmental factors such solar ultraviolet (UV) radiation may affect the integrity and cellular damage of the skin:

-Our primary hypothesis is that co-exposure of skin to solar UV radiation may enhance its sensitivity to electromagnetic field (EMF).

-Furthermore the proposal will also investigate the possible opposite phenomenon namely the adaptive response (AR) where pre-exposure to RF could prevent the skin from adverse effects due to other physical agent (i.e. UV radiation).

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

The originality of this protocol lies in the fact that:

-The SKIN-RF protocol is the first to be interested at the skin as a target in relation to RF exposure with inflammation and genotoxicity.

-This study will investigate the effects of co-exposure to RF and UV radiation on the skin to determine the possible mode of actions (additive, synergistic or adaptive) of environmental physical agents.

Argumentation du choix des questions

-The SKIN-RF project fills gaps of knowledge on the possible effects on the skin exposed to RF alone or in combination with solar UV radiation. The co-exposure of RF and solar UV radiation (natural or artificial) of the skin is a very common exposure situation in real human life.

-Recently, the RF induced AR is one of the most challenging concept in the bioelectromagnetic research.

Description des méthodes mises en œuvre

Cell cultures:

-3D full thickness in vitro skin model: It consists of normal, human-derived epidermal keratinocytes (NHEK) and normal, human-derived dermal fibroblasts (NHFB) which have been cultured to form a multilayered, highly differentiated model of the human dermis and epidermis.

-Primary Human Keratinocyte Cell Cultures: Primary human epidermal keratinocytes are isolated from adult skin as the predominant cell type in the epidermis. Keratinocytes are also able to produce a variety of cytokines, growth factors, interleukins and complement factors.

Endpoints and related cellular assays :

- Skin genotoxicity:

o Absorption of ultraviolet (UV) light produces two predominant types of DNA damage, cyclobutane pyrimidine dimers (CPD) and pyrimidine (6-4) pyrimidone photoproducts (6-4PP). ELISA and immunocytochemistry will be used to observe these indicators.

o Cyclobutane pyrimidine dimers (CPD) will be detected by modified comet assay where lesion specific endonuclease (T4 pyrimidine dimer glycosylase) is included in the comet assay protocol that can give quantitative information about base damage induced by UV light.

o Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) that is localized in the proliferating nucleus will be detected by immunofluorescence as discrete nuclear foci, representing sites of ongoing DNA replication and/or DNA repair are suggested to be helpful in the early diagnosis of skin malignancies.

o Formation of small membrane bound DNA fragments or micronuclei in the cytoplasm of interphase cells will be detected by vitro micronucleus (MN) assay

o Primary damage on DNA integrity and DNA repair using alkaline Single Cell Gel Electrophoresis assay (Comet assay).

o Phosphorylated histone H2AX (gamma-H2AX) will be used as a biomarker of cellular response to DNA double strand breaks and for monitoring DNA damage and repair in human keratinocytes.

- Inflammation and photoaging:

o UV-induced matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) is a crucial biomarker of photoaging. Exposure of human skin to UVB or UVA results increased MMP-1 production. MMP-1 production will be determined by ELISA.

o The proinflammatory cytokine IL-1a is considered a key inducer of the skin inflammatory cascade. After a short period of time the IL-1a diffuses to the adjacent dermis, and fibroblasts secrete secondary cytokines, such as IL-6, IL-8, which will be measured by ELISA.

Exposure conditions

The combinations of pre- or post-exposure of RF and UV will provide to study the possible interferences of the investigated physical agents.

The exposures to be performed:

- Exposure to solar UV: UV-A and UV-B @ 6 J/cm²

- Exposure to RF: 1800 MHz, 2,45 GHz; @ 0,4 - 4 W/kg SAR

- Combined exposure to UV + RF with appropriate sequences

Exposure systems

In vitro waveguide based exposure system developed by IT'IS, TEM-cells and Wire Patch Cell (WPC) chamber will be used for RF exposures. The UV radiation will be performed by sun simulator lamp. The exposure systems will provide blind study protocol.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : National Research Institute for Radiobiology (NRIRR) - Directorate for Radiobiology and Radiohygiene – Budapest, Hongrie

Responsable de l'équipe : M. Georges Thuroczy

Equipe 2 : Ineris - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. Selmaoui Brahim

Résumé VESITOX

Responsable scientifique : Mme Perrine Martin

Organisme : ULCO - UCEIV MREI 2 - Dunkerque

1. Titre

Projet complet

36 mois

Les vésicules extracellulaires comme nouveaux biomarqueurs de toxicité des polluants environnementaux

2. Questions à la recherche

AIRR 3 - Identification d'indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air (intérieur / extérieur).

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces d'effet et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 7 - Recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'un des objectifs du plan cancer 2014-2019 est de "développer la connaissance, l'observation et la surveillance des cancers liés à des expositions environnementales, qu'il s'agisse d'agents cancérigènes avérés ou potentiels, notamment par l'identification de nouvelles opportunités de diagnostic précoce, en particulier du cancer du poumon". L'objectif de ce projet est de proposer une nouvelle piste d'identification de biomarqueurs précoces, que sont les Vésicules Extracellulaires (EV), suite à l'exposition à deux polluants environnementaux, particules fines (PM2.5) et tabac, classés cancérigènes pour l'Homme. Leur caractérisation et la mesure de leurs effets fourniront de nouvelles données concernant la relation entre exposition aux PM2.5 et au tabac, et production de ces biomarqueurs spécifiques ainsi que de nouveaux éléments mécanistiques impliqués dans la tumorigenèse, notamment pulmonaire. Dans ce contexte, le projet s'organisera selon les étapes suivantes : (i) des Lavages Broncho-Alvéolaires (LBA) issus de sujets fumeurs et non-fumeurs, seront utilisés comme modèle d'exposition au tabac. Les EV contenues dans leur surnageant seront isolées ; (ii) des PM2.5 seront collectées à Dunkerque et caractérisées ; (iii) des monocytes THP-1 différenciés en macrophages seront exposés à ces PM2.5 et les EV produites en réponse seront isolées ; (iv) les EV isolées seront caractérisées notamment en identifiant des marqueurs précoces de cancérogenèse (miARN et protéines caractéristiques) et (v) leurs effets sur des cellules épithéliales bronchiques humaines, les BEAS-2B, seront analysés via l'activation de l'inflammation, phénomène impliqué dans de nombreuses pathologies pulmonaires comme le cancer, et la mesure des modifications de l'expression de gènes pertinents (Enzymes de Métabolisation des Xénobiotiques, cytokines pro-inflammatoires et gènes cibles des miARN identifiés dans les EV).

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

Les EV sont de petites vésicules membranaires libérées par tous les types cellulaires et se retrouvant majoritairement dans les liquides biologiques (sang, urine, lavages broncho-alvéolaires, milieu de culture). Elles contiennent une grande variété de composants, comme des acides nucléiques (ADN, ARNm, miARN), des protéines (facteurs de croissance, récepteurs membranaires) et des lipides, caractéristiques de leur cellule d'origine, faisant de ces EV un moyen de transport et de communication intercellulaire à la fois local et systémique particulièrement influent. Ceci leur confère deux propriétés fondamentales : d'une part la capacité de modifier le phénotype de leur cellule-cible, d'autre part, la possibilité de les utiliser comme biomarqueurs, notamment de cancers. C'est pourquoi, ces vésicules ont capté l'attention des chercheurs de manière considérable et sont devenues un sujet d'étude particulièrement novateur et pertinent au cours de la dernière décennie.

Jusqu'à présent, une seule étude a porté sur la libération ou des changements de profil d'EV en réponse à l'exposition aux particules atmosphériques, et même si plusieurs travaux récents ont montré un lien fort entre exposition au tabac et production d'EV, aucune étude n'a porté sur la caractérisation d'EV provenant de cellules directement en contact avec la fumée comme nous pouvons en trouver dans des LBA de sujets fumeurs.

Ce projet fournira donc une information directe sur la relation entre l'exposition aux PM2.5 et au tabac, et la production d'EV, principalement à deux niveaux :

-Par leur caractérisation, à l'identification de nouveaux biomarqueurs précoces de l'exposition et/ou des effets liés aux événements précoces décrits en cancérogenèse, en relation avec l'exposition aux polluants environnementaux.

-Par la mesure de leurs effets, à de nouveaux éléments mécanistiques impliqués dans la tumorigenèse, notamment pulmonaire.

Argumentation du choix des questions

Par l'étude du profil des EV, ce projet s'intéresse à l'identification de biomarqueurs d'exposition à deux polluants environnementaux classés cancérogènes pour l'homme (CANC7) :

-Dans des LBA issus de sujets fumeurs, et donc exposés de manière chronique à la fumée de tabac, vs non-fumeurs (AIRR3) ;

-En réponse à l'exposition à des PM2.5 prélevées à Dunkerque, site de référence en matière de pollution atmosphérique, et de ce fait considéré comme point noir environnemental (CANC5).

Par l'étude des effets de ces EV, ce projet contribuera également à l'avancée des connaissances sur les mécanismes de cancérogenèse pulmonaire en réponse à l'exposition à ces deux polluants environnementaux.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Isolement des EV de LBA issus de sujets fumeurs et non-fumeurs (Année 1)

a. Inclusion des sujets, prélèvement des LBA (GHICL)

b. Isolement des EV à partir des surnageants des LBA (UCEIV)

2. Isolement des EV produites par les macrophages THP-1 exposés à des PM2.5 (Années 1 et 2)

a. Prélèvement à Dunkerque et caractérisation des PM2.5 (CCM)

b. Différenciation puis exposition des macrophages THP-1 (UCEIV)

c. Isolement des EV produites dans le milieu de culture (UCEIV)

3. Caractérisation des EV isolées (Année 2; UCEIV)

a.Extraction des ARN totaux puis mesure de l'expression de miARN caractéristiques par RT-qPCR

b. Identification de marqueurs protéiques par cytométrie en flux

4. Etude des effets des EV isolées sur des cellules épithéliales bronchiques (BEAS-2B) (Années 2 et 3; UCEIV)

a. Exposition de BEAS-2B aux EV isolées précédemment

b.Quantification de médiateurs de l'inflammation par ELISA de type multiplexe sur plate-forme Magpix

c.Mesure de l'expression des gènes codant pour des Enzymes de Métabolisation des Xénobiotiques, des cytokines pro-inflammatoires et des gènes cibles des miARN identifiés dans les EV

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : ULCO - UCEIV MREI 2 - Dunkerque

Responsable de l'équipe : Mme Perrine Martin

Equipe 2 : ULCO - Centre Commun de Mesures - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Cazier

Equipe 3 : Hôpital Saint-Philibert - Service Pneumologie - Iomme

Responsable de l'équipe : Mme Françoise Roy

Résumé *VigiExpo*

Responsable scientifique : M. François Gaudaire

Organisme : CSTB - Département acoustique et éclairage - Saint-Martin-d'Hères

1. Titre

Projet complet

24 mois

Système autonome de caractérisation de l'exposition aux champs électromagnétiques radiofréquences issus des stations de base de téléphonie mobile, hybridant acquisition collaborative sur Smartphones et simulation numérique

2. Questions à la recherche

RFES 5.1 - Caractériser l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

RFES 5.2 - Engager des travaux permettant de croiser la description spatiale des niveaux de champs électromagnétiques avec la répartition géographique de la population, en vue d'offrir une première caractérisation de l'exposition résidentielle.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif du projet est le développement d'un outil de monitoring de l'exposition des populations aux champs électromagnétiques radiofréquences issus des antennes des réseaux de téléphonie mobile. Ce dispositif exploitera conjointement la modélisation numérique de l'exposition et les données techniques liées aux émetteurs (antennes) et au récepteur (téléphone) qui sont disponibles dans les Smartphones, via une application existante développée par le CSTB. La collecte des données techniques se fera dans le cadre d'une utilisation participative, la quantité de données compensant la relative qualité de celles-ci. Ces données enrichiront la modélisation numérique et des analyses statistiques pertinentes permettront une cartographie autonome, dynamique et en temps réel de l'exposition du public aux radiofréquences.

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

L'exposition des populations est aujourd'hui appréhendée par soit des mesures soit des modélisations numériques. Les mesures sont toujours localisées temporellement et spatialement : mesures de vérification de conformité par rapport aux normes ou campagnes de mesures spécifiques liées à des projets de recherche. La modélisation numérique permet à moindre coût une analyse de l'exposition à grande échelle et en tout lieu, mais elle est tributaire des données (publiques) très imprécises sur les émetteurs radioélectriques (nombre, position, orientation, diagrammes de rayonnement...).

L'outil proposé s'appuie sur le recueil et l'exploitation des données disponibles dans un Smartphone. Exploitées à grande échelle et de façon collaborative avec de la simulation numérique, ces données, de part leur quantité (spatialement et temporellement) permettront d'enrichir le modèle (caractéristiques des émetteurs), en temps réel et indépendamment de toutes données des opérateurs de téléphonie mobile.

Argumentation du choix des questions

Ce projet traite de la caractérisation des expositions à des fins de veille et de surveillance temporelle de l'évolution de cette exposition. Un tel dispositif participatif, collaboratif et autonome vis-à-vis des opérateurs constituera un outil d'évaluation pour la politique d'exposition du public, mais aussi un outil de concertation et d'information à l'usage de collectivités locales. Il permettra aussi de fournir des données d'entrées d'exposition pour des études épidémiologiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet s'inscrit dans la suite de travaux menés par les partenaires sur l'exposition électromagnétique : développement d'une application sur Smartphones Android pour récupérer les informations « réseaux » disponibles (étude financée par la Région Rhône Alpes), travaux statistiques sur la variabilité spatiale de l'exposition (projet Anses DICER, thèse CSTB/XLIM), modélisation numérique à grande échelle (Etude Copic).

Les différentes phases du projet seront :

- Phase 1 : intégration dans le modèle numérique des données reçues des Smartphones (T0 à T0+12 mois)

L'application développée au CSTB permet d'accéder et de collecter dans un Smartphone les données pertinentes liées à l'exposition aux émetteurs des stations de base (position et état du téléphone, antennes et force du signal reçu,...). Il s'agira dans cette phase de travailler sur l'exploitation de ces données :

- quantification de leur qualité

-recoupement entre ces données et les données publiques connues (Cartoradio, base de données participatives en couverture), pour la localisation et l'identification des émetteurs

-développement d'algorithmes pour l'intégration de ces données dans le modèle numérique : recalage des caractéristiques des émetteurs, traitement statistique des données

- Phase 2 : validation méthodologique (T0 à T0+12)

Une validation et une adaptation des algorithmes seront réalisées en parallèle de la phase 1, sur une scène virtuelle maîtrisée. Il s'agira d'un modèle numérique de quartier urbain fictif dont on maîtrise les données, dont on connaît les résultats attendus et dans lequel il est possible de dégrader certains paramètres pour valider les méthodes développées et en estimer la précision et la robustesse. Les informations des Smartphones seront donc elles aussi simulées, ce qui permettra la mise au point des protocoles d'acquisition pour le déploiement test (phase 4).

- Phase 3 : rendus et indicateurs d'exposition (T0+6 à T0+18)

Un travail sera réalisé sur l'analyse des informations et des résultats, afin de proposer des rendus de l'exposition du public pertinents et cohérents en termes d'indicateurs et de cartographie dynamique (moyennage temporel, niveaux moyens et émergents).

- Phase 4 : déploiement de l'outil sur deux quartiers tests (T0+18 à T0+24)

L'outil sera testé sur deux quartiers différents (à priori une zone urbaine et une zone rurale) à partir de relevés de données avec plusieurs Smartphones équipés de l'application. Cela permettra une validation de l'ensemble de l'outil en conditions réelles d'utilisation.

- Phase 5 : vers le développement d'un outil intégré (T0+12 à T0+24)

Cette phase concernera la mise en place d'un environnement de gestion de données adapté à l'outil développé : mise en place d'une base de données spatiales pour gérer le modèle numérique (terrain, bâti, émetteurs), gestion des données issues des Smartphones, visualisation des résultats (cartographie, indicateurs d'exposition...).

A l'issue du projet le système développé pourra être déployé auprès de citoyens volontaires, par exemple dans le cadre d'actions menées avec des collectivités locales.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CSTB - Département acoustique et éclairage - Saint-Martin-d'Hères

Responsable de l'équipe : M. François Gaudaire

Equipe 2 : Université de Poitiers - Laboratoire XLIM-SIC - Futuroscope Chasseneuil

Responsable de l'équipe : M. Pierre Combeau

Equipe 3 : GEOMOD - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Jean Benoit Dufour