
Appels à projets de recherche 2016 du PNR EST

Résumés des dossiers

Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 34 dossiers soumis aux appels à projets 2016 et retenus par le comité d'orientation à l'issue du processus de sélection

SOMMAIRE

Résumé AIDEZ - 2016_1_189.....	3
Résumé AMPERE - 2016_2 RF_004.....	5
Résumé -BrumiSaTerre - 2016_1_015.....	7
Résumé C3N - 2016_1_101.....	9
Résumé CIBELIUS - 2016_1_007.....	11
Résumé CloDia - 2016_1_030.....	13
Résumé CNAP - 2016_1_121.....	15
Résumé CONSOLAGE - 2016_1_102.....	17
Résumé COVEPI - 2016_1_193.....	19
Résumé CUMULAIR - 2016_1_215.....	21
Résumé DAVINYLAIR - 2016_1_235.....	23
Résumé ECLAIR - 2016_2 RF_023.....	25
Résumé E.D.etector - 2016_1_066.....	27
Résumé ELFES - 2016_2 RF_021.....	29
Résumé ENORPREG - 2016_1_027.....	31
Résumé EXOCELL - 2016_1_031.....	34
Résumé GENO-RF-3D - 2016_2 RF_007.....	36
Résumé GEOCAP-BIRTH - 2016_1_161.....	38
Résumé IMPACT-PREV-TMS - 2016_1_042.....	40
Résumé INTERLIV - 2016_2 RF_001.....	42
Résumé IOUQMER - 2016_1_120.....	44
Résumé MECOTOX - 2016_1_237.....	46
Résumé MedVetFQ - 2016_1_073.....	48
Résumé MEMO - 2016_2 RF_002.....	50
Résumé Microclim - 2016_1_103.....	52
Résumé MyeAhRTOX - 2016_1_230.....	54
Résumé NucPoolNanoTox - 2016_1_077.....	56
Résumé OxIGenoCOM - 2016_1_166.....	58
Résumé STRESSJEM - 2016_1_049.....	60
Résumé SURIPI - 2016_1_091.....	62
Résumé TARGET - 2016_1_039.....	64
Résumé TriPlER - 2016_1_060.....	66
Résumé Thyrogenox - 2016_1_002.....	68
Résumé XENOMIX - 2016_1_162.....	70

Résumé AIDEZ - 2016_1_189

Responsable scientifique : Mme Nathalie Hinfray

Organisme : Ineris, DRC/VIVA/ECOT - Verneuil-en-halatte

1. Titre

Projet complet

36 mois

Amélioration des essais in vivo pour l'identification des perturbateurs endocriniens à l'aide de poissons zèbres génétiquement modifiés

2. Questions à la recherche

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

ACHIM 3.3 - Développer des méthodes d'essai permettant d'identifier des perturbateurs endocriniens et/ou de mieux connaître leurs effets.

3. Résumé

Objectif détaillé

Ces dernières années, les avancées scientifiques ont permis le développement de nombreux modèles in vitro génétiquement modifiés utilisés pour le criblage du potentiel perturbateur endocrinien (PE) des substances, notamment dans le cadre de la réglementation REACH. En revanche, le développement de modèles transgéniques in vivo est beaucoup moins avancé. De ce fait, les tests réglementaires OCDE de criblage in vivo du potentiel PE des substances utilisent des approches plus classiques, mais lourdes à mettre en œuvre. Toutefois, il existe un test de criblage des PE basé sur l'utilisation d'un poisson zèbre transgénique (cyp19a1b-GFP) en cours de validation à l'OCDE (test EASZY). Ce test, réalisé chez des embryons de poissons zèbres cyp19a1b-GFP, permet de mettre en évidence les molécules ayant des effets oestrogéniques au niveau du système nerveux central.

A l'INERIS, nous disposons actuellement de deux lignées de poissons zèbres transgéniques supplémentaires, exprimant une protéine fluorescente (GFP) sous contrôle de promoteurs d'enzymes de la stéroïdogénèse connues pour être des cibles des PE, i.e. Cyp19a1a (aromataseA, responsable de la synthèse des œstrogènes) et Cyp11c1 (11b-hydroxylase, responsable de la synthèse des androgènes 11-oxygénés). Dans le projet AIDEZ nous nous proposons :

- D'utiliser ces lignées transgéniques afin d'alléger et de raffiner le test de criblage in vivo du caractère PE des substances déjà existant (OCDE TG230) en apportant des informations mécanistiques non prises en compte actuellement.

- D'apporter, à l'aide de ces outils, des informations sur les effets de molécules stéroïdiennes de référence (œstradiol) et de polluants environnementaux d'intérêt (progestatifs de synthèse, pesticides azolés) pour lesquels les informations sur le caractère PE sont manquantes.

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

Ce projet utilisera des outils biologiques novateurs, les lignées cyp19a1a-GFP et cyp11c1-GFP, couplés à une analyse quantitative de l'expression des gènes cibles via l'imagerie de l'animal, pour l'étude du potentiel PE des substances, ce qui permettra :

- d'alléger la mise en œuvre des tests réglementaires puisqu'ils ne nécessiteraient pas de dosages biochimique/moléculaire à l'issue de l'exposition

- de raffiner les tests réglementaires existants en apportant des informations complémentaires sur les mécanismes d'action des composés PE, non prises en compte dans les tests actuels. Pour exemple, à l'heure actuelle, les inhibiteurs d'aromatase sont détectés par la mesure indirecte de l'inhibition d'expression d'un gène ER-régulé, la vitellogénine (OCDE TG230). L'utilisation de la lignée cyp19a1a-GFP permettra d'apporter une réponse directe quant à l'impact des molécules testées sur l'expression de l'aromatase, apportant ainsi des informations mécanistiques sur ces molécules.

De plus, chez le poisson zèbre, il existe un lien établi entre les perturbations d'aromatase gonadique et les perturbations de processus physiologiques clefs tels que la gamétogenèse et la différenciation sexuelle. Ces données mécanistiques représentent donc un enjeu majeur pour permettre d'améliorer les outils existant et surtout de prédire les effets de ces molécules au niveau individuel, ce qui pourrait aider à l'élucidation des AOPs.

Argumentation du choix des questions

ACHIM 3.2 : Les liens mécanistiques forts établis entre la perturbation de l'expression des gènes de la stéroïdogenèse et la perturbation des processus physiologiques clefs tels que la gamétogenèse et la différenciation sexuelle chez le poisson zèbre font de ces gènes cibles des marqueurs d'effets des PE.

ACHIM 3.3 : L'utilisation d'outils biologiques novateurs permettront une analyse quantitative de l'expression de nos gènes cibles via l'imagerie de l'animal afin d'évaluer l'effet PE de polluants aquatiques émergents pour lesquels il existe un manque d'information. Dans ce projet, une attention particulière sera donnée à l'analyse des concentrations des substances et des produits de biotransformation dans les tissus cibles permettant ainsi de faire le lien entre les concentrations d'exposition, les doses et les effets, afin de générer des données utiles dans le contexte réglementaire.

Description des méthodes mises en œuvre

Pour atteindre les objectifs fixés, nous travaillerons sur des poissons adultes des lignées cyp19a1a-GFP et cyp11c1-GFP, et le projet sera découpé en deux parties :

1. Optimisation des lignées pour une acquisition rapide des données de fluorescence (0-12 mois)

Des résultats préliminaires indiquent qu'il est possible de mesurer l'expression gonadique de la GFP sur des poissons zèbres adultes ouverts. Afin de permettre une détection plus rapide de l'expression de la GFP et de s'affranchir des problèmes posés par la pigmentation de la peau aux stades adultes, les lignées transgéniques seront croisées avec une lignée mutante (casper) qui présente une absence de pigmentation de la peau. Les poissons ainsi obtenus permettront une lecture de l'expression de la GFP in vivo plus aisée.

2. Etude des effets de polluants environnementaux d'intérêt (12-36 mois)

Nous étudierons les effets d'une exposition par voie aqueuse à des composés connus pour perturber la biosynthèse hormonale sur l'expression de la GFP ainsi que sur la gamétogenèse dans les deux lignées. Ces substances incluront des substances modèles (ex : œstradiol) et des substances d'intérêt environnemental pour lesquelles les dangers et les risques sont encore peu caractérisés (progestatifs de synthèse) ou à réévaluer vis-à-vis du caractère PE (pesticides azolés). Au cours de ces expositions, les substances d'intérêt ainsi que leurs produits de biotransformation seront quantifiées dans l'eau et les gonades, permettant ainsi de faire le lien entre les concentrations d'exposition, les doses et les effets, pour générer des données utiles dans le contexte réglementaire.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ineris, DRC/VIVA/ECOT - Verneuil-en-halatte

Responsable de l'équipe : Mme Nathalie Hinfray

Equipe 2 : Université Bordeaux 1, LPTC-EPOC - Talence

Responsable de l'équipe : Mme Helene Budzinski

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 197 821 € TTC

Résumé AMPERE - 2016_2 RF_004

Responsable scientifique : M. Joe Wiart

Organisme : Telecom ParisTech, COMELEC/Chaire C2M - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Caractérisation de l'exposition résidentielle aux ondes RF

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

Pervasive use of wireless Information and Communications Technology (ICT) has emphasized the need for characterizing the residential electromagnetic field (EMF) exposure for general public information, risk assessors and epidemiologists. The Internet of things (IoT) will strengthen this need. Prior projects that have analysed possible indicators for EMF exposure have been faced to random variations, in time and space, especially indoor. The pervasive use of RF sources indoor induces an extreme variability of the exposure scenario and will make more and more difficult the estimation of the residential exposure by deterministic (e.g., ray-tracing) methods only.

The AMPERE project aims to fill this gap by developing a unique statistical approach for spatio-temporal EMF exposure mapping by means of advanced statistical tools. Using statistical methods such as machine learning, Kriging or stochastic geometry, AMPERE will build surrogate models of EMF exposure linking it to the main characteristics of the environment, network and usage of ICT. Comparisons will be performed with tools currently used in epidemiological studies.

RF exposure is time varying due to both variable usage and traffic and environmental changes that are inherent to a dynamic environment. AMPERE will develop surrogate models of the stochastic time variability of exposure.

AMPERE will aggregate spatio-temporal surrogate models of EMF exposure with geographical data, population distributions, socioeconomic data and ICT pattern of use. Data fusion of all this heterogeneous information will output an advanced mapping of residential exposure providing information on variation, occurrence, and exposure quantiles, including specific organ exposure, which is relevant for epidemiologists.

To reach this objective AMPERE is divided into 5 Work Packages (WP), WP1 is for coordination and dissemination. WP2 and WP3 will respectively study the outdoor and indoor exposure and build advanced surrogate models of them. WP4 will build a surrogate modelling of time variations of the residential exposure. WP5 will aggregate the models developed, analyse the relationship between exposure and residential population characteristics to obtain an advanced mapping of the RF residential exposure that is useful for both epidemiologist, policy authorities and general public information

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

The novelty lies in

- Innovative use of surrogate models of EMF exposure and data fusion of heterogeneous information such as EMF levels, specific organ exposure, population density, geographical and environmental

characteristics and socioeconomic factors.

- Advanced use of statistical methods (e.g. Kriging, Polynomial Chaos, Stochastic geometry) to build surrogate models describing with statistical indicators any possible residential exposure, taking into account the variability of the parameters influencing the exposure in a specific area (e.g. type and density of RF sources, usages, distribution of the population, etc.)

- Surrogate modelling of stochastic time variability of EMF exposure inherent to a dynamic environment affected by fading, traffic, non-regular or sparse emissions.

- Multidisciplinary skills and complementary experiences of the project partners

- First time application in RF epidemiological studies of such integrative exposure mapping

Argumentation du choix des questions

AMPERE will initiate innovative work crossing the time and spatial description of EMF strength with the environmental characteristics and both the geographical and socioeconomic distribution of the population, offering a first characterization of residential exposure. This is in line with the questions of Section 2

Description des méthodes mises en œuvre

Measurements of the exposure from access points and devices will be carried out in various environments by using exposimeters, spectrum analysers, probes, “trace” mobiles and mobile apps. Measurements will specially be conducted for the project to characterise specific configuration (e.g. small cell on bus stop in Amsterdam) and data from previous projects will be used.

- Simulations of the exposure will be performed with “deterministic “ tools (e.g. NISMAP, FDTD) and organ modelling to assess field strength and SAR. Propagation tools based on stochastic geometry and statistical description of cities will be also used (e.g. building density, street length and width distribution, etc., with tools such as GEOSTO).

- Machine learning, Kriging and polynomial chaos tools will be used to interpolate the measurements and simulations and build advanced surrogate models linking the main characteristics of the environment (indoor, outdoor, urban, suburban, rural...) and network (density, frequency, service, time of the day). Comparison will be performed with tools currently used in epidemiological studies (e.g., NISMAP).

- Statistical methods will also be used to deal with the stochastic variability and to stochastically model temporal exposure characteristics such as fading, traffic (cellular), non-regular (Wifi), sparse emissions (IoT).

- Heterogeneous information fusion will be performed using the usual multimodal/multi-algorithmic fusion but also combining information sources that are relevant but not necessarily discriminative.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Telecom ParisTech, COMELEC/Chaire C2M - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 2 : Université Libre de Bruxelles, OPERA-WCG CP 165/81 – Bruxelles, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Philippe De Doncker

Equipe 3 : iMinds – Gent, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Wout Joseph

Equipe 4 : Consiglio Nazionale delle Ricerche – Milano, Italie

Responsable de l'équipe : M. Paolo Ravazzani

Equipe 5 : INERIS, Direction des Risques Chroniques, Pôle RISK, Unité ISAE

Responsable de l'équipe : M. Julien Caudeville

Equipe 6 : IRAS, Universiteit Utrecht, Hollande

Responsable de l'équipe : M. Roel Vermeulen

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 390 850 € TTC

Résumé -BrumiSaTerre - 2016_1_015

Responsable scientifique : M. Philippe Quénel

Organisme : EHESP, LERES - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Brumes de sable et croissance fœtale en Grande-Terre et Basse-Terre (Guadeloupe)

2. Questions à la recherche

ABIO 2 - Connaissances du comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

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 principal du projet est d'étudier l'association entre l'exposition aux particules d'origine saharienne et la croissance fœtale dans la population Guadeloupéenne.

Les objectifs secondaires sont : 1) d'estimer l'exposition à ces particules en tenant compte de leur distribution spatiale, 2) de les caractériser sur le plan minéralogique, chimique et microbiologique.

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

Périodiquement, les Antilles Françaises sont touchées par des épisodes de "brumes de sable" (particules fines de diamètre < 10µm couvertes de matières organiques) conduisant à des alertes à la pollution atmosphérique. Ces épisodes se répètent plusieurs fois dans l'année et peuvent durer plusieurs jours consécutifs.

Les études portant sur leurs effets sanitaires sont peu nombreuses. Sur le pourtour méditerranéen, ces particules représentent la source principale (de 35 à 50%) des concentrations de fond en PM10 mais les résultats relatifs à leurs effets sanitaires associés sont très contrastés selon les études et les pays. Dans les Caraïbes, le sujet est encore moins documenté. Les études réalisées dans les Antilles anglophones (Barbade et Trinidad) ont conduit à des résultats discordants. Dans les Antilles françaises (Martinique et Guadeloupe) les résultats sont plus cohérents avec une augmentation des admissions hospitalières pour causes cardio-respiratoires et des consultations aux urgences pédiatriques pour crise d'asthme. Cependant, toutes ces études sont de nature écologique, portant sur des données temporelles agrégées à large échelle tant pour l'estimation de l'exposition que pour les effets sanitaires. Les incertitudes entourant la nature et l'ampleur de ces effets sanitaires nécessitent donc de mieux caractériser les particules sahariennes et de conduire de nouvelles études épidémiologiques à partir de données individuelles (Karanasiou et al. Environ Inter 2012).

Argumentation du choix des questions

L'exposition aux PM10 sera estimée individuellement pour chaque sujet de l'étude sur une base géographique, et les analyses minéralogiques et chimiques permettront de distinguer les particules d'origine anthropique et naturelle (Air 1). Les analyses bactériologiques et virales permettront d'identifier d'éventuels dangers associés (Agents biologiques 2). Enfin, le risque pour la croissance fœtale sera étudiée du fait : i) de son association déjà connue avec la pollution particulaire, ii) des taux élevés (en grande partie non expliqués) d'issues défavorables de grossesse dans les Antilles françaises (Air 1).

Description des méthodes mises en œuvre

Des prélèvements d'air seront réalisés pendant les épisodes de brumes afin de réaliser les analyses minéralogiques et microbiologiques (classiques et par métagénomique).

Concernant l'exposition aux PM10, dans les études publiées, celle-ci a jusqu'à présent été estimée en ignorant la dimension spatiale du phénomène. Or, en Guadeloupe, du fait de la géographie, l'exposition aux

brumes de sable est probablement hétérogène et les conditions de mise en œuvre des approches classiques de modélisation spatiale (éloignement suffisant des stations de mesure, variation spatiale continue) n'y sont pas vérifiées. Il sera donc fait appel à une modélisation basée sur des mesures satellite de densité optique des aérosols (AOD) tirant parti d'un coefficient de corrélation d'environ 0,50 entre AOD et concentrations en PM10. Les images de niveau 2 du satellite MODIS de la NASA présentent un degré de définition de 10 x 10 km, ce qui pour la Guadeloupe (1704 km²) correspond à une vingtaine de pixels. Pour chaque pixel, une moyenne journalière sur la période 2004-2007 sera calculée. Des tests de corrélation seront appliqués pour les associations spatiales entre PM10 mesurées et modélisées via l'AOD.

Les données épidémiologiques seront extraites de la cohorte mères-enfants Timoun mise en place et suivie en Guadeloupe (1068 femmes incluses entre 2004 et 2007). La croissance fœtale sera caractérisée par trois indicateurs : retard de croissance intra-utérin, poids de naissance et périmètre crânien.

L'association entre les différents indicateurs de croissance fœtale et l'exposition aux PM10 sera étudiée à l'aide de modèles de régression logistique ou linéaire. L'exposition sera reconstituée au cours de chaque grossesse en fonction du pixel contenant le lieu de résidence et de la période. Toutes les variables associées à la fois à l'évènement de santé et à l'exposition (facteurs de confusion) au seuil $p < 0,20$ seront incluses dans le modèle. Les variables "âge maternel" et "niveau d'études" seront forcées.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : EHESP, LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Philippe Quénel

Equipe 2 : EHESP, LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Le Bot

Equipe 3 : GWAD'AIR 9 – Petit Bourg

Responsable de l'équipe : Mme Christina Raghoumandan

Equipe 4 : Institut Pasteur de la Guadeloupe Morne Jolivière - Abymes

Responsable de l'équipe : M. Antoine Talarmin

Equipe 5 : Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Facultad des Ciencias de l'Ingenieur, Groupe d'étude de la physique, la statistique et la mathématique

Responsable de l'équipe : Mme Erika Upegui

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 867 € TTC

Résumé C3N - 2016_1_101

Responsable scientifique : M. Pascal Guénel

Organisme : Inserm CESP UMR-S1018 - Villejuif

1. Titre

Projet complet

36 mois

Travail de nuit et risque de cancers de différentes localisations : étude cas-témoins nichée dans la cohorte Constances

2. Questions à la recherche

CANC 4 - 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

Ce projet vise à étudier le risque de cancer en lien avec le travail de nuit et le travail à horaires atypiques à partir des données de la cohorte épidémiologique Constances. Plus spécifiquement, notre étude permettra :

- D'étudier l'association entre le travail de nuit et les cancers du sein, de la prostate, du colon, de l'ovaire, de l'endomètre, et les lymphomes non-hodgkiniens (LNH).
- De mesurer l'exposition au travail de nuit sur l'ensemble de la carrière professionnelle de façon standardisée et fiable.
- De prendre en compte les cofacteurs influençant le rythme veille-sommeil (chronotype, sommeil).

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

Les effets du travail de nuit ou travail posté sur la santé sont multiples et constituent un problème majeur de santé publique du fait de la proportion croissante de salariés concernés. En 2007, le Centre International de Recherche sur le Cancer avait conclu que le « travail posté entraînant des perturbations du rythme circadien » était « probablement cancérigène » sur la base de « preuves suffisantes chez l'animal » et de « preuves limitées chez l'Homme ». L'évaluation du CIRC portait pour l'essentiel sur les résultats d'études épidémiologiques sur le cancer du sein, dont la plupart montrait une modeste augmentation du risque, en particulier chez des infirmières ayant travaillé de nuit sur de longues durées. Si le cancer du sein a été le plus étudié jusqu'à présent, un petit nombre d'études suggère également des associations avec les cancers de la prostate, de l'ovaire, du colon et avec les LNH. Toutefois, le manque de standardisation dans la mesure du travail de nuit dans ces études ne permet pas de dresser un tableau cohérent du risque de cancer en rapport avec les horaires de travail. Par ailleurs, les principales études de cohorte ont été effectuées dans le secteur de la santé, et ont généralement délaissé l'étude d'autres professions présentant des rythmes horaires spécifiques. Enfin, l'ensemble des paramètres nécessaires à la caractérisation des perturbations du rythme circadien (habitudes de sommeil, chronotype) ont rarement été pris en compte. Il persiste donc de larges incertitudes concernant les effets du travail de nuit sur le risque de cancer, le niveau de preuve pouvant être considéré comme limité pour les cancers du sein et inadéquat pour les autres localisations de cancer.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'intègre dans la thématique «Cancers» et permettra d'étudier le risque de cancer lié à une exposition professionnelle concernant 15% des salariés environ (question de recherche n°4). Il permettra

d'étudier le risque de plusieurs cancers d'intérêt dans une grande cohorte de population et de mesurer le travail de nuit de façon fiable et reproductible chez des sujets exerçant dans une grande variété de secteurs d'activité.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous souhaitons réaliser une étude de type cas-témoins nichée dans la cohorte Constances, cohorte épidémiologique en population générale gérée par l'UMS 011 de l'Inserm. Cette cohorte sera constituée à terme d'un échantillon représentatif de 200 000 adultes âgés de 18 à 69 ans à l'inclusion, tirés au sort parmi les assurés du régime général de la sécurité sociale. Les participants remplissent un questionnaire détaillé à l'inclusion. Le suivi est assuré tous les ans par auto-questionnaire et par croisement avec les données du SNIIRAM.

Le groupe des cas sera constitué des sujets de la cohorte ayant un cancer du sein, de la prostate, du colon-rectum, de l'endomètre, de l'ovaire ou un LNH diagnostiqué sur la période 2016-2018. Tous les cas incidents identifiés à partir des questionnaires annuels de suivi seront inclus a priori dans notre étude, puis validés selon la procédure spécifique prévue par la plateforme Constances.

Les témoins seront tirés au sort selon le principe d'échantillonnage par densité d'incidence et appariés individuellement aux cas sur l'âge et le sexe. Entre 2 et 4 témoins par cas seront sélectionnés selon la fréquence des localisations.

Un questionnaire spécifique sera envoyé aux cas identifiés par le questionnaire de suivi et aux témoins. Ce questionnaire comprendra des informations sur :

- L'historique professionnel complet avec description détaillée des horaires de travail permettant de caractériser, pour chaque emploi occupé, l'exposition au travail de nuit/posté selon les critères décrits dans Stevens et coll. 2011 (durée, intensité, horaires alternants, type de rotation),
- Les habitudes de sommeil,
- Le chronotype (préférence jour/nuit) selon l'échelle de Horne et Ostberg,
- Les facteurs de risque spécifiques de chaque cancer pouvant jouer un rôle de confusion.

Les données du questionnaire d'inclusion, des questionnaires annuels de suivi ainsi que les données du SNIIRAM seront obtenues pour les sujets inclus dans notre étude via la plateforme Constances. Tous les cas de cancer inclus dans les analyses seront validés sur la base du compte-rendu anatomo-pathologique.

Sur la base des inclusions déjà réalisées et des inclusions à venir dans la cohorte Constances, nous estimons à 1500 le nombre de cas inclus dans l'étude (sein 420, prostate 530, colon-rectum 280, LNH 170, endomètre 60, ovaire 40) sous une hypothèse basse tenant compte d'un taux de participation de 80%. Les OR minimum détectables seront de 1,6 pour le cancer du sein et de 1,4 pour le cancer de la prostate pour des prévalences d'exposition chez les témoins de 10% chez les femmes et 20% chez les hommes. Sous l'hypothèse où le travail de nuit augmente le risque de cancer quelle que soit la localisation, et en nous basant sur un effectif d'environ 700 cas féminins et 800 cas masculins, nous pourrions détecter des OR d'au moins 1,5 et 1,3 pour les mêmes prévalences d'exposition.

Les analyses seront réalisées sur l'ensemble des cancers et par localisation de cancer. Le projet permettra d'apporter des informations nouvelles sur les effets cancérogènes du travail de nuit à l'issue des 36 mois.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm CESP UMR-S1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Pascal Guénel

Equipe 2 : Université Paris Descartes, Hôpital Hôtel-Dieu, Sleep Center - Paris

Responsable de l'équipe : M. Damien Leger

Equipe 3 : UVSQ Hopital Paul Brousse, UMS011 Inserm - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Zins Marie

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 198 016 € TTC

Résumé CIBELIUS - 2016_1_007

Responsable scientifique : Mme Anne-Sophie Evrard

Organisme : IFSTTAR - Bron

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Connaitre l'impact du bruit des éoliennes sur la santé

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).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'évaluer la faisabilité et de définir le protocole d'une étude épidémiologique cherchant à examiner les effets sur la santé (gêne, hypertension, troubles anxio-dépressifs, perturbations du sommeil) du bruit audible mais aussi des infrasons ou des sons de basse fréquence émis par les éoliennes. Il s'agira de déterminer le nombre de participants et de parcs éoliens à inclure, de tester le recrutement de ces participants sur un site pilote, de construire un questionnaire et enfin d'estimer l'exposition au domicile des participants sur le site pilote.

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

L'énergie éolienne est en pleine expansion en France, comme partout ailleurs dans le monde. Des règles précises gouvernent la conception et l'implantation des éoliennes afin de limiter le champ acoustique produit par les éoliennes en fonctionnement et de minimiser la gêne pour les riverains. Néanmoins, certains se plaignent d'une gêne importante, qui est parfois plus sévère que ne laisseraient prévoir les estimations et mesures du champ acoustique, ou les connaissances établies concernant la sensibilité perceptive et physiologique.

Jusqu'à présent, peu d'études épidémiologiques ont recherché les effets du bruit audible des éoliennes et aucune ne s'est intéressée aux effets sur la santé des infrasons ou des sons de basse fréquence émis par celles-ci. Une saisine est actuellement en cours à l'Anses sur cette dernière problématique.

Argumentation du choix des questions

Des études expérimentales récentes chez l'animal et chez l'être humain montrent une plausibilité biologique concernant les effets potentiels sur l'organisme de l'exposition aux infrasons et aux sons de basse fréquence. L'étude de faisabilité proposée permettra de déterminer s'il est possible de mettre en place une étude épidémiologique cherchant à examiner les effets sur la santé de cette exposition chez les riverains d'éoliennes, aussi bien dans le domaine de l'audible que dans celui des infrasons. Une telle étude n'existe pas pour l'instant.

Description des méthodes mises en œuvre

Cette étude de faisabilité aura pour objectif de :

- Déterminer le nombre de participants et de parcs éoliens à inclure afin d'avoir suffisamment de puissance statistique pour mettre en évidence des associations si elles existent.

- Estimer le taux de participation et tester le recrutement de ces participants sur un site pilote : il s'agira d'évaluer le nombre de personnes auxquelles il faudra proposer l'étude pour finalement obtenir le nombre de participants souhaité.

- Construire un questionnaire : dans un premier temps, des entretiens qualitatifs seront réalisés auprès d'une vingtaine de riverains d'éoliennes afin d'identifier les co-déterminants de la gêne due au bruit des éoliennes. Dans un deuxième temps, il s'agira de construire le questionnaire et de le tester auprès des participants sur le site pilote.

- Tester la possibilité de mesurer objectivement des états de santé qui nous intéressent (hypertension, troubles anxio-dépressifs, perturbations du sommeil).

- Et enfin, d'estimer l'exposition non seulement au bruit audible mais aussi aux infrasons ou aux sons de basse fréquence émis par les éoliennes au domicile des participants. Lors d'une étude épidémiologique à grande échelle, il ne sera pas possible de réaliser des mesures chez un grand nombre de participants. Il conviendra alors d'utiliser une modélisation des niveaux de bruit qui aura au préalable été validée par des mesures. L'étude de faisabilité permettra d'étudier parmi différents modèles d'ingénierie de prévision du bruit existants quels sont ceux qui sont les plus pertinents pour être utilisés dans le cadre d'une étude épidémiologique. Pour cela, des modélisations numériques d'un site pilote seront réalisées et les résultats seront comparés à des mesures réalisées in situ.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : IFSTTAR - Bron

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Sophie Evrard

Equipe 2 : IFSTTAR - Bron

Responsable de l'équipe : Mme Patricia Champelovier

Equipe 3 : Cerema – ERA32 Acoustique - Strasbourg

Responsable de l'équipe : M. David Ecotièrre

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 999 € TTC

Résumé CloDia - 2016_1_030

Responsable scientifique : Mme Anne-Marie Pourcher

Organisme : Irstea, UR GERE - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Devenir des Clostridium et de bactéries pathogènes non sporulantes au cours de la digestion anaérobie mésophile des effluents d'élevages

2. Questions à la recherche

ABIO 2 - Connaissances du comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

DECH 2 - Evaluation des risques sanitaires et environnementaux au cours du cycle de vie des déchets.

3. Résumé

Objectif détaillé

Alors que la méthanisation est en plein essor avec un objectif de 1 000 méthaniseurs à la ferme d'ici 2020, les digestats bruts issus de ce procédé de valorisation n'entrent toujours pas dans un cadre normatif bien qu'ils soient destinés à l'épandage et donc susceptibles de disséminer des micro-organismes pathogènes dans l'environnement. Les règlements européens n° 1069/2009 et n° 142/2011 relatifs aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine (SPAN) imposent de maintenir 1 heure à 70°C les SPAN de la catégorie 2 (à laquelle appartiennent les effluents d'élevages) avant méthanisation. Il existe néanmoins des dérogations données par les autorités compétentes qui permettent d'utiliser certains SPAN comme substrats des méthaniseurs, dont les effluents d'élevages, sans passer par une étape d'hygiénisation.

Les données concernant l'impact de la digestion anaérobie mésophile (DAM) sur les bactéries pathogènes retrouvées dans les effluents d'élevages sont rares et il existe très peu de données sur l'influence des paramètres contrôlant le procédé de méthanisation sur le devenir des formes sporulées et végétatives des pathogènes.

Dans ce contexte, les objectifs du projet sont :

1) d'évaluer à l'échelle du terrain l'impact sanitaire de la DAM sur des effluents d'élevages par un suivi microbiologique sur une année des bactéries indicatrices, des principales espèces pathogènes de Clostridium et de bactéries pathogènes zoonotiques non sporulantes.

2) d'étudier en pilote l'impact de paramètres régissant le procédé de DAM par voie liquide infiniment mélangée (pré-étape d'hygiénisation, temps de séjour hydraulique, charge organique) sur le comportement des Clostridium et de bactéries pathogènes zoonotiques.

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

Les données de la littérature scientifique, qui concernent essentiellement les bactéries indicatrices de traitement, rapportent que la DAM ne conduit qu'à un abattement de l'ordre de 2 Log₁₀ pour E. coli et les entérocoques, et à une absence d'abattement pour C. perfringens. Toutefois, l'impact des paramètres du procédé de méthanisation sur le comportement des Clostridium et des bactéries pathogènes non sporulantes a été très peu étudié. Parmi ces paramètres, le pré-traitement thermique (70°C, 1 heure) stipulé par le règlement européen n° 142/2011, pourrait favoriser au cours de la digestion anaérobie, une germination des Clostridium pathogènes conduisant à augmenter leur concentration dans les digestats.

L'originalité du projet CloDia consiste à acquérir des connaissances, par deux approches, l'une de terrain (suivi mensuel de deux méthaniseurs), l'autre de laboratoire (en pilote), sur l'impact de la DAM sur des bactéries pathogènes représentant un risque majeur en santé publique.

Argumentation du choix des questions

Le projet s'inscrit dans les thématiques de la question "Déchets, item 2", et "Agents Biologiques, item 2". Il permettra en effet d'évaluer le risque sanitaire associé à la transformation d'effluents d'élevages et à proposer, au regard des données obtenues, des leviers permettant d'améliorer les performances d'hygiénisation de la méthanisation et donc de limiter la propagation de bactéries pathogènes dans l'environnement.

Description des méthodes mises en œuvre

- WP1 (6 mois) (Irstea + Anses) - Etude de terrain en vue de la sélection de 2 élevages équipés d'un méthaniseur mésophile voie liquide sur lesquels sera réalisé le suivi mensuel du WP2. Les critères de sélection comprendront notamment la connaissance des flux d'effluents entrant dans le méthaniseur et la possibilité de suivre les caractéristiques de fonctionnement du procédé sur une année.

- WP2 (15 mois) (Anses + Irstea) - Suivi mensuel des teneurs en indicateurs de traitement et de la présence de bactéries pathogènes dans les effluents et les digestats bruts des élevages sélectionnés au WP1. Les pathogènes recherchés par méthode culturale ou moléculaire seront Salmonella, Listeria monocytogenes, campylobacters thermotolérants, Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus et les principales espèces de Clostridium pathogènes. Les souches seront conservées pour être typées afin d'estimer si la DAM conduit à un changement de leur population.

- WP3 (18 mois) (Irstea + Anses) - Etude sur pilotes de méthanisation mésophile voie liquide de l'influence du prétraitement (70°C, 1 heure) et de paramètres process de la méthanisation (temps de séjour, charge organique) sur le comportement des Clostridium et de bactéries pathogènes non sporulantes. L'effluent de l'un des élevages étudiés dans le WP2 dont le risque microbiologique sera le plus élevé, sera sélectionné pour alimenter les pilotes. Il convient de souligner que l'étude portera sur les pathogènes naturellement présents dans l'effluent, ce qui permettra de s'affranchir du biais apporté par l'inoculation de souches de laboratoire. Un plan d'expérience sera mis en œuvre. Les paramètres classiques de fonctionnement des pilotes de méthanisation seront également suivis : quantité et qualité du biogaz produit, pH, teneurs en AGVs, azote, DCO...

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Irstea, UR GERE - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Marie Pourcher

Equipe 2 : Anses -Laboratoire de Ploufragan/Plouzané, Unité HQPAP - Ploufragan

Responsable de l'équipe : Mme Martine Denis

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 658 € TTC

Résumé CNAP - 2016_1_121

Responsable scientifique : Mme Claire Philippat

Organisme : Inserm U1209 - La Tronche

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition aux phtalates pendant la grossesse et neurodéveloppement de l'enfant dans les premières années de vie.

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 sur l'homme et les écosystèmes.

ACHIM 3.5 - Meilleure prise en compte des spécificités des perturbateurs endocriniens en termes de fenêtre d'exposition critique, d'effets trans/inter-générationnels.

3. Résumé

Objectif détaillé

The CNAP project aims at

1) studying the effects of exposure to phthalates and some of their substitutes during pregnancy on child neurodevelopment until 3 years

2) exploring the role of specific biologic pathways, such as disruption of thyroid hormone homeostasis, in the effect of early exposure to phthalates on child neurodevelopment.

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

Previous studies investigating the associations between phthalates and child neurodevelopment measured biomarkers in a small number (3 or less) of maternal urine samples. Given the variability in phthalate urine concentrations, their results were likely to be affected (biased) by exposure measurement error. In order to limit measurement error we will use a high number of urine samples collected during pregnancy to assess phthalate exposure. Several phthalates have been banned in France for use in children's toys and food packaging, however that does not include all of the sources of exposure (e.g., cosmetics, PVC plastics) and little is known regarding the health effect of their substitutes. In addition to the phthalate metabolites commonly measured, the panel of chemicals assessed in CNAP will include a non-phthalate plastizer (DICNH®) likely to be used as substitute of di(2-ethylhexyl) phthalate in many products and for which no data is available regarding levels of exposure in France. Other strengths of the project are the good characterization of the child neurodevelopment, relying on validated questionnaires and clinical exams performed by trained clinicians and the recruitment in early pregnancy that allows prospective assessment of phthalate exposure.

Argumentation du choix des questions

In line with the aims of the research question "Agents chimiques et polluants émergents", the CNAP project will study the effects of exposure to endocrine disruptors (phthalates and their substitutes) during pregnancy on child neurodevelopment in the general population. We will rely on a cohort study with recruitment in early pregnancy (first trimester) that will allow us to assess exposures during an important period for brain development. In order to identify potential windows of susceptibility during pregnancy, phthalates will be measured in repeated urine samples collected at the second and third trimesters.

Description des méthodes mises en œuvre

The project relies on the SEPAGES mother-child cohort enrolling pregnant women from Grenoble urban and periurban areas during the first trimester of pregnancy. Recruitment started in September 2014 and based on the current recruitment rate, we will reach our objective (recruitment of 550 women to allow follow-up of 500 children) by the end of 2016. Repeated maternal urine samples (3 urine samples per day during a week) are collected in the mid-second and third trimesters. Among the 195 women enrolled to date, we observed a very good compliance to this protocol. To limit analytical costs, samples will be pooled before analysis. Nine phthalate metabolites along with diisononyl-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH®) metabolite, a phthalate substitute will be measured by a recognized lab (A. Calafat, CDC, Atlanta, Georgia) with which we have been collaborating for years. Assessment of metabolites instead of the parent compounds limits the risk of external contamination (e.g., through the vials). Extensive quality control (by sending blinded duplicate samples) will be performed. Urine specific gravity will also be assessed (marker of urine dilution). Repeated assessment of the child neurodevelopment will be performed from 1 to 3 years. We will use both clinical assessments (ex: Alarm Distress BaBy scale at 1 and 2 years, Bayley Scale of Early Learning at 3 years) administered by trained clinicians and validated questionnaires (ex: Child Behavior Checklist at 2 years, MacArthur-Bates Communicative Development Inventory at 1 and 2 years) completed by the parents to assess different domains of development (cognitive and motor function, behaviour) that has been suspected to be affected by phthalate exposure during early life. Thyroid hormones are primordial for normal brain development. In order to better understand the effects of phthalates on child neurodevelopment we will also study the associations between phthalate concentrations and thyroid hormone concentrations (including thyroid-stimulating hormone (TSH) and thyroxine (T4)) measured in newborn blood spots using immunofluorescence. Extensive information regarding potential confounders is collected by questionnaires and clinical examinations.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Albert Boniot Inserm - UJF Site Santé U823 - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Rémy Slama

Equipe 2 : Hôpital Albert Michallon, IBP - Pôle Biologie - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Patrice Faure

Equipe 3 : Université de Grenoble, Laboratoire de Psychologie et NeuroCognition

Responsable de l'équipe : M. Olivier Pascalis

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 998 € TTC

Résumé CONSOLAGE - 2016_1_102

Responsable scientifique : Mme Claudine Berr

Organisme : Université de Montpellier, Hôpital de la Colombière, Unité Inserm 888

1. Titre

Projet complet

36 mois

Expositions professionnelles aux solvants et vieillissement dans la cohorte CONSTANCES

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 notamment les impacts des multi-expositions aux produits chimiques ou à des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Notre objectif est d'étudier avec des outils d'évaluation sensibles à l'avancée en âge les effets à moyen et long terme des expositions aux solvants au travail sur le fonctionnement cognitif et physique. Notre hypothèse est que les effets des solvants sur le vieillissement doivent être évalués sur le long terme en considérant les différentes composantes d'expositions professionnelles qui restent encore très présentes: niveau et seuil, combinaison, ancienneté.

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

Le vieillissement s'accompagne d'un déclin hétérogène de toutes les fonctions physiologiques, avec une importante variabilité entre les individus. Comprendre les facteurs qui sont associés à la variabilité des performances cognitives et physiques est un enjeu important de santé publique à l'heure où la pyramide des âges s'est modifiée et où la durée de carrière professionnelle tend à augmenter. C'est dans ce contexte que se situe notre programme de recherche sur l'impact des expositions aux solvants .

Argumentation du choix des questions

En période d'activité professionnelle, les expositions chroniques et importantes aux solvants organiques sont connues comme pouvant être sources d'encéphalopathies avec dépression, déficits psychomoteurs et attentionnels. Nos travaux dans la cohorte GAZEL avec évaluation semi-quantitative des expositions physiques et chimiques tout au long de la vie professionnelle (matrice emploi-exposition MATEX) ont permis de montrer l'importance des effets délétères sur le fonctionnement cognitif pour les solvants chlorés ou aromatiques et le benzène. L'effet est observé après la fin de l'exposition bien après la retraite, avec des performances cognitives moins bonnes globalement, pour la vitesse psychomotrice, la fluence, la mémoire immédiate et les fonctions exécutives. Les associations décrites confortent l'importance de l'atteinte de fonctions mis en avant dans des travaux d'imagerie cérébrale, avec une atrophie du cortex préfrontal, qui pourrait être plus vulnérable face aux agents chimiques.

Les solvants ont été impliqués dans la survenue de neuropathies périphériques caractérisées par une diminution de la sensibilité et force musculaire aux membres. Plus récemment, plusieurs études ont mis en évidence une association entre l'exposition aux solvants, comme par exemple le trichloréthylène, avec la maladie de Parkinson dont le diagnostic est précédé par une longue période caractérisée par l'émergence de symptômes incluant un ralentissement moteur.

La mise en place en 2012 de la cohorte CONSTANCES permet d'étudier ces questions sur une population âgée de 45 à 70 ans avant la période où maladies neurodégénératives et perte d'autonomie apparaissent.

Avoir la possibilité de dater les expositions professionnelles des sujets tout au long de leur vie active est un atout majeur pour atteindre nos objectifs. La taille de la cohorte permettra de travailler sur des expositions peu fréquentes et des combinaisons d'exposition mais aussi sur des sous groupes et d'examiner

des interactions avec d'autres facteurs professionnels comme les contraintes psychosociales. Grâce au suivi annuel par auto-questionnaire, les relations avec l'incidence de la perte d'autonomie pourront être examinées.

Description des méthodes mises en œuvre

- La cohorte CONSTANCES (<http://www.constances.fr/fr/>) est un échantillon représentatif de la population âgée de 18 à 69 ans, constitué par tirage au sort dans le RNIAM. L'effectif total prévu sur 5 ans est de 200 000 sujets, et sa structure est proportionnelle à la population pour le sexe, l'âge et la catégorie sociale. À l'inclusion, les participants complètent des questionnaires concernant leur santé, leur mode de vie, les expositions professionnelles et bénéficient d'un examen dans un Centre d'examen de santé ainsi que d'accès aux données du SNIIRAM et de la Cnav.

- Variables d'exposition : expositions professionnelles vie entière rapportées avec questions spécifiques sur les solvants (http://www.constances.fr/images/constances/documents/exposition_pro.pdf). L'utilisation de la matrice MATGENE permettra une évaluation fine à partir de l'historique complet des métiers exercé tout au long de la vie.

- Evènements d'intérêt : Une batterie de tests cognitifs permet d'évaluer fonctionnement global, mémoire épisodique verbale et visuelle, fluences, fonctions exécutives et vitesse psychomotrice. Les épreuves physiques portent sur l'équilibre, la vitesse de marche et la force de préhension. Autonomie et incapacités sont décrites. L'ensemble des mesures utilise des outils validés et standardisés.

- L'analyse statistique multivariée incluant données sociodémographiques, de santé et de comportement reposera sur des modèles logistiques ou linéaires.

Fin novembre 2015, 86 000 participants ont été inclus, dont 45 % de +45 ans avec un bilan des fonctions cognitives et physiques .

L'analyse menée à partir de fin 2016 pourra porter sur près de 55 000 sujets dont au moins 25 % seront retraités. Le premier volet d'analyse portera sur les expositions déclarées dans le questionnaire (année 1). L'évaluation semi-quantitative avec la matrice MATGENE nécessite plus de temps de préparation en collaboration avec le DST de l'INVS. Les analyses sont prévues au cours de l'année 2. L'année 3 permettra la finalisation des travaux et leur valorisation

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Montpellier, Hôpital de la Colombière, Unité Inserm 888

Responsable de l'équipe : Mme Claudine Berr

Equipe 2 : Inserm U1018 - CESP - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Alexis Elbaz

Equipe 3 : UVSQ Hopital Paul Brousse, UMS011 Inserm - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Zins Marie

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 969 € TTC

Résumé COVEPI - 2016_1_193

Responsable scientifique : M. Fernando Rodrigues-Lima

Organisme : Université Paris Diderot, Equipe RMCX, Unité BFA CNRS EAC 4413 - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Impact d'expositions et de co-expositions au benzène et au formaldéhyde sur des marques épigénétiques associées à la leucémogénèse chez 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.

CANC 3 - Identification et/ou validation de biomarqueurs associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales professionnelles, d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

Le benzène (BZ) et le formaldéhyde (FA) sont des composés organiques volatils (COV) cancérigènes majeurs (groupe 1) présents dans l'air extérieur et intérieur. Ces composés, d'intérêt industriel, sont contenus dans de nombreux produits courants (résines, colorants, ameublement, essence, etc). Le BZ et le FA sont émis également lors de combustions (feux, fumée de tabac). Du fait de l'exposition "quasi-inévitable" à ces deux COV et de leur effets toxiques à "faibles" doses (dizaines et centaines de ppb pour le BZ et le FA, respectivement), ces deux polluants font l'objet de réglementations (OMS, IARC, ANSES). Certains rapports suggèrent qu'aucune dose d'exposition "sans risque" pour ces COV ne peut être définie (OMS, 2010 ; Golgen, 2011). De plus, des études récentes montrent que parmi les différents cancérigènes présents dans l'air, le BZ et le FA sont les principaux contributeurs à l'excès de risque de cancer (leucémies/nasopharynx) dans la population (US Center for Environmental Health, Zhou et al., PLoS One, 2015) soulignant la nécessité de comprendre les mécanismes cancérigènes mis en oeuvre par ces deux COV, en particulier dans le cas de co-expositions.

Si les propriétés leucémogènes du BZ sont bien documentées, celles concernant le FA restent parcellaires. Dans les deux cas, les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent leurs effets leucémogènes restent mal connus.

L'altération de mécanismes épigénétiques revêt un rôle crucial dans l'initiation des leucémies. Cependant, l'impact du BZ et du FA sur des processus épigénétiques clés de la leucémogénèse (en particulier l'acétylation et la méthylation des histones) n'a pas été étudié. Ce projet vise à caractériser des mécanismes épigénétiques (ciblant l'histone H3) altérés par l'exposition/co-exposition à de faibles doses de BZ et de FA et pouvant contribuer à leurs propriétés leucémogènes. Ce travail s'inscrit dans la compréhension des effets de certains cancérigènes sur les processus épigénétiques.

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

Si les effets leucémogènes du BZ sont bien décrits, les processus responsables restent mal connus. L'hématotoxicité du BZ dépendrait de plusieurs mécanismes (stress oxydants, génotoxicité, altération de la signalisation, etc) impliquant la génération de métabolites réactifs du BZ (benzoquinone (Bq), muconaldéhyde (Mc)) dans la moelle osseuse.

Les mécanismes hématotoxiques du FA sont peu documentés mais reposeraient sur la réaction du FA avec des macromolécules (protéines/ADN) de la moelle osseuse ou des cellules souches circulantes.

Nous proposons d'explorer au niveau moléculaire et cellulaire, les effets de l'exposition à des doses faibles (sub microM) aux métabolites hématotoxiques du BZ (Bq et Mc) et au FA de cellules

hématopoïétiques (lignées et cellules souches primaires) sur des «marques épigénétiques» clés de l'histone H3, altérées dans des processus leucémiques (méthylation de H3K9, H3K27, H3K36; acétylation de H3K18). En parallèle, les enzymes responsables de ces modifications épigénétiques (G9a/GLP, SETDB1, EZH2, SETD2 et CBP) seront étudiés. Des travaux récents suggérant que le BZ et le FA (notamment en mélange) sont les deux cancérigènes aériens ayant le plus d'impact sur le risque de cancer, des études en co-exposition FA/Bq/Mc seront conduites. Des résultats préliminaires montrent d'ores et déjà une baisse de l'acétylation de H3K18 et de la méthylation de H3K36 après exposition de cellules à la Bq.

La combinaison d'approches moléculaires et cellulaires complémentaires et modernes, apportées par le consortium est originale dans la mesure où l'impact épigénétique de ces COVs est peu documenté, en particulier en co-exposition. Cette étude pourrait contribuer aux politiques de prévention des risques (observation d'altérations de processus biologiques à des doses considérées initialement comme "sub-toxiques") et à la définition de biomarqueurs d'exposition/toxicité ("patron épigénétique" d'exposition/toxicité).

Argumentation du choix des questions

Le BZ et le FA sont deux cancérigènes (groupe 1) aériens majeurs dont les niveaux d'expositions restent préoccupants. La compréhension des mécanismes qui sous-tendent leurs propriétés cancérigènes (et plus spécifiquement leucémogènes) est pertinente, en particulier au regard de leurs effets toxicologiques à faibles doses (dizaines de ppb pour le BZ). De plus, malgré l'importance des processus épigénétiques, peu d'études portent sur l'altération de ces processus par des cancérigènes chimiques, en particulier à faibles doses et/ou dans le cas de co-expositions.

Description des méthodes mises en œuvre

Les aspects moléculaires porteront sur l'étude de l'impact des métabolites du BZ (Bq et Mc) et du FA (seuls ou mélange) sur l'activité et la structure des enzymes de méthylation de H3K9, H3K27, H3K36 (G9a/GLP et SETDB1, EZH2 et SETD2) et d'acétylation de H3K18 (CBP). Nous procéderons à des dosages enzymatiques (HPLC) et à des détections d'adduits-Bq, Mc et FA sur enzymes purifiés.

Les approches cellulaires porteront sur des lignées (KG1, K562) et des cellules souches hématopoïétiques humaines (CD34+).

Seront analysés dans les cellules exposées au Bq, Mc et FA (seuls ou mélanges à concentration microM):

- L'état de méthylation de H3K9, H3K27 et H3K36 et d'acétylation de H3K18 (western-blot, immunofluorescence avec des anticorps spécifiques et spectrométrie de masse)
- l'activité enzymatique des enzymes G9a/GLP, SETDB1, EZH2, SETD2 et CBP (immunoprécipitations couplées à des dosages HPLC).

L'impact fonctionnel de l'altération des marques épigénétiques dans les cellules sera étudié par :

- immunoprécipitation de chromatine (ChIP)-qPCR (étude de promoteurs de gènes hématopoïétiques clés dépendant de ces marques épigénétiques (IL-6, MDM2, Six1, Hmga2)
- des approches ChIP-Seq et RNA-Seq afin d'identifier de nouveaux gènes dérégulés et dont l'expression dépend des marques épigénétiques analysées.

Calendrier: "Moléculaire":0-24 mois; "Cellulaire": 6-36 mois

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Diderot, Equipe RMCX, Unité BFA CNRS EAC 4413 - Paris

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

Equipe 2 : Université Paris Diderot, CNRS UMR 7216 "Epigénétique et Destin Cellulaire" -

Responsable de l'équipe : M. Slimane Ait-Si-Ali

Equipe 3 : Hôpital Saint Louis, Inserm UMRS 1131 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Christine Chomienne

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 638 € TTC

Résumé CUMULAIR - 2016_1_215

Responsable scientifique : Mme Simone Schucht

Organisme : Ineris, DRC/DECI/EDEN - Verneuil en Halatte

1. Titre

Etude de faisabilité

12 mois

Evaluation économique des effets sanitaires cumulés de la pollution de l'air intérieur et extérieur

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).

AIRR 4 - Etude des effets des cumuls d'exposition et développement d'indicateurs correspondants (air intérieur, polluants atmosphériques, ...).

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet vise à étudier l'intérêt et la faisabilité d'évaluer les dommages économiques cumulés de la pollution de l'air intérieur (locaux et moyens de transport) et extérieur en France. Le projet étudiera également la pertinence de travailler sur des évaluations de mesures et stratégies de gestion combinant les deux types de pollution.

L'étude réutilisera les données d'exposition, les études d'impact sanitaire et économiques disponibles, et conclura quant aux besoins d'acquisition de données d'exposition ou d'études sanitaires.

Plus en détail, les deux axes de questionnement et de travail suivis sont les suivants :

1. Etude de la faisabilité de calculer les dommages économiques combinés de la pollution intérieure et extérieure (en prenant a priori en compte tous les environnements intérieurs: domestique, transport, travail). Si la qualité de l'air extérieur est bien définie, on devra s'interroger sur la définition des pollutions intérieures (intégration de paramètres de pollution spécifiques comme CO, COV, particules spécifiques, composés spécifiques comme le formaldéhyde par ex., ...). L'importance des transferts de polluants entre environnements intérieurs et extérieurs sera évaluée. La possibilité de conduire une évaluation économique sera une question centrale, pour laquelle on examinera la possibilité de connaître des nombres de cas de pathologies, et l'accès à des valeurs économiques de référence. On réalisera une première évaluation sommaire, et sa discussion critique permettra d'évaluer son degré de réalisme et les possibilités et moyens de l'améliorer.

2. Etude des mesures de gestion de la qualité de l'air extérieur à la lumière de leurs interactions avec la qualité de l'air intérieur, qui peuvent intervenir à plusieurs niveaux i) par les flux de polluants échangés entre environnements, ii) par le fait qu'une action pour réduire la pollution extérieure peut avoir des effets indirects sur l'air intérieur, iii) que des actions transversales pourraient exister (changements structurels dans la conception, production et consommation de biens et services). Cette étude débouchera sur des conclusions concernant la faisabilité et l'intérêt d'étudier des stratégies de gestion combinée entre les deux problématiques d'air intérieur et extérieur, notamment la question de savoir si les synergies et enjeux sanitaires/économiques semblent le mériter.

Le projet aura comme résultats les réponses aux questions mentionnées ci-dessus, et pourrait produire également les spécifications pour un futur projet complet.

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

Il existe des estimations des effets sanitaires de la pollution de l'air en France uniquement d'une part pour la pollution extérieure (Declercq et al, 2011 ; Schucht et al., 2015 ; CGDD, 2013) et d'autre part intérieure (Kopp et al., 2014), mais pas de combinaisons des deux.

Deux projets européens de recherche FP6 (HEIMTSA , INTARESE) ont ouvert la voie à l'étude de cette question sans toutefois avoir été poursuivis.

L'originalité du projet réside donc dans l'ambition de calculer les effets cumulés de la pollution entre l'air extérieur et intérieur. La méthode sera ensuite appliquée à des études de scénarios de la qualité de l'air extérieur et intérieur pour éclaircir l'intérêt de scénarios de gestion intégrée.

Argumentation du choix des questions

Le projet a pour objectif de faire progresser les méthodes et pratiques de l'évaluation des effets sanitaires de la pollution de l'air. L'objectif d'évaluer les effets cumulés de la pollution de l'air intérieur et extérieur impose un choix d'indicateurs pertinents (polluants pris en compte, effets sanitaires étudiés, valeurs monétaires unitaires des effets sanitaires ...) et de fonctions (fonctions exposition-réponse, éventuels effets de transfert par infiltration et ventilation entre air extérieur et intérieur, schémas d'activités temporels de la population...).

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet sera alimenté par des recherches bibliographiques sur les polluants et effets sanitaires pertinents à la pollution de l'air intérieur et extérieur, sur les fonctions exposition-réponse (études épidémiologiques) et les valeurs monétaires des effets sanitaires disponibles. Ce travail tiendra également compte des études du coût de la pollution de l'air intérieur et extérieur existantes en France et en Europe et des outils d'analyses et de monétarisation d'impacts sanitaires de la pollution de l'air extérieur déjà mis en œuvre par les membres du consortium.

L'analyse tiendra ainsi compte de coûts tangibles (coûts du traitement médical, pertes de productivité) et intangibles (consentement à payer), en veillant à éviter les double comptages.

La disponibilité des données d'exposition de la population française (base de données MTUS (Multinational Time Use Study) , données françaises) sera évaluée.

Si besoin les données disponibles à l'INERIS sur la qualité de l'air extérieur et à l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI) seront sollicitées.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ineris, DRC/DECI/EDEN - Verneuil en Halatte

Responsable de l'équipe : Mme Simone Schucht

Equipe 2 : CNRS-GREQAM - Marseille

Responsable de l'équipe : M. Olivier Chanel

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 43 177 € TTC

Résumé DAVINYLAIR - 2016_1_235

Responsable scientifique : M. Laurent Martinon

Organisme : LEPI / Département de Paris - Paris

1. Titre

Projet complet

30 mois

Etude des expositions professionnelles, domestiques et environnementales aux fibres d'amiante en liaison avec les procédures d'entretien de dalles de sol vinyle amiante et avec la granulométrie des fibres émises

2. Questions à la recherche

FMIN 2 - Fibres courtes d'amiante : Mécanismes d'action, biopersistence, génotoxicité et études des expositions professionnelles.

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 ce projet est de documenter les expositions professionnelles, domestiques et environnementales aux fibres d'amiante durant les opérations d'entretien de dalles de sol vinyle amiante (DVA) en liaison avec la présence de fibres réglementaires (FRg ; longueur L supérieure à 5 microns) et de fibres courtes d'amiante (FCA ; L<5 microns).

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

Il existe très peu de données sur les émissions de fibres générées lors de l'entretien périodique des DVA, sur les expositions des personnels effectuant ces tâches avec des outils mécanisés (monobrosses équipées de disques abrasifs) et sur les contaminations environnementales des locaux concernés. Pourtant, ce matériau, en place depuis des dizaines d'années, est l'un des plus répandus aujourd'hui en France dans les bâtiments publics (hôpitaux, écoles, crèches, ...) ou privés (bureaux, logements) couvrant des surfaces considérables, avec des états de dégradation allant d'un bon état à une fragmentation avancée de la dalle.

Argumentation du choix des questions

- Fibres courtes d'amiante : Etudes des expositions professionnelles.
- Air. 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.

Le Laboratoire d'Etude des Particules Inhalées (LEPI) a pu mettre en évidence, au cours d'une première étude (1) sur deux sites, lors d'opérations de décapage et de lustrage à la monobrosse, des niveaux d'empoussièrement en FRg proches de la valeur limite d'exposition professionnelle de 10 fibres par litre (f/l). L'exposition professionnelle lors de ces opérations d'entretien, l'exposition des publics présents à proximité (scolaires, patients hospitalisés, employés) ou encore l'exposition domestique des occupants de logements avec des DVA au cours de leurs activités de ménage peuvent être la source de problèmes de santé publique jusqu'alors non considérés. La nécessité de documenter ces expositions est grande, d'une part au vu du nombre de personnes potentiellement exposées, et d'autre part du fait de l'incertitude sur les niveaux d'exposition passés.

En plus des FRg, ces dalles de sol émettent aussi des FCA qui ne sont pas prises en compte par la réglementation et ne sont donc pas recherchées. L'AFSSET a pourtant, dans son rapport de 2009 sur « les fibres courtes et longues d'amiante », rappelé que les DVA faisaient partie des matériaux les plus émissifs en FCA, et recommandé, compte tenu de l'incertitude sur leur toxicité, l'acquisition de données d'exposition, notamment professionnelle.

Le projet se propose de suivre, lors d'opérations d'entretien de DVA (lavage, décapage, lustrage, ...), les expositions des travailleurs ainsi que les contaminations environnementales, afin de répondre aux questions

suivantes : les personnels d'entretien sont-ils exposés, doivent-ils être protégés, ces opérations doivent-elles se dérouler en l'absence de public ? Il s'agira également de mesurer les expositions durant des opérations de décapage à sec a priori proscrites mais qui ont prévalu par le passé et qui peuvent encore se produire avec du personnel mal formé. La simulation de ces expositions anciennes est essentielle pour permettre au médecin du travail d'estimer les expositions cumulées, carrière entière, des salariés et de décider des modalités de surveillance post-exposition ou post professionnelle à leur proposer.

L'étude s'intéressera aussi aux expositions domestiques. En effet, une étude menée avec le CSTB (2) a montré que l'on retrouvait dans 30 % des logements ayant des DVA la présence de FCA dans l'air et dans 15 % des cas la présence de FRg, avec parfois des concentrations élevées. Le projet se propose de documenter quelle exposition subissent les occupants de logements avec des DVA au cours de leur ménage (balayage à sec, aspiration, ...).

(1) : MARTINON L. Etude de l'émission de fibres d'amianté lors de l'entretien de dalles de sol en vinyle amianté. Etude pour la Direction Générale de la Santé. Mars 2014.

(2) : MANDIN C. et CHAVENTRE F. Fibres courtes d'amianté : étude exploratoire dans différents lieux de vie. Centre Scientifique et Technique du Bâtiment. Octobre 2014.

Description des méthodes mises en œuvre

Les prélèvements d'air seront analysés en Microscopie Electronique à Transmission Analytique avec la mesure des FRg et des FCA. Le LEPI est accrédité pour ces analyses et dispose des compétences et de l'équipement nécessaires.

Le projet se déroulera sur 30 mois avec 5 sites faisant l'objet d'opérations d'entretien mécanisé (25 prélèvements/site environ) et 5 logements avec des opérations de ménage classique (10 prélèvements/site). Ces sites seront sélectionnés avec l'aide de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie Ile de France (CRAMIF) qui mettra à profit ses contacts avec des entreprises de propreté et des maitres d'ouvrage.

Les données de concentrations en FRg seront comparées aux valeurs réglementaires du Code du Travail et du Code de la Santé Publique. Les données en FCA permettront de proposer une valeur de gestion actuellement inexistante, permettant de situer les niveaux d'empoussièremment en FCA rencontrés.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : LEPI / Département de Paris - Paris

Responsable de l'équipe : M. Laurent Martinon

Equipe 2 : Cramif - Paris

Responsable de l'équipe : M. Hervé Clermont

Equipe 3 : Syrta - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Vio

Equipe 4 : Université Bordeaux Segalen Centre Inserm U897 - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. Patrick Brochard

Equipe 5 : Unité de Pathologie professionnelle Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil

Responsable de l'équipe : M. Jean-Claude Pairon

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 129 896 € TTC

Résumé ECLAIR - 2016_2 RF_023

Responsable scientifique : M. Francesco Andriulli

Organisme : Institut Mines Telecom - Telecom Bretagne, Département Micro-ondes - Brest

1. Titre

Projet complet

36 mois

sourcEs pré-déformées pour des analyses haute résolution de l'impacT du rayonnement radiofréquence sur L'Actlvité cérébRale

2. Questions à la recherche

RFES 2.1.1 - sur le sommeil, les rythmes circadiens

RFES 3.2 - Caractérisation clinique des symptômes fonctionnels (troubles du sommeil, troubles digestifs, etc.) des sujets EHS (par exemple par des mesures ou par l'élaboration de questionnaires ad hoc).

RFES 4.1 - Impact des changements organisationnels et des 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

Given the constant increasing of the presence of Radiofrequency (RF) radiating devices in citizens' lives, a challenging field which has been attracting an increasing interest in the last decade, is the investigation of the effects of RF radiation on the brain activity and on brain related functions (including sleeping dynamics, cognitive tasks, connectomics). A fundamental problem, however, always arises: when high resolution brain imaging is required, the imaging apparatus, often a high resolution electroencephalography device (EEG), is per se substantially shielding the brain from external radiation (acting as a partial Faradays' cage). For this reason, it is not nowadays possible to irradiate the brain at radiofrequency and, at the same time, performing a EEG measurement to assess the effects of such a RF radiation without substantially perturbing it. Currently, EEG measurements are only performed after RF radiation. This presents substantial drawbacks since filters out several effects that could occur on the brain neuronal activation frame-scale. The project ECLAIR will solve this substantial limitation of the current state of the art by investigating an innovative radiation source that, even in the presence of high resolution EEG devices, will pre-deform the radiated field and will radiate within the brain the same field that any device under test (a mobile phone for example) would radiate if the EEG cap were not there. This result will be obtained by attaining four macro-objectives: 1) the investigation and development of a measurement system for field assessment in the presence of a high resolution EEG cap. 2) the investigation and development of a computational environment that will calculate the necessary field deformation on an appropriately chosen equivalent surface. 3) The prototyping of an active array reproducing any arbitrary discrete distribution of Huygens degrees of freedom and capable of radiating the calculated deformed field in point 2). 4) A suitably designed validation protocol that would assess the functioning and impact of the innovative technology in clinical cases.

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

The results proposed by ECLAIR are original and ground-breaking because:

1) The technology developed by this project will offer for the first time the possibility of performing EEG measurements under radiofrequency radiation that would be exactly the same (as pertains RF dose, pattern and configuration in the brain) of the RF radiation that would be present in the brain without the EEG cap.

2) The technology developed by this project will provide an unequalled number of degrees of freedom in the characterization of the radiation source, allowing for simultaneous experiment in the presence of even very heterogeneous configurations of incident field.

3) This project will give the possibility to explore, for the first time ever, the impact of high-resolution (256 sensors) EEG imaging in concurrent RF-related neuro activity perturbation.

Argumentation du choix des questions

All the three questions selected will be substantially impacted from the objectives that ECLAIR will attain. In fact the possibility of performing EEG assessments in the presence of unperturbed RF fields will pave the way for a new generation of assessments of RF radiation impact on brain functioning that will be used for further studies in sleeping patterns and cognitive functions (Recherche d'effets physiologiques ou sanitaires des radiofréquences) in prolonged study protocols to explore EM sensitivity neuromarkers (Hypersensibilité électromagnétique) as well as in short and long term studies of brain related effects of commonly used radiating devices that the new technology will be able to perfectly reproduce (Effets des usages des nouvelles technologies).

Description des méthodes mises en œuvre

The investigation and development of a field assessment system in the presence of a EEG cap will be based on facilities available to the partnership including a 256 sensors high-res EEG, together with sensors and phantoms for the precise characterization of fields level. These elements will be integrated in unique measurement protocol for cross validation and interference suppression.

The investigation and development of a computational environment that will calculate the necessary field deformation on an appropriately chosen equivalent surface will also be based on the established expertise of several member of the partnership in EM modeling. A suitable numerical environment will be investigated for the fast treatment of advanced data structures. This will be combined with the EEG framework to inverse image the measured field and calculate the unique deformation necessary to obtain an unperturbed RF fields in the presence of the EEG cap.

The prototyping of an active array reproducing any arbitrary discrete distribution of Huygens degrees of freedom and capable of radiating the calculated deformed field will be obtained by exploring both active array sensors and metasurfaces. The partnership has a decennial experience in the prototyping of cutting edge radiating elements in RF technology.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Mines Telecom - Telecom Bretagne, Département Micro-ondes - Brest

Responsable de l'équipe : M. Francesco Andriulli

Equipe 2 : Telecom ParisTech, COMELEC/Chaire C2M - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 3 : Ineris, TOXI - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. René De Sèze

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 345 072 € TTC

Résumé E.D.ector - 2016_1_066

Responsable scientifique : M. Christophe Moreau

Organisme : Institut de Biologie Structurale, UMR 5075 - Grenoble

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Biocapteurs rapides et innovants de perturbateurs endocriniens basés sur des récepteurs couplés aux protéines G fusionnés à un canal ionique.

2. Questions à la recherche

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

ACHIM 3.3 - Développer des méthodes d'essai permettant d'identifier des perturbateurs endocriniens et/ou de mieux connaître leurs effets.

3. Résumé

Objectif détaillé

Préambule : Ce projet a été classé sur liste d'attente lors de l'appel à projet 2015. Les 2 points faibles rapportés (absence de résultats préliminaires et faiblesse du consortium) ont été rectifiés dans ce projet.

Les perturbateurs endocriniens (PE) affectent de nombreuses fonctions physiologiques (reproduction, développement, comportement,...). Leurs études reposent sur l'observation d'organismes en milieux exposés ainsi que sur l'action de ces composés au niveau de récepteurs, notamment les récepteurs nucléaires des hormones sexuelles du fait de l'homologie de structure de ces composés avec les hormones stéroïdiennes.

Notre projet est axé sur l'action des PE au niveau de récepteurs, non plus nucléaires, mais membranaires et appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Le projet a pour double objectif de 1) développer des biocapteurs innovants interfaçables avec des dispositifs micro-électroniques pour des analyses in situ d'échantillons et 2) l'identification à la fois de nouvelles cibles membranaires de PE et des PE les ciblant. Deux catégories de récepteurs seront utilisées dans ce projet : 1) les RCPG de stéroïdes (le récepteur GPER des œstrogènes et le récepteur PSGR olfactif spécifique de la prostate) et 2) les RCPG dépendants du cholestérol (le récepteur OXTR de l'ocytocine et le récepteur 5HT1a de la sérotonine). Les RCPG des stéroïdes tel que GPER sont des cibles connues de PE xéno-estrogéniques, cependant l'action de PE sur PSGR reste encore inexplorée. Les récepteurs dépendants du cholestérol (OXTR et 5HT1a) sont d'autres cibles potentielles des PE ayant une structure homologue au cholestérol (nonylphénol, Bisphénol A, ...).

La technologie qui sera utilisée pour créer des biocapteurs rapides de PE et pour caractériser leur action sur de nouvelles cibles membranaires se base sur des ICCR (Ion Channel-Coupled Receptor) [Moreau et al. Nature Nanotechnology 2008, 3:620]. Ces biocapteurs créés au sein de l'équipe 1 résultent de la fusion de RCPG avec un canal ionique générant un signal électrique en réponse à l'activité du récepteur. Agonistes, antagonistes et sensibilité au cholestérol sont détectés par cette technologie. Des développements sont en cours pour concevoir des dispositifs miniaturisés basés sur cette technologie.

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

L'originalité et le caractère innovant du projet se situent à 2 niveaux: 1) la caractérisation de nouvelles cibles potentielles (PSGR, OXTR, 5HT1a); 2) la technologie employée pour détecter l'action des PE.

1) Le choix de PSGR est fondé sur sa capacité à fixer des stéroïdes [Neuhaus et al. J Biol Chem 2009,284:16218] ainsi que sur sa localisation spécifique au niveau de la prostate et son implication dans le développement de métastases [Sanz et al. PloS one 2014, 9:e85110]. Le choix de OXTR et 5HT1a est lié à leur dépendance au cholestérol qui est structuralement homologue à nombre de PE. Ce choix est également fondé sur la constatation que les PE partitionnent dans la membrane plasmique pour ensuite atteindre les récepteurs nucléaires des stéroïdes. Ils se retrouvent par conséquent à proximité immédiate des RCPG et leur accumulation perturberait à terme la fixation du cholestérol sur ces récepteurs.

2) La méthode employée est également innovante. Les biocapteurs RCPG-canal ionique constituent une sonde de l'activité des RCPG à l'échelle moléculaire. Le signal électrique offre de nombreux avantages tels que: l'enregistrement du courant en temps réel, l'absence de marquage des composés, une indépendance de toute signalisation intracellulaire (réduction des faux-positifs), la capacité de s'interfacer avec la micro-électronique pour créer des dispositifs miniaturisés. Nos résultats préliminaires montrent que ces biocapteurs détectent la dépendance au cholestérol du récepteur OXTR avec une haute spécificité, le lanostérol ne pouvant remplacer le cholestérol malgré une forte similarité de structure.

Argumentation du choix des questions

Ce projet a pour objectifs: 1) de développer une méthode d'essai originale basée sur des biocapteurs RCPG-canal ionique; 2) de valider les récepteurs cibles (GPER, PSGR, OXTR et 5HT1a) comme biomarqueurs de l'effet spécifique de PE; et 3) d'identifier et de caractériser fonctionnellement des PE avérés et potentiels afin de mieux connaître leurs effets.

1) Ce projet est une étude de faisabilité de détection rapide (de l'ordre de la minute) de PE ciblant des récepteurs membranaires en utilisant des biocapteurs innovants. A plus long terme cette technologie conduirait à l'élaboration de dispositifs de micro-électronique miniaturisés pour la détection de composés in situ ou pour le criblage de nouveaux PE antagonistes de RCPG dépendants du cholestérol.

2) Les récepteurs membranaires sélectionnés sont soit spécifiques d'hormones stéroïdiennes, soit dépendants du cholestérol. Ils constituent de fait des marqueurs pour détecter des PE mimant les stéroïdes. L'action de ces composés sur ces cibles membranaires constituerait une découverte en adéquation avec les symptômes liés aux récepteurs cibles et ceux potentiellement imputables à des PE (autisme, anxiété, dépression).

3) Des PE avérés tel que le Bisphénol A et le nonylphénol seront utilisés pour valider l'approche méthodologique et les cibles choisies. Le projet s'orientera ensuite vers la validation de cette approche pour l'identification et la caractérisation de nouveaux PE.

Description des méthodes mises en œuvre

Succinctement, les méthodes mises en œuvre sont:

- Ingénierie des ICCRs (Equipe 1)
- Caractérisation électrophysiologique de l'action des PE avec l'automate Hi-Clamp (1)
- Validation sur cellules de mammifères (imagerie calcique, tests d'invasion cellulaire) (2).

Le planning simplifié est:

1ère année: Identification et caractérisation de PE sur GPER et PSGR

2ème année: Elargissement aux RCPG dépendants du cholestérol

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut de Biologie Structurale, UMR 5075 - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Christophe Moreau

Equipe 2 : Inra, Unité NBO - Jouy-en-Josas

Responsable de l'équipe : Mme Guenhaël Sanz

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé ELFES - 2016_2 RF_021

Responsable scientifique : Mme Monica Guxens

Organisme : CREAL, Child Health programme, Radiation programme – Barcelona, Espagne

1. Titre

Projet complet

36 mois

Étude Longitudinale à radioFréquences Et problèmes du Sommeil chez les enfants

2. Questions à la recherche

RFES 2.2.2 - sur les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil liées aux radiofréquences.

RFES 2.2.3 - sur des populations potentiellement les plus sensibles aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes, sujets âgés) ou particulièrement exposées (travailleurs)

RFES 2.2.4 - avec une caractérisation de l'exposition des populations cibles la plus précise possible (données opérateurs par exemple).

3. Résumé

Objectif détaillé

The ELFES project aims to evaluate the complex longitudinal association between radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) exposure and sleep problems in children. Specific objectives are:

1) To characterize total RF-EMF brain and whole-body exposure levels and use of wireless communication devices during different exposure windows in children

2) To characterize sleep patterns and quality using objective, accurate, and detailed measurements in children

3) To assess the longitudinal associations between RF-EMF exposure, use of the wireless communication devices, and sleep problems in children

4) To assess the mediating role of sleep in the longitudinal association between RF-EMF exposure and cognitive function and behavior problems in children

To achieve these objectives we will collect new detailed personal data on RF-EMF exposure, sleep problems, cognitive function, and behavior problems from 2,000 children aged 11-13 years and combine it with existing longitudinal data collected at previous time points in two prospective birth cohorts, the Spanish INMA Project and the Dutch GENERATION R Study.

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

Research on the association between RF-EMF exposure and sleep problems is scarce especially in children. No previous studies have assessed this association longitudinally, have defined different exposure windows that might be relevant for sleep (e.g. day, bed-time, night), have used an objective measure of sleep, or have linked this association to cognitive function or behavior problems.

Original and novel aspects of the project are: i) the complete, detailed, objective, and longitudinal characterization of both exposure (RF-EMF) and outcome (sleep); ii) the disentanglement between the effects related to the use of wireless communication devices (e.g. blue light exposure, arousal) and those related to the RF-EMF exposure levels; iii) the investigation on the mediating role of sleep on the association between RF-EMF exposure and cognitive function or behavior problems. The ELFES project builds upon two of the few unique studies with longitudinal data on RF-EMF exposure, sleep problems, cognitive function, and behavior problems collected at early childhood which will allow to explore this complex longitudinal association up to early adolescence at reasonably low cost.

Argumentation du choix des questions

Childhood and early adolescence are sensitive periods for studying the association between RF-EMF exposure and sleep problems. The use of wireless communication devices increases dramatically during childhood (e.g. from 33% at 10 years to 83% at 14 years). Sleep problems in children are common (20-40%) and have been associated with poor school performance, cognitive impairment, and behavior problems. Priorities should be focused on the characterization of total RF-EMF brain and whole-body exposure at different exposure window periods relevant for sleep, as well as on understanding if the potential association between RF-EMF exposure and sleep problem is due to the RF-EMF exposure levels from personal, indoor sources, and outdoor sources or to the use of wireless communication devices themselves. Studies should also include a reliable and accurate characterization of sleep patterns and quality using objective measures which are independent of perceived sleep problems, more prone to measurement error.

Description des méthodes mises en œuvre

The ELFES Project will use two prospective population-based birth cohort studies, the Spanish INMA Project (n=657) and the Dutch GENERATION R Study (n=9,779). Children were examined at several time points since birth where data on RF-EMF exposure, sleep, cognitive function, and behavior problems was collected.

GENERATION R is currently performing a new data collection in a sub-sample of 1,500 children at 10-13 years old including a detailed characterization of sleep, cognitive function, and behavior problems. The ELFES project will include the collection of RF-EMF exposure data in the GENERATION R sub-study, as well as the collection of new data on RF-EMF exposure, sleep, cognitive function, and behavior problems in all INMA participants at 10-13 years old.

New RF-EMF characterization (as part of ELFES for both cohorts) will include: i) Mobile sources based on detailed data on use of wireless communication devices for the child and for people close to the child; ii) Residential outdoor and indoor stationary sources based on a geospatial radio wave propagation model NISMap and on data on cordless phone base stations and WiFi access points; iii) Combination of mobile and stationary sources into the estimation of the total RF-EMF brain and whole-body exposure at different exposure windows (day, bed-time, night).

New sleep characterization (funded outside ELFES for GENERATION R and as part of ELFES for INMA) will include objective measures of sleep patterns and quality for 1 week using actigraphy, as well as maternal and child reported questionnaire data on sleep problems.

Objective computerized tests of cognitive function, maternal reported behavior problems, and new relevant confounding variables (e.g. noise exposure, light exposure, chaotic family circumstances) will also be collected (funded outside ELFES for GENERATION R and as part of ELFES for INMA).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CREAL, Child Health programme, Radiation programme – Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Monica Guxens

Equipe 2 : Telecom ParisTech, COMELEC/Chaire C2M - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 3 : Erasmus University Rotterdam, Department of Psychology, Education and Child Studies – Pays-Bas

Responsable de l'équipe : Mme Maartje Luijk

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 561 € TTC

Résumé ENORPREG - 2016_1_027

Responsable scientifique : Mme Anne Tarrade

Organisme : INRA UMR 1198- Unité de Biologie du Développement et Reproduction - Jouy-en-Josas

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition maternelle aux nanoparticules d'or : impact sur la progéniture durant la gestation

2. Questions à la recherche

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

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

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Les nanoparticules (NP) d'or entrent dans la composition de nombreux produits (dentifrices, colorants alimentaires, emballages alimentaires, boissons, lubrifiants, pots catalytiques, climatiseurs et produits biomédicaux utilisés dans la délivrance de médicaments). Par conséquent, la population générale mais aussi des travailleurs des secteurs de l'agroalimentaire, des cosmétiques et de l'industrie sont de plus en plus exposés à ces NP. Si des modèles animaux ont été générés afin d'étudier la réponse physiologique aux effets directs de l'exposition aux NP d'or, l'impact indirect au cours de la gestation sur le développement fœtal, d'une part, et sur le placenta, agent programmeur du développement et de la croissance fœtale d'autre part, reste peu pris en compte, en particulier en cas d'inhalation ou d'ingestion de ces NP. Au cours d'expériences préliminaires, notre consortium a déjà montré, en fin de gestation chez la lapine, un passage transplacentaire de NP d'or (PM 10-20nm) après une courte inhalation maternelle (données non publiées).

Notre objectif est d'évaluer l'impact de l'exposition aux NP d'or, par inhalation ou ingestion, au cours de la gestation sur le développement fœto-placentaire avec un intérêt majeur pour la fonction placentaire. Pour cela, des expositions répétées aux NP d'or soit par inhalation ou par ingestion seront réalisées chez des lapines gestantes tout au long de la gestation, afin de i/ déterminer les conséquences de cette exposition sur l'unité fœto-placentaire via un suivi échographique de la gestation et par des mesures biométriques en fin de gestation, ii/ d'établir une cartographie de la distribution des NP dans l'organisme maternel, le fœtus et le placenta par microscopie électronique à transmission et par des dosages de NP d'or dans les fluides biologiques et les tissus, iii/ de déterminer l'impact des NP d'or sur l'expression des gènes placentaires par une étude du transcriptome, iv/ d'évaluer si les NPs induisent des altérations de l'ADN dans différents tissus materno-fœtaux, v/ d'établir un lien entre l'exposition aux NP, la distribution tissulaire des NP et l'expression des gènes placentaires, via une approche intégrative et de modélisation de l'ensemble des données.

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

Contrairement à la plupart des études où les effets des NP sur les animaux en gestation sont évalués après injection intraveineuse, ce projet compare l'inhalation et l'ingestion, voies principales d'exposition des travailleurs et de la population générale.

Peu d'études ont été menées sur les effets de l'exposition maternelle aux NP sur le conceptus et elles n'incluent aucune analyse comparative entre ces 2 voies d'exposition.

L'utilisation de NP manufacturées d'or est pertinente car elles sont utilisées par différents secteurs industriels et retrouvées dans de nombreux produits de consommation.

Notre connaissance du modèle lapin et notre expertise en imagerie médicale permettent d'entreprendre un suivi échographique du développement fœto-placentaire tout au long de la gestation. Enfin, la placentation chez cette espèce est hémochoriale comme celle du placenta humain.

Argumentation du choix des questions

Ce projet permettra de comparer deux modes de contamination au cours de la gestation et d'identifier la voie de contamination maternelle la plus à risque pour le développement fœto-placentaire en dosant les NP d'or dans les fluides biologiques et les tissus.

Ce programme établira une cartographie précise de la biodistribution des NP d'or en fin de gestation, puisqu'il est possible de les visualiser par microscopie électronique à transmission dans les tissus materno-fœtaux. De plus, ce projet déterminera si ces NP sont capables d'induire des altérations de l'ADN dans différents tissus materno-fœtaux ainsi que des dérégulations géniques dans le tissu placentaire et donc de perturber la croissance fœtale. Enfin, une approche intégrative et de modélisation des données contribueront à une meilleure évaluation des risques de l'exposition maternelle aux NP sur la descendance.

Description des méthodes mises en œuvre

1-Exposition répétée des lapines gestantes aux NP par inhalation ou ingestion (RIVM-BDR) tout au long de la gestation

Calendrier: 0-6 mois

2-Suivi du développement fœto-placentaire par échographie et prélèvements maternels et fœto-placentaires à 28 jours de gestation (BDR)

Calendrier: 0-6 mois

3-Analyses placentaires:

Quantification des NP d'or (RIVM)

Analyses transcriptomiques (BDR)

Analyses ultrastructurales (BDR)

Calendrier: 4-18 mois

4-Analyses des tissus maternels et fœtaux:

Quantification des NP d'or dans les fluides biologiques et les tissus (RIVM)

Analyses ultrastructurales des tissus (BDR)

Analyse des réponses génotoxiques sur différents tissus (Anses)

Calendrier: 4-24 mois

5-Intégration des données et modélisation (PSGen)

Calendrier: 18- 28 mois

6-Communications et publications

Calendrier: 24-36 mois

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inra UMR 1198 - Unité de Biologie du Développement et Reproduction - Jouy-en-Josas

Responsable de l'équipe : Mme Anne Tarrade

Equipe 2 : Inra Domaine de Vilvert - Jouy en Josas

Responsable de l'équipe : Mme Véronique Duranthon

Equipe 3 : Inra - Jouy en Josas

Responsable de l'équipe : Mme Florence Jaffrezic

Equipe 4 : Dutch National Institute for Public Health and the N - Bilthoven

Responsable de l'équipe : M. Flemming R. Cassee

Equipe 5 : Anses - Laboratoire de Fougères - Javené

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Fessard

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 314 € TTC

6. Commentaire

La grossesse est un état physiologique peu pris en compte dans l'évaluation des risques liés à l'exposition environnementale et notamment en termes de contamination par les nanoparticules (NP). Le projet « ENORPREG », proposé par un consortium qui a déjà travaillé ensemble (projets ANR et ERC), a pour objectif d'évaluer les effets d'une exposition aux NP d'or, au cours de la gestation, sur l'unité foeto-placentaire. En effet, ces NP sont utilisés dans le secteur industriel mais également dans l'alimentation, les amalgames dentaires, le tabac et les produits pharmaceutiques.

Pour cela, nous avons choisi d'utiliser un modèle lapin dont la placentation est proche de celle de l'espèce humaine et comme voies d'exposition « l'inhalation et l'ingestion » qui constitue les voies principales de contamination, respectivement des travailleurs et de la population générale. Les NP ultrafines étant celles qui pénètrent facilement dans l'organisme, nos expériences impliquent l'utilisation de NP d'or (5nm), utilisées dans l'agro-alimentaire et l'industrie.

Grâce à des dosages de ces NP et des approches de microscopie électronique à transmission, une cartographie précise de la biodistribution des NP dans les tissus foeto-maternels et les fluides biologiques sera établie, ainsi qu'une évaluation de la génotoxicité des NP chez la mère et la descendance. Ce projet propose également une étude unique des effets des NP d'or sur le trophoblaste au cours de la gestation via de l'histologie, de l'analyse ultrastructurale et de la transcriptomique. Il inclut une approche intégrative et de modélisation des données qui permettra de faire le lien entre l'exposition aux NP, la distribution tissulaire des NP et les signatures placentaires spécifiques. Ces différents axes de recherche proposés démontrent que le projet ENORPREG répond aux propositions NANO-1, -3 et -4 de l'ANSES et contribuera efficacement à évaluer la toxicité fœtale et à l'élaboration de recommandations auprès des pouvoirs publics

Résumé EXOCELL - 2016_1_031

Responsable scientifique : Mme Odile Sergent

Organisme : UMR IRSET Inserm 1085 - Rennes

1. Titre

Etude de faisabilité

18 mois

Les vésicules extracellulaires, nouveaux biomarqueurs précoces d'un excès de risque de cancers suite à une exposition à des polluants de l'environnement

2. Questions à la recherche

CANC 3 - Identification et/ou validation de biomarqueurs associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales professionnelles, d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

Notre objectif est d'identifier de nouveaux biomarqueurs non invasifs révélateurs d'un risque accru de développer un cancer hépatique suite à une exposition à des polluants environnementaux (famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)). En effet, chez la souris, l'agression chronique du foie associant une mort récurrente des hépatocytes est bien décrite pour conduire ultérieurement au développement de cancer hépatique par prolifération compensatoire. Notre hypothèse est que ces cellules agressées peuvent provoquer la libération de vésicules extracellulaires (exosomes et microparticules) présentant des caractéristiques spécifiques à l'exposition aux HAP et à l'agression du foie. En effet, ces vésicules peuvent présenter des changements en taille, fluidité membranaire, composition lipidique et protéique ou autres caractéristiques biochimiques qui sont le reflet des modifications et dommages subis par l'hépatocyte agressé par les polluants environnementaux. En outre, ces hépatocytes peuvent aussi relarguer des signaux capables d'activer d'autres cellules du foie, notamment les cellules endothéliales sinusoidales qui sont des acteurs majeurs dans la production de vésicules et donc des révélateurs indirects de l'agression des hépatocytes. Par conséquent, nous souhaitons savoir 1) si des vésicules extracellulaires sont produites par les hépatocytes et les cellules endothéliales sinusoidales sous l'effet des polluants 2) si des modifications biophysiques et biochimiques de ces vésicules peuvent être envisagées sous l'effet de ces polluants 3) si l'hépatocyte agressé peut favoriser la libération de vésicules par la cellule endothéliale sinusoidale.

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

L'intérêt de cette étude est d'envisager la mise en évidence de biomarqueurs précoces et non invasifs de risque de cancer induits par les polluants. A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée à ce jour concernant la production de vésicules extracellulaires par un tissu sous l'effet des HAP. L'originalité réside également dans l'association de caractéristiques biophysiques à des données biochimiques apportant de la précision à la réponse. En ce qui concerne les marqueurs lipidiques ou les données biophysiques des vésicules provenant d'hépatocytes, aucune étude n'a été réalisée à ce jour.

Argumentation du choix des questions

L'étude des modifications biochimiques et biophysiques des vésicules extracellulaires sous l'effet des toxiques, en distinguant celles liées à l'exposition de celles dues à la cytotoxicité, permettra de définir des biomarqueurs, significatifs d'une cytotoxicité, préalable au développement ultérieur de cancer. Nous étudierons une famille de polluants cancérigènes à des degrés divers, celle des HAP, dans le but de mettre en évidence de biomarqueurs communs ou non. En fonction des résultats de cette étude de faisabilité,

l'évaluation pourra être étendue, notamment à des échantillons humains (sang et/ou urine) provenant de cohortes parfaitement caractérisées en collaboration avec le service d'hépatologie du CHU de Rennes (Resp. Dominique Le Guyader).

Description des méthodes mises en œuvre

Nous utiliserons 4 modèles cellulaires : les hépatocytes primaires de rat, déjà décrits pour l'étude de la production de vésicules par certains xénobiotiques ; la lignée d'hépatocytes WIF-B9, très différenciée, nous permettant d'étudier les toxiques à faible dose; la lignée de cellules endothéliales sinusoïdales TRP3 et la lignée HMEC-1. Seront envisagés 4 polluants de la famille des HAP, appartenant à des groupes différents dans la classification par le CIRC des substances cancérigènes et présentant des affinités variables pour le récepteur AhR, fortement impliqué dans la cytotoxicité : le benzo(a)pyrène, le dibenz(a,h)anthracène, le benzanthracène et le pyrène. Pour les composés non encore connus de notre laboratoire, nous rechercherons les temps de traitements pour les concentrations étudiées induisant ou pas la mort des hépatocytes. Les exosomes et les microparticules seront ensuite isolés par centrifugation différentielle à partir des hépatocytes puis nous étudierons leur quantité, taille et morphologie à l'aide de différentes techniques expérimentales (DLS : Dynamic Light Scattering, MET : microscopie électronique en transmission, RMN : résonance magnétique nucléaire). Cette première partie devrait durer 3 mois. Durant les 9 mois suivants, nous chercherons à savoir si les composés étudiés entraînent des modifications d'expression de protéines et d'ARNm en choisissant les marqueurs déjà décrits pour d'autres toxiques du foie. Des modifications concernant la biochimie des lipides seront également recherchées (spectrométrie UV/VIS, RMN). En parallèle, nous déterminerons des variations de fluidité membranaire par résonance paramagnétique électronique (RPE). Pendant cette période d'investigation, nous étudierons également l'effet des contaminants sur les vésicules issues des cellules endothéliales afin de préparer l'étape suivante (durée de 6 mois), qui consistera à mettre en évidence une éventuelle réponse de ces cellules au milieu conditionné par les hépatocytes exposés au préalable aux polluants.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : UMR IRSET Inserm 1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Odile Sergent

Equipe 2 : Université de Rennes 1, ISCR, Plateforme PRISM

Responsable de l'équipe : Mme Mouret Liza

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 972 € TTC

Résumé GENO-RF-3D - 2016_2 RF_007

Responsable scientifique : Mme Katia Grenier

Organisme : CNRS, LAAS UPR 8001 - Toulouse

1. Titre

Projet complet

24 mois

Evaluation des effets génotoxiques de l'exposition chronique aux radiofréquences sur microtissus en 3D

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet interdisciplinaire s'inscrit dans la problématique de l'étude in vitro des réponses cellulaires et moléculaires à l'exposition aux radiofréquences (RF). L'objectif est d'évaluer, grâce à une métrologie rigoureuse, l'effet d'une exposition chronique aux RF sur l'intégrité génomique de modèles in vitro de microtissus 3D. Ce projet s'appuie sur la combinaison 1) d'une instrumentation de microdosimétrie précise et reproductible déjà mise en place et validée, qui comprend des microdispositifs RF adaptés à l'exposition calibrée d'objets biologiques sub-millimétriques et 2) de modèles de microtissus 3D produits à partir de lignées cellulaires génétiquement modifiées et permettant la détection d'effets aneugènes (modification du caryotype) ou clastogènes (dommages à l'ADN). Le projet a pour but 1) d'explorer un large panel de modalités d'exposition (durée, fréquence, puissance, modulation) et 2) de mener les études pour connaître l'impact potentiel d'exposition chronique aux RF sur l'intégrité du génome.

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

L'originalité de l'approche repose d'une part sur l'ingénierie de microtissus qui reproduisent in vitro la réalité physiologique des interactions intercellulaires et de l'organisation 3D d'un tissu. De nombreux travaux soulignent l'intérêt de l'utilisation de modèles de culture en 3D et démontrent en particulier qu'ils sont prédictifs de la réponse in vivo aux radiations ionisantes. Ces microtissus sont donc très pertinents pour l'évaluation des effets génotoxiques des RF. Des lignées cellulaires modifiées génétiquement pour exprimer des marqueurs fluorescents de l'ADN et des rapporteurs de dommages à l'ADN sont disponibles et seront utilisées pour produire des microtissus. D'autre part, nous avons élaboré à l'aide des microtechnologies des dispositifs miniatures RF focalisant de manière calibrée l'énergie électromagnétique sur les objets biologiques submillimétriques considérés. Ainsi, le consortium pluridisciplinaire mis en place vise à capitaliser ces innovations technologiques et biologiques afin de répondre aux questions posées par une nouvelle métrologie qui, contrairement à la très grande majorité des études réalisées sur des organes, tissus ou culture cellulaire en 2D (en monocouche) de taille centimétrique, garantit une grande maîtrise/reproductibilité des expositions réalisées (dosimétrie) et des conditions expérimentales.

Argumentation du choix des questions

Le maintien de l'intégrité du génome est primordial pour prévenir l'apparition de cancers. Il a été suggéré dans différentes études menées in vitro ou in vivo que le stress oxydatif induit par les RF soit responsable de lésions de l'ADN mitochondrial et nucléaire. Pourtant la diversité et le caractère souvent très contradictoire des résultats publiés imposent que cette question majeure soit examinée avec le plus grand soin dans des conditions parfaitement calibrées, contrôlées et systématisées. Notre projet associe des compétences interdisciplinaires dans les domaines des RF, microingénierie et de la biologie du cancer pour

exploiter une métrologie robuste et sensible permettant d'explorer les réponses cellulaires et moléculaires à l'exposition aux RF dans des conditions techniquement parfaitement calibrées et sur un modèle multicellulaire pertinent au regard de la question biologique posée.

Description des méthodes mises en œuvre

Cette étude fait suite à un projet ITMO Cancer et Environnement portant sur la mise en place d'une métrologie d'évaluation des effets des ondes RF sur l'intégrité de l'ADN. Ont été validés des lignées cellulaires exprimant des marqueurs et rapporteurs fluorescents, la production de microtissus 3D à partir de ces lignées, ainsi qu'une métrologie rigoureuse d'exposition RF adaptée à l'échelle des microtissus.

Le projet vise l'étude (avec répétition des expériences pour assurer une puissance statistique suffisante) des effets clastogènes et aneugènes sur des microtissus soumis à des paramètres d'exposition variables en 1) durée d'exposition (1h à plusieurs jours; continue ou chronique), 2) puissance incidente, 3) fréquence et 4) type de modulation.

M0-M9: Extension du système d'exposition à des durées d'exposition longues : mise en place d'un environnement contrôlé en température et CO₂, maintien des microtissus en milieu de culture, connectique des microdispositifs. Validation avec témoins positifs et négatifs.

M10-24: Evaluation des dommages à l'ADN: Définition et réalisation du plan d'expérience avec une stratégie d'analyse haut débit (réseau de microdispositifs RF) suivant les 4 paramètres RF. Détection de micronoyaux et/ou de lésions de l'ADN par fluorescence post-exposition-RF. Etude statistique des résultats en terme d'effet génotoxique et interprétation.

M18-M24: Si des dommages à l'ADN sont observés: Travaux de caractérisation des mécanismes impliqués. Utilisation de microtissus produits à partir de lignées cellulaires déficientes pour les mécanismes de réparation. Utilisateurs de piègeurs d'espèces réactives. Si aucun dommage n'est observé, élargissement du panel de modalités d'exposition RF.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CNRS, LAAS UPR 8001 - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Katia Grenier

Equipe 2 : CNRS-Université de Toulouse, Institut des Technologies Avancées en Sciences du Vivant - Toulouse

Responsable de l'équipe : M. Bernard Ducommun

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé GEOCAP-BIRTH - 2016_1_161

Responsable scientifique : Mme Jacqueline Clavel

Organisme : Inserm U1018 - CESP Equipe d'Epidémiologie Environnementale des Cancers - Villejuif

1. Titre

Projet complet

36 mois

GEOCAP-BIRTH - Environnement à la naissance et risque de cancer chez l'enfant

2. Questions à la recherche

RNIO 3.2 - Etudes des effets de l'exposition à long terme des populations potentiellement les plus exposées aux lignes à haute tension sur leur lieu de résidence.

PEST 2.1 - Caractériser le lien entre l'exposition et l'impact des pesticides sur la santé humaine, identifier les incertitudes en vue de les quantifier et de les prendre en compte, et proposer des recherches sur les techniques et les pratiques permettant de réduire cet impact.

CANC 5 - 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'objectif général du projet est la recherche des facteurs de risque environnementaux des cancers de l'enfant. Il concerne des expositions estimées au lieu de résidence de l'enfant à la naissance afin de se rapprocher le plus possible des expositions de la période prénatale, fenêtre temporelle déterminante pour la cancérogénèse. Il cible les leucémies, les tumeurs cérébrales et les tumeurs embryonnaires, qui surviennent précocement et pour lesquels de plus en plus d'évènements génétiques acquis en période prénatale sont identifiés. Il concerne des expositions environnementales estimées par géolocalisation et modélisation à l'échelle nationale, en particulier les expositions aux activités agricoles et aux pesticides liés à ces activités, les expositions au trafic routier et aux polluants aériens qu'il génère, les expositions aux lignes à haute tension et les expositions aux radiations ionisantes d'origine naturelle.

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

Le projet GEOCAP-BIRTH constitue un outil unique, complémentaire de notre étude GEOCAP au moment du diagnostic. Il a pour principaux atouts (1) d'être exempt de biais de participation et de biais de mémoire, (2) de s'appuyer sur le Registre National des Cancers de l'Enfant et de disposer d'une caractérisation fiable et standardisée des cas, (3) d'être réalisé à l'échelle nationale, ce qui lui permet de couvrir les contrastes du territoire et d'accéder aux meilleures conditions de puissance, (4) de bénéficier de l'expertise complémentaire de plusieurs équipes spécialisées dans des expositions environnementales.

Argumentation du choix des questions

Le choix des problématiques sur le cancer est inhérent à l'activité de recherche de l'équipe EPICEA du CRESS. Les expositions aux activités agricoles sont ciblées en raison des soupçons accumulés depuis plusieurs décades sur le risque de leucémie et de tumeur cérébrale et l'utilisation maternelle de pesticides. Les expositions au trafic routier sont notamment responsables d'expositions environnementales au benzène et semblent impliqués dans le risque de leucémie chez l'enfant. Enfin, les lignes à haute tension sont une source majeur de champ magnétique à extrêmement basse fréquence, possiblement impliqués dans le risque de leucémies chez l'enfant.

Description des méthodes mises en œuvre

- Population : GEOCAP-BIRTH est une étude cas-témoins nationale basée sur le Registre National des Cancers de l'Enfant. Elle découle de l'étude de faisabilité GEOCAP-PAST soutenue par l'ANSES à l'appel d'offres de 2013. Les cas sont les enfants atteints d'un cancer diagnostiqué depuis le 1/1/2010 et nés à partir de cette date. Les témoins sont des enfants nés depuis le 1/1/2010, échantillonnés par l'Insee pour être représentatifs des naissances françaises. L'étude inclura environ 3400 cas et 7000 témoins.

- Adresses à la naissance: Les résidences des cas à la naissance seront identifiées grâce à l'obtention de leurs actes de naissance auprès des mairies où les naissances ont été déclarées, sur autorisation des procureurs. Les adresses des témoins seront obtenues auprès des fichiers d'état civil.

- Geocodage: Les résidences à la naissance des cas et des témoins seront géolocalisées par un prestataire collaborant avec l'équipe depuis plusieurs années, suivant les procédures mises au point dans le cadre du projet GEOCAP.

- Evaluation des expositions : Les expositions sont affectées aux résidences à l'aveugle du statut cas ou témoin. Les expositions reposent sur des évaluations de distances et de densité d'une part (lignes à haute tensions, routes, cultures) et sur des modèles quantitatifs d'exposition (pollution atmosphérique, radiations ionisantes). L'évaluation des expositions aux activités agricoles et aux pesticides repose sur un partenariat avec Cécile Chevrier à l'IRSET (Inserm U1085), déjà impliquée dans le projet POPEYE financé par l'ANSES en 2013, et avec l'InVS (DSE Perrine de Crouy). L'exposition aux polluants liés au trafic s'appuiera sur un partenariat avec Bénédicte Jacquemin, de l'unité VIMA (Inserm U1168), avec le DSE de l'InVS (Sylvia Medina) et avec ATMO-France (partie soutenue par l'ARC dans le cadre du projet OCAPOL). L'exposition aux radiations ionisantes d'origine naturelle, est estimée en collaboration avec l'IRSN selon des procédures mises au point dans le cadre de GEOCAP.

- Analyse statistique : pour chaque cancer, elle reposera sur des modèles logistiques ajustés sur l'âge et les caractéristiques socio-économiques de la commune de résidence. Les effets conjoints des expositions seront également analysés.

Calendrier

Année 1 : Echantillonnage des cas et des témoins, recueil des adresses à la naissance des cas, géocodages et contrôles de qualité- Cartographie des expositions aux activités agricoles et des pesticides- Cartographie des expositions aux polluants liés au trafic

Année 2 : Cartographie des expositions aux activités agricoles et aux pesticides (suite) - Cartographie des expositions aux polluants liés au trafic (suite) - Expositions aux lignes HT - Analyse des liens avec les radiations ionisantes d'origine naturelle - Analyse des liens avec les activités agricoles

Année 3 : Analyse des liens avec les lignes HT - Analyse des liens avec les pesticides- Analyse des liens avec les polluants atmosphériques

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U 1018 - CESP Equipe d'Epidémiologie Environnementale des Cancers - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Jacqueline Clavel

Equipe 2 : Inserm, UMR-S 1168 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Benedicte Jacquemin

Equipe 3 : Inserm, EHESP - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Cecile Chevrier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 207 617 € TTC

Résumé IMPACT-PREV-TMS - 2016_1_042

Responsable scientifique : Mme Julie Bodin

Organisme : LEEST, Faculté de Médecine - Angers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Impact potentiel des interventions de prévention des TMS à l'échelle populationnelle : scénarios de réduction de l'exposition aux facteurs de risque de TMS dans la cohorte COSALI

2. Questions à la recherche

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

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif sera d'estimer et de comparer les effets potentiels de la réduction des expositions professionnelles aux principaux facteurs de risques (FdR) biomécaniques, psychosociaux et organisationnels sur l'incidence des troubles musculo-squelettiques des membres supérieurs (TMS-MS) dans la cohorte des salariés ligériens (COSALI). Pour cela, différents scénarios préventifs de réduction des expositions aux FdR professionnels seront élaborés (par exemple, la réduction de l'exposition au travail en force combinée à l'amélioration du soutien social de la hiérarchie) afin de tester leur impact potentiel théorique sur le nombre de cas de TMS-MS.

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

La prévention des TMS-MS est une priorité de santé au travail. L'impact modéré des plans de prévention mis en œuvre en France et en Europe au cours des dernières décennies nécessite d'approfondir la réflexion sur les stratégies de prévention à l'échelle de la population active. La proportion de TMS-MS attribuables au travail, et donc théoriquement évitable par des interventions en milieu de travail, varie en fonction des professions et secteurs d'activité (Rossignol, 1997 ; Roquelaure, 2009) et de l'exposition aux FdR de TMS-MS (Melchior, 2006). Néanmoins, peu d'études sont disponibles pour estimer l'impact potentiel de différents scénarios préventifs sur le nombre de cas de TMS-MS (Verbek, 2012).

A partir des données transversales initiales de la cohorte COSALI, Melchior et al (2006) ont proposé plusieurs scénarios préventifs de TMS-MS portant uniquement sur la réduction de l'exposition à des FdR biomécaniques de TMS-MS (force et répétitivité). Ainsi, la réduction des expositions permettraient en théorie d'éviter jusqu'à 31 % des TMS-MS chez les ouvriers. Néanmoins, la prévention des TMS-MS ne peut se réduire à une réduction de l'exposition aux FdR biomécaniques mais nécessite une approche globale portant également sur les FdR psychosociaux et organisationnels.

Argumentation du choix des questions

La prévention des TMS-MS nécessite non seulement d'identifier les professions et secteurs d'activité à risque élevé et d'estimer la proportion de cas liée à l'exposition aux FdR professionnels. Elle requiert également d'estimer l'impact potentiel d'interventions susceptibles d'être mises en œuvre sur le nombre de cas de TMS-MS et ainsi de quantifier les bénéfices attendus pour la santé (TMS-MS) des mesures de prévention. Constituer un consortium de recherche associant épidémiologistes, statisticiens, ergonomes et médecins du travail permettrait d'étudier les données épidémiologiques sous un angle original et d'obtenir des résultats susceptibles d'enrichir les politiques de prévention des institutions en charge des risques professionnels.

Description des méthodes mises en œuvre

Les données épidémiologiques seront issues de COSALI mise en œuvre dans les Pays de la Loire par l'Institut de veille sanitaire et le LEEST. En 2002-2005, 3 710 salariés de la région ont été inclus par un réseau

de médecins du travail. Les symptômes musculo-squelettiques (SMS) et l'exposition aux FdR biomécaniques (répétitivité, force, postures ; 4 modalités de réponses), psychosociaux (Job Content Questionnaire de Karasek, JCQ ; 4 modalités de réponses) et organisationnels (polyvalence, rythme, etc. ; réponse binaire) de TMS ont été évalués par autoquestionnaire. Un examen clinique standardisé réalisé selon le consensus européen Saltsa a été réalisé. Lors de la phase de suivi, en 2007-2010, 2 332 sujets ont répondu à un questionnaire les interrogeant sur leurs SMS et 1 611 salariés en activité ont bénéficié d'un examen clinique.

Les scénarios préventifs seront élaborés par le consortium de recherche en fonction des données de la littérature sur la conception et l'évaluation des actions de prévention des TMS-MS en milieu de travail. Les scénarios consisteront en des combinaisons de réduction des niveaux d'exposition aux FdR professionnels. Un exemple pourrait être la réduction du niveau d'exposition à la force (de plus de 2h/jour à moins de 2h/jour), combinée à l'amélioration du soutien social de la hiérarchie (JCQ).

Analyse statistique

Les analyses seront réalisées chez les salariés indemnes de TMS-MS (ou de SMS) à l'inclusion.

Des ratios de prévalence seront calculés au moyen de modèles hiérarchiques de Cox, en considérant comme variable dépendante l'apparition au suivi de TMS-MS (ou de SMS) depuis l'inclusion et, comme variables indépendantes, les FdR de TMS-MS à l'inclusion. La contribution de chaque FdR à l'excès de risque de TMS-MS (ou de SMS) sera calculée à partir des ratios de prévalence obtenus. Il est envisagé de la calculer pour chaque secteur d'activité ou profession.

De plus, le nombre de cas de TMS-MS évitables sera calculé en fonction des scénarios préventifs.

Calendrier

- Mois 1-3 : Actualisation de la bibliographie
- Mois 4-10 : Elaboration des scénarios préventifs avec les consortium de recherche
- Mois 11-29 : Analyse statistique
- Mois 30-36 : Valorisation scientifique et rédaction du rapport de fin d'étude

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : LEEST, Faculté de Médecine - Angers

Responsable de l'équipe : Mme Julie Bodin

Equipe 2 : UVSQ, Inserm UMS011, Unité de pathologie professionnelle - Garches

Responsable de l'équipe : M. Alexis Descatha

Equipe 3 : LEEST, Faculté de Médecine - Angers

Responsable de l'équipe : Mme Natacha Fouquet

Equipe 4 : UQAM, Département des sciences de l'activité physique - Montréal, Québec, Canada

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Vézina

Equipe 5 : Université Laval – Québec, Canada

Responsable de l'équipe : Mme Marie Bellemare

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 194 688 € TTC

Résumé INTERLIV - 2016_2 RF_001

Responsable scientifique : Mme Oksana Kunduzova

Organisme : Université de Toulouse, UMR 1048/I2MC - Toulouse

1. Titre

Projet complet

36 mois

L'étude des interactions entre les champs électromagnétiques et le vivant

2. Questions à la recherche

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

RFES 3.4 - Recherche de mécanismes pouvant expliquer l'hypersensibilité électromagnétique (par exemple étude de la production des neurotransmetteurs, étude sur les cryptochromes, ...).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est de caractériser les paramètres électromagnétiques des cellules et de modéliser les phénomènes électromagnétiques au niveau cellulaire et tissulaire afin de fournir des éléments scientifiques pour définir les seuils à partir desquels des effets irréversibles et/ou réversibles sont observés.

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

L'interface entre physique et biologie, l'une des grandes originalités de notre projet. Cette interface s'est toujours montrée très féconde en questions interdisciplinaires, la biologie produisant des questions intégrées pour la physique et la physique proposant des cadres conceptuels et expérimentaux pour aborder les problématiques biologiques. Notre équipe tend à développer l'interdisciplinarité Biologie/Physique, en particulier au travers d'une de ses priorités scientifiques qui concerne l'étude des interactions entre les champs électromagnétiques et le vivant. Cette recherche, tant fondamentale qu'applicative, a pour but de comprendre et de maîtriser les effets des champs électromagnétiques sur les systèmes biologiques, afin de répondre à des besoins précis, comme les effets induits des champs sur les systèmes vivants.

Argumentation du choix des questions

L'impact à très long terme d'une exposition chronique aux champs électromagnétiques sur les systèmes vivants reste très largement méconnu. L'enjeu principal de notre recherche concerne la maîtrise des phénomènes électromagnétiques sur les systèmes vivants. Pour réaliser cette étude, nous réunissons les compétences et les expertises de deux groupes de chercheurs: l'équipe de biologistes (INSERM 1048, Toulouse) et l'équipe de physiciens (LAPLACE, Toulouse). Les équipes ont déjà développé les échanges d'expériences et d'informations et connaît bien les domaines de compétence de chaque partenaire. La participation du LAPLACE consiste à la mise en place d'un applicateur et un générateur hyperfréquence, et le soutien à l'expérimentation sous exposition hyperfréquence des cellules cardiaques. Cette action s'inscrit pleinement dans la partie interaction micro-ondes matériaux du groupe de recherche en électromagnétisme (GRE), anciennement l'équipe microondes du laboratoire LEN7, intégré au LAPLACE de Toulouse depuis 1 Janvier 2009.

Description des méthodes mises en œuvre

En s'appuyant sur des outils de simulations électromagnétiques (type FLUX, COMSOL ou ANSYS, fréquemment utilisés au LAPLACE), l'analyse des champs E et H induits dans les cellules (in vitro) ou dans les muscles cardiaques (ex vivo) dans l'applicateur d'une certaine forme donnera des informations sur l'intensité et la polarisation. L'objectif est l'obtention d'une distribution des champs in vitro (ou ex vivo) le plus homogène possible, grâce au réglage du type de signal (fréquence, modulation, puissance, etc), et de la

forme innovante de l'applicateur. Nous réaliserons une étude sur les cellules cardiaques (myocytes, fibroblastes cardiaques) afin d'évaluer l'effet des rayonnements électromagnétiques sur les réponses cellulaires. Plus précisément, nous nous intéresserons à l'impact sur le système antioxydant. Pour cela, nous étudierons l'effet d'un champ électromagnétique sur l'expression, la traduction en protéine et l'activité des enzymes antioxydantes (catalase, superoxide dismutase, glutathion peroxydase). Les recherches seront effectuées sur des cardiomyocytes et fibroblastes de souris C57Bl6 adultes âgées de 10 semaines. Les cellules cardiaques seront ensuite placées en suspension pour être soumises ou non à un champ électromagnétique de longueur d'onde, d'intensité et de type de modulation variable selon le groupe d'étude. En effet, pour notre étude, nous exposerons nos échantillons biologiques à une large gamme de champs électromagnétiques pendant des durées variables. Afin de déterminer les quantités et activités des enzymes antioxydantes nous réaliserons des dosages ELISA (Enzymelabeled immunosorbent assay). Nous utiliserons la technique de qRTPCR afin de quantifier les ARN de nos gènes cibles, et des Western Blot pour permettre la détection et l'identification des protéines d'intérêt présentes dans nos cellules. Sur la base de nos données in vitro, nous poursuivrons notre étude sur le muscle cardiaque pour vérifier si le champ électromagnétique peut influencer le statut oxydatif tissulaire.

Année 1: Conception et modélisation de l'enceinte, Simulation de l'interaction onde-vivant (in vitro)

Année 2: Simulation de l'interaction onde-vivant (in vitro et ex-vivo), Mesure quantitative de l'activité antioxydante du myocarde

Année 3: Quantifications des ARN et protéines, Analyse des résultats

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Toulouse, UMR 1048/I2MC - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Oksana Kunduzova

Equipe 2 : Université de Toulouse, Laboratoire plasma et conversion d'énergie, UMR 5213

Responsable de l'équipe : M. Junwu Tao

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 198 952 € TTC

Résumé IOUQMER - 2016_1_120

Responsable scientifique : M. Benoit Cournoyer

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

1. Titre

Projet complet

36 mois

Incidence des organisations urbaines sur la qualité microbiologique des eaux de ruissellement et la dissémination de bactéries pathogènes de l'homme

2. Questions à la recherche

ABIO 2 - 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

Plus de la moitié de la population mondiale vit en ville, et cette proportion atteint 86% pour la France. Bien que l'urbanisation apparaisse comme formation d'écosystèmes ayant des impacts globaux, l'écologie urbaine reçoit peu d'attention, notamment pour les problématiques de santé et d'hygiène dont la contamination microbiologique et la dissémination d'agents pathogènes (hors infections nosocomiales et alimentaires). Récemment, des recherches ont été consacrées à cette thématique émergente e. g. métro de New York (Afshinnekoo et al. 2015. Cell Systems 1, 1-15). Les outils de séquençage massif des ADN environnementaux (métagénome et méta-taxogénomique (MTG)) et de quantification telles que la PCR quantitative (qPCR) rendent aujourd'hui possible: (1) une définition des microbiomes urbains et de leurs effectifs, à différentes échelles taxonomiques (genre, espèce, complexe infra-spécifique), et (2) l'analyse de l'évolution de leur organisation en fonction des contraintes environnementales dont l'enrichissement ou dépérissement de certains clones dangereux pour l'homme. Ce projet a donc pour objectifs de préciser les dangers microbiologiques pour les urbains. Il s'appuiera sur les phénomènes de dissémination d'agents pathogènes par le ruissellement en ville, et les transferts de ces eaux contaminées vers les nappes et cours d'eau. Ce projet lie les phénomènes de dissémination aux activités urbaines, telles qu'elles impliquent des individus, des collectifs et des objets et dispositifs techniques.

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

Les contaminants urbains peuvent avoir des impacts significatifs sur tous les compartiments de la ville et sur la santé humaine (cancer, gastro-entérites, infections opportunistes) (e. g. Pickett et al. 1997. Urban Ecosystems 1:185-199). Des déficits majeurs dans l'appréciation des impacts des pollutions microbiologiques sont cependant notés. Le rôle de l'environnement urbain dans l'émergence ou la ré-émergence de certains micro-organismes pathogènes est peu documenté. Ce projet permettra de (i) définir les « microbiotes » urbains mobilisables par période de temps de pluie, et d'identifier des pratiques susceptibles d'augmenter la dissémination d'agents pathogènes et les expositions humaines, (ii) fournir, in fine, des outils permettant aux instances locales d'inférer les sites urbains et secteurs nécessitant une surveillance ou une action en termes de réhabilitation pour des raisons de prévention et réduction d'expositions probables à des bactéries pathogènes ou formes résistantes aux antibiotiques. Afin de remplir ces objectifs, ce projet sera réalisé via un consortium regroupant des microbiologistes, géographes, sociologues, statisticiens, et hydrologues urbains.

Argumentation du choix des questions

Les espaces urbains, caractérisés par leur imperméabilité élevée, peuvent être contaminés par plusieurs substances chimiques (métaux lourds, HAP) et biologiques (bactéries, virus, parasites). Cette surface contaminée sera, par temps de pluie, lessivée. Ces eaux de ruissellement (ER) dissémineront les contaminants vers d'autres compartiments comme les nappes souterraines et rivières. Or, si le danger représenté par les contaminants chimiques des ER en ville est plutôt bien identifié, il n'en est pas de même

du point de vue microbiologique où les sources et dynamiques d'émission et dissémination demeurent largement méconnues (e. g. Wenger et al. 2009. J. N. Am. Benthol. Soc. 28: 1080-1098). Tous ces contaminants menacent les écosystèmes aquatiques existants et suscitent des inquiétudes pour la santé humaine comme souligné dans le rapport de l'Agence Européenne de l'Environnement (2015).

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1: socio-urbanistique (partenaire 2). Cette tâche est divisée en quatre parties: a) identification de descripteurs permettant la sélection et comparaison des sites de l'étude (mois 1-3) ; b) l'analyse des activités urbaines, sur la base de trois enquêtes par site, permettant de décrire leur spécificité et intensité (mois 1-24) ; c) à partir de l'analyse des activités urbaines, identification des zones de prélèvement des ER (mois 1-6); d) élaboration de référentiels SIG par site (mois 1-12). Une doctorante a été recrutée en octobre 2015 sur ces aspects.

Tâche 2: hydrologie urbaine (partenaire 3). Modélisation hydrologique (via Hydrobox) permettant la transformation des données de pluie en débit et ruissellement sur les 3 sites (mois 1-24). Une description détaillée des sous-bassins versants sera faite selon les taux d'imperméabilisation, superficies, pentes moyennes, etc (mois 1-12). Les coefficients de ruissellement seront déterminés en fonction de la typologie des surfaces et de l'occupation des sols.

Tâche 3: microbiologie urbaine (partenaire 1). Deux campagnes d'analyses de la diversité bactérienne (incluant les espèces pathogènes) par site seront réalisées (20 secteurs par site) (partenaire 1) (mois 1-18). Des approches MST (Microbial Source Tracking - mois 6-18) / marqueurs du groupe Bacteroidetes complétés de diagnostics pour les supports de mobilité des gènes de résistance aux antibiotiques e. g. intégrons selon Stokes et al. (2001) (Appl. Env. Microbiol. 67:5240-5246), MTG (mois 6-24) (e. g. Xu et al. 2014. FEMS Microbiol Ecol, 87: 182-192) avec 3 cibles : 2 gènes ciblant respectivement les gamma-protéobactéries et actinobactéries, et, le 3e, celui du 16S rRNA des eubactéries, et des suivis de bactéries indicatrices d'une contamination fécale (mois 1-18), par approches classiques, et d'agents pathogènes par qPCR (mois 6-18), seront appliquées. Les analyses MTG auront une résolution suffisante pour étudier la dissémination de complexes clonaux d'une sélection d'espèces pathogènes potentiellement reliées à des cas cliniques dont *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*.

4. Membres participants au projet

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

Responsable de l'équipe : M. Benoit Cournoyer

Equipe 2 : Insa de Lyon, Laboratoire Deep - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Gislain Lipeme Kouyi

Equipe 3 : Insa Lyon, LabEx Intelligences des Mondes Urbains, UMR 5600 CNRS - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Jean-Yves Toussaint

Equipe 4 : Université Lumière - Lyon 2 - Laboratoire GATE-LSE UMR 5824

Responsable de l'équipe : M. Philippe Polome

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 992 € TTC

Résumé MECOTOX - 2016_1_237

Responsable scientifique : Mme Florence Rouget

Organisme : CHU Rennes, Pôle de Pédiatrie - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition foetale aux pesticides et hypospades

2. Questions à la recherche

PEST 2.1 - Caractériser le lien entre l'exposition et l'impact des pesticides sur la santé humaine, identifier les incertitudes en vue de les quantifier et de les prendre en compte, et proposer des recherches sur les techniques et les pratiques permettant de réduire cet impact.

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).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'évaluer l'impact de l'exposition cumulée aux pesticides pendant la vie fœtale sur le risque d'anomalie génitale du petit garçon (hypospade) à la naissance, à l'aide de mesures de multiples pesticides dans le méconium.

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

Il existe des hypothèses fortes sur le rôle des expositions fœtales aux toxiques de l'environnement dans la survenue des malformations congénitales (Wigle 2008). Plusieurs études sur les hypospades suggèrent une association avec l'exposition à des perturbateurs endocriniens, incluant des pesticides, probablement par un mode d'action estrogénique ou anti-androgénique (Toppari 2010, Kalfa 2015). Mais ces associations sont encore débattues dans la mesure où l'estimation des expositions dans la plupart de ces études est indirecte, via des questionnaires, des matrices emploi-exposition ou des systèmes d'information géographiques. En Bretagne, région d'agriculture intensive, le registre des malformations congénitales recense une prévalence d'hypospades (0,33%) plus élevée que celle des autres registres Français et du réseau européen EUROCAT (Bergman 2015). La cohorte bretonne Pélagie a montré, à partir de biomarqueurs dans les urines maternelles en début de grossesse, une exposition prénatale fréquente (90%) à des insecticides non persistants, organophosphorés et pyrèthrinoïdes, (Chevrier 2009, Viel 2015). Bien que pertinent pour l'évaluation de l'exposition prénatale à des composés chimiques, le méconium est une matrice biologique encore peu exploitée dans les études de santé environnementale. Il se forme et s'accumule chez le fœtus à partir de la 12^{ème} semaine de gestation reflétant ainsi une large période de la vie fœtale, contrairement aux autres matrices couramment employées (sang de cordon, urines) qui n'informent que sur une exposition ponctuelle dans le temps pour les polluants à courte demi-vie, tels que les pesticides contemporains. Le recueil du méconium est simple et non-invasif, il a déjà été utilisé pour détecter l'exposition fœtale à des drogues (Moore 1998), à l'alcool (Morini 2010) et à des pesticides (Berton 2014). L'originalité de ce projet repose sur : i) le recrutement des sujets en population générale, à partir d'un registre de malformations congénitales, ii) dans une région dans laquelle l'exposition de la population aux pesticides est attendue, et iii) sur une mesure directe de l'exposition par dosage de biomarqueurs dans le méconium.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit dans la question PEST2.1, puisqu'il s'agit d'étudier le lien entre l'exposition à des pesticides et son impact sur la survenue d'une malformation congénitale (hypospade) pour laquelle il existe des hypothèses fortes. Ce projet a le potentiel de s'intéresser secondairement à d'autres malformations

d'intérêt (malformations cardiaques en particulier). Le projet relève également de la question ACHIM2 dans la mesure où un certain nombre de pesticides qui seront mesurés possèdent des propriétés hormonales (perturbateur endocrinien), comme par exemple le linuron, une molécule anti-androgénique, et que les risques associés aux différents niveaux d'exposition seront étudiés dans la population vulnérable des femmes enceintes et de leur fœtus. La mesure de multiples pesticides dans la matrice méconiale permettra de mieux connaître l'exposition du fœtus à ces substances durant une large période de la vie in utero et leur impact possible sur la survenue de malformations.

Description des méthodes mises en œuvre

Population-recueil des données : Ce projet est une étude cas-témoin qui s'appuie sur le recueil de données déjà effectué par le Registre des malformations congénitales dans 13 maternités bretonnes. Cent cas de nouveau-nés présentant un hypospade et 2 témoins par cas, sans malformation, de même sexe, né dans le même centre après le cas index, ont été inclus. Pour tous les sujets, des prélèvements de méconium ont été réalisés, congelés et stockés. Des données médicales ont été recueillies à partir du Registre des malformations et des dossiers médicaux, et des questionnaires détaillés sur les expositions domestiques, professionnelles et d'autres facteurs de confusion potentiels ont été renseignés par les mères.

Analyse des échantillons de méconium (18 mois) : La méthode d'analyse des pesticides et/ou métabolites d'intérêt dans le méconium sera développée et validée en s'appuyant sur la littérature scientifique et l'expertise du Laboratoire d'Etude et de Recherche en Environnement et Santé (LERES, Mercier 2012) selon ses procédures internes répondant aux exigences du comité français d'accréditation (Cofrac). Après une étape de préparation (séchage et broyage), le méconium subira une extraction au solvant. L'extrait obtenu sera ensuite purifié avant d'être analysé par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Traitement statistique et valorisation (18 mois): L'analyse multivariée des associations entre exposition aux pesticides et hypospades sera réalisée à l'aide de modèles de régression logistique, ajustés sur des facteurs de confusion potentiels.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHU Rennes, Pôle de Pédiatrie - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Florence Rouget

Equipe 2 : EHESP, LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Le Bot

Equipe 3 : Inserm, Campus EHESP - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Cecile Chevrier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 120 844 € TTC

Résumé MedVetFQ - 2016_1_073

Responsable scientifique : M. François Beaudeau

Organisme : Oniris, UMR Oniris-INRA BioEpAR - Nantes

1. Titre

Projet complet

32 mois

Risque zoonotique : état des lieux, représentations et attitudes des médecins et des vétérinaires – l'exemple de la Fièvre Q en Bretagne

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).

SHS 1 - Contributions citoyennes aux processus d'expertise et à la production de connaissances en santé-environnement : savoirs profanes, lancements d'alerte, veille scientifique, dispositifs de vigilance.

3. Résumé

Objectif détaillé

Dans un contexte où plus de 60% des agents pathogènes connus peuvent être transmis des animaux à l'homme, il apparaît important que la gestion des risques sanitaires infectieux zoonotiques fasse l'objet d'une collaboration étroite entre vétérinaires et médecins. Les enjeux de cette collaboration sont l'amélioration de l'évaluation et de la gestion de l'état de santé des individus au contact direct des animaux ainsi que celui de la population générale.

Le modèle d'étude choisi est l'infection par *Coxiella burnetii* (Cb), bactérie responsable de la Fièvre Q. Cette maladie est une zoonose dont l'impact en santé publique peut être fort, comme l'a montré l'épidémie 2007-2010 aux Pays-Bas avec plus de 3500 cas humains recensés. Les ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins) sont considérés comme le principal réservoir de Cb pour l'infection humaine. Cb se transmet à l'homme le plus souvent par inhalation d'aérosols contaminés issus des animaux infectés (produits d'avortement et de parturition, matières fécales et urines) ou de leur environnement. La Fièvre Q est une maladie professionnelle (affectant notamment les éleveurs et les vétérinaires), mais la dispersion aéroportée de la bactérie lui confère également un potentiel de contamination élargie à la population générale.

L'hypothèse explorée dans ce projet est que l'objectivation de l'importance du risque zoonotique, combinée à la connaissance des représentations et des attitudes des vétérinaires et des médecins permettront de mieux appréhender comment concevoir un dispositif pluriprofessionnel concerté de prévention et de maîtrise des risques chez l'homme. A cette fin, deux volets complémentaires sont prévus. Ils visent à :

1. quantifier l'importance du risque zoonotique lié à la Fièvre Q pour l'homme, en estimant, dans trois populations distinctes (éleveurs, vétérinaires praticiens ruraux, population générale adulte), la prévalence des humains porteurs d'anticorps anti-Cb dans un territoire où l'infection chez les bovins est endémique,
2. décrire les représentations des vétérinaires et des médecins face au risque zoonotique.

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

1. Ce projet s'inscrit dans une problématique scientifique liée à des enjeux "one health".
2. Il répond à des lacunes de connaissances en France :
 - Absence d'estimation de la séroprévalence dans la population travaillant au contact des bovins et dans la population générale dans des départements à forte activité d'élevage, et dans lesquels la prévalence chez les bovins est élevée.

- Absence de plan d'action visant à gérer le risque zoonotique lié à Cb, qui intègre les pratiques et représentations des vétérinaires et médecins.

3. La description des représentations, comportements, attitudes des vétérinaires et des médecins face au risque zoonotique dépasse le cadre de la Fièvre Q. En particulier, la validation psychométrique de l'outil de perception du risque zoonotique (cf. infra) permettra d'envisager une utilisation élargie à d'autres zoonoses.

4. Ce projet pluridisciplinaire mobilise des concepts et outils issus de l'épidémiologie, de la santé publique et des sciences humaines.

Argumentation du choix des questions

- AIRR1 : le projet contribue à évaluer le niveau de risque zoonotique, pour des éleveurs et vétérinaires soumis à une forte exposition à Cb, et pour la population générale du fait de la forte capacité de diffusion aérienne de cet agent

- SHS1 : le projet vise à initier une démarche citoyenne des professionnels de santé pour la conception d'un dispositif de vigilance et d'information vis-à-vis des dangers zoonotiques, en particulier ceux que le vétérinaire n'a pas obligation légale de déclarer

Description des méthodes mises en œuvre

Volet 1 (18 mois) : En Finistère, la prévalence des troupeaux bovins laitiers infectés est connue (69%), et sa distribution spatiale décrite (Nusinovici et al., 2014). Dans ce département, la prévalence des humains porteurs d'anticorps anti-Cb (par titrage des Ig G et M) dans trois populations distinctes (éleveurs, vétérinaires praticiens ruraux, population générale adulte) sera estimée. L'existence d'une corrélation spatiale entre ces prévalences humaines et animale sera explorée. L'effet des facteurs de risque de séropositivité sera quantifié par modèle linéaire généralisé, pour chacune des populations étudiées.

Volet 2 (14 mois) : Une évaluation conjointe de la perception du risque zoonotique entre médecins et vétérinaires sera réalisée. Un auto-questionnaire sera adressé à l'ensemble des médecins généralistes et des vétérinaires du Finistère. Il sera complété par une série d'entretiens semi-directifs en face à face. L'analyse des données recueillies ainsi que des verbatims permettra la mise en évidence d'éventuelles discordances de représentations et de pratiques entre professions.

Les résultats obtenus permettront l'élaboration d'un plan d'actions concerté.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Oniris, UMR Oniris-Inra BioEpAR - Nantes

Responsable de l'équipe : M. François Beaudeau

Equipe 2 : Hôpital Saint-Jacques - Nantes

Responsable de l'équipe : Mme Leïla Moret

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 117 000 € TTC

Résumé MEMO - 2016_2 RF_002

Responsable scientifique : M. Denis Habauzit

Organisme : Université de Rennes 1, IRSET UMR Inserm 1085 - Rennes

1. Titre

Projet complet

30 mois

Mécanisme Moléculaire de la réponse génique aux Ondes Millimétriques

2. Questions à la recherche

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Les Ondes Millimétriques (OMM) de fréquences comprises entre 30 et 300 GHz commencent à être utilisées dans de nombreuses applications (radars, scanners corporels...) et constituent le socle des futurs systèmes 5G de communication sans fils à très haut débit. Elles appartiennent au groupe des radiofréquences et classées par le centre international de recherche sur le cancer de l'OMS comme "peut être cancérigène pour l'Homme" (groupe 2B). Cette classification a été essentiellement basée sur des résultats d'études épidémiologiques mais aucune étude fonctionnelle n'a jusqu'à maintenant étayé ce choix.

A travers nos deux dernières études utilisant par des approches sans a priori de transcriptomique, nous avons pu identifier 8 gènes sensibles aux expositions aux OMM de moyenne puissance (20 mW/cm^2 - limite ICNIRP). Trois de ces gènes, issus d'une co-exposition onde et chaleur, ont été identifiés puis validés après deux séries de manipulation à un an d'intervalle (ADAMTS6, IL7R et NOG). Depuis, lors d'une seconde étude transcriptomique, 5 nouveaux gènes (FAM46A, CSRN1, SOCS3, SPRY2 et SOX9) sensibles aux OMM en condition athermique ont été mis en évidence. L'ensemble de ces gènes constitue donc des systèmes rapporteurs idéaux pour étudier les mécanismes d'interaction OMM/matière vivante.

Ainsi, l'objectif de ce projet est de rechercher les mécanismes d'action des OMM au niveau cellulaire expliquant la sensibilité de ces gènes aux OMM. Nous voulons caractériser les voies de signalisation qui sont affectées par l'exposition aux OMM. Un tel projet nécessite : 1) d'avoir identifié des gènes sensibles aux OMM ; 2) la maîtrise de la métrologie des OMM élevées avec un système d'exposition validé et optimisé ; 3) des compétences en biologie moléculaire et en génétique afin de déterminer les mécanismes mis en jeu : trois conditions auxquelles répond notre consortium.

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

L'originalité de ce projet tient en 2 points principaux :

1) Les fréquences étudiées. Les OMM autour de 60 GHz sont actuellement en développement pour de futures applications. Les ordinateurs personnels utilisant ces ondes millimétriques sont d'ailleurs déjà sur le marché depuis 2013 et l'on peut prédire dans un avenir proche, un très large déploiement en environnement domestique et professionnel. Ces fréquences induisent des débits d'absorption spécifique (DAS) relativement importants, même pour des valeurs de densité de puissance inférieures aux normes limites, ce qui laisse supposer que les effets de ces ondes sur le stress cellulaire pourraient être plus marqués. Il est donc essentiel de caractériser les effets de ces ondes avant leurs utilisations intensives, d'autant plus que ces ondes sont utilisées en thérapie dans les pays d'Europe de l'Est, ce qui laisse supposer que des interactions avec le vivant sont possibles sous certaines conditions.

2) L'utilisation de gènes biomarqueurs. Nos travaux nous ont permis d'identifier plusieurs gènes qui répondent aux OMM et présentent un profil d'expression spécifique. Notre projet est d'utiliser ces gènes comme rapporteurs et de rechercher les facteurs ou les voies de signalisation qui régulent leurs expressions. Avec ces outils moléculaires, nous serons en mesure d'étudier l'interférence entre une exposition aux OMM et la régulation de l'expression génique. Pour la première fois, nous avons l'opportunité d'explorer une piste sérieuse pour découvrir un mécanisme moléculaire associé à la réponse cellulaire aux ondes.

Argumentation du choix des questions

Le projet MEMO relève de la question de recherche 1.1.3. A l'heure actuelle, la controverse sur les ondes perdure car aucun mécanisme moléculaire n'a clairement été identifié. Le principal problème tient à la reproductibilité des observations décrites. Or, nous avons répété 9 fois nos expériences d'exposition et le profil d'expression de ces gènes est resté identique. Nous pouvons penser que, pour la première fois, nous avons identifié des gènes biomarqueurs fiables. Il est donc tout à fait pertinent d'utiliser ces gènes pour aller plus en avant dans notre étude et essayer de comprendre pourquoi, et par quels mécanismes, ces gènes sont surexprimés sous exposition. Nous espérons que ce projet fera avancer de façon significative nos connaissances sur les interactions ondes/matière vivante.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet a une durée totale de 30 mois avec trois principales tâches :

Tâche 1) Ce projet visera dans un premier temps à caractériser les conditions d'exposition permettant de modifier l'expression de ces gènes (densité de puissance incidente, temps d'exposition et températures). En effet, nos résultats préliminaires montrent que ces conditions jouent un rôle essentiel (IRSET, IETR ; durée prévue 6 mois)

Tâche 2) Cette tâche vise à déterminer les voies de signalisation et les facteurs de transcription impliqués dans l'expression de ce gène. Pour cela, des approches de clonage du promoteur et de transfection seront réalisées (IRSET, IETR ; durée prévue 12 mois)

Tâche 3) Enfin, des approches de génomique de type FAIRE (permettant de suivre l'ouverture de l'ADN lors de l'exposition) ou de précipitation de l'ADN couplé à des modifications post-traductionnelles d'histones (CHIP) seront effectuées. Ces techniques permettront d'analyser l'impact des expositions sur les marquages épigénétiques de ces gènes cibles (IRSET, IETR ; durée prévue 15 mois)

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes 1, IRSET UMR Inserm 1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Denis Habauzit

Equipe 2 : Université de Rennes 1, IETR CNRS 6164 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Maxim Zhadobov

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé Microclim - 2016_1_103

Responsable scientifique : Mme Anca Lucau-Danila

Organisme : Institut Pasteur de Lille, CIIL - INSERM U1019 - CNRS UMR 8204, Transcriptomics & Applied Genomics

1. Titre

Projet complet

36 mois

Modifications du microbiote intestinal et pulmonaire en conditions de changement climatique et conséquences pour la santé

2. Questions à la recherche

CCLIM 1 - Impacts du changement climatique sur la santé : directs (conséquences sanitaires immédiates et à long terme de la chaleur et des événements climatiques exceptionnels, en particulier sur les populations vulnérables : épisodes caniculaires, inondations...) et indirects via la qualité de l'environnement (air : ozone, pollens... - eau...) et de l'alimentation (conséquences de la sécheresse sur l'activité agricole...) et le développement de maladies émergentes (à transmission hydrique ou vectorielle).

3. Résumé

Objectif détaillé

Microclim se propose d'évaluer l'effet d'un épisode caniculaire sur la composition des microbiotes intestinal et pulmonaire ainsi que sur l'expression des gènes de résistance et réponse immunitaire, et d'estimer les conséquences de ce changement sur la résistance à des maladies infectieuses.

Le modèle murin sera utilisé cf. 2010/63/EEC, 2012-10 (2012), 2013-118 (2013) et le protocole des expérimentations sera soumis à l'approbation du Comité d'éthique.

L'évaluation de l'effet climatique sera réalisée par trois types d'analyses: physiologiques (température corporelle, poids, activité cardiaque et respiratoire, état de déshydratation, modification des apports alimentaires et hydriques, signes cliniques associés), métagénomiques (composition des microbiotes intestinal et pulmonaire) et transcriptomiques (expression des gènes).

Pour simuler un épisode caniculaire des conditions thermiques contrôlées seront appliquées aux animaux du lot expérimental durant 12 jours pour induire des effets directs. Pour étudier des effets indirects de la canicule, des concentrations croissantes en ozone, particules fines en suspension, oxydes d'azote (séparément et combinés) seront appliquées.

Trois temps de prélèvement seront choisis durant l'application du stress et un lot de souris sera conservé pour étudier l'évolution après la reprise des conditions normales de température et composition de l'air.

Pour chaque point de cinétique et pour chaque condition étudiée, des mesures physiologiques seront enregistrées pour chaque animal, des prélèvements de sang seront réalisés pour les études transcriptomiques sur microarrays ADN, des selles (pour l'analyse du microbiote intestinal) ainsi que du tissu pulmonaire (pour l'analyse du microbiote pulmonaire) seront récoltés pour le séquençage suivi de l'analyse métagénomique.

Pour tester la résistance à des maladies infectieuses, des inoculations avec *Bordetella pertussis* Tohama I (agent pathogène de la coqueluche), seront réalisées en conditions de canicule. Le point de cinétique le plus adapté sera choisi en fonction des résultats précédents. Cet agent pathogène (dont les mécanismes d'infection sont très bien maîtrisés par l'équipe TAG) induira l'apparition des signes cliniques de la coqueluche qui seront évalués en même temps que les données transcriptomiques, pour estimer le niveau de réponse immunitaire et le comparer avec celui des souris inoculées en conditions non-caniculaires. Une analyse métagénomique au niveau intestinal et respiratoire sera également réalisée pour observer les modifications dans la composition des deux microbiotes en conditions d'infection associée à la canicule, et pour évaluer le rôle du microbiote dans la résistance/ sensibilité à l'infection.

Suite à l'enregistrement de l'ensemble des résultats, une base de données dédiée aux changements climatiques sera initiée. Elle s'adressera dans un premier temps à nos partenaires des différents projets.

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

Les changements climatiques dans les différentes régions du globe ont été déjà définis, les épisodes caniculaires ont été modélisés et de nombreuses études cliniques ont été menées (2012-15). Au niveau du microbiote, des études ont été réalisées pour analyser l'effet des différentes modifications dans la composition de l'air ou de l'alimentation (2008-15), mais à notre connaissance, à ce jour aucune étude concernant l'effet direct d'un épisode caniculaire n'a été publiée.

Argumentation du choix des questions

La métagénomique peut devenir une méthode d'analyse des risques pour la santé en conditions de changements climatiques. Elle peut contribuer au progrès durable dans la santé humaine par l'évaluation ou le diagnostic et elle peut amener à des propositions de traitement, de mesures de protection et/ou compensation.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Modélisation de l'évolution du microbiote en condition de changement climatique. Mise en place des conditions à tester, de la cinétique et de la réversibilité (3 mois)
2. Simulation d'un épisode caniculaire et prélèvements. Conditionnement, extraction d'ADN et d'ARN, dosages (6 mois)
3. Séquençage et analyse métagénomique du microbiote intestinal et pulmonaire (6 mois)
4. Analyses transcriptomiques (6 mois)
5. Résistance/sensibilité à un agent infectieux respiratoire de type B. pertussis en condition de changement climatique. Traitements, prélèvements et analyses (12 mois)
6. Initiation d'une base de données "omics" dédiée aux changements climatiques (6 mois)

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Pasteur de Lille, CIIL - INSERM U1019 - CNRS UMR 8204, Transcriptomics & Applied Genomics

Responsable de l'équipe : Mme Anca Lucau-Danila

Equipe 2 : Institut Pasteur de Lille, Gènes Diffusion

Responsable de l'équipe : M. Christophe Audebert

Equipe 3 : Institut Pasteur de Lille, PLEHTA

Responsable de l'équipe : M. Anthony Mouray

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 194 298 € TTC

Résumé MyeAhRTOX - 2016_1_230

Responsable scientifique : M. Charbel Massaad

Organisme : Inserm UMR 1124 - Paris

1. Titre

Projet complet

24 mois

Role endogène du AHR et impact de sa perturbation sur la myélinisation du nerf et les tumeurs des gaines des nerfs périphériques

2. Questions à la recherche

CANC 1 - Interactions gènes/environnement : impact des facteurs de risque environnementaux professionnels.

CANC 4 - 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.

CANC 5 - 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

Myelin is essential for rapid and accurate impulse conduction. Nevertheless, an alteration in the formation of myelin sheaths provokes severe and invalidating neuropathies. Furthermore, cancers of peripheral nerves like malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNSTs) have poor prognosis. The mammalian Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) is a ligand-activated transcription factor that triggers increased expression of xenobiotic metabolism enzymes. The action of this receptor is modulated by endogenous ligands like tryptophan or environmental disruptors like dioxin and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH, ex tobacco smokes).

We recently identified AHR as an actor in myelination process. Our data show that the invalidation of AHR alters dramatically the expression of myelin genes and myelin sheaths structure. Furthermore, as environmental pollutants modulate the activity of AHR, those toxicants could exert deleterious effects on myelination process to elicit demyelinating neuropathies or nerve sheath tumors.

The aims of the proposal are:

1/ To evaluate the role of AHR in vivo on myelin sheaths structure and composition in the sciatic nerves of wild-type mice and total knock-out (KO) of Ahr and conditional KO of Ahr in Schwann cells.

2/ To study the role of AHR in benign peripheral nerve sheath tumors (neurofibromas) and in MPNSTs. Our preliminary data on human biopsies of neurofibromas and MPNSTs show a modulation of the expression of AHR and the enzymes that produce the endogenous ligands of AHR (IDO1 and TDO2).

3/ To analyze the effects of exogenous disruptors on myelination process in young and adult mice.

4/ To assess if Dioxin and PAH (Polyaromatic Hydrocarbon) are concentrated in the myelin sheaths after intoxication.

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

Few data are available on the endogenous roles of AHR in mammals. The literature is lacking information about the endogenous role of the AHR in the nervous system, especially in myelinating cells. Furthermore,

except a unique study on oligodendrocyte exposure to dioxin (Fernandez et al. 2010 J Neurochem), nothing is known about the exposure of peripheral nerves to widespread environmental pollutants.

For all those reasons, we decided to undergo this project on the endogenous role of AHR in myelination process, and its deregulation by dioxin and PAH. Our goal is to build an ambitious new program linking toxicology to myelination, covering both the endogenous functions of a xenobiotic receptor and its effect following dysregulation by pollutants.

Argumentation du choix des questions

This study will link toxicology to the alteration of nerve sheath development of nerve and to the nerve sheath tumorigenesis.

We will use a series of approaches (behavioral tests, KO and conditional KO mice, cellular and molecular biology, imaging) to address the questions.

Description des méthodes mises en œuvre

To evaluate the role of AHR in myelinating Schwann cells, we will study by electron microscopy the structure of the developing sciatic nerve in total KO Ahr mice and in mice with Ahr conditional KO in Schwann cells. We will also study the regulation of myelin genes by AHR activated by dioxins and PAH: Year 1

To evaluate the role of AHR dysregulation, we will intoxicate pregnant mice with dioxin (TCDD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) or PAH. We will study the impact on the myelination process on the developing pups (P1 until P56). Adult mice will be also intoxicated and the structure of their sciatic nerve will be studied. Behavioral studies will be performed. We will assay the amounts of dioxin and PAH in the myelin sheaths. Years 1-2

To evaluate the role of AHR dysregulation in human nerve sheath tumor, we will study human neurofibroma and MPNST biopsies. Using RT-qPCR, Western Blot and immunohistochemistry, we will assess the expression of AHR, and the enzymes that metabolize its endogenous ligands (tryptophan). Potential consequences on WNT pathway signaling of AHR modulation will also be analyzed. Years 1-2

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm UMR 1124 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Charbel Massaad

Equipe 2 : Université Paris Descartes, EA 7331

Responsable de l'équipe : M. Eric Pasmant

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 152 880 € TTC

Résumé NucPoolNanoTox - 2016_1_077

Responsable scientifique : M. Jean-Luc Ravanat

Organisme : CEA, INAC/SCIB/LAN - Grenoble

1. Titre

Etude de faisabilité

18 mois

Le déséquilibre du pool de nucléotides comme biomarqueur de stress

2. Questions à la recherche

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

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif de ce projet est de développer une méthode analytique, robuste, précise, quantitative, automatisable, pour doser les taux intra-cellulaires des nucléotides. Le dosage sera effectué par une méthode de chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC-MS/MS) en utilisant une quantification par dilution isotopique (utilisation de standards internes enrichis isotopiquement). Le but est de déterminer si oui ou non ce dosage de nucléotides peut être utilisé comme biomarqueur de stress, notamment lors d'une contamination par des nanoparticules.

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

Il est surprenant de constater dans la littérature que très peu de travaux ont été entrepris pour étudier l'effet de stress sur l'éventuelle induction d'un déséquilibre du pool de nucléotides. En effet, il est bien connu notamment à travers l'utilisation de la 5-FU (5-fluorouracyle, analogue de la thymine utilisée en chimiothérapie) que l'induction d'un tel déséquilibre peut avoir des conséquences néfastes pour la cellule. En utilisant « web of sciences » seulement 9 publications répondent au critère de recherche « nanoparticles and nucleotides pool » mais ne sont pas liées à l'étude de la toxicité des nanomatériaux. Pour répondre à cette lacune, nous proposons de développer une méthode analytique pour étudier l'effet de contaminations avec des nanoparticules sur le pool de nucléotides. Nous prévoyons dans le futur d'appliquer cette méthode à l'étude d'autre stress, notamment à ceux déjà étudiés au laboratoire (UV, rayonnements ionisants ou non, HAPs,...).

Argumentation du choix des questions

L'utilisation de la mesure quantitative du pool de nucléotides comme biomarqueur de stress est une idée nouvelle. A notre connaissance il n'existe pas de données fiables pouvant confirmer l'intérêt de cette mesure et c'est pourquoi ce projet preuve de concept, prévoit de répondre à cette question. Dans cette étude cette mesure sera appliquée à la nanotoxicologie car nous avons, à l'aide d'une approche protéomique, des données récentes montrant que des enzymes du métabolisme des acides nucléiques sont modulées en réponse à une contamination avec des nanoparticules. Afin d'obtenir des données quantitatives ne souffrant d'aucune critique, nous proposons de développer une méthode basée sur la HPLC-MS/MS en utilisant une quantification par dilution isotopique, méthode de référence en chimie analytique.

Description des méthodes mises en œuvre

Le partenaire 1 possède une grande expérience en chimie analytique et utilise depuis une vingtaine d'année la HPLC-MS/MS pour le dosage des lésions de l'ADN. La difficulté pour détecter les nucléotides

provient du fait que ces molécules très polaires sont généralement séparées par chromatographie échangeuse d'ions dans des conditions incompatibles avec une détection en spectrométrie de masse. Cependant, en amont de ce travail le partenaire 1 a trouvé des conditions de séparation des nucléotides compatibles avec la HPLC-MS/MS. La première phase du projet consistera donc à développer la méthode HPLC-MS/MS pour la détection des 4 ribo (de l'ARN) et des 4 2'-désoxyribonucléotides (de l'ADN) au niveau mono-, di- et triphosphate, ce qui représente 24 produits. Des étalons internes enrichis isotopiquement seront préparés et utilisés afin d'obtenir une détection quantitative. Ensuite la méthode d'extraction des nucléotides à partir des cellules en culture sera optimisée, en se basant sur les approches déjà décrites dans la littérature. Une fois mise en place (9 mois), la méthode analytique qui permettra le dosage simultané des 24 nucléotides sera utilisée pour étudier l'impact de la contamination de cellules avec des nanoparticules (9 mois). Ce stress est déjà beaucoup étudié par les partenaires 1 et 2 et il est donc intéressant de déterminer son impact sur le pool de nucléotides et de comparer les résultats avec ceux déjà obtenus en terme de cyto- et génotoxicité. Dans cette étude de faisabilité, nous nous limiterons à un seul type cellulaire (cellules A549) et seulement deux types de nanoparticules, à savoir Ag et TiO₂. Pour chaque nanoparticule (différentes tailles), un effet dose, ainsi qu'un effet cinétique sera déterminé. De plus, les compétences du partenaire 2 seront utilisées pour doser par ICP-MS et Single-Particle ICP-MS les taux des nanoparticules dans les cellules contaminées, et également dans les hydrolysats utilisés pour l'analyse des nucléotides. Un effort particulier sera effectué pour déterminer si la présence des nanoparticules dans l'extrait cellulaire, perturbe l'analyse des nucléotides, notamment en dopant les extraits de cellules non-traitées, par les nanoparticules avant analyse.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CEA, INAC/SCIB/LAN - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Jean-Luc Ravanat

Equipe 2 : CEA, DRT/SPNS/LBM - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Caroline Desvergne

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 887 € TTC

Résumé OxIGenoCOM - 2016_1_166

Responsable scientifique : M. Pascal Wild

Organisme : INRS - Vandoeuvre les Nancy

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition aux fluides de coupe et marqueurs d'effets précoces : stress oxydant, inflammation et génotoxicité.

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 notamment les impacts des multi-expositions aux produits chimiques ou à des expositions cumulées à la fois à des produits chimiques et à d'autres types de nuisance (nuisances physiques, biologiques, stress...).

CANC 3 - Identification et/ou validation de biomarqueurs associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales professionnelles, d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

Les brouillards d'huile (BH) ont été décrits comme responsables d'inflammations bronchiques et de cancers. Comme le stress oxydant (SO) est un des mécanismes intervenant dans le développement de pathologies inflammatoires souvent rencontrées suite à une exposition chronique aux BH, la mesure de biomarqueurs de SO, d'inflammation et de génotoxicité pourrait permettre la détection précoce de pathologies liées aux BH.

L'exposition aux BH est complexe à évaluer. Ceci est dû à la multitude de composés utilisés dans la formulation des huiles et d'une possible génération de composés (généto)toxiques (métaux, HAP) lors de leur utilisation.

Nous formulons l'hypothèse que l'exposition simultanée à différents composés (métaux, composés organiques) présents dans les BH induit un SO, pouvant être à l'origine de pathologies inflammatoires et génotoxiques. L'objectif de ce projet, qui fait suite à la recommandation de l'ANSES (2012), est d'analyser les relations entre différents paramètres d'exposition et les biomarqueurs d'effet à différents niveaux physiopathologiques (SO, inflammation, génotoxicité) en utilisant des matrices biologiques prélevées de manière non-invasive.

Les objectifs détaillés sont de :

- caractériser l'exposition aux fluides de coupe lors de campagnes d'échantillonnage en entreprises (France et Suisse), en utilisant non seulement des mesures intégratives et des appareils à lecture directe, mais également au moyen de déterminants d'exposition, pour pouvoir agir en prévention ;
- mesurer de manière non-invasive (condensat d'air exhalé-CAE, urine, cellules buccales et/ou nasales) des biomarqueurs d'exposition, de SO, d'inflammation et de génotoxicité (micro-noyaux) et de déterminer leurs relations avec les paramètres d'exposition aux BH ;
- étudier la symptomatologie et le monoxyde d'azote exhalé en fonction de l'exposition.

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

La première originalité de ce projet est de prendre en compte, d'une part, l'exposition actuelle de façon globale et détaillée et complémentaire à la mesure gravimétrique en :

- analysant la teneur des éléments toxiques de fluides neufs et usagés ainsi que dans l'air (métaux, carbone organique, amines, aldéhydes) ;
- mesurant leur potentiel oxydant (PO),

- caractérisant la fraction ultrafine de cet aérosol grâce à des appareils à lecture directe

La seconde originalité de notre projet est d'utiliser le CAE comme outil de détection précoce pour évaluer simultanément l'exposition pulmonaire (aux métaux) et l'effet biologique (SO). Une telle utilisation n'a jamais été reportée pour de telles places de travail. L'utilisation de cette matrice permet d'avoir une information directe sur l'organe cible, le poumon

Argumentation du choix des questions

Dans un contexte professionnel où l'utilisation de fluides de coupe reste une nécessité, les résultats de cette étude permettront :

- La description de relations entre des paramètres caractérisant l'exposition, les biomarqueurs d'expositions, les biomarqueurs d'effet et les effets précoces.
- L'identification des marqueurs d'exposition et d'effet d'une nuisance professionnelle probablement cancérigène ;
- Une meilleure estimation de l'exposition par l'utilisation de déterminants et de mesures d'exposition intégratives ;
- L'amélioration du suivi de l'exposition et de la surveillance médicale des travailleurs exposés par la validation de différents biomarqueurs d'exposition et d'effets des BH.

Description des méthodes mises en œuvre

Méthodes : Les sujets (40 exposés et 40 non exposés) seront suivis avec le même protocole sur deux jours consécutifs, en considérant le premier début de poste comme contrôle. En fonction des différentes expertises, les analyses seront centralisées dans un laboratoire afin de réduire la variabilité inter-laboratoire. Des techniques très sensibles et maîtrisées seront utilisées (chromatographie gazeuse, ionique et liquide couplée à des détecteurs de masse ; spectrométrie de masse par torche à plasma).

Mois 1-12 : Préparation (comités d'éthique, questionnaires, contacts des entreprises et visites préliminaires)

Mois 12-28 : Campagnes de terrain, analyse des échantillons, retour aux entreprises

Mois 28-36 : analyse des données et valorisation (rapport et au moins 3 publications prévues)

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INRS - Vandoeuvre les Nancy

Responsable de l'équipe : M. Pascal Wild

Equipe 2 : IST, Pôle Environnement- Epalinges-Lausanne

Responsable de l'équipe : M. Jean-Jacques Sauvain

Equipe 3 : Université Lille 2, Département de Médecine et Santé au Travail, Pôle Recherche

Responsable de l'équipe : M. Sébastien Hulo

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 930 € TTC

Résumé STRESSJEM - 2016_1_049

Responsable scientifique : Mme Isabelle Niedhammer

Organisme : Inserm U1136 - Paris

1. Titre	Projet complet	36 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Facteurs psychosociaux au travail et mortalité en France

2. Questions à la recherche

SHS 6 - Impacts des facteurs économiques et organisationnels (intra et inter entreprises) sur la prise en compte des dimensions sanitaires dans la production (exposition des travailleurs) et la mise en marché des produits (exposition des consommateurs).

3. Résumé

Objectif détaillé

- Construire une matrice emplois-expositions pour les facteurs psychosociaux au travail combinant les données des enquêtes nationales SUMER 2003 et 2010
- Appliquer la matrice aux données nationales COSMOP-DADS et mener plusieurs études étiologiques sur la mortalité toutes causes et par cause, en particulier mortalité pour maladies cardio-vasculaires et suicide
- Estimer les fractions de la mortalité toutes causes et par cause attribuables aux facteurs psychosociaux au travail

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

La littérature est inexistante en France et rare au niveau international sur les liens entre facteurs psychosociaux au travail et mortalité toutes causes et par cause. La littérature est convaincante sur les associations entre ces facteurs et les maladies cardio-vasculaires et troubles de la santé mentale. Néanmoins, il est difficile d'en tirer des conclusions claires sur l'impact de ces facteurs sur la mortalité pour ces causes spécifiques. L'étude de la mortalité requiert des effectifs conséquents et des périodes de suivi longues, expliquant probablement la rareté des études sur la thématique proposée. De plus, les grandes bases nationales de données de mortalité ne comportent jamais une évaluation des facteurs psychosociaux au travail.

Argumentation du choix des questions

Les matrices emplois-expositions constituent une approche pertinente dans cette thématique des facteurs psychosociaux au travail et de la mortalité. Elles permettent de fournir une ou plusieurs mesures d'une exposition donnée (prévalence, fréquence, durée...) en fonction d'intitulés d'emploi. Elles présentent deux grands avantages : fournir des mesures d'exposition dans des enquêtes où on ne dispose pas de mesures directes mais seulement d'intitulés d'emploi, et dans le contexte plus spécifique des facteurs psychosociaux au travail fournir des mesures qui ne sont pas entachées d'un éventuel biais de déclaration. Quelques matrices sur ces facteurs ont été développées au niveau international, dont la matrice française basée sur les données de l'enquête SUMER 2003.1 Ces matrices agrègent des données individuelles pour fournir une estimation moyenne pour les différents intitulés d'emploi. Ces matrices apparaissent donc comme une méthode particulièrement utile pour l'étude de la mortalité dans un contexte national.

Description des méthodes mises en œuvre

La première étape consistera en la construction de la matrice sur les données nationales des enquêtes SUMER 2003 et 2010. SUMER constitue une enquête de référence, quasi unique au niveau international, dans l'évaluation des facteurs psychosociaux au travail. Elle présente plusieurs avantages : dimension nationale, couverture de la population salariée (hormis certains secteurs de la fonction publique), utilisation de questionnaires validés (questionnaires de Karasek et Siegrist) et évaluation de facteurs émergents (violences, temps de travail prolongé, insécurité...). Nous tirerons profit de notre expérience de la construction de la matrice sur les données SUMER 2003.1 Les données SUMER 2010 nous permettent d'effectuer une mise à jour avec un élargissement des mesures des facteurs psychosociaux au travail et un

effectif deux fois supérieur à celui de 2003 (46 962 salariés contre 24 486). Une étude des évolutions de la matrice dans le temps sera réalisée afin de déterminer la pertinence de construire une matrice dépendante du temps ou une matrice poolant les deux années pour plus de puissance statistique et de précision dans les estimations. Les variables relatives à l'intitulé d'emploi seront la profession (PCS), le secteur d'activité (NAF) et la taille de l'entreprise. La matrice sera stratifiée sur le genre et l'âge.

Les études étiologiques seront réalisées par une application de la matrice aux données du projet COSMOP porté par l'InVS, obtenues par appariement individuel d'un échantillon représentatif de salariés au 1/25e, issu du panel DADS de l'Insee (version 2002), aux causes médicales de décès. L'échantillon obtenu compte 1 511 456 salariés sur la période 1976-2002 dont 144 863 étaient décédés au 31/12/2005. Il comporte l'intégralité des périodes d'emploi salarié (hors fonction publique et secteur agricole) avec les variables décrivant l'emploi (PCS, NAF, taille d'établissement...), permettant une utilisation de la matrice et une évaluation des facteurs psychosociaux au travail y compris en termes de durée d'exposition. Les méthodes statistiques comporteront des analyses de survie (Cox). Au moins trois études étiologiques seront réalisées : sur la mortalité toutes causes, la mortalité pour maladies cardio-vasculaires et le suicide. Les autres causes de mortalité seront explorées pour déterminer un éventuel impact des facteurs psychosociaux au travail. Enfin, le calcul de fractions attribuables permettra d'évaluer le fardeau de ces facteurs sur la mortalité.

1 Niedhammer I, Chastang JF, Levy D, David S, Degioanni S, Theorell T. Study of the validity of a job-exposure matrix for psychosocial work factors: results from the national French SUMER survey. *Int Arch Occup Environ Health* 2008;82:87-97.

-Eléments de calendrier

Année 1 : construction et adaptation de la matrice

Année 2 : études étiologiques

Année 3 : études étiologiques et calcul des fractions attribuables

Rédaction d'un minimum de 6 manuscrits pour publication

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1136 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Niedhammer

Equipe 2 : InVS, Département Maladies chroniques et traumatismes - Saint-Maurice

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Chérié-Challine

Equipe 3 : Centre for Population Health Research, School of Health & Social Development – Burwood, Australie

Responsable de l'équipe : M. Anthony D. Lamontagne

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 805 € TTC

Résumé SURUPI - 2016_1_091

Responsable scientifique : M. Jean-Noël Jouzel

Organisme : Centre de sociologie des organisations, UMR 7116, CNRS Sciences Po - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

La surveillance des risques professionnels incertains

2. Questions à la recherche

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

PEST 1.1 - Améliorer la caractérisation de l'exposition des utilisateurs et des résidents proches des zones traitées.

SHS 6 - Impacts des facteurs économiques et organisationnels (intra et inter entreprises) sur la prise en compte des dimensions sanitaires dans la production (exposition des travailleurs) et la mise en marché des produits (exposition des consommateurs).

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet étudie les modalités de la surveillance de risques professionnels caractérisés par un important niveau d'incertitude (risques chimiques et risques psychosociaux). Il s'intéresse aux interactions entre les travailleurs exposés à ces risques, les gestionnaires de ces risques et les dispositifs dédiés à leur surveillance, dont le déploiement prend actuellement une ampleur inédite. La compréhension de leur fonctionnement est un enjeu important pour améliorer la production de connaissances sur les liens entre travail et santé.

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

Depuis les années 1990, nombre de questions liées aux conditions de travail ont été progressivement reproblématisées comme des enjeux de « santé au travail ». Les dynamiques organisationnelles et politiques induites par cette mutation ont été étudiées par les sciences sociales : montée en puissance de groupes professionnels (IPRP, consultants, etc.), réorganisation des services de santé au travail, émergence de nouvelles catégories médico-administratives et juridiques (RPS)... Un aspect de cette montée en puissance de la « santé au travail » a en revanche fait l'objet de peu d'attention : le renforcement et la multiplication des dispositifs de surveillance de l'état de santé des populations de travailleurs, dans une optique de prévention des risques professionnels. Ces dispositifs prennent des formes extrêmement variées (observatoires, réseaux de veille sanitaire, enquêtes quantitatives suivies, etc.). Ils mobilisent des catégories et des instruments qui, sans être toujours nouveaux, ont pu voir leurs usages évoluer : outils de caractérisation des expositions professionnelles (par ex., matrices emploi-exposition), concepts scientifiques (biosécurité, biovigilance), ou outils d'évaluation des états biologiques des travailleurs (outils de diagnostics psychosociaux, tests de dépistage, etc.).

L'objectif de notre projet est d'analyser le fonctionnement concret de ces dispositifs de surveillance, dans leur dimension scientifique, sociale, politique et juridique. Il s'agira en particulier d'analyser les activités de surveillance déployées vis-à-vis de risques professionnels particulièrement incertains, car difficiles à surveiller : des risques chimiques sur lesquels les données de dangerosité ou d'exposition sont lacunaires ; des risques dits psychosociaux, difficiles à caractériser et à objectiver.

Argumentation du choix des questions

Pour étudier la surveillance des risques chimiques, nous nous focaliserons sur deux catégories de substances : les nanomatériaux manufacturés et les pesticides, qui sont deux priorités du PNR EST 2016 et

font l'objet de dispositifs de surveillance spécifiques (par ex. Réseau Phyt-attitude pour les pesticides). Pour étudier la surveillance des risques psychosociaux, nous analyserons les multiples dispositifs de surveillance mis en place ces dernières années, parfois dans une logique marchande, qui s'appuient sur des concepts (addiction, stress), des catégories (RPS, harcèlement...) et des méthodologies fortement débattues.

A des fins comparatives, nous analyserons les enjeux de la surveillance de ces risques dans une grande variété de contextes organisationnels (Laboratoires publics et privés de recherche, Collectivités territoriales, Grandes entreprises de services, Exploitations et territoires agricoles). Cela permettra d'interroger les modalités concrètes des contributions citoyennes et d'acteurs de la santé au travail non scientifiques (inspection du travail, représentants syndicaux, etc.) aux dispositifs de surveillance et de vigilance des conditions de travail (question 1 du thème SHS), et d'interroger l'influence des contextes productifs (par ex. intensité des relations hiérarchiques, place de la sous-traitance, etc.) sur l'organisation de la surveillance de la dimension sanitaire des activités (question 6 du thème SHS).

Description des méthodes mises en œuvre

Pour mener à bien le projet, des enquêtes en sciences sociales reposant sur des méthodes classiques et maîtrisées (analyse documentaire, enquête ethnographique par observation, entretiens sociologiques) seront menées. Des travaux exploratoires ont d'ores et déjà été engagés sur chacun des différents terrains de recherche qui garantissent la faisabilité de ces enquêtes. Nous proposons d'enrichir notre travail par le recours à une comparaison France / Etats-Unis des modalités de surveillance des risques étudiés.

Les deux premières années seront consacrées aux enquêtes de terrain, et la dernière à leur valorisation sous la forme de publications et de participations à des colloques.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre de sociologie des organisations, UMR 7116, CNRS Sciences Po - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean-Noël Jouzel

Equipe 2 : CSO - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jerome Pelisse

Equipe 3 : Université Paris Est, LISIS - Marne-la-Vallée

Responsable de l'équipe : Mme Scarlett Salman

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 181 809 € TTC

Résumé TARGET - 2016_1_039

Responsable scientifique : Mme Anna Cohuet

Organisme : IRD, Unité MIVEGEC - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Cibler les moustiques vecteurs les plus susceptibles de transmettre des pathogènes

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

Les répulsifs représentent un outil à la fois essentiel pour contrôler les vecteurs de la dengue et du chikungunya et prometteur contre les vecteurs du paludisme résistants aux insecticides. L'efficacité réelle des répulsifs semble dépendre de paramètres chez le vecteur qui n'ont pourtant encore jamais été pris en compte. Nous proposons ici des méthodes novatrices d'étude de molécules répulsives chez les moustiques vecteurs de maladies : nous éluciderons l'effet de l'état physiologique du moustique (résistance aux insecticides, âge, expérience antérieure, statut infectieux) sur la perception et l'efficacité des molécules répulsives. Ce projet permettra ainsi l'élaboration de stratégies de lutte anti-vectorielle plus ciblées, plus efficaces et plus durables, en se focalisant sur les moustiques les plus dangereux : ceux qui sont les plus susceptibles de transmettre un pathogène.

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

Les vecteurs de dengue et chikungunya, *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*, ont un pic d'agressivité diurne, faisant de l'utilisation de répulsifs la principale méthode de protection individuelle. Dans la lutte contre le paludisme, dont *Anopheles gambiae* est un des principaux vecteurs, des études récentes ont montré que des moustiquaires imprégnées du répulsif DEET confèrent une bonne protection même contre des moustiques résistants aux insecticides. Ainsi, la récente invasion d'*Ae. albopictus* en Europe d'une part et le potentiel des répulsifs dans la lutte contre le paludisme d'autre part, a subitement accru leurs intérêts scientifiques et opérationnels.

Il est suspecté que la résistance aux insecticides, répandue chez la plupart des vecteurs, interagirait avec l'efficacité des répulsifs par résistance croisée. Par ailleurs, les moustiques vecteurs deviennent dangereux lorsqu'ils ont pris un repas de sang infectieux et que les pathogènes ont achevé leur période d'incubation. Ces moustiques infectieux sont susceptibles de voir leur agressivité augmenter lorsque les pathogènes ont atteint les glandes salivaires. De plus, les moustiques infectieux sont âgés (en particulier pour les vecteurs de *Plasmodium* dont le développement est long) et ont déjà eu, au moins, une expérience de repas de sang sur l'humain (le repas les ayant infectés). Ainsi, la résistance aux insecticides, l'âge, l'expérience et le statut infectieux sont autant de composantes rarement considérées dans l'étude du comportement des vecteurs et, à notre connaissance, jamais lors d'évaluation de répulsifs. Comprendre les interactions entre ces états physiologiques sur la perception et l'efficacité des répulsifs constitue l'originalité et la pertinence de ce projet, tant sur un plan théorique que pour les promesses d'applications directes.

Argumentation du choix des questions

Notre projet vise à répondre à 3 questions majeures articulées autour de l'activité des molécules chimiques selon le statut du vecteur. La perception et l'efficacité des répulsifs par les vecteurs sont-elles modifiées par :

- La résistance aux insecticides?
- L'âge et l'expérience lors des repas de sang antérieurs ?
- Le statut infecté/infectieux?

L'étude de l'influence de ces variables sur l'effet des répulsifs est cruciale dans l'objectif d'une utilisation ciblée spécifiquement contre les vecteurs effectivement impliqués dans la transmission. Cette approche ciblée est novatrice et durable. En effet, une lutte ciblée permettait une meilleure utilisation de l'arsenal disponible et une réduction des risques d'émergence de résistances aux répulsifs.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet regroupe différentes disciplines (entomologie, parasitologie, virologie, biologie du comportement, chimie, électrophysiologie) sur plusieurs modèles biologiques :

Année 1 : Grâce à de nouveaux bio-essais comportementaux, un screening du(es) rôle(s) activateurs/inhibiteurs des principales molécules répulsives autorisées par le règlement 528/2012/UE (DEET, IR35-35, KBR 3023, PMD, dérivés synthétiques de plantes) sera effectué. En parallèle, la perception de ces molécules par les insectes vecteurs sera étudiée d'abord par électroantennographie (EAG). En accord avec les recommandations de la précédente évaluation du projet par l'ANSES, une analyse plus fine des récepteurs impliqués dans la perception des molécules sera effectuée par Single Sensillum Recording (SSR).

Année 2-3 : Certaines molécules candidates seront utilisées pour étudier l'influence de l'état physiologique du moustique sur la perception et l'effet du répulsif. A Montpellier, au Vectopôle (plate forme P3) nous testerons l'effet des variables résistance insecticide, âge, expérience chez *Aedes* et *Anopheles* et infection chez *Aedes* par tests de comportement et électrophysiologie.

Années 2: En Côte d'Ivoire, nous effectuerons des infections expérimentales d'*An. gambiae* par *P. falciparum* et étudierons l'effet de l'infection des vecteurs sur leur perception des odeurs et leur comportement face à des matériaux imprégnés d'insecticides/répulsifs.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : IRD, Unité MIVEGEC - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Anna Cohuet

Equipe 2 : CEFE-CNRS, Interactions Biotiques - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Laurent Dormont

Equipe 3 : Institut Pierre Richet (IPR) - Bouaké, Côte d'Ivoire

Responsable de l'équipe : Mme Amanan Alphonsine Koffi

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 264 € TTC

Résumé TriPleR - 2016_1_060

Responsable scientifique : Mme Sophie Achard

Organisme : Université Paris Descartes, Laboratoire de Santé Publique et Environnement - Paris

1. Titre

Projet complet

24 mois

Impact des PM_{2.5} variant selon leur source (Trafic routier – Industries) sur la santé respiratoire. Approche in vitro

2. Questions à la recherche

AIRR 4 - Etude des effets des cumuls d'exposition et développement d'indicateurs correspondants (air intérieur, polluants atmosphériques, ...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Parmi les facteurs de risque majeurs dans le développement de pathologies respiratoires humaines comme l'asthme, on trouve la pollution particulaire (PM), décrite comme un mélange complexe de substances (hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), métaux,...). Cette pollution varie selon les caractéristiques physico-chimiques des PM. Si la taille des PM est relativement stable, la composante chimique varie selon l'environnement et la période de l'année, les PM adsorbent à leur surface des composés très différents sur le plan chimique et biologique formant de véritables «cocktails» à forte réactivité biologique.

Afin d'assurer une bonne qualité de l'air arrivant au niveau alvéolaire, les voies respiratoires doivent piéger et éliminer les polluants se trouvant dans l'air inhalé. La distribution des PM au niveau de l'arbre respiratoire est fonction de leur taille : les plus grosses (PM₁₀) se déposeront au niveau des voies aériennes supérieures et les plus petites (PM_{2.5}) pénétreront au plus profond de l'arbre respiratoire. Les muqueuses des voies aériennes sécrètent un film muqueux, véritable écran protecteur assurant le transport mucociliaire et l'élimination des polluants, mais pouvant aussi engluer les polluants les retenant au contact des cellules épithéliales.

Notre hypothèse est, qu'à côté de la distribution, des voies hautes (nez) vers les voies basses (bronches), des PM en fonction de leur diamètre aérodynamique, leur rétention plus ou moins longue dans le mucus lors de ces transferts peut conduire à un relargage des composés chimiques adsorbés à leur surface conduisant à une interaction entre la fraction chimique et l'épithélium, provoquant alors un effet retard dans la réponse cellulaire.

A l'aide d'un modèle in vitro adapté aux expositions chroniques, nous proposons de tester cette hypothèse dont l'objectif principal porte sur l'étude de l'impact des PM_{2.5} sur l'épithélium respiratoire humain, en lien avec les composés chimiques adsorbés sur leur surface : riches en HAP pour les PM liées au trafic automobile et en métaux pour les PM liées à l'industrie.

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

De nombreuses études soulignent l'impact des PM sur la santé respiratoire, mais peu de travaux s'intéressent à leur devenir après contact avec les voies respiratoires. L'originalité de notre travail, réside dans le développement d'une méthodologie in vitro permettant d'évaluer l'impact des particules fines en fonction de leur(s) caractéristique(s) physico-chimique(s) sur la réponse biologique d'épithéliums respiratoires humains. Les points forts de cette étude sont 1/ une définition précise des PM (caractérisation physico-chimique : taille, HAP, métaux), 2/ un modèle in vitro adapté à la voie d'exposition majoritaire des PM (inhalation mimée par une exposition en interface air-liquide d'épithélium humain reconstruit d'origine nasal), 3/ un suivi de l'interaction PM-épithélium à l'aide de marqueurs du métabolisme traçant l'origine des particules (HAP pour trafic – Métaux pour industrie).

Le caractère novateur de l'étude proposée repose sur l'utilisation d'épithélium respiratoire humain reconstruit, modèle in vitro permettant de mimer les conditions réelles d'exposition aux polluants environnementaux, et, grâce aux différents types cellulaires le constituant, d'envisager le rôle que peut jouer le mucus dans la rétention, le transfert d'agents chimiques dans l'organisme et l'effet retard qu'ils peuvent générer sur le plan sanitaire.

Argumentation du choix des questions

Cette étude entre dans le champ de la santé environnementale en lien avec les agents chimiques présents dans l'air. La pollution particulaire influe de manière importante sur les pathologies pulmonaires, les particules présentant à leur surface de nombreux agents chimiques dont les effets peuvent être plus ou moins délétères (perturbation du métabolisme à cancérogène). L'inhalation étant la principale voie d'exposition, l'utilisation d'un modèle in vitro d'épithélium respiratoire humain reconstruit permettra d'évaluer l'impact cellulaire et moléculaire d'expositions longues et répétées à de tels mélanges « cocktail ». Ce modèle in vitro permet de mimer les expositions chroniques et cumulées et de définir le rôle du mucus dans l'apparition de la toxicité précoce ou retardée de tels agents chimiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Les PM seront prélevées dans la région de Dunkerque pour les particules d'origine industrielle et à Paris pour les particules en lien avec le trafic automobile : prélèvement par impaction, caractérisation physico-chimique (GC-MS, ICP, Granulomètre laser) (équipe 2 : 6 mois).

Les épithéliums respiratoires humains reconstruits (MucilAir) seront exposés, en interface air/liquide, aux PM 2 fois par semaine durant 4 semaines. 72h après lavage de la partie apicale des épithéliums, afin d'avoir un film muqueux d'épaisseur constante, dépôts des PM sous forme d'un flux d'aérosol (système d'exposition Vitrocell) (équipe 1 : 20 mois). Après exposition 1/ Les milieux de culture seront prélevés 72h après chaque exposition pour évaluer la réponse inflammatoire ; production de cytokines et chemokines (IL-6, IL-8, IL-13, GM-CSF) et de métalloprotéases (MMP-3 et MMP-9) par test ELISA. 2/ Les épithéliums seront sacrifiés en fin de semaine pour a/ analyse des enzymes du métabolisme spécifiques traçant l'origine des particules par RTqPCR, b/ observation de la morphologie tissulaire : immunohistochimie par microscopie confocale, c/ observation de la pénétration des PM dans l'épithélium par microscopie électronique à transmission.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Descartes, Laboratoire de Santé Publique et Environnement

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Achard

Equipe 2 : Centre Commun de Mesures-ULCO - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Cazier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 99 996 € TTC

Résumé Thyrogenox - 2016_1_002

Responsable scientifique : M. Frédéric Flamant

Organisme : Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon - UMR 5242 - Ecole Normale Supérieure de Lyon

1. Titre

Projet complet

36 mois

Perturbation thyroïdienne et neurodéveloppementale par les pesticides.

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 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 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

L'hormone thyroïdienne (T3) joue un rôle clé dans le neurodéveloppement, agissant directement sur l'expression des gènes dans de nombreux types cellulaires, en modifiant la conformation des récepteurs nucléaires TR α et TR β . De ce fait l'exposition des enfants en bas âge à des perturbateurs thyroïdiens peut affecter leurs fonctions cognitives de manière irréversible. Nous ignorons toutefois si la contamination par des perturbateurs thyroïdiens est suffisante pour constituer un réel péril pour la population générale. Des données épidémiologiques récentes montrent un défaut de QI chez les enfants exposés aux pesticides. Si ce défaut reflète bien une perturbation de la signalisation thyroïdienne, il fait des pesticides des suspects majeurs pour lesquels les données toxicologiques disponibles sont insuffisantes. Utilisant deux lignées cellulaires ad hoc, nous avons tout récemment établi une liste de 8 pesticides, parmi 50 testés, qui agissent in vitro comme des perturbateurs de la réponse thyroïdienne. Nous souhaitons définir les concentrations minimales actives, et détecter l'éventuelle synergie entre ces produits. Nous évaluerons également l'activité de ces pesticides à faible dose, ou en mélanges, en utilisant un test rapide in vivo développé par la société Watchfrog. Ce test est basé sur des têtards transgéniques dans lesquelles l'activité de l'axe thyroïdien module l'expression du gène rapporteur gfp. Nous définirons ensuite plus largement l'activité de ces molécules en utilisant une approche pangénomique, qui s'est avérée très informative et très performante pour analyser l'influence d'agents ignifugeants (voir Guyot et al 2014). Elle consiste à étudier le transcriptome de cellules neurales de souris sensibles à la T3 (C17.2/TR α), cultivées en présence de perturbateurs. Nous validerons également l'utilisation de souris transgéniques que nous avons récemment développées pour favoriser l'analyse du transcriptome neuronal, un modèle in vivo dont nous pensons qu'il apportera une amélioration majeure pour l'analyse des effets neurodéveloppementaux de l'ensemble des perturbateurs endocriniens.

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

Ce projet combine l'utilisation de méthodes innovantes pour analyser la neurotoxicité d'une série de pesticides qui sont parmi les principaux xénobiotiques susceptibles d'agir sur la signalisation thyroïdienne. Il apportera une information d'une grande importance en termes de santé publique, notamment concernant

la santé des enfants. Il sera également l'occasion de tester plusieurs améliorations techniques et de développer de nouveaux tests in vivo applicables à l'ensemble des perturbateurs endocriniens.

NB : Evolution du programme depuis la dernière soumission : L'essentiel de ce programme a été soumis en 2015, mais n'a pas été retenu. Cette nouvelle version tient compte des commentaires des relecteurs et d'avancées significatives effectuées depuis 1 an avec le soutien d'un contrat ANR. 1) Le budget attribué à la société Watchfrog est significativement réduit. 2) Le criblage initial sur lignées cellulaires reportrices a été effectué et nous permet de focaliser l'étude sur 8 pesticides ayant montré une activité dans des tests cellulaires. 3) Le développement d'un modèle de souris transgénique dédié arrive à un stade de maturation suffisant pour permettre sa validation au cours des deux années du projet.

Argumentation du choix des questions

1) La question centrale qui nous préoccupe est la suivante : la population est-elle exposée de manière chronique à des concentrations de pesticides capables d'agir comme des perturbateurs thyroïdiens et de compromettre le neurodéveloppement des enfants ?

2) Sur le plan technique, pouvons-nous dépasser la limite des tests disponibles en transposant in vivo l'analyse pangénomique de l'expression des gènes dans des catégories de neurones sensibles à l'hormone thyroïdienne ?

Description des méthodes mises en œuvre

Année 1:

1) Test des mélanges contenant 2 des 8 pesticides (sur lignées reportrices, 24 combinaisons)

2) Identification d'échantillons d'eau prélevés dans des zones agricoles possédant une activité perturbatrice dans le test sur têtards de Xénope.

2) Test sur têtards de Xénope des 4 pesticides ou mélanges les plus actifs. Courbes dose/réponse.

3) Validation d'un modèle de souris transgénique, déjà créé, pour une analyse ciblée du transcriptome neuronal GABAergique (Expression neuronal d'une protéine ribosomale taguée facilitant la purification des polysomes/ARNm à partir de cerveau entier).

Année 2:

3) Application de doses faibles sur les cellules sensible à la T3 C17.2/TRa, et sur des cellules contrôle C17.2 dans expression de récepteur TR. Dose variable de T3.

4) Test des échantillons environnementaux sur les lignées reportrices.

5) Analyse bioinformatique. Distinction entre signalisation thyroïdienne et autres effets.

Année 3:

6) Exposition de souris gestantes à un mélange de pesticide à faible dose. Analyse du transcriptome neuronal GABAergique. Analyse bioinformatique.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon - UMR 5242 - Ecole Normale Supérieure de Lyon

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Flamant

Equipe 2 : Watchfrog - Evry

Responsable de l'équipe : M. David Du Pasquier

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 472 € TTC

Résumé XENOMIX - 2016_1_162

Responsable scientifique : Mme Laila Mselli-Lakhal

Organisme : Inra UMR 1331 Toxalim - Toulouse

1. Titre

Projet complet

36 mois

Activation synergique de récepteurs nucléaires par des mélanges de xénobiotiques

2. Questions à la recherche

PEST 2.1 - Caractériser le lien entre l'exposition et l'impact des pesticides sur la santé humaine, identifier les incertitudes en vue de les quantifier et de les prendre en compte, et proposer des recherches sur les techniques et les pratiques permettant de réduire cet impact.

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.

CANC 4 - 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

Le but de ce projet est d'étudier les effets synergiques potentiels de combinaisons de xénobiotiques sur l'activation des formes murines et humaines des deux récepteurs nucléaires nucléaires, PXR et PPAR α . Nous projetons d'étudier la capacité d'une banque de xénobiotiques à lier et activer de façon coopérative ces récepteurs nucléaires avec comme conséquence de conduire au développement de pathologies hépatiques allant de la stéatose à l'hépatocarcinome.

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

Les maladies hépatiques non alcooliques (nommées NAFLD pour Non-alcoholic fatty liver disease) représentent un ensemble de désordres hépatiques allant de la simple accumulation de graisse dans le foie, connue sous le nom de stéatose, à une inflammation en présence ou non de fibrose dite stéatohépatite non alcoolique (nommée NASH pour Non Alcoholic Steato-Hepatitis), pouvant évoluer en cirrhose et en carcinomes hépatocellulaire. La première cause d'apparition des NAFLD est la suralimentation. Mais l'augmentation des apports caloriques et la diminution de l'activité physique au cours des dernières années ne suffisent pas à expliquer sa progression. Les contaminants chimiques (plastifiants, POP, organoétains, pesticides...) de notre environnement sont suspectés de contribuer à son développement. Nous proposons de tester la contribution d'activations potentiellement synergiques des récepteurs nucléaire PXR et PPAR α dans le développement et l'évolution de ces pathologies vers des hépatocarcinomes. En effet, l'activation de ces deux récepteurs nucléaires est associée à la promotion et au développement de cancer ainsi que pour PXR à la résistance aux traitements anti-cancéreux.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit dans 3 des questions de recherche du PNR EST : « exposition aux pesticides, caractériser le lien entre l'exposition et l'impact des pesticides sur la santé humaine », « agents chimiques et polluants émergents, étude des effets des perturbateurs endocriniens, modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux d'effets cocktail » et « cancer, risques de cancers liés à des expositions environnementales, effets d'expositions cumulées ». Les molécules étudiées comportent des

perturbateurs endocriniens de type pesticides, phtalates, composés perfluorés et organoétains. L'exposition à ces composés est associée à des problèmes de santé humaine et dans cette étude nous focaliserons sur le caractère stéatogène et cancérogène.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet consiste à tester l'activation synergique par des xénobiotiques des récepteurs nucléaires PXR et PPAR γ pour lesquels le partenaire 2 a déjà pu mettre en évidence un effet synergique in vitro pour certains d'entre eux. Pour PXR, il s'agit notamment de combinaisons entre des analogues du transnonachlore (TNC, TC, CNC, CC) et de l'éthinylestradiol (EE2, E2, E1, E3). Pour PPAR γ , il s'agit de combinaisons entre des phtalates (MEHP, BBP, DBP) et des composés perfluorés, (PFOA, PFHepA, PFNA, PFDA, etc). Les effets de ces molécules seront également étudiés en présence d'organoétains (TBT, TPT, TpheT, DBT) qui sont des activateurs des récepteurs RXR partenaires d'hétérodimérisation de PXR et PPAR γ . Le projet comporte 3 types d'approches : un criblage in vitro de plus de 300 xénobiotiques comprenant entre autres le TNC, l'EE2, le MEHP, le PFOA et leurs analogues en présence ou pas d'organoétains (première année), une analyse cristallographique pour permettre une étude structure-activité (première et deuxième année) et une étude in vivo à l'aide de souris sauvages et invalidées pour les récepteurs nucléaires PXR et PPAR γ (deuxième et troisième année).

Le criblage in vitro sera réalisé sur une banque de 324 xénobiotiques à l'aide de cellules rapporteurs bioluminescentes exprimant les formes murines et humaines des récepteurs nucléaires PXR et PPAR γ établies par le partenaire 2. L'étude cristallographique réalisée par le partenaire 3 permettra de mieux comprendre la nature des interactions entre les xénobiotiques (Comme décrit dans Delfosse et al, Nature Communication 2015). Enfin, le coordinateur et partenaire 1, étudiera in vivo les combinaisons de xénobiotiques les plus synergiques sur des souris WT. Les souris invalidées pour les récepteurs nucléaires PXR et PPAR γ seront utilisées comme contrôles négatifs. L'activation des ces récepteurs nucléaires sera évaluée lors de traitements de courte durée (4 jours) par mesure en QPCR de l'expression de gènes cibles de ces récepteurs. Des traitements de plus longue durée (28 jours) seront également réalisés afin de rechercher des marqueurs de stéatose/ fibrose hépatique (comme décrit dans Marmugi et al, Hepatology 2012).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inra UMR 1331 Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Laila Mselli-Lakhal

Equipe 2 : IRCM Inserm U896 CRLC - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Marina Grimaldi

Equipe 3 : CBS CNRS UMR 5048 Inserm U1054 - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. William Bourguet

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 197 585 € TTC