
Appel à projets de recherche 2020 du PNR EST

Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 34 dossiers soumis aux appels à projets 2020 et retenus pour financement par le comité d'orientation à l'issue du processus de sélection.

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Résumé 4-5G-Cerv - 2020_2 RF_014 | 3 |
| Résumé Allergosil - 2020_1_199..... | 5 |
| Résumé AROMATOX - 2020_1_208..... | 7 |
| Résumé ASPI - 2020_1_163 | 9 |
| Résumé ATB_Biofilm - 2020_1_142..... | 11 |
| Résumé BIPlatE - 2020_1_217 | 13 |
| Résumé CadPaSte - 2020_1_195 | 15 |
| Résumé CONETRE - 2020_1_047 | 17 |
| Résumé CoPoBois - 2020_1_084 | 19 |
| Résumé CRABMAYO - 2020_1_110 | 21 |
| Résumé EpiKids-PK - 2020_1_204 | 23 |
| Résumé ETAP-ASD - 2020_1_031 | 25 |
| Résumé EVALSUB - 2020_1_214..... | 27 |
| Résumé EXPOAUTO - 2020_2 RF_005 | 29 |
| Résumé GinFiz - 2020_1_133..... | 31 |
| Résumé Halocomendis - 2020_1_059 | 33 |
| Résumé LumEnColor - 2020_1_258..... | 35 |
| Résumé MOSQUITWO - 2020_1_129 | 37 |
| Résumé MOTHERR - 2020_2 RF_008..... | 39 |
| Résumé MOUSTIC - 2020_1_188..... | 41 |
| Résumé Neo_F3_2020 - 2020_1_040..... | 43 |
| Résumé OSTils - 2020_1_118..... | 45 |
| Résumé PartEnR - 2020_1_092..... | 47 |
| Résumé PE_AGRO_EVAL - 2020_1_143..... | 49 |
| Résumé PESTINTER - 2020_1_245..... | 51 |
| Résumé PolLumiFem - 2020_1_018 | 53 |
| Résumé POMELO - 2020_1_102 | 55 |
| Résumé QAC-BloM - 2020_1_116 | 57 |
| Résumé RADIODEP - 2020_2 RF_012..... | 59 |
| Résumé RESEDChrepro - 2020_1_025..... | 61 |
| Résumé SENTINEL - 2020_1_038..... | 63 |
| Résumé Transplast - 2020_1_124..... | 65 |
| Résumé VECTRAP - 2020_1_114..... | 67 |
| Résumé VITEXPENTE - 2020_1_251..... | 69 |

Résumé 4-5G-Cerv - 2020_2 RF_014

Responsable scientifique : M. Michel Mallat

Organisme : Inserm U.1127 - Paris

1. Titre

Projet complet

30 mois

Impacts moléculaires et fonctionnels des radiofréquences de la téléphonie mobile 4G et 5G sur le cerveau

2. Questions à la recherche

RFES 2.1.7 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur les fonctions cognitives (mémoire, raisonnement, fonctions exécutives, attention) chez l'animal et chez l'Homme : en réalisant des études de provocation chez l'adulte et l'enfant, à différents âges du développement, en situation d'exposition ou non à des radiofréquences, à l'aide d'instruments psychométriques bien étalonnés, de techniques d'imagerie cérébrale et/ou d'enregistrements de l'activité électrique cérébrale (EEG) (y compris potentiels évoqués), en condition basale ou de stimulation (tâches cognitives).

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant aux niveaux cellulaire et moléculaire, en tenant compte des évolutions d'utilisation de fréquences liées aux nouveaux usages et nouvelles technologies de communication.

RFES 2.4 - Étude des effets des champs électromagnétiques sur le vivant dans les bandes de fréquences aujourd'hui peu étudiées, notamment au-dessus de 2,5 GHz, associées aux prochains déploiements de la technologie 5G et aux usages émergents concernant les objets communicants.

3. Résumé

Objectif détaillé

Mise au point d'un système calibré d'exposition chronique "tête seule" à des signaux 5G (RF 3.5 GHz, DAS < 2 W/kg) pour des souris adultes vigiles. Détermination des effets sur l'activité motrice, les fonctions mnésiques et sur l'ensemble du transcriptome codant intracortical. En continuité avec nos travaux actuels (projet 2-4Ginf soutenu par l'ANSES), utilisation d'un système établi d'exposition de cultures cellulaires aux signaux LTE 1,8 GHz (4G), pour analyser l'impact de ces signaux sur la méthylation, l'acétylation et la localisation intragénomique des histones H3 en lien avec l'expression des gènes et l'ouverture de la chromatine dans i) des cellules microgliales purifiées et activées par un agent proinflammatoire (lipopolysaccharide) ou par exposition à un oncométabolite (D2HG) produit par des gliomes, ii) des cancers du cerveau (gliomes) humains issus de patients et maintenus in vitro.

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

La sensibilité du système nerveux central aux signaux 5G / 3,5 GHz est une question pleinement ouverte et l'analyse que nous en proposons est sans équivalent publié. L'activation des cellules microgliales sous-tend les réactions neuroinflammatoires associées à toutes les pathologies cérébrales dont les gliomes. Les travaux de notre consortium ont révélé que l'activation des cellules microgliales accroît leur sensibilité aux RF 1,8 GHz. Notre approche permet une analyse approfondie de ces réponses microgliales, qui ira de pair avec une exploration fine et inédite de l'impact des signaux 4G sur des mécanismes épigénétiques contrôlant la transcription. De plus, nous disposons d'un matériel cellulaire unique (gliomes issus de patients) permettant d'analyser l'influence des RF sur des mécanismes épigénétiques affectant directement les cellules tumorales et leur évolution.

Argumentation du choix des questions

L'utilisation maîtrisée de tests comportementaux livrera des données importantes sur l'impact des signaux 5G sur les fonctions cognitives mnésiques ou attentionnelles (RFES 2.1.7. et 2.4). Notre méthodologie fondée sur le séquençage à haut débit des ARNm est de nature à révéler des réponses moléculaires non anticipées (1.1 ; 2.4). Notre approche des régulations épigénétiques ciblées sur des cultures primaires de microglie murines et des gliomes humains permet un apport très significatif à la compréhension de réponses moléculaires induites par les signaux 4G (1.1). Ces connaissances fondamentales seront utiles pour appréhender l'influence de signaux de la téléphonie mobile lors d'états pathologiques très courants (épisodes neuroinflammatoires aigus) ou dans le cadre des tumeurs intracérébrales.

Description des méthodes mises en œuvre

Semestres (S)1, 2 , 3 et 4: signaux 5G in vivo. S1: conception, dosimétrie et installation du système d'exposition. S2-3: expositions de souris adultes (1h par jour sur 3 semaines), test comportementaux : actimétrie, reconnaissance spatiale et d'objets. S3-4: profilage du transcriptome codant intracortical par séquençage d'ARN à haut débit (RNA seq), analyse bioinformatique de l'ontologie des gènes modulés; validation par RT-qPCR ; comparaison de 3 groupes : animaux exposés, pseudo exposés (DAS nul) et témoins cages (10-12 animaux par groupe). S1-5: signaux LTE (1,8 GHz) sur microglie purifiée à partir de souris et sur gliomes issus de 3 patients. S1-3: Expositions (DAS et durées variables) versus pseudo exposition (DAS nul) à l'aide de cellules TEM; criblage quantitatif des histones H3 méthylés (H3K4, H3K27) ou acétylés (H3K27) par immunocytochimie et western-blot pour déterminer des conditions d'expositions (DAS < 2 W/kg) entraînant des modifications importantes. Sous ces conditions, analyses des sites de liaison intragénomiques des H3 modifiées et des régions ouvertes de la chromatine par immunoprécipitation de la chromatine ou par tagmentation, couplées au séquençage de l'ADN (techniques Chip-seq et Ataq-seq), en parallèle analyse du transcriptome codant (RNA- seq) (S3-5).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U.1127 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Michel Mallat

Equipe 2 : Institut du Cerveau, Hôpital de la Salpêtrière, Equipe développement du cerveau - Paris

Responsable de l'équipe : M. Carlos Parras

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

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

Equipe 4 : Université de Limoges, XLIM UMR CNRS 7252 - Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 266 169 € TTC

Résumé Allergosil - 2020_1_199

Responsable scientifique : Mme Armelle Biola-Vidamment

Organisme : Université Paris-Saclay, Faculté de pharmacie, INSERM UMR 996 - Châtenay-Malabry

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude des effets pro-allergisants des nanoparticules de silice amorphe en réponse aux pneumallergènes

2. Questions à la recherche

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

AIRR 3 - Études ou développement d'outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail, en particulier allergisants.

3. Résumé

Objectif détaillé

Près de 25% de la population française souffre d'allergie respiratoire d'origine immunologique. L'exposition continue du poumon aux antigènes présents dans l'air inspiré ne conduit pas systématiquement à une immunisation des personnes exposées. Mais la co-exposition à des contaminants comme les nanoparticules (NP) pourrait être déterminante pour l'immunisation contre des allergènes environnementaux en modifiant le microenvironnement cellulaire (signal de danger). La silice amorphe synthétique (SAS) constitue le nanomatériau présentant le plus fort potentiel d'exposition pour les travailleurs comme pour la population générale. L'objectif principal de ce travail est de comprendre comment les SAS peuvent contribuer à la mise en place d'un environnement « immunogène » impliquant les cellules épithéliales pulmonaires, les macrophages et les cellules dendritiques (DC). Nous détaillerons les mécanismes de l'interaction de ces NP sur ces trois types cellulaires humains et mesurerons l'activation des lymphocytes T (LT) spécifiques de Bet v 1 (allergène majeur du bouleau) qui est un des principaux pneumallergènes décrits.

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

Le travail sera mené sur des cellules humaines sur lesquelles les effets directs des SAS mais aussi l'interaction entre les différents types cellulaires seront abordés. Des modèles originaux de co-culture autologue de DC et de LT CD4+ naïfs humains seront utilisés, afin de tester l'hypothèse selon laquelle les NP pourraient favoriser l'immunisation contre Bet v 1 lors d'une co-exposition et ainsi favoriser un terrain allergique. Les SAS utilisées proviendront de sources industrielles, le contexte du projet étant l'exposition par inhalation des travailleurs lors des phases de production et d'usage. Nous testerons les deux grands types de SAS (pyrogénées et précipitées) actuellement sur le marché sous l'appellation E551, et dont nos données préliminaires suggèrent qu'elles induisent des effets toxiques différents. Nous évaluerons l'effet de la présence de surfactant pulmonaire et de mucus sur la réponse cellulaire qu'engendrent les SAS pour nous rapprocher des conditions d'exposition physiologiques.

Argumentation du choix des questions

Notre objectif principal est de tester l'hypothèse selon laquelle les SAS pourraient favoriser l'immunisation contre les pneumallergènes lors d'une co-exposition et ainsi favoriser un terrain allergique, ce qui répond à la question « Études ou développement d'outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail, en particulier allergisants ». Ces NP, présentées jusqu'à présent comme induisant simplement une réaction inflammatoire réversible, possèdent pourtant une toxicité sur les cellules du système immunitaire inné qui y sont particulièrement exposées de par leurs propriétés phagocytaires (question « Écotoxicologie et toxicologie des nanomatériaux »), et nos expériences préliminaires les font clairement apparaître comme un signal de danger immunologique.

Description des méthodes mises en œuvre

Lors de l'année 1, l'évolution des caractéristiques physico-chimiques des SAS en présence d'un surfactant pulmonaire semi-naturel, le Curosurf © (phospholipides, protéines SP-B et SP-C) sera analysée. L'effet du surfactant, additionné ou non des protéines immunomodulatrices SP-A et/ou SP-D, sur l'accumulation et la réponse cellulaire de DC et de macrophages aux SAS sera étudié in vitro. Des schémas d'exposition répétée des macrophages, peu usités et cependant très pertinents seront mis en place pour mimer une exposition professionnelle. Les effets des SAS sur des cellules épithéliales pulmonaires produisant du mucus seront évalués, i.e., leur cytotoxicité, le stress oxydant cellulaire et l'expression/sécrétion de cytokines qu'elles induisent.

Lors de l'année 2, l'interaction entre les trois types cellulaires sera étudiée via les effets des surnageants des cellules épithéliales et des macrophages traités par les SAS sur le phénotype des DC. Nous avons récemment démontré que la fumée de silice constitue un « signal de danger » (Feraÿ et al., soumis), qui est, de façon générale, un prérequis à l'activation complète des DC. Les effets des NP sur la taille du répertoire des LT répondant à Bet v 1 via un effet purement adjuvant et/ou un effet sur la génération de nouveaux épitopes T seront évalués dans un modèle original de co-culture DC/LT autologue (années 2 et 3). Une de nos hypothèses est que les NP s'associeraient avec l'allergène et le transporteraient dans la DC. Ainsi, l'internalisation de Bet v 1 dans les DC et les macrophages, en présence et en absence de NP sera mesurée. Enfin, une modélisation moléculaire de l'interaction de Bet v 1 avec les NP sera menée en année 3, car l'interaction de l'allergène avec la NP pourrait modifier l'accessibilité des épitopes de l'allergène et donc affecter la réponse des LT.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris-Saclay Faculté de pharmacie, INSERM UMR 996 - Châtenay-Malabry
Responsable de l'équipe : Mme Armelle Biola-Vidamment

Equipe 2 : CEA, iRTSV/LCBM - Grenoble
Responsable de l'équipe : M. Thierry Rabilloud

Equipe 3 : CEA, DSM/INAC/SCIB/LAN - Grenoble
Responsable de l'équipe : Mme Marie Carriere

Equipe 4 : Université Paris Saclay, Institut de Chimie Physique - Orsay
Responsable de l'équipe : Mme Emilie Brun

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 871 € TTC

Résumé AROMATOX - 2020_1_208

Responsable scientifique : M. Sylvain Billet

Organisme : Université du Littoral Côte d'opale, MREID2 - Dunkerque

1. Titre

Projet complet

36 mois

Caractérisation, compréhension et modélisation de la toxicité des mélanges de BTEX

2. Questions à la recherche

ACHIM 3 - Impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, stress...).

ACHIM 4 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal : développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de substances en vue de l'évaluation d'une exposition chronique. Identification d'espèces sentinelles des impacts de la pollution chimique.

PE 1 - Développement de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action (y compris épigénétiques).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'exposition aux polluants atmosphériques est complexe. La plupart des études toxicologiques évaluent la nocivité des polluants individuellement. Cependant, la toxicité individuelle ne reflète pas nécessairement la toxicité en mélange. Plusieurs agences européennes et nord-américaines proposent donc des stratégies basées sur le cumul d'exposition (additivité, synergie, antagonisme) en identifiant les effets sur la base de modes d'action (MoA) ou des Adverse Outcome Pathways (AOP). Cette compréhension des MoA et des AOP permet aux évaluateurs de risque de comprendre la plausibilité biologique de l'impact toxique de multi-expositions sur les populations. Le mélange BTEX (Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylène) contient des Composés Organiques Volatils (COV) particulièrement préoccupants en raison de leur utilisation dans l'essence et autres produits de consommation. Ils ont une courte demi-vie dans l'organisme, mais leur exposition est récurrente et ubiquitaire. Les BTEX sont connus individuellement pour leur toxicité. Certains sont ainsi classés cancérigènes ou reprotoxiques au niveau européen. Pour réduire l'expérimentation animale, la National Academy of Science américaine propose d'utiliser des approches combinant in vitro et in silico. L'approche basée sur l'exposition in vitro combinée à la modélisation pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) correspond à l'essence de ces recommandations. L'équipe 2 vient de publier une méthodologie associant un modèle PBPK aux observations « omiques » et ainsi propose des MoA liés à l'exposition interne à des mélanges de BTEX (Ruiz et al 2019). Une démarche expérimentale similaire sur la base d'expérimentations viendrait confirmer l'applicabilité d'une telle approche. L'objectif du projet AROMATOX est de comprendre les mécanismes impliqués dans la toxicité du mélange BTEX en utilisant un modèle de culture organotypique d'épithélium bronchique humain exposé en interface air/liquide (ALI) de manière répétée et en mettant à profit la modélisation PBPK.

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

L'originalité de ce travail est dans la caractérisation d'un mélange connu comme ubiquitaire par des techniques novatrices d'exposition ALI, de transcriptomique et de protéomique devant permettre l'identification de biomarqueurs, afin de comprendre les mécanismes d'action et interactions liés à la co-exposition et d'identifier les événements initiateurs d'AOP. L'exposition ALI aux BTEX imite les processus physiologiques de contact des polluants inhalés avec les couches épithéliales du poumon. Cette méthode bien maîtrisée par l'équipe 1 permet de s'affranchir de l'expérimentation animale tout en faisant le lien avec la modélisation PBPK humaine pour ajuster les équivalences de dose. En simulant les doses externes environnementales avec le modèle PBPK, nous pouvons estimer les concentrations en contact avec l'épithélium pulmonaire et ainsi estimer des concentrations pertinentes pour l'exposition in vitro. Nous partons de l'hypothèse que la concentration qui affecte les tissus in vitro aura le même effet sur les cellules épithéliales du poumon (équivalence tissu-tissu).

Argumentation du choix des questions

AROMATOX évalue la toxicité in vitro répétée de mélanges de BTEX (ACHIM 4).

L'utilisation d'un modèle PBPK permettra d'intégrer les interactions d'effet cocktail lors de multi-expositions à des doses faibles (ACHIM 3).

Certains constituants du mélange BTEX sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens (Bolden et al 2015). L'approche utilisée pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs précoces (PE1).

Description des méthodes mises en œuvre

Plusieurs étapes se feront en parallèle:

1. Développement du modèle cellulaire d'épithélium bronchique (12M)

L'épithélium MucilAir issu de cellules primaires (cellules basales, en gobelet et ciliées) présente des caractéristiques proches du vivo.

Exposition répétée des modèles maintenus en ALI à de l'air synthétique.

Détermination de la durée maximale d'exposition.

2. Modélisation PBPK des concentrations pulmonaires du BTEX (4M)

Le modèle publié (Tardif et al 1997; Marchand et al 2015) fut recodé par l'équipe 2 sur la plateforme Berkeley Madonna.

Modification du modèle sur le poumon suivant les nouvelles observations.

Détermination des concentrations internes sur la base de la concentration environnementale.

3. Exposition des cellules au BTEX et aux composés individuels (6M)

Génération de BTEX par volatilisation.

Expositions unique et répétée (3 temps exposition, 2 doses, 5 échantillons : BTEX, B, T, E et X)(~60 échantillons).

4. Caractérisation de la réponse cellulaire (10M)

Mesure de différents paramètres phénotypiques et fonctionnels liés à la toxicité générale et spécifique: cytotoxicité globale, intégrité membranaire, fréquence de battement ciliaire, réponse transcriptomique, sécrétion de mucines (ELLA) et de cytokines pro-inflammatoires (ELISA).

5. Modifications du protéome des cellules exposées (10M)

Analyse protéomique (approche «label free») par MS Q-Exactive+ couplée à une chaîne nanoLC-UPLC.

Analyse des données par MSQuant et Peaks.

Recherche spécifique des modifications post-traductionnelles.

6. Construction d'un Adverse Outcome Pathway (AOP)(10M)

Modélisation de la réponse toxique des COV seuls ou en mélange sous la forme d'un AOP.

Identification des événements clés tels que l'interaction entre les BTEX ou leurs métabolites et les récepteurs moléculaires, les enzymes de biotransformation et la modification du protéome.

7. Publication et rapport (8 mois) - 4 articles et 1 rapport seront issus de ces analyses.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université du Littoral Côte d'opale, MREID2 - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Sylvain Billet

Equipe 2 : Université de Montréal, École de santé publique, Département de santé environnementale et santé au travail – Montréal, Canada

Responsable de l'équipe : M. Claude Emond

Equipe 3 : Université du Littoral Côte d'Opale, Centre Commun de Mesures, MREI 1 - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Cazier

Equipe 4 : Université de Lille, Faculté des Sciences et Technologies, MSAP - USR 3290 CNRS - Villeneuve d'Ascq

Responsable de l'équipe : M. Christian Rolando

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 888 € TTC

Résumé ASPI - 2020_1_163

Responsable scientifique : Mme Virginie Cuvillier

Organisme : Université de Lille, Laboratoire Evo-Eco-Paleo (EEP) - Villeneuve d'Ascq

1. Titre

Projet complet

36 mois

Abeilles sauvages en ville : effets des polluants urbains sur la santé des insectes et sur les interactions plantes - pollinisateurs

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

CoEM 2 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les politiques actuelles d'entretien et de fleurissement des villes en « zéro phyto » sont profitables aux pollinisateurs sauvages qui colonisent de plus en plus ces espaces refuges. Mais la ville reste un milieu aux contraintes fortes (habitat fragmenté, effet « îlots de chaleur », polluants atmosphériques...), qui peuvent nuire au développement des populations naturelles. L'exposition chronique aux polluants urbains est en particulier à même d'altérer la santé des pollinisateurs, mais aussi de perturber les systèmes de communication plante-insecte. Ainsi, certains polluants urbains (phtalates, 4-nonylphenol, hydrocarbures aromatiques polycycliques [HAP], PBDE...) sont des perturbateurs endocriniens (PE) pouvant générer des effets sub-létaux propres à fragiliser les populations d'insectes, mais aussi à perturber certaines fonctions à forte composante hormonale, comme l'olfaction et les comportements induits par la détection des odeurs. Le présent projet vise à appréhender les effets de l'exposition de pollinisateurs sauvages aux polluants urbains (HAP et phtalates), en combinant plusieurs approches. Il s'agira :

(Axe 1) de déterminer la nature et les taux de contamination des abeilles sauvages vivant en ville

(Axe 2) d'explorer les effets liés à la vie en sites peu vs très pollués sur la santé des pollinisateurs, l'attractivité des ressources florales et la qualité des pollens produits

(Axe 3) de caractériser les effets individuels et coloniaux de l'exposition en conditions contrôlées à des mélanges réalistes de familles de PE

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

Des travaux récents ont montré que le succès des mesures de contrôle de la pollution émise en Europe se traduit par un changement dans les proportions des sources d'émission des polluants atmosphériques, les aérosols carbonés émis par le secteur du transport cédant le pas aux composés organiques volatiles (COV) issus des produits d'utilisation courante. Les HAP (produit de combustion incomplète) et les phtalates (additifs présents dans les peintures, résines, revêtements plastiques, PVC...) sont des représentants de ces 2 catégories et ont pour point commun d'être des PE qui agissent à faible dose et en mélange. Tous deux sont présents dans l'atmosphère des villes sous forme gazeuse et/ou adsorbées aux particules en suspension, et facilement piégées par la cuticule très lipophile des insectes. Ce taxon est donc particulièrement exposé à ces polluants, sans qu'on en connaisse les effets en populations naturelles.

Ce projet permettra de caractériser le risque d'exposition d'un groupe d'insectes bien représenté en ville, pourvoyeurs du service de pollinisation et gravement menacé à l'échelle du globe, à savoir bourdons et abeilles sauvages. Son approche comparative et intégrée, de l'échelle des communautés (réseaux plantes/pollinisateurs), à l'échelle coloniale (mesures de fitness) et individuelle (effets génomiques, identification de marqueurs d'exposition, état de santé), fournira des informations multi-niveaux permettant de mieux appréhender les effets des pollutions locales, à doses environnementales, sur ces auxiliaires de

culture. L'approche expérimentale itérative permettra de mieux comprendre les effets des mélanges à la fois sur des aspects de physiologie intégrative (expression des gènes, défense immunitaire) et d'écologie fonctionnelle (mesures de fitness). Enfin, les mesures des taux de contamination des pollens nous renseigneront sur leur rôle éventuel de vecteurs de PE, en lien peut être avec l'accroissement constaté de leur pouvoir allergisant.

Argumentation du choix des questions

Par son étude des modalités d'imprégnation des pollinisateurs et des pollens (axes 1 et 2), ce projet aborde la question ACHIM 2. Les mesures in situ et les expositions in vivo (axes 2 et 3) permettront d'aborder la question ACHIM 1. Enfin, le choix des polluants investigués, et notamment celui des phtalates dont les effets sur la biodiversité restent une problématique émergente, répond à la question CoEM 2.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet se découpe en 3 axes complémentaires :

Axe 1 : Mesure et cartographie des niveaux de contamination des abeilles sauvages capturées sur de multiples sites en ville (Métropole urbaine de Lille) - Année 1

a) Analyse des polluants imprégnant les insectes (GC-MS)

b) Mesure des niveaux de polluants captés dans l'air ambiant et mise en relation avec les taux de contamination des insectes

Axe 2 : Analyses comparatives in situ, entre sites peu vs très pollués - Année 2

a) Mesures sur des colonies standardisées de bourdons sauvages introduites sur les sites en début de saison de pollinisation

i) Suivi de la dynamique de contamination au fil de la saison de pollinisation

ii) Effets coloniaux : mortalité des ouvrières, masse de larves produites, symétrie alaire

iii) Effets individuels : mesures de paramètres immunitaires et des taux d'expression de gènes

b) Attractivité des plantes : mesures des COV produits par des plantes entomophiles représentatives présentes sur les sites (GC-MS)

c) Qualité des pollens : mesures des taux de polluants adsorbés aux pollens produits par des plantes entomophiles représentatives présentes sur les sites (GC-MS)

Axe 3 : Reconstitution au laboratoire des mélanges de phtalates et HAP identifiés dans les sites les plus pollués (cf axe 1) ; études des effets d'une exposition en conditions contrôlées aux mélanges de chaque famille de substances chimiques sur des colonies standardisées de bourdons sauvages - Année 3

a) Expositions de micro-colonies aux mélanges environnementaux de HAP ou phtalates, selon une méthode itérative (ex : dose 10X, 1X, 0.1X)

b) Évaluation des effets coloniaux et individuels (cf 2.a)

c) Évaluation des effets sur les performances olfactives des butineuses (électrophysiologie)

d) Évaluation des effets sur les préférences florales des butineuses

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Lille, Laboratoire Evo-Eco-Paleo (EEP) - Villeneuve d'Ascq

Responsable de l'équipe : Mme Virginie Cuvillier

Equipe 2 : Université des sciences et technologique de Lille, Cité scientifique - Villeneuve d'ascq

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Visez

Equipe 3 : Université de Lille, LASIRe UMR CNRS 8516 - Villeneuve d'Ascq

Responsable de l'équipe : Mme Marie Choël

Equipe 4 : Université de Mons, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Denis Michez

Equipe 5 : Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive -CNRS - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Magali Proffit

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 173 472 € TTC

Résumé ATB_Biofilm - 2020_1_142

Responsable scientifique : Mme Delphine Bibbal

Organisme : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, HIDAOA - Toulouse

1. Titre

Etude de faisabilité

20 mois

Mise au point d'un modèle de biofilm in vitro pour l'étude de l'effet cocktail des antibiotiques sur les communautés bactériennes des égouts

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

CoEM 2 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les eaux usées sont responsables de la contamination anthropique de l'environnement par des résidus d'antibiotiques. Des fluoroquinolones / quinolones y ont notamment été détectées car ces antibiotiques sont très stables (Gros, 2013). Les eaux usées contiennent également des Bactéries Résistantes aux Antibiotiques (BRAs) (Pazda et al., 2019). Les égouts permettent l'acheminement de ces eaux usées vers une Station de Traitement des Eaux Usées (STEU).

Les parois internes des égouts sont recouvertes de biofilms composés de communautés microbiennes très denses continuellement exposées à des cocktails de résidus d'antibiotiques. Ces biofilms sont susceptibles de constituer des hot spots pour la sélection et l'accumulation de BRAs et de Gènes de Résistance aux Antibiotiques (GRAs) (Auguet et al., 2017).

Nous proposons de développer un modèle in vitro de biofilms à partir de biofilms d'égouts. Ce modèle devrait permettre de préciser le rôle des biofilms dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement. Nous réaliserons une étude préliminaire sur ce modèle de biofilm afin de tester l'effet cocktail de plusieurs résidus de fluoroquinolones sur la composition de son microbiote et sur la sélection de résistance.

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

L'originalité du projet est de préciser la dynamique de la résistance aux antibiotiques dans les biofilms présents dans les égouts. En effet, peu d'études se sont concentrées sur ces biofilms, à la différence des effluents des STEU. Les biofilms d'égout sont pourtant perpétuellement exposés à des résidus d'antibiotiques, et ce aux concentrations les plus élevées dans le système d'assainissement collectif (Jelic et al., 2015).

Le caractère novateur est de développer un modèle de biofilm à partir de biofilms d'égouts afin de disposer d'un modèle qui permettra d'étudier l'effet cocktail des résidus d'antibiotiques. Très peu d'études ont évalué l'effet de plusieurs antibiotiques simultanément alors que des nombreux antibiotiques sont continuellement excrétés dans les eaux usées.

Argumentation du choix des questions

ACHIM 1 : Nous allons évaluer l'effet cocktail de concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques sur la composition des microbiotes présents dans les biofilms d'égouts et sur la sélection de GRAs.

CoEM 2 : Nous allons quantifier les fluoroquinolones / quinolones dans les eaux usées et biofilms d'égout. Nous allons préciser leur impact sur les flores complexes présentes dans les biofilms d'égouts, qui sont susceptibles d'être une source de contamination de l'environnement et de l'homme par des BRAs et des GRAs.

Description des méthodes mises en œuvre

Mise au point d'un biofilm d'égout (12 mois)

1) Prélèvements de biofilms et d'eaux usées d'égout à l'entrée d'une STEU. Trois campagnes de prélèvement seront réalisées au cours de l'année afin de prendre en compte la fluctuation saisonnière de la consommation d'antibiotiques (ansm, 2017).

2) Caractérisation des prélèvements d'égout. A chaque campagne, une analyse métagénomique permettra d'identifier la diversité des microbiotes et des GRAs. Le dosage de résidus de fluoroquinolones et de quinolones sera également réalisé.

3) Mise au point d'un modèle de biofilm d'égout. Les biofilms seront formés dans des bioréacteurs CDC (Biofilm Engineering) inoculés avec les prélèvements de biofilm d'égout. Le bioréacteur CDC comporte des disques (coupons) sur lesquels le biofilm va se former. Le milieu nutritif circule continuellement dans le récipient grâce à des pompes. La première campagne de prélèvement permettra d'optimiser les conditions qui permettront le développement d'un biofilm stable et reproductible (matériau des coupons, composition du milieu nutritif, durée d'incubation, température ...). La composition du microbiote du biofilm obtenu après incubation en laboratoire sera comparée à celle du biofilm prélevé.

Etude préliminaire visant à évaluer l'effet cocktail de certains résidus de fluoroquinolones sur la sélection de résistance (8 mois).

Le dosage des antibiotiques nous aura permis d'identifier les fluoroquinolones / quinolones (FQ) qui présentaient les concentrations les plus élevées dans les prélèvements (FQ1 et FQ2). Nous reproduirons ces concentrations afin de tester l'effet cocktail. Dans le bioréacteur CDC, le biofilm sera exposé en continu aux FQs aux concentrations désirées. L'effet sera évalué sur la sélection de résistance et sur l'impact sur le microbiote grâce à 4 bioréacteurs en parallèle : témoin, FQ1, FQ2, FQ1+FQ2.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, HIDA0A - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Delphine Bibbal

Equipe 2 : INPT-ENSAT - Ecole Nationale Supérieure d'Agronomi, ECOLAB UMR5245 - Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement – Castanet-Tolosan

Responsable de l'équipe : Mme Maialen Barret

Equipe 3 : Inrae – Castanet-Tolosan

Responsable de l'équipe : Mme Claire Hoede

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé BIPlatE - 2020_1_217

Responsable scientifique : M. Sebastien Leblond

Organisme : Museum national d'Histoire naturelle, UMS Patrimoine Naturel - Paris

1. Titre

Projet complet

30 mois

Développement d'indicateurs de biosurveillance des teneurs en platinoïdes dans l'écosystème forestier

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Le secteur des transports est l'un des principaux contributeurs aux contaminations atmosphériques. Depuis les années 1990, de nombreux pays ont rendu les pots catalytiques obligatoire pour les moteurs essence et diesel afin de limiter les émissions de 3 polluants (CO, NOx et hydrocarbures imbrûlés). Cependant, cette technologie génère de nouveaux problèmes de pollution par les métaux dont les platinoïdes (PGE). Les PGE, selon leur forme d'émission, sont pourtant connus pour leur potentiel allergène et pour être cytotoxique, mutagène et cancérigène. En France, peu de données sont disponibles sur les teneurs environnementales et très peu d'études portent sur leurs impacts chroniques au niveau écologique et sanitaire.

Les objectifs de ce projet sont 1) d'évaluer l'augmentation des teneurs en PGE dans l'environnement en France métropolitaine, 2) de cartographier les teneurs en PGE et de mettre ces données à disposition pour des études sur les effets à long terme des PGE sur la santé humaine, 3) d'apporter des premières réponses sur la toxicité des PGE à travers l'étude des effets sur le métabolome des mousses terrestres et 4) de développer un nouvel indicateur d'effets de l'exposition chronique des organismes aux contaminants atmosphériques via l'identification de biomarqueurs métaboliques chez les mousses.

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

L'originalité de cette étude tient au fait, que les PGE étaient, jusqu'alors, considérés comme uniquement présents dans l'environnement immédiat des voies de circulation et donc peu susceptible d'impacter les populations. A la demande de l'ADEME, une 1ère étude a été menée à l'échelle du territoire métropolitain en analysant les teneurs en PGE accumulées dans des mousses récoltées en 2016 dans des milieux ruraux et forestiers (dispositif BRAMM - Biosurveillance des Retombées Atmosphériques Métalliques par les Mousses). Les principaux résultats ont montré que les PGE étaient détectables loin de leurs points d'émission. De plus, une étude menée sur 15 sites peri-urbains proche de Lyon et Paris, a montré que le palladium (Pd) augmentait significativement entre 2016 et 2018. Notre projet sera le 1er, à l'échelle métropolitaine, à évaluer l'augmentation des teneurs en PGE dans l'environnement.

De plus, ce projet permettra d'apporter des premières réponses sur la toxicité des PGE à travers l'étude des effets sur le métabolome des mousses terrestres. Il existe peu d'études in situ portant sur l'impact des contaminants atmosphériques sur le métabolome des mousses et aucune n'a encore permis de révéler de marqueurs métaboliques de ces perturbations.

Enfin, l'originalité de ce projet tient à l'application de différents concepts de biosurveillance (biomarqueur et bioaccumulateur) pour révéler une altération de l'environnement liée aux platinoïdes. L'approche novatrice développée ici porte sur la détection de l'ensemble des métabolites issus du métabolisme primaire ou secondaire. Les corrélations entre variables métabolomiques, teneurs en polluants et paramètres environnementaux permettront d'identifier des combinaisons de biomarqueurs spécifiques chez les mousses.

Argumentation du choix des questions

Il existe peu d'études sur le transport, l'accumulation et la toxicité des PGE dans les matrices environnementales. Cette étude répond pleinement à la question 2 car elle permettra de quantifier le niveau d'exposition des populations vivant en milieu rural et des écosystèmes à ces contaminants émergents. Les mousses terrestres sont reconnues comme des bioaccumulateurs efficaces du dépôt atmosphérique particulaire et soluble. Les données obtenues par le dispositif BRAMM sont utilisées en santé comme proxy de l'exposition des populations à la pollution atmosphérique en milieu rural.

De plus, ce projet permettra d'apporter des réponses sur la toxicité des PGE à travers l'étude des impacts sur le métabolome des mousses terrestres ce qui répond à la question 1 de cet appel d'offre.

Enfin, l'identification des combinaisons de biomarqueurs spécifiques chez les mousses et l'utilisation des mousses comme bioaccumulateur des PGE permettra de développer des indicateurs pertinents pour l'évaluation des expositions chroniques à la pollution de l'air.

Description des méthodes mises en œuvre

Sur 260 sites du dispositif BRAMM, un échantillon d'une même espèce de mousse sera collecté sur une période de moins de deux mois. Les sites retenus sont répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain et caractérisent le bruit de fond atmosphérique. Afin de quantifier la variabilité globale de nos valeurs, 5 répétitions de prélèvement seront effectuées sur 10 sites. Les concentrations en Palladium, Platine et Rhodium mais également celles d'autres éléments métalliques seront analysés dans 300 échantillons. Une analyse métabolomique de chaque échantillon de mousse sera effectuée par FIA-ESI-MS (Flow Analyse par injection-ElectroSpray Ionisation-Spectrométrie de masse). Les relations entre variables métabolomiques, concentrations en contaminants et paramètres environnementaux seront établies en utilisant différentes modélisations statistiques (analyses de corrélations canoniques et analyses multivariées).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Museum national d'Histoire naturelle, UMS Patrimoine Naturel - Paris

Responsable de l'équipe : M. Sebastien Leblond

Equipe 2 : Muséum national d'Histoire naturelle MNHN, Unité MCAM UMR7245 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Alain Paris

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 183 144 € TTC

Résumé CadPaSte - 2020_1_195

Responsable scientifique : M. Mathieu Gautier

Organisme : Université Picardie Jules Verne, UFR Sciences, Laboratoire de physiologie cellulaire et moléculaire - Amiens

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Effet d'une exposition au cadmium sur l'activation des cellules stellaires pancréatiques humaines

2. Questions à la recherche

CANC 2 - Effets sur l'homme et l'environnement de faibles doses d'agents CMR (catégories 1A et 1B du règlement CLP) et/ou cumuls d'exposition.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le cadmium (Cd) est un polluant métallique rejeté dans l'environnement par les activités humaines et qui est classé comme un cancérigène (groupe 1B). L'exposition au Cd pourrait donc constituer un facteur de risque pour de nombreux cancers tels que le cancer du pancréas. La principale forme de cancer du pancréas est l'adénocarcinome canalaire pancréatique (ACP) qui touche la partie exocrine de l'organe. L'ACP est un cancer redoutable avec un taux de survie très faible et une incidence en progression constante. Les projections récentes indiquent que l'ACP deviendra la seconde cause de mortalité par cancer d'ici 2030. Une des caractéristiques de l'ACP est le remodelage du stroma qui devient très dense et fibreux. Ce remodelage, appelé réaction desmoplastique, contribue aux caractères chimiorésistant et métastatique de l'ACP. Les cellules stellaires pancréatiques (CSP) sont majoritaires dans le stroma pancréatique et elles jouent un rôle essentiel dans la réaction desmoplastique. Les lésions induites par des stress tels qu'une exposition à l'alcool, aux graisses saturées, aux espèces réactives de l'oxygène, ou encore à l'hypoxie sont en partie dues à l'activation des CSP qui initient le remodelage du stroma. En effet, les CSP activées acquièrent de nouvelles propriétés de prolifération et de migration mais sont également capables de sécréter des éléments de la matrice extracellulaire. Ces lésions pancréatiques dues à l'activation des CSP et à un début de remodelage du stroma sont à l'origine de la pancréatite chronique qui peut être considérée comme une lésion précancéreuse et donc comme un facteur de risque important de l'ACP.

L'objectif de ce projet est de montrer qu'une exposition chronique au Cd induit des lésions pancréatiques en activant les CPS et en modifiant l'expression de biomarqueurs tels que le canal TRPM7 (Transient Receptor Potential Melastatin-related 7). Nos résultats préliminaires montrent que le canal TRPM7 régule l'activation des CSP humaines mais aussi qu'une exposition chronique à de faibles doses de Cd augmente l'expression de TRPM7 dans des cellules épithéliales pancréatiques et que cette surexpression est associée à un phénotype agressif. Toutefois, l'effet d'une exposition au Cd sur l'activation des CSP n'est pas connue et c'est pourquoi nous proposons cette étude de faisabilité qui permettra d'établir un lien entre une exposition chronique au Cd et les lésions pancréatiques précancéreuses dues à une activation des CSP et au remodelage du stroma.

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

Les lésions pancréatiques et plus particulièrement la pancréatite chronique constituent un facteur de risque important pour l'ACP. Cependant, il existe peu de connaissances sur l'impact de polluants dans l'apparition de ces lésions pancréatiques. Nos résultats récents montrent qu'une exposition chronique à de faibles doses de Cd induit la transformation de cellules épithéliales pancréatiques humaines et l'acquisition d'un phénotype très agressif. Nous avons identifié le canal membranaire TRPM7 comme un biomarqueur de cette transformation et comme un acteur important de la migration et de l'invasion des cellules exposées au Cd. Il est maintenant bien établi que le remodelage du stroma pancréatique participe de façon dramatique à la cancérogenèse et que l'activation des CSP est un événement décisif de ce processus. L'étude des effets

d'une exposition chronique au Cd sur les événements précoces menant aux lésions pancréatiques (activation des CSP) constitue une approche originale et novatrice qui permettra de mettre en évidence des biomarqueurs impliqués dans les mécanismes d'exposition aux polluants métalliques.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit dans la question 2 de la partie "Cancers". Le Cd est classé en catégorie 1B CLP en raison de son caractère cancérigène.

Le Cd a été décrit initialement comme un oestrogéno-mimétique (métalloestrogène) mais le mécanisme par lequel le Cd exerce son rôle cancérigène dans les cancers hormono-indépendants n'est pas clair. Notre hypothèse de travail est qu'une exposition au Cd pourrait initier l'apparition de lésions pancréatiques en induisant l'activation des CSP. Nos résultats permettraient de mieux comprendre les mécanismes précoces d'exposition aux polluants métalliques au niveau des pathologies du pancréas et notamment du risque d'ACP.

Description des méthodes mises en œuvre

La première année sera consacrée aux effets d'une exposition chronique (jusqu'à 30 semaines) à une faible concentration de Cd (1µM) sur les CSP (lignée PS-1). L'activation des PS-1 sera étudiée par des tests de prolifération et de migration cellulaires et par la détection de marqueurs d'activation en RT-PCR, Western-Blot et immunofluorescence. L'implication du canal TRPM7 sera étudiée par des techniques de physiologie cellulaire (Patch-Clamp et imagerie cellulaire) sur des cellules dans lesquelles l'expression du canal aura été modulée par siRNA ou par transfection de plasmides d'expression.

La seconde année sera consacrée à l'étude d'une injection de Cd sur l'apparition de lésions pancréatiques et sur l'expression de TRPM7 in vivo chez la souris.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Picardie Jules Verne, UFR Sciences, Laboratoire de physiologie cellulaire et moléculaire - Amiens

Responsable de l'équipe : M. Mathieu Gautier

Equipe 2 : Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, CANTHER, Inserm UMR-S1277 CNRS UMR9020 - Lille

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Jonckheere

Equipe 3 : Université de Reims Champagne-Ardenne, UMR CNRS 7369 MEDyC, UMR CNRS 7369 MEDyC - Reims

Responsable de l'équipe : M. Bertrand Brassart

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé CONETRE - 2020_1_047

Responsable scientifique : Mme Oriane Dumas

Organisme : Inserm U1168 - Villejuif

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition professionnelle aux produits de NETtoyage et de désinfection et santé REspiratoire dans la cohorte CONstances

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

ACHIM 3 - Impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, stress...).

AIRR 1 - Évaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances chimiques, aux agents pathogènes et aux particules présents dans l'air :

- sur des lieux peu étudiés (commerces, bureaux, moyens de transport),
- à proximité de sources d'émissions (routes, ports, aéroports, activités agricoles...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Objectif général : Etudier l'impact des expositions professionnelles aux produits de nettoyage et de désinfection (PND) sur l'asthme et la fonction ventilatoire à partir des données longitudinales de la cohorte CONSTANCES.

Objectifs spécifiques :

1. Evaluer l'exposition professionnelle aux PND par la création d'une matrice emplois-tâches-expositions
2. Etudier l'association entre l'exposition professionnelle aux PND et a) l'incidence de l'asthme et b) l'évolution de l'asthme
3. Etudier l'association entre l'exposition professionnelle aux PND et a) le déclin de la fonction ventilatoire et b) l'incidence d'une obstruction bronchique

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

L'exposition aux PND est commune tant à domicile qu'au travail, avec des niveaux d'exposition élevés dans certaines professions telles que les professions de santé ou de ménage. Les preuves d'un effet des PND sur la santé respiratoire s'accumulent. Leur rôle dans l'asthme a été suggéré il y a plus d'une décennie, et récemment des associations ont été suggérées avec un déclin de la fonction ventilatoire et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). Néanmoins, les connaissances actuelles ne permettent pas la mise en œuvre de mesures de prévention, en particulier en raison d'un manque :

- d'études longitudinales pour renforcer les preuves d'une relation causale entre l'exposition aux PND et les pathologies respiratoires, et pour clarifier le rôle des PND dans leur apparition et/ou aggravation
- de connaissances sur les produits spécifiques présentant un risque pour la santé respiratoire, notamment à cause de difficultés méthodologiques pour évaluer ces expositions et un manque de puissance dans la plupart des études pour étudier des PND spécifiques.

L'originalité du projet CONETRE sera de :

- Se baser sur une grande étude longitudinale avec une évaluation détaillée de la santé respiratoire (questionnaire et spirométries)

- Créer une matrice emplois-tâches-expositions permettant d'évaluer les expositions à des PND spécifiques pour la première fois dans une cohorte française en population générale.

Ce projet pourrait aider à la mise en place de mesures de prévention pour améliorer la santé respiratoire de millions de travailleurs exposés aux PND.

Argumentation du choix des questions

CONETRE s'inscrit dans les axes : ACHIM3 en évaluant l'impact des expositions à de multiples substances chimiques au travail, à partir de données longitudinales ; AIRR1 en évaluant l'exposition et les risques afférents à ces substances présentes dans l'air dans des secteurs (nettoyage, santé) qui restent peu étudiés ; ACHIM2 en évaluant les niveaux d'exposition par la création d'une matrice emplois-tâches-expositions dans une grande cohorte en population générale.

Description des méthodes mises en œuvre

Population : Constances, cohorte française de ~215000 adultes (constances.fr). A l'inclusion (2012-2019), les participants ont répondu à des questionnaires et ont été examinés au sein de Centres d'Examens de Santé (CES). Un questionnaire de suivi est envoyé annuellement et un bilan de santé (examen en CES) est à nouveau proposé 4 ans après l'inclusion (suivi à 4 ans).

Expositions professionnelles : L'histoire professionnelle des participants a été recueillie à l'inclusion et les métiers sont codés (PCS2003-NAF). Pour évaluer l'exposition professionnelle aux PND (objectif 1, 2021), un questionnaire supplémentaire sera envoyé aux participants exerçant ou ayant exercé des métiers potentiellement exposés aux PND (personnels de ménage, de santé, industrie agro-alimentaire,... ; n~28000). Le questionnaire, adapté des questionnaires standardisés des études NHSII (USA) et EGEA (France), permettra de recueillir des informations sur les expositions à des PND spécifiques et les tâches. Ces données seront utilisées pour créer une matrice emplois-tâches-expositions spécifique des PND, selon la méthode définie par notre équipe qui a permis d'identifier des PND spécifiques associés à l'asthme et la BPCO dans l'étude américaine NHSII. Une matrice emplois-expositions asthme professionnel (OAsJEM, oasjem.vjf.inserm.fr) sera aussi appliquée à l'ensemble de la population pour évaluer l'exposition à des nuisances asthmogènes / à risque pour la santé respiratoire.

Santé respiratoire : Questionnaires standardisés et spirométrie à l'inclusion et au suivi à 4 ans. Les questionnaires permettent d'évaluer l'asthme (symptômes, traitements, âge de début) et de définir le score de symptômes d'asthme (5 symptômes dans les 12 derniers mois, définition standardisée). L'incidence de l'asthme, l'évolution de l'asthme (changement du score de symptôme), le déclin de la fonction ventilatoire (VEMS et CVF) et l'incidence de l'obstruction bronchique (VEMS/CVF < LIN) seront définis entre l'inclusion et le suivi.

Analyses statistiques (objectifs 2&3, 2022-2023) : Associations entre le niveau d'expositions aux PND spécifiques et la santé respiratoire évaluées par des modèles de Cox (incidence), logistiques (changement du score de symptômes en classes) ou linéaires (déclin de la fonction ventilatoire), ajustés sur les facteurs de confusion. Groupe de référence : participants classés comme non-exposés aux PND et classés comme non-exposés par la matrice OAsJEM.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1168 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Orianne Dumas

Equipe 2 : Inserm UMS 11 - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Marcel Goldberg

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 214 768 € TTC

Résumé CoPoBois - 2020_1_084

Responsable scientifique : M. Frédéric Ledoux

Organisme : ULCO - UCEIV - Dunkerque

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Couplage innovant pour l'évaluation de l'effet sur les voies respiratoires de la polyexposition aux émissions particulaires et gazeuses issues de la transformation mécanique du bois

2. Questions à la recherche

CANC 1 - Étude des risques de cancers liés à des expositions environnementales et/ou professionnelles aux substances potentiellement cancérigènes (entre autres avec une approche « vie entière »).

AIRR 3 - Études ou développement d'outils visant à identifier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail, en particulier allergisants.

3. Résumé

Objectif détaillé

Certaines activités professionnelles exposent le travailleur à un mélange de polluants gazeux et particulaires pouvant présenter un risque pour la santé. Si, pour certains de ces polluants pris individuellement, les effets sur la santé sont connus, l'exposition à un mélange demeure en revanche difficilement appréhendable. Dans le cadre de cette étude de faisabilité, nous proposons une approche innovante et originale permettant d'étudier l'effet sur l'appareil respiratoire de la polyexposition aux fractions gazeuses et particulaires émises lors de la transformation mécanique du bois.

Il est connu que les étapes de sciage ou de ponçage, génèrent non seulement des particules mais aussi des composés en phase gaz, tels que les COV et aldéhydes. Il est également établi que la taille des particules et la nature des composés émis dépendent de la nature du bois travaillé (bois massifs tendres ou durs, bois reconstitués faisant intervenir différentes formulations de liants à base de formaldéhyde, isocyanates...).

Les particules issues de la transformation mécanique du bois et de ses dérivés sont susceptibles de provoquer des maladies à court terme et des cancers plusieurs années après l'exposition. Les poussières de bois sont ainsi classées "cancérogène avéré" (groupe 1) par le CIRC pour les cancers du nasopharynx, des fosses nasales et des sinus de la face (3^e cause de cancers reconnus d'origine professionnelle).

Le LERMAB a développé un dispositif expérimental de génération par sciage et de récupération des particules de bois permettant de caractériser les émissions particulaires et gazeuses associées à cette étape. Ce dispositif a pu être couplé à un nez artificiel reconstruit en 3D, dans le cadre d'une collaboration initiée en 2016 avec le Département ORL du CHU Nancy, afin de caractériser les dépôts inhalables dans la géographie du nez.

L'originalité du travail réside dans le couplage de ce nez artificiel à un système d'exposition à l'interface air-liquide (ALI) permettant à la fois de se rapprocher des conditions réelles d'exposition d'un individu et de considérer l'effet conjugué des particules et des gaz. L'utilisation de ce nez artificiel permettra d'étudier la fraction particulaire et gazeuse en amont, celle atteignant et/ou se déposant dans le nez, mais aussi celle atteignant l'appareil respiratoire après avoir traversé le nez.

Sur le volet physico-chimique, de manière à qualifier l'exposition, nous adopterons une approche multi-polluants en nous intéressant notamment à la granulométrie et à la forme des particules et à la composition de la phase gazeuse (COV, aldéhydes...). Sur le volet toxicologie, nous considérerons des lignées cellulaires nasales et bronchiques, en nous intéressant à des paramètres notamment révélateurs de l'activation de processus inflammatoires ou impliqués dans les mécanismes précoces de la cancérogénèse.

Ainsi dans ce projet, nous proposons d'étudier la faisabilité du couplage "dispositif de génération de particules de bois/nez artificiel/système d'exposition ALI" pour appréhender l'effet de la polyexposition aux fractions gazeuses et particulaires. La validation de cet outil se fera dans le contexte particulier de la transformation mécanique du bois où nous étudierons in-vitro la toxicité des particules et composés gazeux générés sur des cellules nasales, et pulmonaires après sélection via un nez artificiel (en amont, dans et en aval du nez).

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

Cette étude permettra une collaboration innovante entre des laboratoires de recherche universitaire ayant pour expertise le matériau bois, la qualité de l'air, la toxicologie et la médecine oto-rhino-laryngologique.

L'accent sera porté sur les émissions générées par des machines électroportatives, pour lesquelles la captation est difficile.

Le couplage "dispositif de génération de particules/nez artificiel/système d'exposition ALI" est innovant et permet d'envisager une exposition à la fraction des PM se déposant dans le nez, puis non retenue par le nez et susceptible d'atteindre le poumon.

L'outil et la méthodologie envisagée seront transposables à d'autres types de particules/environnement.

Argumentation du choix des questions

AIRR3 : L'outil envisagé permettra d'étudier l'effet d'aérocontaminants du milieu de travail

CANCERS1 : Ce projet, en lien avec l'exposition aux particules de bois et aux composés gazeux générés lors de sa transformation (formaldéhyde), contribuera à l'évaluation des expositions professionnelles de ces substances classées cancérigènes. L'aspect multi-polluants et multi-phases est également abordé

Description des méthodes mises en œuvre

1. Génération des particules (LERMAB)

Transformation de différents types de matériaux : bois massifs et panneaux de bois dérivés (adhésifs à base ou sans formaldéhyde).

2. Exposition des cellules (LERMAB-UCEIV)

Exposition des cellules nasales RPMI 2650 et des cellules bronchiques BEAS-2B aux aérosols en interface air-liquide (système Vitrocell®) dans les conditions optimales définies par de précédentes études

3. Caractérisation des particules en différentes localisations des voies respiratoires (LERMAB-UCEIV-CHU Nancy)

Granulométrie temps réel + paramètres de formes des PM avant, dans, après le nez, par MEB

Fraction organique associée aux émissions (COV, aldéhyde...) générées lors du travail du bois, par HPLC, GC-FID, GC-MS. Caractérisation du mélange particules + gaz auquel seront exposées les cellules.

4. Etude de la toxicité (UCEIV)

Etude de cytotoxicité, de l'activation des processus inflammatoires (quantification de cytokines), du stress oxydatif et de mécanismes précoces impliqués dans la cancérogénèse (pH2A.X, p21, caspases).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : ULCO - UCEIV - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Ledoux

Equipe 2 : Université de Lorraine, École Nationale Supérieure des Technologies et Industries du Bois - Epinal

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

Equipe 3 : Villers-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Patrice Gallet

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 972 € TTC

Résumé CRABMAYO - 2020_1_110

Responsable scientifique : M. Elliott Sucre

Organisme : Centre Universitaire de Mayotte, UMR MARBEC - Dembeni

1. Titre

Projet complet

36 mois

Risques sanitaires et environnementaux associés à l'utilisation de pesticides en milieu insulaire. Utilisation d'indicateurs « crabes » dans les mangroves de Mayotte

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

3. Résumé

Objectif détaillé

Mayotte est le plus jeune département français, créé en 2011. Il accuse des retards de développement importants dans de nombreux domaines, dont l'assainissement et l'agriculture. On estime que la production informelle représente près de 80% de la production agricole totale. Peu ou pas formés, les agriculteurs utilisent massivement des produits phytosanitaires. Des molécules interdites sont utilisées à Mayotte, telles que le Diméthoate, provenant de filières clandestines. Les données concernant la présence et l'accumulation de molécules phytosanitaires dans les compartiments biotiques et abiotiques des écosystèmes aquatiques sont quasiment inexistantes. Dans ce contexte nous nous intéresserons tout particulièrement aux mangroves, écosystèmes à l'interface entre la terre et la mer, zones tampons où les contaminants issus du ruissellement des bassins versants sont focalisés. Les mangroves offrent de nombreux services écosystémiques : elles sont notamment source de nourriture (poissons, mollusques, crustacés) et possèdent une forte capacité bioépuratoire dans un contexte d'assainissement délétaire. La présence de produits phytosanitaires dans les mangroves peut donc conduire à des risques sanitaires et écologiques majeurs. En effet, les molécules potentiellement bio-accumulées peuvent être consommées par l'homme, mais elles peuvent également avoir un impact sur le fonctionnement de l'écosystème et in fine sur les services écosystémiques fournis. Pour évaluer ces risques dans les mangroves situées à l'aval de bassins agricoles il conviendra : (i) de déterminer quels sont les produits phytosanitaires ou leur produit de dégradation présents dans l'eau de ces écosystèmes ; (ii) d'évaluer si les principales molécules en présence sont bio-accumulées dans les organismes consommés par la population ; (iii) d'évaluer l'impact de ces molécules sur le fonctionnement de l'écosystème en ciblant l'impact sur une espèce ingénieure, le crabe.

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

L'originalité du projet réside d'abord dans le choix des modèles biologiques: les crabes de mangrove, qui sont à la fois consommés par la population et indicateurs de la santé de l'écosystème. Creusant de nombreux terriers, ils sont considérés comme des espèces ingénieurs qui contribuent largement au fonctionnement de l'écosystème par leur activité de bioturbation. Il est possible de recenser jusqu'à 100 terriers/m² avec une profondeur pouvant atteindre 2 m. Ces terriers permettent notamment l'infiltration des eaux de ruissellement. Un changement d'activité et/ou l'enregistrement de mortalités chez les crabes pourraient conduire in fine à impacter la capacité bio-épuratoire de la mangrove, cruciale dans le contexte de Mayotte. Des conséquences environnementales et sanitaires seraient à prévoir.

L'autre originalité du projet réside dans le territoire étudié, en pleine mutation, qui ne connaissait pas il y a encore quelques années de pressions anthropiques. L'explosion démographique sans précédent que connaît Mayotte en fait un site très vulnérable. Considérant l'extrême richesse écologique de l'île, il est essentiel de

réaliser un diagnostic précoce tenant compte conjointement du risque sanitaire et environnemental. Rappelons que l'outremer accueille 10% des récifs coralliens du monde et 80% de la biodiversité française.

Argumentation du choix des questions

Le projet s'inscrit dans les questions à la recherche relatives aux contaminants chimiques et plus précisément :

- Les effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.
- La quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous plaçons notre étude au niveau de deux mangroves situées à l'aval de deux grands bassins agricoles de l'île. Les tâches 1 et 2 seront réalisées en saison sèche et humide, dans les deux sites, la tâche 3 est une expérimentation en laboratoire (conditions contrôlées).

Tâche 1 / Année 1 : Caractérisation des pesticides présents dans le milieu aquatique. Dans un premier temps, un screening sera réalisé dans les sites par LCMS ET GCMS. Il s'intéressera aux pesticides (Diméthoate, DDT, etc.) et certains produits de dégradation. Les prélèvements (une vingtaine au total) seront réalisés : (i) dans les rivières alimentant les mangroves (en haut et bas de mangrove, à marée basse et haute) ; (ii) dans des piézomètres (en haut et bas de mangrove, à marée basse et haute). Sur la base de ce screening, les produits présentant une concentration supérieure à 0,1 µg/L ou dont le risque sanitaire serait avéré seront sélectionnés pour la suite de l'étude.

Tâche 2 / Années 2 et 3 : Évaluation du risque sanitaire lié à la consommation des crabes de mangrove. Dans les 2 sites, des crabes (*Scylla serrata*) capturés dans une zone témoin et mis en stabulation pendant 1 mois au laboratoire, seront encagés sur le terrain. Les cages, couplées à des capteurs passifs, seront placées pendant 3 semaines en haut et en bas de mangrove au niveau d'une rivière et de terriers artificiels disposés selon les résultats de la tâche 1. Le dosage des contaminants sélectionnés sera réalisé au niveau des capteurs et des crabes (branchies et hépatopancreas). Selon les données obtenues, une évaluation du risque lié à la consommation de crabes sera réalisée.

Tâche 3 / Années 2 et 3 : Évaluation de l'impact environnemental. L'impact d'un mélange de contaminants (cf. tâche 1 et représentatif des conditions naturelles) sur une espèce de crabe bioturbatrice (*Uca chlorophthalmus*) sera évalué au niveau : (i) de son état physiologique (mesure de l'activité métabolique par respirométrie et détection de marqueurs moléculaires de stress) ; (ii) de son activité bioturbatrice, par une étude comportementale (logiciel EthoVision). La capacité des crabes à contribuer au fonctionnement de l'écosystème lorsqu'ils sont exposés aux molécules phytosanitaires sera ainsi évaluée.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre Universitaire de Mayotte, UMR MARBEC - Dombeni

Responsable de l'équipe : M. Elliott Sucre

Equipe 2 : Université de Nîmes, CHROME EA7352 - Nîmes

Responsable de l'équipe : Mme Axelle Cadere

Equipe 3 : Université de Montpellier, UMR MARBEC

Responsable de l'équipe : M. Jehan-Hervé Lignot

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 414 € TTC

Résumé EpiKids-PK - 2020_1_204

Responsable scientifique : M. Luc Multigner

Organisme : Inserm U1085 - Irset - Rennes

1. Titre

Projet complet

30 mois

Réaliser un outil prédictif de la concentration interne d'exposition des enfants à de multiples contaminants persistants : Un outil associant modélisation pharmacocinétique et données épidémiologiques longitudinales de la période prénatale à l'adolescence.

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques.

ACHIM 3 - Impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, stress...).

PE 6 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les travailleurs (expositions directes) et pour la population générale (expositions directes et indirectes par exemple via l'alimentation), et en particulier pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Les cohortes épidémiologiques mères-enfants fournissent des informations sur l'exposition aux polluants pendant la grossesse, tôt dans la vie et l'enfance. Les femmes enceintes et les enfants sont exposés à de nombreux contaminants environnementaux et produits d'origine professionnelle susceptibles d'agir notamment sur le système endocrinien. De fait, ces expositions ont un impact sur le développement, entraînant des effets néfastes sur la santé au cours de la vie. Cependant, la mesure des expositions par dosage dans les matrices biologiques est coûteuse ce qui pousse les épidémiologistes à faire des suivis espacés et en nombre restreint. Une approche qui minimise les points de contrôle du suivi des cohortes tout en maximisant les informations serait bénéfique dans la compréhension du continuum exposition/effets. L'approche de modèle pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) représente un avantage en épidémiologie pour ce type de limitation en plus de fournir des informations sur l'exposition dans un continuum temporel. L'objectif du projet EpiKids-PK est de développer une approche prédictive par la modélisation PBPK de dix contaminants persistants en mélange chez les enfants de 0 à 12 ans incluant la période prénatale. Une meilleure connaissance de la distribution tissulaire aura un impact majeur dans le suivi des enfants dans les fenêtres de sensibilité lors du développement. Ce projet s'appuie notamment sur les données longitudinales de la cohorte française mère-enfant PELAGIE, mise en place depuis 2002.

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

Des approches de modélisation pharmacocinétiques appliquées à des cohortes mères-enfants ont déjà été conduites. Cependant, elles n'ont pas tenu compte du transfert materno-fœtal au cours de la grossesse ou étaient limitées dans le temps de 0 à 24 mois ou encore ne tenaient pas compte des paramètres physiologiques intervenant lors du transfert de la mère vers l'enfant (Pan et al.2009 ; Haddad et al.2015 ; Stigum et al.2015). Le projet EpiKids-PK considère la période materno-fœtale, l'allaitement et la diète de l'enfant ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été fait dans le suivi d'une cohorte mère-enfant de 0 à 12 ans. Cette stratégie de modélisation PBPK vie durant a été utilisée par notre équipe aux États-Unis (USEPA, 2010) et pour 23 personnes de Seveso (Emond et al.,2016), mais jamais sur une cohorte d'enfants de 0 à 12 ans de

composés en mélange. De plus, la prise en compte des interactions éventuelles entre divers contaminants sont des paramètres importants à prendre en compte pour la distribution, l'accumulation et l'élimination de ces composés (Emond et al.2005). L'originalité du projet EpiKids-PK réside dans sa capacité à prédire la dosimétrie dans le temps plutôt que mesurer la concentration sanguine ponctuelle et de relier les concentrations tissulaires à des effets cliniques et subcliniques observés lors du suivi des cohortes. L'utilisation de la modélisation en épidémiologie est innovante, car elle augmente substantiellement les informations extraites de ces cohortes.

Argumentation du choix des questions

Le projet EpiKids-PK s'intéresse à des polluants rémanents et persistants dans la chaîne trophique et s'adresse particulièrement aux enfants de 0 à 12 ans, y compris la période prénatale, traversant plusieurs fenêtres de sensibilité lors du développement. Ces composés persistants peuvent avoir un impact sur le développement. Ce projet fournira des indicateurs d'exposition présentes ou passées estimant les doses internes de 10 contaminants majeurs en mélange qui s'accumulent dans les tissus biologiques. Il s'agit ici de quantifier les niveaux d'exposition d'une population vulnérable.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Développement d'un modèle PBPK humain (population de 0 – 12 ans) incluant la période pré-natal décrivant la cinétique pour une exposition à un mélange de 10 composés (e.g. DDT, PCB-112, -153, HCB etc...), déjà quantifiés dans la cohorte PELAGIE (8M). L'approche utilisée pour le développement de modèle PBPK est idem pour USEPA, le NIEHS ou le WHO;

2. Extraire des données de la cohorte PELAGIE pour les intégrer dans le modèle : données de dosages chimiques réalisés dans le sang de cordon (n=500 participants) et le sang de l'enfant à 12 ans (n=250 garçons, dont 60 déjà réalisés et 190 à compléter (à partir de prélèvements disponibles) dans le présent projet) pour les 10 polluants persistants d'intérêt, données longitudinales de la santé des nouveau-nés, d'allaitement, de diversification alimentaire aux jeunes âges, de données anthropométriques et de mode de vie et alimentation (questionnaire fréquentiel combiné aux données nationales de contamination alimentaire française EAT) jusqu'à l'âge de 12 ans (3M);

3. Étudier la sensibilité du modèle pour identifier les paramètres/facteurs les plus contributeurs (2M);

4. Évaluation et prédictibilité du modèle PBPK humain avec les données de la cohorte PELAGIE; une fraction employé pour optimiser le modèle (~10%), le reste pour évaluer la capacité prédictive du modèle (3M);

5. Identifier des sous-populations à risque, distribution des concentrations, de la charge corporelle et ajustement du modèle (8M);

6. Préparer 2 articles: 1)- description du modèle PBPK et 2)- sur l'analyse cinétique selon une approche exposition/risque (6M).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm U1085 - Irset - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Luc Multigner

Equipe 2 : Université de Montréal, École de santé publique, Département de santé environnementale et santé au travail – Montréal, Canada

Responsable de l'équipe : M. Claude Emond

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 182 936 € TTC

Résumé ETAP-ASD - 2020_1_031

Responsable scientifique : Mme Amaria Baghdadi

Organisme : CHU Montpellier, Centre Ressources Autisme Languedoc-Roussillon, Equipe SMPEA Peyre Plantade - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Expositions environnementales précoces à la pollution atmosphérique et TSA

2. Questions à la recherche

PE 5 - Développement de biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées.

3. Résumé

Objectif détaillé

The overall objective is to determine whether prenatal or early postnatal environmental exposure to airborne pollution (AP) is a risk factor for Autism spectrum disorder (ASD) in children. The specific objectives are to evaluate the association between prenatal or early postnatal exposures to AP with a) ASD risk (obj1), b) child's ASD severity (obj2) and c) ASD child's adaptive trajectories during a 6 years-follow-up (obj3)

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

ASD is an early onset neurodevelopmental condition affecting around 1 for 132 children. The global prevalence appears to have increased over the last decades partially explained by improvement in diagnosis awareness and clinical practices. Although elevated heritability, environmental factors are suspected to play a role in increased ASD risk. Although, many studies in the USA suggest that pregnant mom's AP exposure may be a risk factor of ASD for their babies, studies are very scarce in Europe and their results conflicting.

This project interfacing environmental epidemiology and clinical research will combine data from a large clinical cohort on ASD (ELENA: Etude Longitudinale chez l'ENfant avec Autisme recruited in 2013) with those from a population-based cohort (Elfe cohort: Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance, children born and recruited in 2010-2011). In ELENA, a French ongoing prospective cohort, 850 children with an ascertained ASD were recruited using a standardized assessment with the ADI-R and ADOS. During their 6 years follow-up a large and multilevel set of data were collected every 18 months (clinical, behavioral, socio-demographical, medical variables) giving one rare opportunity in Europe to examine the effects of ambient AP exposures concentrations on the risk of ASD, and to study these exposures effects not only on core signs severity but also on adaptive trajectories among children with ascertained ASD

Argumentation du choix des questions

ETAP-ASD fits with the AIR1 question by creating exposure variables combining PM10 and PM2.5 measurements with residence proximity to high-traffic road to explore the effects of AP exposure on ASD

Description des méthodes mises en œuvre

Population & study design To achieve objective 1, we'll perform a case-control study. The cases will be children with ASD recruited from ELENA. The controls children will be selected at random from the Elfe cohort, among those whose M-CHAT scores exclude ASD diagnosis. The controls will be matched to cases by child's sex, age, season and geographical area of birth. The population study will include 200 cases (born between 2010--2012) and 800 controls (born in 2011).

To achieve the objectives 2 & 3, we'll study on the whole ELENA cohort (n=850) the associations between AP exposures and a) child's ASD symptoms severity measured with ADOS-2 scores at baseline, b) adaptive developmental trajectories measured with the Vineland Scales-2 scores over the follow-up.

Geocoding, Exposures Estimations and control selection/matching (task 1: 0-18 months) Mean concentrations of ambient particulate matter PM10 and PM2.5 at the maternal residence during pregnancy and the child's first year of life will be estimated retrospectively using aerosol optical depth daily measurements by satellite images (resolution 1km) combined with other geographical and land-use data and calibrated with air quality monitoring station measurements. Proximity to high-traffic roads will also be taken into account to build exposure variables combining PM assessment and distance to major route.

Statistical analyses (task 2: 18-30 months) Multivariate logistic regression models will study the relationships between AP and ASD risk. Prenatal and postnatal exposures will be investigated independently (obj1). Multivariate linear (mixed) regressions will study the effects of early AP exposures (pre- and postnatal) on ASD severity (obj2), and on adaptive trajectories (obj3) only in ASD cases from ELENA. All models will be adjusted for potential confounders (age, sex, gestational age at birth, birth weight, parental education, parental age at birth of children, socio-economic status, tobacco and folic acid supplementation during pregnancy)

Valorization (task 3: 30-36 months): Articles writing and oral communications

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHU Montpellier, Centre Ressources Autisme Languedoc-Roussillon, Equipe SMPEA Peyre Plantade - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Amaria Baghdadli

Equipe 2 : Inserm U1061, Hôpital La Colombière - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mlle Marion Mortamais

Equipe 3 : Inserm U1209, IAB - La Tronche

Responsable de l'équipe : Mme Johanna Lepeule

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 196 548 € TTC

Résumé EVALSUB - 2020_1_214

Responsable scientifique : M. Steeve Thany

Organisme : Université d'Orléans, Collégium Sciences, Laboratoire LBLGC UPRES EA 1207 - Orléans

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evaluation in vitro et modélisation des effets isolés et cocktails, chez l'homme et l'abeille, des néonicotinoïdes et de leurs nouveaux représentants : sulfoximines et buténolides

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

ACHIM 4 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal : développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de substances en vue de l'évaluation d'une exposition chronique. Identification d'espèces sentinelles des impacts de la pollution chimique.

3. Résumé

Objectif détaillé

La rémanence des néonicotinoïdes dans l'environnement à laquelle s'ajoutent leurs effets délétères vis-à-vis des pollinisateurs et potentiellement chez l'homme du fait de leur mélange et de leur accumulation constitue un sujet actuel d'importance, en terme d'environnement et de santé publique. Nous avons récemment démontré que des néonicotinoïdes (clothianidine, acétamipride et thiaméthoxame) agissent comme modulateurs des sous-types $\alpha 7$ des récepteurs nicotiques neuronaux (nAChRs) des mammifères(1). Leur toxicité ne serait donc pas lié systématiquement à un effet agoniste. Par ailleurs, nous avons également mis au point un modèle tridimensionnel in silico des interactions entre deux représentants des néonicotinoïdes (l'imidaclopride et le thiaclopride) et le récepteur $\alpha 6$ de l'abeille(2). Face au moratoire européen ciblant les néonicotinoïdes, deux nouvelles familles, les sulfoximines (sulfoxaflor) et les buténolides (flupyradifurone) ont été commercialisées. De nouvelles alertes émergent au niveau mondial sur l'effet toxique de ces molécules. Deux hypothèses sont à l'heure actuelle avancées : elles agiraient en tant qu'agonistes des nAChRs ou comme modulateurs spécifiques de ces récepteurs. A ces incertitudes, s'ajoute l'absence de données sur leurs effets cocktails possibles, à très faibles doses. Nos objectifs, dans le cadre de ce projet, seront de 1) déterminer in vitro par des études électrophysiologiques le mode d'action de ces molécules sur les nAChRs de mammifères (rat et homme) et de l'abeille (*Apis mellifera*), et 2) à partir de ces données, mettre au point par des méthodes de modélisation moléculaire, des modèles théoriques relatifs à l'interaction de ces composés avec des nAChRs d'abeille et de mammifères. Ces modèles permettront de rendre compte des interactions de ces familles avec les nAChRs et d'anticiper leur toxicité.

Refs : (1) Cartereau et al. Br. J. Pharmacol. 2018, 1987-1998, (2) Selvam et al., J. Mol. Graph. Model. 2015, 1-12.

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

Notre ambition est d'établir un protocole d'études in vitro permettant de comprendre le mode d'action de ces composés à faibles doses sur des récepteurs non cibles, et de déterminer l'existence d'effets cocktails potentiels et de les modéliser. L'originalité du projet consiste, d'une part, à définir les doses sous létales chez l'abeille (études de toxicité), puis, d'autre part, à comparer in vitro le caractère modulateur et agoniste sur les récepteurs de mammifères (études électrophysiologiques). Un autre aspect novateur complémentaire du projet est lié à la mise au point, par des approches de modélisation moléculaire, de modèles in silico des complexes entre chacun des néonicotinoïdes et de leurs nouveaux représentants et les nAChRs sélectionnés. A notre connaissance, ce projet est le premier qui allie études toxicologiques, électrophysiologiques et de

modélisation moléculaire et également une comparaison entre récepteurs d'insectes et de mammifères vis-à-vis de très faibles doses de ces insecticides.

Argumentation du choix des questions

Une étude récente a démontré que malgré leur interdiction, les néonicotinoïdes persistent dans l'environnement, même plusieurs années après avoir été interdits, et ceci à des niveaux demeurant dangereux pour les abeilles et les pollinisateurs sauvages(3). Ces données mettent en relief un effet insoupçonné de ces molécules à très faibles doses sur les nAChRs d'espèces non cibles. Pour répondre aux deux questions à la recherche, nous avons choisi une sulfoximine, le sulfoxaflor, et un buténolide, le flupyradifurone, afin d'étudier leurs effets isolés et en combinaison (cocktail) avec 4 néonicotinoïdes (l'imidaclopride, le thiamethoxame, la clothianidine et l'acétamipride), pour mieux comprendre leur mécanisme d'interaction in vitro et à faibles doses. Les résultats obtenus chez l'abeille, le rat et l'homme nous donneront des indications sur leur mode d'action à faibles doses et les interactions possibles entre ces nouvelles familles et les néonicotinoïdes. Ces données in vitro seront complétées par des études in silico de modélisation moléculaire. Des modèles tridimensionnels (docking et QM/QM') seront mis au point sur les récepteurs hétéromérique $\alpha 4\beta 2$ et homomérique $\alpha 7$ de mammifères car ce sont les plus répandues dans le cerveau et sont impliqués dans de nombreuses maladies neurodégénératives(4,5). Chez l'abeille, en plus des études toxicologiques, des sous-types équivalents seront utilisés. En effet, des données récentes ont démontrés qu'ils peuvent former des récepteurs hybrides(6) que nous utiliserons dans cette étude pour valider les modèles in vitro.

(3) Wintermantel et al., Sci. Total Envir. 2019 ; (4) MA and Qian, Neuropeptides 2019. (5) Sabri et al., Brain 2019. (6) Chen et al., Env. Inter. 2019.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1 (année 1 à 3) :

-Détermination des doses sous-létales à utiliser in vitro, à partir du modèle abeille

-Caractérisation des effets in vitro du sulfoxaflor et du flupyradifurone sur les sous-types hybrides $\alpha 1\beta 2$, $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 6\beta 2$, $\alpha 8\beta 2$ de l'abeille *Apis mellifera*(6)

WP2 (année 2 à 3)

-Caractérisation du mode d'action du sulfoxaflor et du flupyradifurone et étude des combinaisons avec les néonicotinoïdes, sur les récepteurs $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 7$ de rat et de l'homme

WP3 (année 1 à 3) :

-Détermination des caractéristiques conformationnelles et des propriétés physicochimiques (sites d'interactions, moments dipolaires) de l'ensemble des molécules étudiées expérimentalement

-Mise au point de modèles par homologie des isotypes de nAChRs pour les espèces considérées

-Docking des insecticides dans les différents modèles de nAChRs.

WP 4 (année 3) :

-Etudes de dynamique moléculaire et de QM/QM'

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université d'Orléans, Collégium Sciences, LBLGC UPRES EA 1207 - Orléans

Responsable de l'équipe : M. Steeve Thany

Equipe 2 : Université Nantes - CEISAM UMR-CNRS 6230, Faculté des Sciences et Techniques - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Jean-Yves Le Questel

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 229 615 € TTC

Résumé EXPOAUTO - 2020_2 RF_005

Responsable scientifique : Mme Gabriella Tognola

Organisme : Consiglio Nazionale delle Ricerche IEIT - Milano, Italy

1. Titre **Projet complet** **36 mois**

Exposition cumulative induites par des champs électromagnétiques radiofréquences induits chez les humains par les nouvelles technologies associées aux services automobiles et aux objets connectés

2. Questions à la recherche

RFES 4.3 - Recherche sur la caractérisation de l'exposition des personnes dans le cadre du cumul d'expositions : CPL, nouvelles technologies de communication, objets connectés, transports autonomes et connectés...).

3. Résumé

Objectif détaillé

Cars are evolving into smart connected 'ecosystems' that can communicate with external environment for sharing and obtaining information via mobile broadband (3-4-5G), Wi-Fi or satellite technology, and with Internet of Things (IoT) devices. The 'car ecosystem' includes IoT and other devices used by passengers for mobile communication and infotainment and devices to communicate with other cars, road infrastructure and people to broadcast safety messages, to detect pedestrians and in-cabin vital life signs. By the end of 2023 there will be more than 72 million connected vehicles in the world, exchanging data with external devices.

The 'car ecosystem' is the centre of EXPOAUTO project. The objective is to characterize the cumulative exposure of passengers and pedestrians, including adults, children, neonates and pregnant women, to radiofrequency (RF) electromagnetic fields generated by the combination of existing and new technologies (including 5G) of the 'car ecosystem'. EXPOAUTO aims to:

- 1) Identify technologies and protocols for communicating and connected IoT devices at the car and infrastructure level, including type of device, use, and position in realistic scenarios.
- 2) Experimentally measure electromagnetic fields emitted by real devices in connected cars with in-lab and on-road testing along the existing 'smart highway track' in Belgium, France, and Italy.
- 3) Determine the cumulative exposure (RF power absorbed in different organs, including the eyes) in passengers and pedestrians, by type of technology and use in realistic use case scenarios.

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

EXPOAUTO is innovative because it addresses:

- new exposure scenarios from the emerging field of the 'car ecosystem', which includes connected vehicles and connected objects that has never been studied in terms of exposure assessment;
- cumulative exposure at new frequencies (from 5.9 GHz up to 60-70 GHz) from different technologies including mobile devices for personal infotainment, IoT devices, car radar systems for life-sign detection, and devices for vehicle connectivity and autonomous driving for which no information is currently available;
- RF field exposure of people of different ages both as active and passive users of connectivity services.

EXPOAUTO is feasible because the partners can perform:

- in-lab and on-road measurements of RF emitted by the 'car ecosystem';
- accurate dosimetry at the different tissues with highly realistic numerical models of humans at different ages;
- real-life cumulative dose estimation in different use case scenarios and in a variety of environments with advanced statistics methods (e.g., Machine Learning).

Argumentation du choix des questions

EXPOAUTO addresses question “Caracterisation des expositions”, subquestion 4.3. to produce new and realistic knowledge on the exposure scenario of the ‘car ecosystem’ for future epidemiologic studies to assess possible health effects of RF and for the design of policies in the field of RF and health for public health management.

Description des méthodes mises en œuvre

The methods consist of identification of sources (WP1), experimental exposure assessment along smart highways (WP2), deterministic dosimetry for absorption estimation (WP3), and stochastic and machine learning dosimetry for real-life cumulative dose estimation (WP4).

WP1-Identification of technologies in smart car ecosystems (M0-12) (CNR, IMEC, TPT)

Review of technical information and usage of devices, infrastructure, protocols, and services for vehicle communication, autonomous driving, mobile communications (2-3-4 and 5G), IoT in the cars, in- and out-car radar detection systems.

WP2-Experimental measurements of RF emitted by real devices and infrastructure in lab and on roads (M0-24) (IMEC, TPT, CNR)

Experimental assessment of RF exposure for the technologies of WP1 with in-lab and on-road testing along smart highways equipped with wireless communication (ITS-G5/LTE-V) and sensor technologies in Belgium, France and Italy.

WP3-Estimation of RF power absorption in humans of different ages, from neonates to adults and pregnant women (M12-24) (TPT, CNR, IMEC)

Dose estimation from devices and technologies of WP1 by means of: 1) estimation of output power and duty-cycle for WiFi, LTE and 5G devices; 2) deterministic dosimetry in highly accurate and realistic 3D human phantoms of different ages of both genders, with particular attention to the brain, genital organs, skin, eyes, and whole body.

WP4-Assessment of cumulative exposure of people at different ages in real-life situations (M24-36) (CNR, IMEC, TPT)

Information on RF emitted by real devices of WP2 and power absorption induced by single devices in humans of WP3 will be combined to estimate cumulative exposure in realistic scenarios. This involves: 1) implementation of stochastic dosimetry and Machine Learning to simulate different use case scenarios, in a variety of environments and situations; 2) estimation of the RF field generated by the infrastructure with hybrid ray-tracing-FDTD methods, and 3) determination of actual cumulative absorption and doses (with protocols and usage times of WP1).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Consiglio Nazionale delle Ricerche IEIIT - Milano, Italy

Responsable de l'équipe : Mme Tognola Gabriella

Equipe 2 : Institut Mines Telecom- Telecom ParisTech, Chaire C2M - Paris

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiart

Equipe 3 : IMEC, Waves research group - Gent

Responsable de l'équipe : M. Wout Joseph

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 239 928 € TTC

Résumé GinFiz - 2020_1_133

Responsable scientifique : M. Rémy Beaudouin

Organisme : INERIS - Verneuil-en-Halatte

1. Titre

Projet complet

36 mois

Inhibition de l'aromatase gonadique et autres chemins de toxicité conduisant à une diminution de la fécondité chez le poisson zèbre : de l'événement initiateur aux impacts sur les populations.

2. Questions à la recherche

PE 1 - Développement de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action (y compris épigénétiques).

PE 3 - Étude de la toxicologie des faibles doses et de la relation dose/effet.

PE 7 - Construction d'outils pour relier biosurveillance et évaluation des expositions ; détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les « Adverse Outcome Pathways » quantitatives (qAOP) sont des modèles multi-échelles permettant de prédire les relations doses-réponses entre des événements moléculaires initiaux et des effets néfastes considérés comme pertinents pour l'évaluation des risques (e.g. viabilité de la population). Au cours d'un précédent projet financé par l'ANSES (AIDEZ, 2016-2020), nous avons pu améliorer des tests de criblage des PE (OCDE, TG 229 et 230) grâce à l'utilisation d'une lignée de poissons zèbres (ZF) transgéniques (cyp19a1a-eGFP). Des données toxicologiques sur les perturbations de reproduction (concentrations en œstradiol et en vitellogénine circulante, fécondité des femelles) ont été acquises pour différents PE (fongicides azolés et progestatifs) et peuvent être directement utiles dans des AOP permettant de prédire des effets néfastes des composés sur la reproduction. Toutefois, la traduction de ces déficits fonctionnels chez les individus en effets néfastes au niveau des populations constitue toujours un enjeu essentiel.

L'objectif du présent projet sera le développement et l'amélioration de qAOP afin de prédire précisément les impacts des PE pour les populations de poissons. Pour cela, trois objectifs seront visés :

- Enrichir la version quantitative de l'AOP (qAOP) basée sur l'aromatase A déjà publiée pour *P. promelas* (Villeneuve, 2016), en particulier, pour prédire précisément les impacts populationnels, en utilisant les modèles mathématiques mécanistiques disponibles à l'Ineris pour le ZF (Pery et al., 2014 ; Beaudouin et al., 2015), les données toxicologiques produites dans le projet AIDEZ, et en produisant de nouvelles données sur la dynamique des hormones stéroïdiennes.

- Intégrer à cette qAOP une autre voie de toxicité pour les PE conduisant à une diminution de la fécondité du poisson zèbre (voie de signalisation des progestatifs).

- Utiliser cette qAOP, ainsi que l'ensemble des données produites, dans un contexte réglementaire afin d'en démontrer l'intérêt dans la mise en œuvre du guide ECHA/EFSA pour l'identification des propriétés PE.

Villeneuve D. 2016. OECD Series on Adverse Outcome Pathways. <http://dx.doi.org/10.1787/5jlsv05mx433-en>.

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

La proposition d'une qAOP originale conduisant à une inhibition de la fécondité, médiée par une inhibition de l'aromatase A ou résultant d'une autre voie de toxicité, permettra d'enrichir notre connaissance des mécanismes d'action des PE.

Dans ce but, un modèle de l'axe hypothalamus-hypophyse-gonades (HPG) simulant la dynamique des hormones stéroïdiennes pour le ZF sera développé grâce à la production de nouvelles données, en particulier, le dosage de stéroïdes circulants en situation normale et lors d'une inhibition de l'aromatase chez le ZF.

La qAOP permettra d'explorer plusieurs scénarios d'exposition, de prédire les impacts de PEs sur les différents niveaux biologiques, des doses internes de substance PEs accumulées jusqu'aux effets sur les

populations, en intégrant les contraintes écologiques et les phénomènes de régulation pour se rapprocher des conditions réelles d'exposition.

Enfin, afin de démontrer l'utilité d'un tel outil dans un contexte réglementaire, nous mettrons en œuvre le guide ECHA/EFSA pour l'identification des propriétés PE en enrichissant l'analyse des données existantes avec les données et outils développés dans ce projet. La mise en œuvre de ce guide récent et peu éprouvé à ce stade, augmentée des données du projet, constitue en elle-même une action novatrice.

Argumentation du choix des questions

La proposition de qAOP conduisant à une inhibition de la fécondité permettra d'investiguer les mécanismes d'action des PE en déterminant leurs chemins de toxicité (PE 1). De plus, le développement de modèles mathématiques pour intégrer différentes échelles biologiques, différents types d'observations et les relations entre ces variables permettra de proposer un outil reliant de façon quantitative (relation dose/effet) les concentrations externes et internes (exposition), les marqueurs biologiques aux différentes échelles biologiques, les effets sur la fécondité et la viabilité des populations (PE 3 et 7).

Description des méthodes mises en œuvre

La qAOP développée reposera sur la structure de l'AOP proposée par Villeneuve (2016), en y ajoutant des spécificités du ZF et les chemins non médiés par une inhibition de l'aromatase A. La stratégie sera articulée autour de quatre tâches :

- 1) Modèles sub-individuels : Application du modèle PBPK aux substances étudiées et perfectionnement du modèle de l'axe HPG (mois 0 à 18)
- 2) Expérimentale : Production de données complémentaires (mois 0 à 12)
- 3) Modèles individu et population : Modèle de fécondité chez le ZF et prédiction des impacts sur la dynamique de population (mois 18 à 36)
- 4) Évaluation du risque : Application et évaluation de l'apport des outils sur 1 ou 2 études de cas (mois 30 à 36)

Pour supporter le développement du modèle de l'axe HPG, des données complémentaires sur les concentrations de stéroïdes circulants seront acquises lors de ce projet. Le plan d'expérience sera optimisé en se basant sur la ré-analyse des expériences conduites lors du projet MOZAIK (APR PNRPE). Le modèle de fécondité se basera sur ceux proposés pour d'autres poissons et les données spécifiques au ZF acquises lors de précédents projets à l'Ineris sur ce processus. Enfin, des données sur différents événements de l'AOP ont été acquises à l'Ineris dans le cadre du projet AIDEZ pour le prochloraz, imazalil, clotrimazole, gestodène et noréthindrone.

La mise en œuvre du guide ECHA/EFSA sera réalisée sur une ou deux des substances actives pesticides testées, fongicides azolés approuvés sur le marché européen, retrouvés dans les eaux de surface et qui présentent des effets PE préoccupants.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INERIS - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. Rémy Beaudouin

Equipe 2 : Université de Bordeaux, EPOC/LPTC - Talence

Responsable de l'équipe : Mme Hélène Budzinski

Equipe 3 : Inrae, Laboratoire de Physiologie et génomique des poissons - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Violette Thermes

Equipe 4 : Inria Saclay - Palaiseau

Responsable de l'équipe : Mme Frédérique Clément

Equipe 5 : Inrae, UMR 85 PHASE/BIOS/PRC - Nouzilly

Responsable de l'équipe : M. Romain Yvinec

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 971 € TTC

Résumé Halocomendis - 2020_1_059

Responsable scientifique : M. Pascal Carato

Organisme : Université de Poitiers, UFR de médecine et de pharmacie - Poitiers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Évaluation de l'activité sur différents récepteurs nucléaires de dérivés halogénés du bisphénol A, des parabènes et de leur implication dans la croissance tumorale

2. Questions à la recherche

PE 2 - Étude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de pathologies métaboliques et hormonales, y compris sous l'angle des effets trans- et inter-générationnels.

PE 3 - Étude de la toxicologie des faibles doses et de la relation dose/effet.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le but de ce projet est d'évaluer les effets de composés halogénés du BPA (Habi), de parabènes (Hapa) sur l'activité de récepteurs nucléaires impliqués dans la prolifération tumorale. En fonction des résultats, des études de métabolisme et de tumorigenèse seront envisagées sur certains composés

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

Le bisphénol A (BPA) a été classé substance extrêmement préoccupante sur la base de ses propriétés de perturbateur endocrinien pour la santé humaine. Ce composé et ses métabolites sont présents dans l'environnement, les matrices biologiques humaines (sang, urine, colostrum, graisse) et l'eau potable. Lors des étapes de décontamination de l'eau à destination de la consommation humaine, l'étape de chloration entraîne la formation de dérivés chlorés du BPA mais également bromés, due à la présence d'ions hypobromites. Ces Habi sont retrouvés dans les milieux naturels, les matrices biologiques. Certains produits présentent des propriétés œstrogéniques, plus importantes que celle du BPA. De plus ces Habi ont été retrouvés dans des échantillons de tissu adipeux péri-mammaire ; compte tenu de la forte dépendance d'une part importante des tumeurs mammaires vis à vis de la voie de signalisation des œstrogènes en termes de croissance, l'implication potentielle de ces Habi dans le cancer du sein peut être envisagée d'autant que celle-ci n'est point étudiée. De même, les parabènes utilisés comme conservateurs se transforment en Hapa et leur potentiel de PE reste à déterminer

Argumentation du choix des questions

Nous proposons d'étudier l'anabolisme des Habi et Hapa afin de déterminer les formes majoritaires (Equipe 1). Une étude in vitro sera réalisée avec ces composés afin de mesurer leur capacité à moduler l'activité transcriptionnelle de récepteurs nucléaires (RN), ERalpha, ERbeta, ERRgamma, AR, PPARgamma, CAR et PXR par l'équipe 2 (tests déplacement ligands tritiés, tests d'expression gènes rapporteurs et endogènes). Ce choix de RN est lié aux affinités connues des bisphénols et parabènes. L'équipe 2 dispose d'une plateforme de criblage cellulaire ainsi que de lignées cellulaires bioluminescentes exprimant les différents RN et la luciférase sous le contrôle de ceux-ci. L'étude des modifications phénotypiques de lignées cancéreuses humaines non métastatiques (cancer du sein, prostate, foie et colon) par les molécules les plus pertinentes (en lien avec les résultats de l'équipe 2) sera réalisée par les équipes 2 et 3. Elles réaliseront des études de prolifération de cellules de cancer du sein (équipe 3), de prostate et de colon (équipe 2). De plus des études récentes ont démontré que certains polluants provoquent des modifications phénotypiques des cellules cancéreuses, évoquant une transition épithélio-mésenchymateuse et l'acquisition de propriétés invasives ou pro-

métastatiques. Compte tenu de l'importance capitale de ce processus dans la mortalité par cancers (90% des décès associés à l'apparition de métastases), l'équipe 3 propose d'étudier cette étape inexplorée de la tumorigenèse. Cette partie sera réalisée à l'aide de différents modèles cellulaires dont un récemment récompensé (prix INSERM innovation technologique 2016 (<https://www.youtube.com/watch?v=58mZ48E6Cig>) permettant de mesurer en plus de celles de polluants, l'influence du microenvironnement tumoral

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet permettra de comprendre les effets potentiels de dérivés inexplorés des bisphénols et parabènes sur l'activité de RN, sur la prolifération de lignées de cancer du sein (MCF-7), de prostate (VCAP), de colon (LS-174) ainsi que sur l'évolution du phénotype de cancers hormono-dépendants

L'équipe 1 (12 mois) réalisera la synthèse Hapa, qui possède des compétences en chimie organique. Les Habi sont synthétisés.

Une étude de métabolisme (fractions hépatiques humaines) permettra d'identifier les différents métabolites par LC-MS-MS. Ainsi la synthèse de ces Hapa répond à la nécessité d'avoir des standards analytiques pour les quantifier par LC-MS-MS et de les évaluer afin de mieux connaître leurs effets.

L'équipe 2 (12 mois) évaluera les activités des Habi et des Hapa sur les RN, ER α , ER β , ERRgamma, AR, PPARgamma et PXR

Les composés seront testés pour leur capacité à moduler l'activité de RN dans des lignées cellulaires exprimant ces RN ainsi que le gène de la luciférase sous leur contrôle. Pour certains de ces RN, nous confirmerons ces effets sur l'expression de gènes naturels et sur la prolifération cellulaire (PR, pS2, GREB1 et prolifération pour ER β dans les cellules de cancer du sein MCF7), (PSA et prolifération pour AR dans les cellules de cancer de la prostate VCAP), (CYP3A4, UGT1A1, MDR et prolifération pour PXR dans les cellules de cancer du côlon LS174T)

L'équipe 3 (12 mois) étudiera la tumorigenèse de composés synthétisés sur des lignées cancéreuses humaines non métastatiques (lignées de cancer du sein) ; cette caractérisation débutera par une analyse phénotypique à l'aide du dispositif de notre plateforme de biologie cellulaire, XCelligence qui permet d'explorer plusieurs propriétés des cellules de manière longitudinale (prolifération, adhérence et migration). Des expériences complémentaires seront réalisées en fonction des résultats obtenus : des tests d'invasion, de migration (Transwell) et des tests caractérisant des biomarqueurs d'exposition/de pathologies par des expériences de PCR quantitative en temps réel et/ou western blot ; nous utiliserons enfin notre modèle cellulaire de co-culture incluant des adipocytes cultivés en présence de cellules tumorales adaptées (ex: MCF-7) de sorte à mesurer leur gain potentiel d'agressivité

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Poitiers, UFR de médecine et de pharmacie - Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Pascal Carato

Equipe 2 : Inserm U1194-ICM - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Patrick Balaguer

Equipe 3 : Université Paris Descartes, UMR-S 1124 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Xavier Coumoul

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé LumEnColor - 2020_1_258

Responsable scientifique : M. Patrice Bourgin

Organisme : CHRU Strasbourg, Centre des troubles du sommeil-CIRCSom - Strasbourg

1. Titre

Projet complet

36 mois

Bénéfices et risques d'une exposition lumineuse artificielle: caractérisation des effets physiologiques et comportementaux de différentes longueurs d'onde

2. Questions à la recherche

RNIO 3 - Caractérisation des expositions des travailleurs aux rayonnements optiques artificiels (longueur d'onde comprise entre 100 nanomètres et 1 millimètre).

LUMI 1 - Caractérisation des expositions et des impacts de la pollution lumineuse pour la population générale et pour l'environnement.

3. Résumé

Objectif détaillé

La pollution lumineuse et l'exposition croissante à de nouvelles sources de lumière (LEDs, objets connectés...) ont des conséquences importantes sur la santé. En effet, la lumière influence fortement de nombreux paramètres physiologiques et comportementaux. Elle peut aussi bien avoir des délétères que bénéfiques, en fonction des paramètres d'exposition et du moment de journée. La lumière bleue a concentré beaucoup d'attention, mais les autres composants spectraux de la lumière ont fait l'objet de peu d'intérêt.

L'objectif est de caractériser l'impact des différentes longueurs d'onde (bleue, verte, rouge) sur la vigilance, les performances cognitives, l'humeur, le sommeil et les rythmes biologiques, en fonction de l'horaire circadien et en situation de privation de sommeil.

Notre projet est translationnel, associant une étude preuve de concept chez l'homme et une étude mécanistique chez la souris visant à identifier les systèmes de phototransduction et relais cérébraux impliqués.

Ce projet aura ainsi des applications immédiates pour l'éclairage sociétal ainsi qu'au travail.

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

Les effets non-visuels de la lumière dépendent de différents paramètres, luminance, durée d'exposition, moment de l'exposition et enfin composition spectrale. La recherche s'est essentiellement intéressée à la lumière bleue. Pourtant des travaux récents, notamment de notre équipe, suggèrent une complexité encore accrue des effets non-visuels de la lumière. Chez la souris, Pilorz et coll. (2016) décrivent un effet éveillant de la lumière bleue et à l'inverse un effet inducteur de sommeil de la lumière verte. Chez l'homme, la lumière est connue pour stimuler la vigilance (« alerting effect »). Paradoxalement, nous avons récemment décrit pour la première fois un effet « hypnogène » de longueurs d'onde dans le spectre du rouge (van der Meijden et al., 2018). Ainsi, des ondes lumineuses de longueur différente exercent des effets opposés, ouvrant des perspectives nouvelles sur les effets de l'éclairage.

Argumentation du choix des questions

Avec l'émergence des LEDs, la population est de plus en plus exposée à des environnements lumineux de couleur spectrale hétérogène, qui peuvent différer selon le moment de la journée, et dont les impacts restent à ce jour mal connus. En conditions écologiques, de nombreux facteurs interfèrent et il est difficile d'identifier l'impact d'un paramètre isolé de l'éclairage. Nous proposons donc, à ce stade, de réaliser une étude preuve de concept en conditions contrôlées chez l'homme et chez l'animal.

Caractériser l'influence des différentes couleurs de lumière sur la physiologie et le comportement est un prérequis indispensable pour comprendre l'impact des expositions et de la pollution lumineuse sur la

population générale et pour définir des recommandations d'éclairage adapté à chacun, en fonction du moment de la journée et en fonction des besoins du sujet, en particulier chez le travailleur posté.

Description des méthodes mises en œuvre

L'objectif de cette étude est la caractérisation des effets de différentes longueurs d'ondes sur la vigilance, l'humeur, la cognition, le sommeil et les rythmes biologiques selon le moment circadien et le niveau de pression de sommeil.

Des expositions séquentielles de lumière polychromatique standard, enrichie en rouge ou vert sont administrées lors de protocoles chronobiologiques contrôlés de « constante routine » et de siestes multiples. 16 sujets sains par condition expérimentale bénéficient d'une nuit de base, 40h de siestes répétées ou en privation de sommeil et d'une nuit de récupération en isolement temporel. La lumière étudiée est appliquée selon des séquences correspondant aux périodes inter-siestes. Le sommeil, les marqueurs biologiques circadiens, la vigilance, l'humeur et la cognition pour chaque condition sont analysés et comparés. De plus, grâce à la plateforme CIRCSom de l'équipe, les analyses comparatives s'effectueront avec les données déjà obtenues pour les conditions de lumière enrichie en bleue ou en lumière inactive.

Pour mieux caractériser les effets de différentes longueurs d'ondes sur le sommeil et la vigilance selon le moment circadien et le niveau de privation de sommeil et identifier les systèmes de phototransduction et structures cérébrales impliquées, une étude chez la souris sera réalisée en parallèle. L'effet de lumière monochromatique (470nm, 530nm, 620nm) en comparaison avec les conditions dim light ou blanc polychromatique, sera évalué sur le sommeil et l'éveil. Les expositions lumineuses de courte durée appliquées à différents moments circadiens en condition ou non de privation de sommeil sera évalué en enregistrant l'activité cérébrale de souris. Les modèles de souris transgéniques dont nous disposons permettront de caractériser l'implication des systèmes de phototransduction et l'identification des relais cérébraux par analyses anatomo-fonctionnelles c-Fos.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHRU Strasbourg, Centre des troubles du sommeil-CIRCSom - Strasbourg

Responsable de l'équipe : M. Patrice Bourgin

Equipe 2 : Université de Strasbourg, Lumière, rythmes circadiens, homéostasie du sommeil et Neuropsychiatrie

Responsable de l'équipe : M. Patrice Bourgin

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 998 € TTC

Résumé MOSQUITWO - 2020_1_129

Responsable scientifique : Mme Anna-Bella Failloux

Organisme : Institut Pasteur, Laboratoire arbovirus et insectes vecteurs - Paris

1. Titre

Projet complet

30 mois

Transmission de deux arbovirus (West Nile et Usutu) par les moustiques du nord de la France.

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Vecteurs et santé animale ou végétale, vecteurs et santé humaine : biologie, écologie, distribution des vecteurs, relation hôte-pathogène, surveillance des vecteurs, détection (relations agent pathogène - pathogénicité ; vecteur sentinelle...), exposition différenciée, résistance.

3. Résumé

Objectif détaillé

La France métropolitaine est actuellement confrontée à deux problématiques zoonotiques de Santé Publique : l'émergence des virus West Nile (WNV) et Usutu (USUV). Ils sont hébergés par des oiseaux et transmis par des moustiques du genre *Culex*. D'autres genres de moustiques autochtones pourraient transmettre ces virus (*Aedes*, *Culiseta*, *Anopheles*). Si la surveillance de leur distribution demeure indispensable pour mieux contrôler leur populations (lutte antivectorielle, éducation des populations), force est de constater que la compétence vectorielle des espèces autochtones de moustiques du nord de la France pour ces deux virus demeure inconnue.

Notre projet vise à évaluer la situation en France septentrionale par la surveillance et l'étude de vecteurs sentinelles. Nous avons défini 3 espèces de moustiques pour lesquelles il existe une suspicion de compétence vectorielle argumentée par la littérature : *Culex pipiens* s.l., *Anopheles plumbeus* et *Culiseta annulata*.

L'objectif général du projet est d'acquérir des données clés sur la transmission des virus WNV et USUV par les vecteurs locaux, à savoir :

- évaluer la présence de vecteurs connus et suspectés pour WNV et USUV dans la région considérée par localisation, piégeage et suivi des trois espèces sentinelles sélectionnées ;
- évaluer le portage et/ou la circulation d'arbovirus par ces trois espèces en conditions naturelles par recherche d'ARN puis par isolement viral ;
- déterminer la compétence vectorielle de populations autochtones prélevées sur le terrain pour les virus considérés par infections expérimentales en laboratoire P3.

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

L'originalité de ce projet repose sur l'évaluation du risque sanitaire par l'acquisition de données clés sur les relations virus-vecteurs sentinelles :

- recherche de la circulation d'arbovirus en conditions naturelles
- isolement des souches virales WNV et USUV ou production par reverse genetics d'après la séquence génomique des virus retrouvés dans les moustiques analysés
- détermination de la compétence vectorielle en conditions expérimentales en utilisant les souches virales et les moustiques vecteurs circulant dans la zone cible.

Il est démontré pour WNV et USUV que leur circulation pouvait précéder de plusieurs années la survenue de des premiers cas (hommes et animaux) nécessitant une surveillance entomologique précoce.

Le consortium associe de manière transversale des spécialistes d'épidémiologie, d'arbovirologie, d'infections expérimentales de moustiques, de lutte antivectorielle et de systématique des vecteurs.

Argumentation du choix des questions

Notre projet s'inscrit parfaitement dans la problématique : Vecteurs, changement climatique et santé : Mesures de gestion de l'appel à projets.

Avec la recrudescence de cas répertoriés d'infections par WNV et USUV en France, il est nécessaire de connaître la compétence vectorielle des moustiques autochtones et de mettre en œuvre des mesures de détection des virus qu'ils peuvent transmettre dans le nord du pays afin de mettre en place une surveillance.

Le caractère novateur de ce projet réside dans son positionnement en amont de la survenue de possibles épidémies. La détection à priori (sans mortalité aviaire) ou précoce (dès les premiers épisodes de mortalité aviaire) de la circulation des virus sera très rapidement rendue accessible aux autorités compétentes en Santé Publique afin d'optimiser la prévention et la lutte.

Description des méthodes mises en œuvre

L'échantillonnage sera réalisé dans le Grand-Est et selon les données de l'ONCFS en réaction aux épisodes de mortalité aviaire imputés à WNV et USUV. Les identifications des moustiques coupleront morphologie et DNA barcoding. Un screening des vecteurs sentinelles pour WNV et USUV sera réalisé par RT-PCR avant isolement viral sur pool monospécifique conservé à -80°C.

Les infections expérimentales réalisées sur populations sauvages évalueront pour chaque espèce sentinelle leur compétence vectorielle, le taux d'infection, le taux de dissémination et le taux de transmission pour les deux virus. Elles seront réalisées avec les souches circulant localement (et non avec des virus modèles qui ont le plus souvent des propriétés totalement différentes). Faute d'isolement viral local, l'UVE a développé plusieurs techniques de « reverse genetics » qui permettent d'obtenir des virus infectieux à partir de la séquence complète obtenue par NGS.

La durée de 30 mois du projet se justifie par la nécessité de deux campagnes complètes d'échantillonnage de moustiques (mars-octobre). Les périodes hivernales seront mises à profit pour le screening et l'isolement viral à partir de moustiques congelés.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Pasteur, Laboratoire arbovirus et insectes vecteurs - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Anna-Bella Failloux

Equipe 2 : Université de Reims, Faculté de pharmacie, JE 2533 - USC ANSES "VECPAR" - Reims

Responsable de l'équipe : M. Jérôme Depaquit

Equipe 3 : Aix Marseille Université, Unité des Virus Emergents - Marseille

Responsable de l'équipe : M. Remi Charrel

Equipe 4 : Université de Strasbourg, Institut de Parasitologie

Responsable de l'équipe : M. Bruno Mathieu

Equipe 5 : Syndicat de Lutte contre les Moustiques du Bas-Rhin - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Christelle Bender

Equipe 6 : ONCFS - Orléans

Responsable de l'équipe : Mme Anouk Decors

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 680 € TTC

Résumé MOTHERR - 2020_2 RF_008

Responsable scientifique : M. René De Seze

Organisme : Ineris, TOXI - Verneuil-en-Halatte

1. Titre

Projet complet

36 mois

Modélisation numérique de l'interaction des champs RF sur les récepteurs thermiques – Mécanismes et expérimentations vivo et vitro

2. Questions à la recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant aux niveaux cellulaire et moléculaire, en tenant compte des évolutions d'utilisation de fréquences liées aux nouveaux usages et nouvelles technologies de communication.

RFES 2.4 - Étude des effets des champs électromagnétiques sur le vivant dans les bandes de fréquences aujourd'hui peu étudiées, notamment au-dessus de 2,5 GHz, associées aux prochains déploiements de la technologie 5G et aux usages émergents concernant les objets communicants.

3. Résumé

Objectif détaillé

This project will look for the biological mechanisms involved in thermoregulatory changes observed in mice exposed to RF (Pelletier, 2013, 2014; Arendash, 2010, 2012 and Dragicevic, 2011). To look for initial mechanisms of these changes, we will look: 1) in vitro whether and which TRP-thermal receptors are involved; 2) in mice how TRP-antagonists inhibit the shown thermogenesis; 3) in silico, by means of pure classical molecular dynamics, how RF fields can modify TRP molecular conformation or alter its own electrostatic environment, to understand if it is possible to explain the observed effect on TRP receptors.

This approach will allow to explore RF parameters and signals of new communication technologies: LTE, 5G. Speculations suggest a possible role of TRPM-8 receptor, that will be checked among other TRP-receptors, looking for differential effects to better understand the interaction mechanism of RF with those biomolecules.

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

Up to now, only acute effects of RF fields have been validated and attributed to non-specific heating ($=1^{\circ}\text{C}$) under high intensity exposure. Such heating needs a SAR of 4W/kg (ICNIRP 1998), i.e. an internal electric field of 63V/m. Changes in thermal regulation published by Pelletier and Arendash teams show that repeated exposures at low RF level – 1 to 30V/m -, promote cold-like thermoregulatory processes in mice. Preliminary results showed that the antagonist action of AMG2850, a TRPM-8 inhibitor, was inhibited in mice previously exposed for 6 days, suggesting a conformation change of this receptor. This project investigates whether the observed reaction can indeed be explained by a specific interaction at the molecular level in transmembrane enzymes such as a thermal receptor, as it was suggested by Glaser in 2005, based on thermodynamic properties of TRP ion channels. The whole project is based on the identification of a plausible molecular target around which in silico and laboratory experiments are planned and integrated together.

ICNIRP (1998). " Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300GHz)." Health Phys. 74 494-522

Argumentation du choix des questions

Research of mechanisms at the molecular level will be achieved by looking at effect of RF exposure on TRP-thermal receptors in silico, in vivo and in-vitro. Pharmacological antagonists focused towards a given receptor will allow to check whether this receptor is involved in the observed effect.

In vitro and in silico experiments will allow cross-checking of possibly other responsive receptors, and testing more easily different signals of new communication technologies.

Description des méthodes mises en œuvre

Potential effect of RF exposure on TRP receptors will be assessed in vitro using the Bioluminescent Resonant Energy Transfer (BRET) probes targeting various cold and warm sensitive TRP ion-channel, allowing real-time / live cell measurement of ion channel gating and functionality (Ruigrok, 2018). This will be performed both on primary fibroblast and cell lines with different exposure parameters, and noticeably signals of new communication technologies (LTE, 5G) ranging from 0,05 to 4W/kg.

In vivo exposures will last 2x2h/day at 900MHz, 1800MHz, LTE or 5G signals for one week; 6 animals/group will be exposed or sham-exposed in a blind design. Exposure modes will be compared; a dose-response relationship will be established: 0,05, 1 and 4W/kg. Duration threshold of exposure for an effect will be checked: 15, 30, or longer than 120'. Some experiments will be performed at warm temperature. Specificity of the frequency will also be checked.

A rough numerical dosimetry of the mice in Arendash's studies will be performed, and a detailed dosimetry of mice in the reverberating chambers will be completed for up to 3 animals in one cage in various positions. Focalized SAR for organs of interest and relative statistical analysis will be calculated (Wu, 2010). Numerical dosimetry of the in vitro experiments will also be provided.

TRPM models coming from the Protein Data Bank (PDB) will be selected and imported in the molecular dynamics simulation environment. The models will be equilibrated and thermalized; simulations will be performed in unexposed conditions, increased temperature conditions (negative and positive control) and for selected exposure frequencies. For each exposure condition, simulations will be long enough to represent hundreds of time periods and repeated three times to have a statistical significance.

Involvement of TRP receptors will be checked by intra-peritoneal injection of TRP-antagonists vs. saline (TRPV1, V3, V4, TRPM2, 4, 5, 8, TRPA1). It will be checked whether the antagonist effect can be observed early after starting the exposure, which would make it a possible target of the interaction with RF electric field.

The expression of TRP receptors and genes will be performed by immunohistochemistry, western blot and PCR on different tissues: skin epidermis of paws, ears, tongue, cornea and dorsal root and trigeminal ganglia.

Effects of RF exposure and co-exposure to warm temperature (27 up to 35°C) will be investigated for comparison of the receptor responses with numerical modelling.

Calendar

M 1-6 Dosimetry, validation of methods for the markers

M 7-12 TRP receptors, pharmacological study, setup of molecular models

M 1-12: preparation of BRET probes

M 13-24 TRP receptors, histochemical and molecular biology studies

M 13-24 BRET parametric experiments

M 13-24 molecular simulations in different conditions

M 24-30 further analyses and comparison of molecular modelling with in vitro and in vivo experiments

M 30-36 writing papers and valorization

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ineris, TOXI - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. René De Seze

Equipe 2 : CNRS, IMS CNRS UMR 5218 - Talence

Responsable de l'équipe : M. Yann Percherancier

Equipe 3 : Telecom Bretagne - Brest

Responsable de l'équipe : M. Christian Person

Equipe 4 : Department of Information Engineering, Electronics and Telecommunications Sapienza, University of Rome, Italy

Responsable de l'équipe : Mme Francesca Apollonio

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 935 € TTC

Résumé MOUSTIC - 2020_1_188

Responsable scientifique : Mme Marie-Hélène Ropers

Organisme : Inrae, Unité UR1268 BIA - Nantes

1. Titre

Projet complet

24 mois

Analyse des résidus plastiques issus de la digestion humaine simulée de moules contaminées par des microplastiques, à l'aide du couplage entre la microscopie électronique à balayage et la spectroscopie Raman

2. Questions à la recherche

CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques entre ces différents compartiments ; risques induits pour l'homme et l'environnement.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les microparticules de plastiques (taille < 5mm) sont des substances devenues ubiquitaires dans l'environnement marin et notamment dans les zones côtières. Les moules, n'échappent pas à cette contamination et constituent une voie d'exposition aux microplastiques pour l'homme.

Actuellement, l'un des verrous est de pas pouvoir déterminer la taille de chaque famille de plastiques pour comprendre l'adsorption de polluants chimiques à leur surface. Un autre verrou est la limitation des observations microscopiques aux particules de taille supérieure à une dizaine de microns alors que le vieillissement des plastiques en milieu marin conduit également à des particules de taille inférieure à 10 µm également absorbées par les organismes marins.

Grâce aux compétences développées par notre consortium sur la métrologie, la chimométrie et les analyses physico-chimiques à différentes échelles de la matière, dont les microplastiques, nous avons l'ambition de déterminer : i) la nature et la distribution de taille des microplastiques auxquels est exposé le consommateur de moules et ii) comment ces particules évoluent lors de la digestion humaine. Notre projet a deux objectifs. Le premier est de proposer une démarche analytique de caractérisation des microplastiques dans les eaux d'élevage des moules, robuste et adaptable à d'autres environnements. La distribution de taille par famille de plastiques sera notamment obtenue en mettant en œuvre le couplage entre la spectroscopie Raman, la microscopie optique et la microscopie électronique à balayage MEB, et en colocalisant les populations étudiées grâce à des grilles de repérage. Le deuxième objectif du projet est de caractériser l'exposition humaine aux microplastiques et leur devenir après la consommation de moules. Cet objectif sera atteint en analysant, à l'aide de la méthodologie précédemment développée, le contenu en microplastiques des moules et le devenir de chacune des familles de plastique après une digestion humaine simulée in vitro.

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

L'originalité de notre projet est de lever le verrou lié à la détermination de la distribution de tailles par famille de plastiques, en optant pour deux solutions adaptées à la nature des plastiques et couvrant la gamme de taille allant du millimètre au nanomètre. La première solution utilise le couplage entre d'une part la spectrométrie Raman et la microscopie optique (déjà existant) et d'autre part la spectrométrie Raman et la microscopie électronique à balayage (à adapter aux microplastiques). La deuxième solution, adaptée aux plastiques colorés, est l'analyse des échantillons par chaque technique pour bénéficier de conditions de mesure optimales mais aux mêmes points grâce à des grilles de repérage.

Le caractère novateur du projet est l'obtention de données sur l'état des microplastiques après consommation de moules contaminées, jusqu'ici inconnu.

Argumentation du choix des questions

Notre projet répond aux attentes de la question de recherche sur les « milieux et contaminations » avec la métrologie des micro-plastiques dans les compartiments environnementaux et la caractérisation de l'exposition comme éléments clés. Il permettra de relier la nature des plastiques à leurs comportements dans les milieux digestifs, de cibler les contaminants chimiques en fonction de la surface développée par les différentes familles de plastiques et de jeter les bases pour caractériser le risque lié à la consommation de moules contaminées par des microplastiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Les premiers 15 mois consisteront à mettre en place la démarche analytique de caractérisation des microplastiques dans les eaux d'élevage des moules. Outre les méthodes classiques (spectroscopies dans le moyen et le proche infrarouge, microscopie infrarouge, pyrolyse couplée à la chromatographie gaz en détection de spectrométrie de masse, microscopie confocal Raman, FT-Raman, microscopie optique et électronique à balayage MEB), le couplage MEB-Raman sera mis en place avec le traitement de données associées (chimométrie). Les échantillons d'eaux de mer pourront nécessiter une préparation préalable, impliquant centrifugation, filtration et/ou fractionnement en flux force (A4F) soit en mode brownien (particules 1 µm). Une attention sera portée sur la limitation de la contamination des analyses par les plastiques de l'environnement de travail. L'ensemble de cette méthodologie sera également appliqué les 9 mois restants pour analyser d'une part les microplastiques présents dans les systèmes digestifs des moules (après dissection) et d'autre part pour caractériser comment chaque famille de microplastiques évolue après une digestion humaine de moules simulée in vitro.

La métrologie sera assurée par des comparaisons interlaboratoires concernant les mesures de microscopie électronique (LNE, BIA, IMN), les mesures de spectroscopie de proche infrarouge (IMN, ANSES) et les mesures de spectroscopie Raman (BIA, IMN, ANSES). Elle sera également attestée sur des échantillons standards de polystyrène (commerciaux) et autres dont les protocoles d'obtention ont été développés par d'autres groupes de recherche.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inrae, Unité UR1268 BIA - Nantes

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Hélène Ropers

Equipe 2 : Institut des matériaux Jean Rouxel, Physique des Matériaux et Nanostructures - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Bernard Humbert

Equipe 3 : LNE, Direction Métrologie Scientifique et Industrielle - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Enrica Alasonati

Equipe 4 : Anses, LSAL, Département des produits de la pêche et de l'aquaculture - Boulogne-sur-Mer

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Duflos

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 990 € TTC

Résumé Neo_F3_2020 - 2020_1_040

Responsable scientifique : Mme Fatima Smagulova

Organisme : Université de Rennes, Inserm U1085/ Irset - Rennes

1. Titre

Projet complet

36 mois

L'évaluation des effets épigénétiques transgénérationnels potentiellement promus par le néonicotinoïde, thiaclopride, chez la souris male

2. Questions à la recherche

PE 2 - Étude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de pathologies métaboliques et hormonales, y compris sous l'angle des effets trans- et inter-générationnels.

3. Résumé

Objectif détaillé

The intensive use of neonicotinoides led to dramatic decline of bee colonies worldwide (Rundlof et al., 2015). There is a global contamination in Europe by one of them Thiacloprid (TH); e.g. all analyzed feather of house sparrows in Swiss are prevalently up to 99% contaminated by TH (Humann-Guillemot et al., 2019). The exposure to TH have effects on thyroid hormone function in exposed rat (Sekeroglu et al., 2014). From the other hand, the thyroid hormone deficiency impose negative effects on reproductive system (Krassas and Markou, 2019). Thus, exposure to TH may lead to negative effects on reproductive system. In our team, we are interested in environmentally induced transgenerational inheritance (TI). During development, somatic cells undergo a somatic-to-germline transition (SGT). During SGT, the germ cells commit to become oocytes or gonocytes. Any exposure at SGT could promote TI because the epigenetic changes in germ cells will avoid reprogramming through many developmental stages (Lesch et al., 2013). In males, after birth, the germ cells continue to differentiate to spermatogonia (SG), which further develop into spermatozoa (SZ), where the histones are replaced by protamines. However, up to 10% of histones are retained in the SZ and these regions are enriched in histone H3K4me3 (Hammoud et al., 2009). These regions are candidates for mediating TI; the paternal histone H3K4me3 from sperm were found preserved in early zygote (Zhang et al., 2016). In our previous studies, using environmental toxicants, we showed that gestational exposure to Atrazine (Hao et al., 2016) or Chlordecone (Gely-Pernot et al., 2018) promote TI. Specifically, exposure to any of these toxicants causes meiotic defects, changes in the gene expression and causes a decrease in SZ numbers. In this study, we would like to continue our efforts in revealing the mechanisms of possible TI promoted by TH, we will focus on effects on male reproductive system. The main objective is to assess the role of epigenetic mechanisms potentially affected by TH.

The aims of our study are as follows. 1) To gather evidence for the TI of TH. We first aim to screen the potential effects of TH at hormone-related organs (prostate, testis, thyroid, adrenal) and to compare the effects in F1 and in F3 males. We will examine the tissue morphology for the presence of anomalies and we will assess the expression of markers of tissue proliferation, such as KI67, and we will perform the apoptosis analysis. We will assess the reproductive parameters such as SZ numbers. We will measure the steroid hormones in serum to assess the endocrine-disrupting potential of TH. 2) To analyze RNA expression in F1 and F3. We will analyze the gene expression in different testis cell populations, including SG, meiotic (spermatocyte) and postmeiotic (spermatid) and in hormone-related tissue such as prostate, thyroid and adrenal. The gene ontology analysis of differentially expressed genes will help to reveal the effects of TH on cellular pathways in hormone-related organs. 3) To analyze epigenetic changes in spermatocytes and SZ. We will analyze the effects of TH on activating H3K4me3 (associated with transcription), H3K27Ac (enhancer

marks) and silencing H3K9me3 and H3K27me3 in F1 and F3 males. The change in H3K4me3 in SZ could also affect the early developmental program, so we also plan to analyze the epigenetic marks in embryonic gonads.

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

The project addresses important question whether TH induces the TI and it will access possible mechanisms of TH toxicity through an integrative approach, from phenotype to molecular level. The project aims at better characterizing and predicting the health consequences and in prevention and management of health risks associated with TH exposure.

Argumentation du choix des questions

Our project fits well to the question PE2, because this project addresses the issue of endocrine disruptors and in particular the research question: Study of the modes of action to identify a possible endocrine disruption related to the development of certain pathologies, including from the angle of trans/intergenerational effects. Since the exposure to TH have effects on thyroid hormone function in exposed rat (Sekeroglu et al., 2014) we believe that TH could impose endocrine disrupting property for other organs as well. The team already initiated study of gestational exposure to TH, we obtained the number of results. We found that gestational exposure to low dose of TH leads to decline of spermatozoa in F1, alteration in meiosis progression and affects the expression of ~700 genes, including genes important for epigenetic regulation (Legoff et al, en preparation). Thus, our preliminary data suggest that TH could have negative impact on epigenetic mechanisms.

Description des méthodes mises en œuvre

We will use pregnant outbred Swiss mice and treat them with low doses of TH. We will use immunohistochemistry approaches; and we will also use the advantage of CHIP-seq and RNA-seq. To enrich testis cell populations, we will use 6 days old mice (for SG analysis) and we will use the BSA gradient protocol, which is established at IRSET, to obtain spermatocytes and spermatids. Bioinformatics tools, such as DAVID and Gene Ontology, for functional annotation of differentially expressed genes, as well as GREAT will be implemented. Timetable: 1 yr, set up all treatment and analysis, 2 yr, histone modifications and RNA analysis, 3 yr, analysis of all data, manuscripts publication.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes, Inserm U1085/ Irset - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Fatima Smagulova

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 999 € TTC

Résumé OSTils - 2020_1_118

Responsable scientifique : M. Jérôme Rousselet

Organisme : INRAE, Unité de Recherche de Zoologie Forestière - Orléans

1. Titre

Projet complet

24 mois

Occurrence Spatiale et Temporelle des chenilles urticantes de processionnaire du pin, et outils de prévention des risques

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Exposition de la population générale et/ou des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes). Comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

CCLIM 1.2 - Impacts du changement climatique sur la santé : Impacts indirects via la qualité des milieux et de l'alimentation et le développement de maladies émergentes.

3. Résumé

Objectif détaillé

Dans un contexte de changements globaux, les chenilles urticantes constituent un enjeu croissant de santé publique. Elles ont fait l'objet d'une étude ANSES en 2019 dans le cadre du groupe de travail "Vigilance toxines naturelles", et sont prises en considération dans plusieurs plans régionaux santé-environnement (l'URZF a fourni au GT des données cartographiques et phénologiques, elle participe également au PRSE3 Ile-de-France et Centre Val de Loire). La processionnaire du pin compte pour plus de 50% des expositions recensées. L'augmentation des problèmes sanitaires liés à cette espèce est due (i) à l'expansion de son aire de répartition sous l'effet du réchauffement climatique et des transports accidentels (introductions hors de l'aire) (ii) à la plus grande imprévisibilité et à l'élargissement au cours de l'année de la période à risque majeure (processions) sous l'effet du dérèglement climatique (vagues de chaleur) et des îlots de chaleur urbains (iii) aux choix de plantations ornementales en milieu artificialisé (plantation de ses essences préférées en lien avec des effets de mode). L'objectif de ce projet est de fournir des données actualisées sur la distribution spatiale et temporelle des risques et des outils d'alerte et de gestion permettant de les prévenir. Il s'organise en 4 tâches complémentaires :

1. Occurrence spatiale du risque : cartographie de l'aire de distribution de la processionnaire du pin à l'échelle nationale (4ème campagne de mise à jour au pas de temps de 5 ans à financer pour 2020-2021 ; ces cartes sont fournies sur demande à différentes autorités publiques, gestionnaires, médias, ... et sont utilisées comme indicateur ONERC et de gestion durable des forêts)

2. Occurrence temporelle du risque : développement d'un outil d'alerte en temps réel du risque majeur (détection des processions)

3. Etablissement d'un classement des essences à risques (prévalence, abondance)

4. Identification des déterminants économiques et culturels des choix de plantations des particuliers pour fournir des leviers de gestion du paysage (les arbres privés constituant l'essentiel des continuités écologiques pour cette espèce)

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

Ils reposent sur (i) l'acquisition d'une série temporelle de données d'occurrence unique, (ii) le développement d'une innovation technologique pour de l'alerte en temps réel, (iii) une gestion des conséquences du changement climatique par l'adaptation du paysage, le passage du constat scientifique (en matière de connectivité fonctionnelle du paysage pour l'insecte) à la gestion étant opéré via une approche de SHS.

Argumentation du choix des questions

Le projet porte sur les risques d'exposition de la population générale aux toxines produites, véhiculées et libérées par les chenilles urticantes et s'inscrit dans l'axe ABIO1. Il considère leur évolution sous l'effet du changement climatique et vise à une amélioration de la qualité des milieux urbains (CCLIM1.2). L'approche proposée ne concerne pas un vecteur mais présente des analogies avec les questions LAVE.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Les limites latitudinale (Bretagne-Jura) et altitudinales (Massif Central, Alpes, Pyrénées), ainsi que les foyers d'introduction, seront caractérisées selon une grille de 8 km x 8 km (ref 1) de janvier à mai 2021 [URZF, CBGP]

2a. Montée en échelle TRL d'un prototype de détecteur de procession en vue de sa commercialisation (année 1) : allers-retours entre tests terrain et développement en laboratoire [CAP2020] 2b. Montée en échelle TRL d'un dispositif d'adaptation d'un détecteur à l'écopiège commercialisé pour capturer les chenilles (année 1) [La Mésange Verte] 2c. Tests de terrain et définition d'un protocole de surveillance (nombre de détecteurs nécessaires ; années 1- 2) [URZF]

3. Définition des sites d'échantillonnage et caractérisation du contexte paysager par analyses SIG et prospections terrain (année 1). Recensement (janvier-avril 2022) de nids d'hiver et évaluation des prévalence et abondance sur les différents conifères présents en France, incluant les essences présentes (aujourd'hui et dans le futur) en zone méditerranéenne, océanique, océanique dégradée, continentale/montagnarde [ref 4 : essences actuellement en zone océanique dégradée).

4. Réalisation d'enquêtes auprès des particuliers à Orléans (conifères-hôtes très plantés) et Caen (peu plantés) portant sur les déterminants des choix de plantation (raisons esthétiques et pratiques) et sur les caractéristiques socio-démographiques en considérant un gradient centre-périphérie (6 mois post-doc sociologie/anthropologie). 4a. entretiens qualitatifs exploratoires. 4b enquêtes par questionnaires [CITERES, URZF]

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inrae, UMR CBGP – Montferrier-sur-Lez

Responsable de l'équipe : Mme Carole Kerdelhué

Equipe 2 : Université de Tours, EPU-DAE - Tours

Responsable de l'équipe : Mme Francesca Di Pietro

Equipe 3 : Cap 2020 - Gradignan

Responsable de l'équipe : M. Julien Orensanz

Equipe 4 : La Mésange Verte - Bages

Responsable de l'équipe : Mme Jocelyne Camerani

Equipe 5 : Inrae, Unité de Recherche de Zoologie Forestière - Orléans

Responsable de l'équipe : M. Jérôme Rousselet

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 153 313 € TTC

Résumé PartEnR - 2020_1_092

Responsable scientifique : Mme Mélanie Lagarrigue

Organisme : Université de Rennes 1, Plateforme Protim, Irset - Inserm UMR1085 - Rennes

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Identification de protéines Partenaires de perturbateurs Endocriniens par protéolyse limitée et spectrométrie de masse

2. Questions à la recherche

PE 1 - Développement de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action (y compris épigénétiques).

3. Résumé

Objectif détaillé

Par définition, les perturbateurs endocriniens peuvent altérer des fonctions du système endocrinien et induire des effets néfastes sur la santé ou l'environnement. Cependant, les mécanismes conduisant à ces effets sont souvent mal compris. Dans ce contexte, l'identification de protéines partenaires de ces molécules constitue une information essentielle. Or, il n'existe pas actuellement de méthode pleinement satisfaisante pour l'identification rapide et sans a priori de cibles de perturbateurs endocriniens.

La chromatographie d'affinité est classiquement utilisée pour identifier des protéines partenaires de petites molécules dans un mélange complexe. Cependant, elle nécessite de modifier chimiquement la molécule étudiée sur un site judicieusement choisi pour ne pas entraver l'interaction avec les protéines cibles. Le développement de la méthode peut alors être très long surtout lorsqu'il n'existe pas d'information sur la relation structure-activité de la molécule. Enfin, certaines molécules s'avèrent impossibles à modifier sans perte de leur activité. De nouvelles techniques ne nécessitant pas de modification chimique émergent depuis quelques années. Parmi elles, les approches DARTS (Drug Affinity Responsive Target Stability) et LiP-MS (Limited Proteolysis-Mass Spectrometry) basées sur la protéolyse limitée et la spectrométrie de masse présentent des avantages indéniables et commencent à être utilisées pour l'identification rapide de cibles de médicaments ou de produits naturels (Kaur U. 2019 J Proteome Res).

L'objectif du projet PartEnR est de développer une méthode d'identification de protéines partenaires de perturbateurs endocriniens rapide et sans modification chimique. Le caractère innovant de ce projet réside dans l'application du DARTS et du LiP-MS à l'identification de protéines cibles de perturbateurs endocriniens présents dans l'environnement ainsi que dans l'utilisation d'extraits protéiques issus de tissus animaux ou de cultures organotypiques humaines qui n'a jamais été tentée à ce jour mais qui reflète mieux la physiologie de l'organe cible. L'intérêt des deux méthodes sera comparé en utilisant le chlordécone comme perturbateur endocrinien modèle. Nous nous focaliserons sur la prostate en raison de l'association connue entre l'exposition au chlordécone et l'augmentation de l'incidence du cancer de la prostate chez l'Homme. A terme, ce projet pourrait aboutir à un nouvel outil, simple et rapide, pour l'identification de protéines partenaires de nombreux perturbateurs endocriniens.

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

Seulement quelques articles rapportent l'intérêt du DARTS pour identifier des protéines partenaires de composés hydrophiles ou lipophiles. La méthode LiP-MS est quant à elle encore très peu utilisée pour l'identification de protéines cibles et n'a jamais été testée sur des molécules lipophiles. Dans les deux cas, les expériences ont toutes été menées sur des extraits protéiques issus de culture cellulaires in vitro. L'originalité de ce projet est donc l'utilisation d'extraits protéiques provenant de tissus animaux ou de cultures organotypiques humaines qui représentent mieux la physiologie de l'organe cible. Cet aspect est très délicat

car il faut trouver des conditions d'extraction non-dénaturantes permettant de maintenir l'interaction ligand-protéine mais compatibles avec la solubilisation du composé étudié, la protéolyse non-spécifique et l'analyse par spectrométrie de masse. Un grand nombre de perturbateurs endocriniens étant lipophiles (Yilmaz B. 2019 Rev Endocr Metab Disord), leur solubilisation constitue un réel challenge.

Argumentation du choix des questions

Ce projet s'inscrit dans la problématique d'investigation des mécanismes d'action de perturbateurs endocriniens. Il vise à apporter des éléments de réponse en développant des méthodes basées sur la protéolyse limitée et la spectrométrie de masse pour identifier, rapidement et sans modification chimique, des protéines partenaires de perturbateurs endocriniens. La question du choix des échantillons utilisables, reflétant le plus fidèlement possible le contexte physiologique d'un organe cible, sera également posée.

Description des méthodes mises en œuvre

Les méthodes DARTS et LiP-MS reposent sur le principe que le changement de conformation induit par la liaison d'une protéine à son ligand modifie sa résistance à la protéolyse. Elles consistent à incuber la molécule étudiée dans un extrait protéique puis de réaliser une brève protéolyse non-spécifique. Une analyse protéomique par spectrométrie de masse permet ensuite d'identifier et quantifier les peptides générés. L'hypothèse du DARTS est qu'une protéine liée à son ligand est stabilisée et devient plus résistante à la protéolyse. Sa quantité augmente donc avec des doses croissantes de ligand. Le LiP-MS s'appuie sur l'identification de peptides conformotypiques, spécifiques du changement de conformation. L'augmentation de la quantité de ces peptides à des doses croissantes de ligand est caractéristique d'une protéine partenaire. Le LiP-MS a l'avantage de révéler les domaines de la protéine affectés par l'interaction. Ces méthodes proches donnent finalement des informations complémentaires.

Le chlordécone sera utilisé comme molécule modèle en raison de son activité estrogénique bien définie. En effet, ce composé lipophile se lie aux récepteurs aux estrogènes (ER) et agit comme agoniste d'ER alpha et antagoniste d'ER beta. Ces récepteurs constituent ainsi des partenaires attendus qui valideront les approches développées. Leur abondance relativement faible représente également un bon moyen d'évaluer la sensibilité de ces méthodes. Plusieurs sources d'extraits protéiques seront testées avec une attention particulière portée à la prostate pour les raisons évoquées précédemment.

Elements de calendrier:

Mois 0-6: Validation de la maîtrise du protocole sur des lignées cellulaires humaines dont des cellules épithéliales de prostate normale ou cancéreuse

Mois 6-12: Adaptation du protocole à des tissus de rats dont des prostates normales ou cancéreuses

Mois 12-18: Application à des cultures organotypiques de prostates humaines normales ou cancéreuses

Mois 18-24: Validation de nouvelles interactions par microcalorimétrie.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes 1, Plateforme Protim, Irset - Inserm UMR1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Mélanie Lagarrigue

Equipe 2 : Hôpital Bretonneau, Service d'anatomie pathologique - Tours

Responsable de l'équipe : Mme Gaëlle Fromont Hankard

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 742 € TTC

Résumé PE_AGRO_EVAL - 2020_1_143

Responsable scientifique : M. David Siauxsat

Organisme : Université Pierre et Marie Curie, Institut d'écologie et des Sciences environnementales - Paris

1. Titre

Projet complet

36 mois

Dynamique de 2 perturbateurs endocriniens chez 2 plantes cultivées et évaluation de leurs effets sur un insecte polyphage et la souris

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une même famille de substances chimiques).

PE 5 - Développement de biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées.

3. Résumé

Objectif détaillé

Notre projet est une étude intégrée multi-niveaux pour mieux comprendre l'impact d'une mono- et co-exposition à 2 perturbateurs endocriniens (PE), le bis(2-éthylhexyle)phthalate (DEHP) et le bisphénol A (BPA), sur la santé des écosystèmes agricoles et la santé d'animaux se nourrissant de plantes cultivées. Nous utiliserons la luzerne et la tomate (bioaccumulant et subissant des effets de PE), un insecte polyphage *Spodoptera littoralis* et un vertébré omnivore *Mus musculus* (souche C57Bl6), pour lesquels les partenaires 1 et 2 ont montré des effets de ces PE.

Le projet vise à étudier les concentrations de DEHP, BPA et métabolites (MEHP, BPA-G...) dans les plantes, suite à une mono- ou co-exposition chronique par voie racinaire ou foliaire à doses environnementales (une faible et une intermédiaire). Puis, nous étudierons l'impact des contaminations sur :

- Les plantes: croissance, métabolisme, stress oxydant
- Le développement des larves de *S. littor* après ingestion des plantes : reproduction/fécondité des adultes, génération N + 1, biomarqueurs endocriniens
- Les souris adultes mâles et femelles après ingestion des plantes ou des insectes : reproduction/fertilité des adultes, biomarqueurs endocriniens.

Des dosages des PE et métabolites seront réalisés sur les 3 organismes pour évaluer la quantité transférée voire bio-amplifiée dans la chaîne alimentaire. Les résultats sur *S. littoralis* seront modélisés pour prédire les effets populationnels.

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

Les plantes et les animaux qui s'en nourrissent peuvent être contaminés par la présence des PE dans les eaux, sols et boues agricoles. Cet impact est cependant aujourd'hui mal évalué. De plus, ces études sont souvent basées sur des expositions avec un seul PE. Les co-expositions sont rarement abordées. Les forces du projet sont de viser des conditions d'exposition réalistes, d'être intégré et comparatif, en étudiant différents niveaux trophiques, ce qui est crucial pour mieux comprendre l'effet des PE aujourd'hui.

Une autre originalité est de combiner l'expérience acquise indépendamment sur 2 modèles animaux dans un même protocole expérimental pour évaluer le danger des PE sur les vertébrés/Homme et les organismes d'écosystèmes agricoles. L'utilisation d'un ravageur de culture est assez novatrice. Peu d'équipes à l'échelle mondiale ont exploré la question. Ce projet fournira également des informations détaillées et inédites sur l'impact des PE sur les plantes. Cela est peu étudié alors que les PE ou métabolites biotransformés induisent des effets mal compris, et affectent les organismes qui les mangent. Ces phénomènes dépendant

probablement des voies d'exposition et des caractéristiques génétiques des plantes, il est nécessaire de comparer la dynamique entre 2 espèces différentes.

Un autre atout est l'interdisciplinarité et complémentarité des expertises dans les domaines explorés, et la proximité géographique des laboratoires où les expositions d'organismes auront lieu.

Argumentation du choix des questions

Notre projet traitera des questions de l'axe Perturbateurs endocriniens sur la toxicologie des faibles doses (PE3), effets cocktails (PE4), et développement de biomarqueurs / étude d'effets de PE suite à une contamination naturelle (PE5). Les partenaires 1 et 2 ont montré l'intérêt des modèles insectes et souris et de plusieurs biomarqueurs pour analyser les effets de PE, grâce à des ingestions de nourriture reconstituée supplémentée en PE. Ces outils doivent être à présent testés avec des animaux alimentés en conditions plus réalistes.

Notre projet entre également dans l'axe Agents chimiques à ACHIM 1 Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails et ACHIM 2 Quantification des niveaux d'exposition en population générale. Nos données seront utiles pour comprendre la dynamique et les effets des 2 PE en mono- ou co-exposition sur plusieurs niveaux trophiques, et évaluer les dangers pour les organismes s'alimentant de ces plantes. Cela pourrait apporter des informations pertinentes pour la production industrielle d'insectes élevés à l'aide de fruits/légumes invendus ou sur-stockés voire dans le domaine de l'entomophagie.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous réaliserons donc une contamination chronique journalière des plantes par voie racinaire (arrosage du sol) ou pulvérisation aérienne des feuilles. Les PE seront appliqués soit seuls soit en combinaisons et à différentes concentrations.

Les effets des PE sur la plante seront analysés à travers des mesures de croissance (biomasse, ...), productivité (fruits, graines), stress oxydant (MDA, peroxyde d'hydrogène...), activités enzymatiques et photosynthétiques.

Des jeunes larves de *S. lit* seront placées sur les feuilles des plantes pour s'alimenter. Leur développement sera suivi en continu (mortalité, durée des stades, taille...) jusqu'au stade adulte. Les taux d'hormones et expressions de biomarqueurs régulés par les hormones seront analysés ainsi que la fertilité des mâles et des femelles, et le devenir de leurs œufs (génération N+1).

Les plantes ou larves contaminées seront données sous forme de farine aux souris durant 6 semaines avant les analyses du comportement sexuel (préférence de partenaire, vocalisations ultrasonores...) et biomarqueurs endocriniens (tractus (uro)général, axe gonadotrope et niveaux hormonaux...).

DEHP, BPA et leurs métabolites seront analysés par GC-MS dans les différentes parties des plantes, sur insecte entier et urine de souris.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Pierre et Marie Curie, Institut d'écologie et des Sciences environnementales - Paris

Responsable de l'équipe : M. David Siauxsat

Equipe 2 : Sorbonne Université, CNRS UMR 8246/INSERM U1130 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Sakina Mhaouty-Kodja

Equipe 3 : Sorbonne Université, iEES - Paris

Responsable de l'équipe : M. Arnould Savouré

Equipe 4 : Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. David Renault

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 680 € TTC

Résumé PESTINTER - 2020_1_245

Responsable scientifique : M. Martin Laviale

Organisme : Université de Lorraine, Laboratoire LIEC - Metz

1. Titre

Projet complet

36 mois

Evaluation des effets multiples (environnementaux et sociétaux) de la contamination des écosystèmes aquatiques par les PESTicides : le cas d'un site pilote INTERdisciplinaire (la Cleurie, Vosges)

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

SHS 8 - Régimes de production et de validation des savoirs scientifiques et controverses dans la gouvernance des risques sanitaires et environnementaux.

DECH 1 - Expositions aux déchets et effets sur les écosystèmes et la santé en population générale et au travail, quel que soit le milieu d'étude (déchets marins, sol, eau douce...).

3. Résumé

Objectif détaillé

En France, de nombreux cours d'eau présentent des concentrations en pesticides proches des NQE. Mais les indicateurs biologiques actuels ne permettent pas toujours de révéler les effets de ce type de pression complexe avec des effets subtils (pression faible épisodique, récurrente) ou indirects (effets trophiques...). Des indicateurs plus sensibles doivent donc être développés pour statuer sur les effets toxiques potentiels et évaluer leurs conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes.

La contamination observée depuis plusieurs années dans la rivière Cleurie constitue un cadre de travail idéal pour étudier ce type de contamination complexe. En raison d'activités industrielles (textiles), ce petit cours d'eau vosgien de tête de bassin versant forestier présente des concentrations élevées de pesticides (dont glyphosate, AMPA, nonylphénols) mais inférieures aux normes environnementales. Les données disponibles, basées sur les indicateurs classiques (diatomées, invertébrés), indiquent pourtant une relativement bonne qualité de l'eau le long du linéaire. La présence de glyphosate et les modifications fréquentes de la coloration de l'eau (azurants optiques) inquiètent les riverains. Le fait que ces entreprises emploient de nombreuses personnes dans la vallée font de ce site un cas d'étude sensible du point de vue socio-économique.

Ce projet interdisciplinaire vise à évaluer les effets multiples (environnementaux et sociétaux) de la contamination des écosystèmes aquatiques par les pesticides, dans le cadre du site pilote de la Cleurie. Nos objectifs sont d'identifier des indicateurs/marqueurs globaux permettant de caractériser (1) la pression toxique in situ ainsi que (2) ses effets sur des organismes témoins (diatomées) mais également (3) la circulation des savoirs scientifiques produits entre les différents acteurs impliqués localement.

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

La Cleurie est un site atelier idéal pour évaluer les enjeux environnementaux et sociétaux d'une contamination du milieu naturel par les pesticides : un gradient de contamination marqué sur <20km de linéaire, le type de molécules (glyphosate), la mobilisation déjà forte des acteurs locaux.

Les concentrations en glyphosate/AMPA sont exceptionnellement élevées à l'échelle de la France, ce qui en fait un site unique pour étudier in situ l'impact de ces composés sur le milieu aquatique.

L'approche intégrée s'appuiera sur les expertises reconnues et complémentaires d'un consortium interdisciplinaire et international.

Les résultats acquis dans un contexte local pourront être transférés dans un contexte plus global (diagnostic écologique, débat sociétal).

Argumentation du choix des questions

Les principaux composés retrouvés in situ (glyphosate/AMPA/nonylphénols), issus de rejets industriels (blanchisseries), pourraient induire seuls ou en mélange à faible dose des effets écotoxiques sur les organismes

(diatomées) et ainsi modifier les transferts de matière et d'énergie au sein du réseau trophique (ACHIM1/DECH1).

Notre approche interdisciplinaire vise à comprendre comment les savoirs scientifiques produits sont perçus, utilisés et mis en circulation par les acteurs locaux touchés par cette contamination, qu'ils soient citoyens, industriels ou pouvoirs publics (SHS8).

Description des méthodes mises en œuvre

I-Approche in situ (année 1-2) : Tester des marqueurs globaux permettant de réaliser un suivi de la contamination de la Cleurie sur un cycle annuel le long du linéaire. Les objectifs sont de caractériser a-le gradient de contamination (fingerprinting chimique par spectrométrie et captage passif), b-ses effets sur les diatomées (acquisition de tolérance, déformations) et c-les conséquences potentielles sur le fonctionnement écosystémique (indicateurs fonctionnels)

II-Approche de laboratoire (année 2-3) : Réaliser des tests écotoxicologiques (pesticides) à différents niveaux d'intégration biologique (espèces de diatomées, communautés simplifiées) en conditions contrôlées (micro/mésocosmes, expositions prolongées) afin de valider les indicateurs globaux pertinents pour le suivi d'une contamination complexe par les pesticides.

III-Analyse de la communication et des interactions sociétales (année 1 à 3) : Déterminer des marqueurs pour suivre la circulation des informations scientifiques entre acteurs locaux touchés par cette contamination (pouvoirs publics, associations, industriels...). Les objectifs sont de a-constituer un corpus de presse/médias pour analyser la médiatisation de la contamination et b-mobiliser une méthodologie d'enquête qualitative (recueil de discours) en cherchant à interroger l'ensemble des acteurs mobilisés sur leur perception du risque, leur mobilisation et leurs interrogations sur ces informations qui circulent.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Lorraine, Laboratoire LIEC - Metz

Responsable de l'équipe : M. Martin Laviale

Equipe 2 : Inrae, UR MALY - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Chloé Bonnineau

Equipe 3 : Inrae, UR EABX - Cestas

Responsable de l'équipe : Mme Soizic Morin

Equipe 4 : Université du Québec, Département des sciences biologiques – Montréal, Canada

Responsable de l'équipe : M. Philippe Juneau

Equipe 5 : Institut national de la recherche scientifique – Québec, Canada

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Lavoie

Equipe 6 : Université de Lorraine – CREM - Nancy

Responsable de l'équipe : M. François Allard-Huver

Equipe 7 : Université de Lorraine, LOTERR - Metz

Responsable de l'équipe : Mme Claire Delus

Equipe 8 : Anses, LHN - Nancy

Responsable de l'équipe : M. Xavier Dauchy

Equipe 9 : Université de Lorraine, LRGP-CNRS-UL - Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Noëlle Pons

Equipe 10 : Université Clermont Auvergne, LMGE - Aubière

Responsable de l'équipe : M. Alexandre Bec

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 920 € TTC

Résumé PolLumiFem - 2020_1_018

Responsable scientifique : M. Etienne Challet

Organisme : CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, UPR 3212 - Strasbourg

1. Titre

Projet complet

36 mois

Impact d'une pollution lumineuse nocturne sur le métabolisme et la fertilité féminine chez un modèle animal diurne

2. Questions à la recherche

LUMI 1 - Caractérisation des expositions et des impacts de la pollution lumineuse pour la population générale et pour l'environnement.

PE 2 - Étude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de pathologies métaboliques et hormonales, y compris sous l'angle des effets trans- et inter-générationnels.

3. Résumé

Objectif détaillé

Caractériser les effets de la pollution lumineuse nocturne sur la santé métabolique et la fertilité chez un modèle animal d'activité diurne et de sexe féminin. Le choix de ce modèle original répond à la double nécessité d'optimiser le modèle animal étudié pour favoriser les applications en physiopathologie humaine et prendre en compte l'effet sous-estimé du sexe dans les études d'impact des facteurs environnementaux.

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

L'exposition à la lumière artificielle de nuit a des conséquences reconnues sur la santé humaine. Des études épidémiologiques indiquent que l'éclairage nocturne associé au travail posté, une situation socio-économique concernant 15-20% des travailleurs, augmente les risques de diabète et d'obésité, et perturbe la cyclicité menstruelle (Rapport de l'ANSES 2016). A l'heure actuelle, il est encore difficile de dissocier la part de l'impact direct de la lumière de celle indirecte de la désynchronisation du système circadien. Les preuves expérimentales démontrant les mécanismes impliqués dans les effets sanitaires de la pollution lumineuse sont difficiles à établir chez les sujets humains, et nécessitent l'utilisation de modèles animaux pertinents. Le phénotype nocturne des souris et rats de laboratoire est inadapté aux approches biomédicales impliquant les cycles journaliers, notamment rythmes veille-sommeil ou prise alimentaire-jeûne, qui sont inversés par rapport au phénotype diurne des humains. De plus, la majorité des études sur l'impact des perturbations circadiennes est réalisée chez le mâle (en raison des effets complexes des cycles reproducteurs féminins), ignorant ainsi l'effet sexe dans les analyses. Dans ce contexte, nous présentons une approche originale, à plusieurs niveaux, de l'étude des effets de la pollution lumineuse sur la santé métabolique et la fertilité.

1. L'utilisation d'un rongeur diurne, *Arvicanthis*, dont le fonctionnement des horloges circadiennes est similaire aux humains, présente des atouts indéniables et novateurs pour modéliser les effets de la pollution lumineuse sur la santé.

2. Le choix d'un rongeur femelle, chez qui l'activité de reproduction rythmique est potentiellement plus impactée, permet d'évaluer l'effet de la pollution lumineuse sur un modèle féminin, généralement sous-étudié.

3. L'étude comparée de deux protocoles expérimentaux de pollution lumineuse mimant soit le travail de nuit (exposition à de la lumière nocturne 5 jours/7), soit le travail posté (exposition à des rotations d'avance puis de retard de phase du cycle lumière-obscurité conduisant à une désynchronisation circadienne) permet de distinguer les effets directs de la lumière nocturne de ses effets désynchronisants sur les rythmes circadiens.

4. L'utilisation des mêmes animaux pour examiner en parallèle les effets sur le métabolisme et la fertilité contribue à respecter la charte éthique des "3 R".

Argumentation du choix des questions

Ce projet apportera de nouvelles connaissances visant à mieux comprendre les effets délétères de la pollution lumineuse (Catégorie "Agents physiques") sur l'homéostasie métabolique et la fertilité. Le choix d'un modèle diurne permettra la production de résultats rapidement exploitables dans le domaine de la santé humaine. Parce que la majorité des études publiées a été menée chez les individus masculins, notre choix d'un sujet féminin permettra d'évaluer les points critiques et de gérer les risques sanitaires de la pollution lumineuse pour l'ensemble de la population générale.

Description des méthodes mises en œuvre

Mois 1-15: Des Arvicanthis femelles seront placées en 3 situations expérimentales (n= 48/groupe). Groupe 1 «témoin» maintenu en cycle standard de 12 h de lumière (blanc 300 lux) et 12 h d'obscurité; Groupe 2 «travail de nuit» exposé à de la lumière nocturne pendant 6 h en milieu de nuit, 5 jours sur 7 ; Groupe 3 «travail posté» exposé à un décalage chronique de la lumière nocturne par des rotations d'avance (pendant 4 jours) et de retard (pendant 3 j.) de 10 h du cycle lumière-obscurité. Les phénotypes journaliers (activité locomotrice), métaboliques (poids, alimentation, tolérance au glucose) et reproducteurs (cycle estrien et pic préovulatoire de LH) seront évalués longitudinalement sur les individus pendant la durée des expériences.

Mois 16-28: Sur des échantillons post-mortem (6 points/24 h ; n=8/point), les effets des 3 situations expérimentales seront analysés sur des gènes-cibles spécifiques à chaque fonction (par qPCR) et sur des voies cellulaires (stress oxydatif, SIRT1, mTOR) dans les structures hypothalamiques impliquées dans les fonctions circadiennes (noyaux suprachiasmatiques), gonadotropes (aire préoptique) et métaboliques (noyaux arqués), et dans des structures périphériques (hypophyse, foie, ovaires). Les perturbations endocrines du métabolisme et de la reproduction seront quantifiées par l'étude des rythmes plasmatiques d'insuline, leptine, glucocorticoïdes, mélatonine, LH, FSH et estrogènes.

Mois 29-36: Analyses des résultats, écriture des articles et manuscrit de thèse.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, UPR 3212 - Strasbourg
Responsable de l'équipe : M. Etienne Challet

Equipe 2 : CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives - Strasbourg
Responsable de l'équipe : Mme Valerie Simonneaux

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 917 € TTC

Résumé POMÉLO - 2020_1_102

Responsable scientifique : M. Stephane Betoulle

Organisme : Université de Reims, UMR-I 02 SEBIO (INERIS/URCA/ULH) - Reims

1. Titre

Projet complet

36 mois

Plateforme multi-OMiques haut-dÉbit pour l'analyse du stress perturbateur endocrinien chez le poisson.

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

PE 1 - Développement de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action (y compris épigénétiques).

PE 5 - Développement de biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les mesures d'effets perturbateurs endocriniens (PE) chez les poissons reposent sur l'analyse de marqueurs histopathologiques, biochimiques et moléculaires, associée à des protocoles souvent lourds menés en laboratoire ou en milieu naturel. La réalisation technique des échantillonnages multi-tissulaires requis limite les effectifs d'observation rendant délicate la détection des effets. Ainsi, le projet POMÉLO développera chez un poisson modèle en écotoxicologie exposé à un double stress chimique (PE) et infectieux :

- une méthodologie multi-omique basée sur des prélèvements simples de biopsies liquides (BL) sanguines et regroupant des observations moléculaires à haut-débit (modifications épigénétiques, mutations, microbiome et transcriptomique ciblée), quantitatives et qualitatives, des formes circulantes d'ADN libérées dans les BL par l'inflammation induite par les PE (tâche 1).

- des outils bioinformatiques permettant de cibler les données moléculaires signant une réponse pathologique chez le poisson exposé à la combinaison stressante (tâche 2).

- des analyses de biomarqueurs classiques d'effets PE pour validation des marqueurs moléculaires (tâche 3).

POMÉLO fournira des outils sensibles d'évaluation d'effets PE à partir de BL conservées sous forme de dépôts secs sur des supports de conservation des ADN et ARN (Whatman FTA) adaptés à la bancarisation (tâche 4). Cette simplification du prélèvement associée à un accroissement important des données acquises, améliorera la connaissance des effets écotoxiques.

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

Les approches proposées s'inspirent de récents progrès dans l'amélioration des outils diagnostiques et pronostiques en santé humaine. Elles sont basées sur le concept de BL, central dans le domaine biomédical en raison de sa simplicité, sa très grande sensibilité et son caractère peu invasif. À partir d'une goutte de sang, le clinicien obtient des informations pour évaluer l'état de santé du patient, prédire ou confirmer l'apparition d'une maladie, évaluer sa gravité, suivre avec précision l'efficacité d'un traitement. Bien que plusieurs types de molécules circulantes puissent être détectés par BL, son concept repose sur la détection de fragments d'ADN libre circulant (circulating cell free DNA, ccfDNA) dans le sang. La présence des ccfDNA est liée à un relargage passif d'ADN d'un tissu suite à la mort cellulaire inflammatoire par nécrose ou apoptose. Le séquençage de ce « génome circulant » est utilisé pour détecter et quantifier (i) des altérations génomiques (méthylations, mutations) consécutives à des dommages tissulaires (inflammation) et (ii) des acides nucléiques du « non-soi » (microbiomes pathogènes ou commensaux circulants). Ainsi, les BL sont des sources de

biomarqueurs multiples obtenus de façon non-invasive et rapide. Les BL sont par ailleurs conservées sous forme de dépôts secs facilitant la bancarisation à faible coût pour des études rétrospectives. Les données génomiques bancarisées sont mises à disposition de la communauté de recherche sur les PE.

Argumentation du choix des questions

POMÉLO est un projet interdisciplinaire (biologie et médecine) de développement d'une méthodologie multi-omique associant séquençage à haut-débit et bioinformatique pour l'analyse du risque PE chez le poisson (PE1). Il doit permettre des avancées significatives sur le développement de nouveaux biomarqueurs sensibles et prédictifs d'effets PE (PE5). Seront notamment étudiées les manifestations épigénétiques en lien avec les effets inflammatoires associées au PE. Afin d'améliorer les connaissances des effets sur la faune aquatique, d'un pesticide présumé PE et largement utilisé, les poissons seront exposés au tébuconazole à faibles doses environnementales en conditions chroniques (ACHIM1). Cette exposition sera suivie d'un stress infectieux assurant une prise en compte d'effets multi-stress sur les réponses observées. POMÉLO confrontera les résultats acquis par l'approche multi-omique aux réponses inflammatoires observées dans les tissus. Par analyses bioinformatiques, une sélection des biomarqueurs modulées par les stress fournira une boîte à outils ciblée et transposable à l'évaluation d'autres molécules.

Description des méthodes mises en œuvre

Le séquençage du ccf DNA (Génome Québec) de la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) sera réalisé au premier semestre à partir de l'élevage de l'ANSES (année 1 semestre 1). Des truites seront ensuite exposées à du tébuconazole (1/10000 - 1/100 CL50) durant 28 jours puis infectées au virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse (année 1 semestre 1). À partir de BL (sang total, sérum) cinétiquement prélevées de façon non létale, les ADN circulants seront séquencés (NGS), quantifiés (digital droplet PCR, ddPCR) et qualifiés (méthylation, mutations, microbiomes bactérien et viral commensal et pathogène) par programmations bioinformatiques (via Calcul Canada) (tâches 1 & 2 années 1 & 2). Ces analyses définiront les biomarqueurs moléculaires de PE qui seront validés par ddPCR (années 2 & 3). Des examens histopathologiques (gonades, rate, rein, foie) complémentaires seront menés à l'aide de puces tissulaires (Tissue Micro-Array, TMA) et d'analyses transcriptomiques ciblées sur les fonctions gonadotropes et inflammatoires par hybridation in situ (tâche 3 années 1 à 3). Une attention sera portée sur les manifestations inflammatoires pro-apoptotiques signes d'actions PE notamment au niveau gonadique. Les livrables comprendront ainsi des connaissances fondamentales, un panel de biomarqueurs ciblés ainsi qu'une banque de BL, de TMA et de données informatiques pour les partenaires du projet et la communauté scientifique (tâche 4 année 3).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Reims, UMR-I 02 SEBIO (INERIS/URCA/ULH) - Reims

Responsable de l'équipe : M. Stephane Betoulle

Equipe 2 : INRS-Institut Armand-Frappier – Laval, Canada

Responsable de l'équipe : M. Yves St-Pierre

Equipe 3 : Anses, Laboratoire Ploufragan/Plouzané/Niort, Unité PVP - PLOUZANE

Responsable de l'équipe : Mme Morgane Danion

Equipe 4 : Université de Namur, Unité de Recherches en Biologie Environnementale et Evolutive – Namur, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Patrick Kestemont

Equipe 5 : CHU et Université de Reims, UFR de médecine, Laboratoire Parasitologie EA7510 - Reims

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Villena

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 197 817 € TTC

Résumé QAC-BIoM - 2020_1_116

Responsable scientifique : Mme Cécile Vignal

Organisme : INFINITE U1286 Inserm – Université de Lille

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Etude exploratoire préliminaire de l'impact des ammonium quaternaires sur la perméabilité et le microbiote intestinal, conséquences pour les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

3. Résumé

Objectif détaillé

With an increasing number of patients diagnosed during the last decades, Inflammatory Bowel Diseases (IBD) constitute a major health challenge. IBD encompassing Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), is a chronic inflammatory disorder of the intestine, estimated to affect 2.5 million people in Europe (200 000 in France). Although the precise cause of IBD remains unknown, the role of an aberrant immune response against the gut microbiota triggered by environmental chemicals is suspected. Disinfection agents, such as Quaternary ammonium compounds (QACs) including Dialkylammonium chlorides (DACs) and Benzylalkylammonium chlorides (BACs), are commonly used as mixtures in the food and the health sectors. Despite the duration and prevalence of their use in commercial and consumer products, few studies have assessed their toxicity, especially on the digestive tract. QAC-BIoM project aims to investigate whether a low chronic oral exposure to QACs would contribute to gut microbiota dysbiosis or increased intestinal permeability and inflammation, mechanisms implicated in IBD pathophysiology. Human relevance will be ensured by the use of humanized gnotobiotic rats and doses comparable to human exposure.

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

For the first time the interplay between QACs exposure, the gut microbiota and the intestinal barrier will be studied to expand knowledge on the poorly understood IBD onset using a holistic interdisciplinary approach.

Argumentation du choix des questions

Quantification of systemic and intestinal QACs (LC-MSMS) in humanized gnotobiotic rats will enable the tracking of low chronic doses. This exposure will be related to the microbiota disturbances using 16S rDNA sequencing, intestinal permeability and inflammatory response assessed by microarray analysis and immunohistochemistry of gut junctions. These relations will be deciphered using innovative Pharmacokinetics/Pharmacodynamics (PK/PD) modeling.

Description des méthodes mises en œuvre

Our project will be divided into 2 parts, a pilot Pharmacokinetic study to develop a pertinent PK model and a pivotal study to decipher inflammatory and dysbiotic effects of QACs in humanized gnotobiotic rats.

Pilot Pharmacokinetic study (M1-6)

A Pharmacokinetics experiment will be conducted in conventional rats (5 rats/group) daily administered with QACs (DACs [C8-C12] and BACs [C8-C18]) at 3 different oral doses for one week. The 3 doses will be as followed:

- The Acceptable Daily Intake (ADI): 0.1 mg/kg bw/d

- 0.25xADI which represent the theoretical maximum daily intake (TMDI) related to human exposure (calculated by the german BfR)
- and - 10 times the ADI (1 mg/kg bw/d).

Blood and faeces samples will be collected at least thrice a day to assess the sensitivity of the multi-component LC-MSMS method and the dose-linearity of the PK parameters crucial for modelling (rich sampling). Potential accumulation of QACs in gut tissues will be measured at the end of treatment.

Pivotal study: Impact of QACs on the intestinal barrier and microbiota in humanized gnotobiotic rats. (M7-24)

3 groups of rats (6 rats/group) harbouring a healthy human flora will receive a daily QACs administration (by gavage) during 28 days (M7-8):

- Group 1: This group of HFA rats will be exposed to the vehicle without QACs (Control group)
- Groups 2 & 3: these 2 groups of HFA rats will be exposed to QACs at two different doses relevant to human exposure; the Acceptable Daily Intake (ADI) 0.1 mg/kg bw/d and 10 times this dose, 1 mg/kg bw/d.

Sparse sampling of faeces and blood will be performed individually at least twice a week until the end of treatment. At the last collection point, rats will be sacrificed and intestinal tissues will be sampled. Deliverables will be as follow:

- Relations between systemic and faecal PK of QACs will be determined after bioanalyses using LC-MS/MS developed methods (M9-M16)
- Faecal bacterial populations will be characterized and compared in the different groups through 16s rDNA sequencing during exposure each week and at the end of the study. (M9-M18)
- Changes in the host inflammatory response along the digestive tract using microarray analysis followed by qPCR validation (M9-15)
- Modification of the gut wall architecture and permeability using immunohistological investigations (M9-12)
- The relation between QACs' concentrations and the microbiota and/or host response fluctuations will be explored according to an innovative population PK/PD model combining results from the pilot and pivotal studies (M18-M24)

This feasibility project will provide foundation data for future more-in depth investigations concerning the host response to biocides in order to disclose metabolic pathways involved in IBD-biocides interplay. This may include:

- Induced colitis and/or IBD-dysbiotic microbiota
- Metabolomics approach
- Gene-scale analyses of microbiota (shotgun metagenomics)
- PKPD modelling dissecting the gut segments

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Unité Inserm - Université Lille 2, Laboratoires de recherche J et K - Lille

Responsable de l'équipe : Mme Cécile Vignal

Equipe 2 : Anses, LERMVD - Fougères

Responsable de l'équipe : M. Tahar Ait-Ali

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé RADIODEP - 2020_2 RF_012

Responsable scientifique : Mme Anne Pereira De Vasconcelos

Organisme : Université de Strasbourg, Faculté de psychologie - Strasbourg

1. Titre

Projet complet

36 mois

Effet des radiofréquences (5G, 2 fréquences) chez le sujet sain et dépressif: approches comportementale et neurobiologique de l'hypersensibilité électromagnétique (EHS) chez le rat

2. Questions à la recherche

RFES 2.1.7 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur les fonctions cognitives (mémoire, raisonnement, fonctions exécutives, attention) chez l'animal et chez l'Homme : en réalisant des études de provocation chez l'adulte et l'enfant, à différents âges du développement, en situation d'exposition ou non à des radiofréquences, à l'aide d'instruments psychométriques bien étalonnés, de techniques d'imagerie cérébrale et/ou d'enregistrements de l'activité électrique cérébrale (EEG) (y compris potentiels évoqués), en condition basale ou de stimulation (tâches cognitives).

RFES 2.4 - Étude des effets des champs électromagnétiques sur le vivant dans les bandes de fréquences aujourd'hui peu étudiées, notamment au-dessus de 2,5 GHz, associées aux prochains déploiements de la technologie 5G et aux usages émergents concernant les objets communicants.

RFES 3.5 - Recherche de facteurs de vulnérabilité (études comparatives utilisant des populations témoins et des populations présentant des syndromes médicalement inexplicables par exemple).

3. Résumé

Objectif détaillé

Le développement exponentiel des techniques de l'information/communication s'accompagne de l'exposition à de nouveaux signaux radiofréquences (RF) dont les fréquences > 2.5 GHz de la 5G. Celle-ci provoque interrogation, inquiétude, voire angoisse de la population, en particulier des sujets souffrant d'hypersensibilité électromagnétique (EHS). Ceux-ci présentent des plaintes de mémoire, troubles de l'attention et du sommeil, douleurs et/ou symptômes anxio-dépressifs qu'ils attribuent aux RF. La relation de cause à effet entre RF et EHS n'est pas établie, suggérant un effet nocebo (Eltiti et al Front Psychol 2018). La dépression, l'anxiété et un bas niveau de bien-être sont associées à l'EHS. Le projet propose de répondre aux questions suivantes: le sujet dépressif perçoit-il les RF différemment du sujet sain? La dépression: cause ou conséquence de l'EHS? Quelle différence homme-femme, considérant que l'EHS concerne plutôt les femmes? Le projet vise à comprendre l'étiologie et la physiopathologie de l'EHS à l'aide d'un modèle animal.

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

- Une approche unique de l'EHS chez l'animal posant la question du rôle des états affectifs/émotionnels dans la symptomatologie et celle du lien avec les RF.

-Un modèle animal de dépression : le rat de la souche Flinders Sensitive Line (FSL, Overstreet and Wegener, Pharmacol Rev 2013) ayant un phénotype comportemental/physiologique/neurochimique marqué (modèle homologue et isomorphe), répondant aux antidépresseurs (modèle prédictif), et le seul modèle caractérisé dans les deux sexes.

-Une étude chez le mâle et la femelle: l'EHS concerne plutôt les femmes, comme la dépression, l'anxiété et les plaintes somatiques (sex ratio:2/1).

-1ère étude comparative des effets d'un signal RF de fréquence basse (900 MHz) qui pénètre dans l'organisme et un signal de fréquence élevée n'y pénétrant théoriquement pas (26 GHz) ce qui est un point

essentiel à la connaissance des effets comportementaux et neurobiologiques des RF selon leurs propriétés biophysiques.

Argumentation du choix des questions

L'étude des sphères cognitive et affective/émotionnelle et leurs corrélats neurobiologiques en lien avec une exposition aux RF chez le rat, ouvre des perspectives nouvelles sur la compréhension de l'EHS. A ce jour, l'absence de modèle animal est un frein à la compréhension de l'étiologie et physiopathologie de l'EHS. Notre projet apportera des connaissances sur l'impact de l'état mental/affectif dans la survenue et/ou l'aggravation des symptômes chez les sujets EHS et le lien entre exposition aux RF et symptômes. Nous ciblerons 2 signaux de la technologie 5G, une fréquence basse (900 MHz) et une fréquence haute (26 GHz) dont les interactions avec les tissus biologiques sont très différentes.

Description des méthodes mises en œuvre

-Matériels et exposition: Adaptation de la chambre réverbérante au signal 5G, 26 GHz; chambre opérationnelle pour le signal 5G, 900 MHz. Développement d'une dosimétrie adaptée aux ondes mm (Fondation IT'IS).

-Variables catégorielles: 3 types d'exposition (aucune, Sham, RF) pendant 1 mois, 2 fréquences 5G (basse, élevée), 2 souches de rats ('dépressifs', témoins) fournis par le Dr M Döbrösy [Freiburg, Allemagne; Thiele et al, Behav Brain Res, 2016]) et les deux sexes.

-Comportement pendant ou après exposition aux RF: i) cognition: tests ciblant la mémoire à court- & long-terme et la flexibilité cognitive, ii) dépression-anxiété et douleur: tests ciblant l'anhédonie, la motivation, la néophobie, les interactions sociales et l'analgésie/nociception.

-Neurobiologie (plasticité cérébrale): estimations quantitatives de volume, densité neuronale/gliale, arborisation/épines dendritiques dans des structures-clé de la mémoire et des émotions: hippocampe, amygdale et les cortex entorhinal, préfrontal, cingulaire antérieur et insulaire.

-Calendrier: 1ère année: adaptation/calibration de la chambre aux 2 signaux 5G & dosimétrie, exposition des rats mâles et femelles au signal RF 5G 900 MHz et comportement. 2e et 3e années: exposition des rats mâles et femelles au signal RF 5G 26 GHz, comportement et plasticité cérébrale dans les structures d'intérêt.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Strasbourg, Faculté de psychologie - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Anne Pereira De Vasconcelos

Equipe 2 : IT'IS Foundation – Zurich, Suisse

Responsable de l'équipe : M. Myles H. Capstick

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 293 988 € TTC

Résumé RESEDCHrepro - 2020_1_025

Responsable scientifique : Mme Brigitte Boizet-Bonhoure

Organisme : Institut de Génétique Humaine, CNRS UMR9002, Université de Montpellier

1. Titre

Projet complet

24 mois

Impact des résidus d'anti-inflammatoires non stéroïdiens et d'hormones dans les eaux destinées à la consommation humaine sur la fonction de reproduction et la fertilité

2. Questions à la recherche

PE 2 - Étude des modes d'action en vue d'identifier une éventuelle perturbation endocrinienne en rapport avec le développement de pathologies métaboliques et hormonales, y compris sous l'angle des effets trans- et inter-générationnels.

PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une même famille de substances chimiques).

PE 5 - Développement de biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets à des substances perturbatrices endocriniennes avérées ou suspectées.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le but de ce projet RESEDCHrepro est d'évaluer les risques de perturbation de la fonction de reproduction liés à la présence de RESidus médicamenteux dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH)^{1,2}. Ce projet inclura les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), l'ibuprofène (IBU) et son principal métabolite 2-hydroxyibuprofène (2h-IBU) et le diclofénac (DCF), et l'estrogène de synthèse l'éthinylestradiol (EE2) (contraceptifs). Nous évaluerons l'effet cocktail de ces molécules, déjà identifiées comme perturbateurs endocriniens (PE)^{3,4}, sur la formation des organes reproducteurs (testicule/ovaire), du tractus génital (épididyme, prostate/utérus) et la fertilité des animaux exposés et leur descendance. Nous identifierons et validerons des biomarqueurs d'exposition et évaluerons de possibles effets intergénérationnels^{5,6,7}.

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

Chez l'Homme, l'augmentation constante des troubles de la reproduction suggère des causes liées à l'environnement plutôt qu'à la génétique⁸. La présence de résidus de médicaments à des doses faibles dans les EDCH (Anses 2011), suggère une exposition continue et incontrôlée de la population en général⁹. Cette étude inclura l'IBU (ANSES saisine 2013-SA-0081) et le 2h-IBU dont les risques n'ont pas été évalués, et le DCF et l'EE2, nouvelles molécules à risque sélectionnées par la CEE. Les doses maximales n'induisant pas d'effets néfastes (doses N.O.E.L.) ont été identifiées pour ces molécules chez des espèces non mammifères⁹ ; cependant des doses thérapeutiques d'AINS induisent des effets négatifs sur la reproduction chez la souris^{5,6}. Pour la première fois, nous évaluerons chez un mammifère l'effet cocktail de ces molécules à des doses retrouvées dans les EDCH sur l'appareil reproducteur, la fertilité des animaux et leur descendance et sur l'incidence de pathologies de la reproduction. Des biomarqueurs d'exposition seront identifiés et pourront être utilisés pour détecter les effets perturbateurs de ces contaminants sur la qualité des gamètes humains.

Argumentation du choix des questions

Ce projet visera dans le modèle souris à évaluer un effet cocktail de l'exposition subchronique aux molécules IBU, 2h-IBU, DCF et EE2 sur la mise en place de l'appareil reproducteur et la fertilité, à des doses environnementales d'exposition (Q PE2, PE4). Le tractus génital des animaux exposés (F1) et leur descendance F2 sera analysé à la maturité sexuelle (Q PE2). L'expression des gènes et ARNnc (non codants) dans les testicules, ovaires et gamètes F1 et F2 identifiera de potentiels biomarqueurs d'exposition (Q PE2, PE5).

Description des méthodes mises en œuvre

1- Constitution d'une cohorte homogène d'animaux PE free et contrôle de la qualité de l'eau de l'animalerie (mois 1-3). Six femelles gestantes CD-1 (portées de 10-18 bébés) permettront la constitution d'un groupe d'animaux adultes (agrément 34-366 B.B.-B. pour l'expérimentation animale) ; Elevage en cage polyphénylesulfone et aliments sans phytoestrogènes.

- Dosage des AINS, hormones stéroïdiennes et principaux PE (phtalates, pesticides, BPA) dans l'eau de boisson et dans le foie, le sang et les ovaires des femelles en lactation après sevrage des souriceaux.

2- Obtention des animaux F1 exposés et F2 (mois 3-9)

- Animaux F1 : obtenus de 18 accouplements (animaux issus de la partie 1). Répartition en 3 groupes (n=2 expositions+contrôle) de 6 individus. Exposition subchronique des femelles gestantes à partir de l'accouplement jusqu'au sacrifice des animaux au cocktail IBU/2hIBU+DCF+EE2 dans l'eau de boisson; doses administrées : dose 1 (10/40+20+10ng/L); dose 2 : (85/100+100+50ng/L) (doses pour la souris équivalentes aux doses moyennes et maximales retrouvées dans les EDCH et calculées par rapport à l'exposition humaine journalière et à la pharmacocinétique différente homme/souris10).

- Animaux F2: croisement des animaux F1 exposés et contrôles (n=5 groupes de 4 individus).

3- Etude de la fertilité (temps d'accouplement, taille des portées, mortalité in utero) des animaux F1 et F2 à l'âge de 8 semaines et de 6 mois (mois 6-15).

4- Analyse des F1 (mois 6-12) et F2 (mois 9-15) ; femelles et mâles à maturité sexuelle (8 semaines) (n=3 par portée soient n=18 animaux/groupe); analyses histopathologique, cellulaire et moléculaire du tractus génital et gonades; isolement des spermatozoïdes (épididymes) et analyse de la qualité du sperme (coll. E. Sellem, ALLICE) et isolement d'ovocytes matures à partir d'ovaires (n=10 épididymes et ovaires).

- Dosages contrôles des AINS et stéroïdes (gonade, foie et sang des animaux F1 et F2 (n=5 par groupe)) afin d'identifier les doses d'exposition (F1) et les résidus (F2).

5- Identification de biomarqueurs géniques d'exposition (mois 12-24)

- expression des gènes par séquençage de l'ARN (testicules/ovaires F1 et F2: RNA-seq, n=3 par groupe) et des gamètes mâles et femelles F1 et F2 (ARN total, ARNm et ARNnc, n=3 par groupe) (GenomEast platform, Illkirch) et analyse bioinformatique^{5,6,11}.

- validation de ces biomarqueurs (RT-qPCR, immunohistochimie).

- analyse in silico : identification de ces biomarqueurs dans les gamètes humains 12 13 et dans les pathologies humaines de la reproduction et l'infertilité 14.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut de Génétique Humaine, CNRS UMR9002, Université de Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Brigitte Boizet-Bonhoure

Equipe 2 : CEA Saclay, Département Médicament et Technologie pour la Santé, Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse- Gif sur Yvette

Responsable de l'équipe : M. Alain Pruvost

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 200 000 € TTC

Résumé SENTINEL - 2020_1_038

Responsable scientifique : Mme Mélissa Palos Ladeiro

Organisme : Université de Reims, UMR I-02 SEBIO, Stress Environnementaux et BIOSurveillance des milieux aquatiques

1. Titre

Projet complet

36 mois

Surveillance des Norovirus humains et des indicateurs de la contamination virale dans un contexte de santé publique : développement d'une approche d'encagement d'invertébrés couplée à de la modélisation.

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Exposition de la population générale et/ou des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes). Comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

CoEM 2 - Problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les norovirus humains (NoV), pathogènes responsables de maladies sporadiques et d'épidémies, se retrouvent présents dans les milieux aquatiques aux travers des rejets de stations d'épuration constituant ainsi une forte problématique de santé publique. L'évaluation de la qualité microbiologique des masses d'eaux repose actuellement sur des mesures bactériologiques telles qu'*Escherichia coli*, et les coliformes ou entérocoques fécaux ne reflétant pas le danger viral. Or, la présence des NoV dans les écosystèmes aquatiques pourrait être informée par des indicateurs tels que les bactériophages ARN F-spécifiques (FRNAPH) et les coliphages somatiques (SC). Non pathogènes, les différents génotypes de FRNAPH permettent de cibler les sources de contamination alors que les SC montrent une forte persistance et une grande diversité les rendant très pertinents à suivre dans un contexte de diagnostic des masses d'eaux. Cependant, le devenir des NoV et des indicateurs est difficile à prédire car une stratégie de suivi basée sur des prélèvements ponctuels d'eau n'est pas adaptée pour intégrer les fortes variabilités géographiques et temporelles. Pour répondre à ces limites, une approche originale basée sur la biosurveillance active à l'aide des organismes intégrateurs de la contamination s'est avérée pertinente en milieu continental pour détecter des microorganismes problématique de santé publique (i.e. protozoaire).

Le projet SENTINEL se propose de développer cette stratégie pour la surveillance de la contamination virale des masses d'eau, via l'encagement de *Dreissena polymorpha* et de *Gammarus fossarum*. Couplé à des modèles mathématiques, le projet SENTINEL a pour ambition de convertir la teneur en NoV humains et en indicateurs de type FRNAPH et SC mesurés dans des organismes encagés en terme de concentrations dans l'eau afin d'en faire un outil de diagnostic prédictif de la contamination virale des masses d'eau. L'utilisation de ces deux espèces largement réparties au niveau national et européen et pour lesquelles les techniques d'encagements sont validées et disponibles au sein du consortium, permet d'investiguer l'ensemble des masses d'eau (tête de bassin, cours d'eau, canaux, fleuves, réserves et lac).

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

Des résultats préliminaires (issus des partenaires 1 et 2) ont récemment montré la capacité de la dreissène à accumuler les FRNAPH de façon dose dépendante. Le caractère novateur du projet SENTINEL réside i) dans le suivi des NoV dans le diagnostic microbiologique des eaux, ii) dans la proposition d'utiliser des indicateurs pour refléter la contamination en NoV, iii) dans le développement d'une approche de rupture en santé publique via la biosurveillance active des masses d'eaux continentales couplée aux développements en modélisation comme outil de gestion des milieux, à travers la prédiction des contaminations virales des masses d'eau et leur confrontation aux normes existantes.

Argumentation du choix des questions

L'étude des interactions entre les invertébrés et les NoV/indicateurs (FRNAPH et SC) permettra i) d'améliorer les connaissances sur le comportement et la survie des particules virales dans les milieux

aquatiques (ABIO1) et ii) de produire des données originales sur la problématique des risques microbiologiques viraux pour l'Homme à travers une exposition hydrique (CoEm2). L'approche proposée vise à prédire et quantifier les niveaux de contamination de l'eau à travers la mesure des NoV et des indicateurs (FRNAPH et SC) chez des invertébrés encagés.

Description des méthodes mises en œuvre

Afin de développer les modèles mathématiques, les invertébrés seront exposés à un gradient de concentrations en NoV et en indicateurs (FRNAPH et SC) suivi d'une étape de dépuración. Cette première étape vise à décrire l'accumulation et le devenir des pathogènes chez les deux espèces cibles et d'établir un lien entre la concentration dans l'eau et celle dans les tissus. La quantification des NoV et des indicateurs associée à leur caractère infectieux (eau et invertébrés) seront déterminés respectivement par biologie moléculaire (RT-qPCR) et par la méthode des plages de lyse (selon la norme ISO 107051). La modélisation se fera par une approche biodynamique (ou mécaniste, à base d'équations différentielles).

La validation de l'utilisation de ces invertébrés en tant qu'outil de diagnostic du risque viral sera ensuite évaluée in situ à l'aide d'une approche active d'encagement. Les sites seront déterminés grâce à l'expertise du consortium sur un grand nombre de sites déjà étudiés, notamment pour la contamination virale au sein de différents réseaux (Zones Ateliers investiguées par le consortium : Seine, Bassin de la Moselle, Bassin du Rhône).

Le projet SENTINEL sera donc organisé en trois parties :

WP1 : Modélisation des cinétiques d'accumulation et de dépuración des NoV humains et des indicateurs (FRNAPH et SC) en utilisant deux types d'invertébrés spécifiques (dreissène et gammare).

WP2 : Développement d'une méthodologie de surveillance des milieux aquatiques par l'encagement : limite de détection et de quantification (LOD/LOQ), temps d'exposition, sensibilité des mesures en pathogènes dans les organismes.

WP3 : Validation in situ sur le terrain : biosurveillance active sur les sites définis par le consortium.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Reims, UMR I-02 SEBIO, Stress Environnementaux et BIOSurveillance des milieux aquatiques

Responsable de l'équipe : Mme Mélissa Palos Ladeiro

Membres

, Temps/projet : 6,00 mois
, Temps/projet : 8,00 mois
, Temps/projet : 36,00 mois

Equipe 2 : Université de Lorraine, CNRS LCPME (UMR 7564) - Villers-les-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Christophe Gantzer

Membres

, Temps/projet : 2,00 mois
, Temps/projet : 8,00 mois

Equipe 3 : Irstea, Laboratoire d'écotoxicologie - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Arnaud Chaumot

Membres

, Temps/projet : 3,00 mois
, Temps/projet : 3,00 mois
, Temps/projet : 2,00 mois

Equipe 4 : Université Lyon 1, LBBE, UMR CNRS 5558 - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Christelle Lopes

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 197 625 € TTC

Résumé Transplast - 2020_1_124

Responsable scientifique : M. Olivier Fardel

Organisme : IRSET/INSERM U1085, Faculté de pharmacie - Rennes

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Effets des micro-plastiques et nano-plastiques sur l'activité des transporteurs membranaires de xénobiotiques

2. Questions à la recherche

ACHIM 1 - Effets sur les écosystèmes et la santé humaine : notamment effets à faibles doses, effets cocktails.

PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une même famille de substances chimiques).

CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques entre ces différents compartiments ; risques induits pour l'homme et l'environnement.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les particules de micro-plastiques/nano-plastiques constituent une source émergente de contaminants environnementaux, touchant notamment l'atmosphère, les aliments et l'eau. L'homme est largement exposé à ces micro-/nano-plastiques, mais les effets sanitaires et la toxicité de ces composés restent aujourd'hui mal connus. Ces plastiques pourraient exercer une toxicité par eux-mêmes mais aussi via les polluants chimiques qu'ils peuvent relarguer, notamment des agents plastifiants comme les bisphénols ou des polluants adsorbés comme des hydrocarbures aromatiques polycycliques ou des pesticides organochlorés. L'exposition de l'homme aux plastiques concerne en premier lieu les barrières, notamment la barrière intestinale. Ces barrières pourraient donc constituer une cible majeure et directe des micro-/nano-plastiques. Dans ce cadre, les transporteurs membranaires de xénobiotiques, qui sont des éléments importants des barrières, pourraient être impactés, comme récemment suggéré pour les pompes ABC (ATP-binding cassette) d'efflux P-glycoprotéine et MRPs, dont l'activité est altérée par des billes de polystyrène (Wu et al, Chemosphere, 2019, 221, 333-341). L'objectif de notre projet est par conséquent de caractériser les effets de micro-plastiques/nano-plastiques sur le fonctionnement de transporteurs humains de type ABC et aussi SLC (solute carrier), en précisant les conséquences en terme de fonctionnement des barrières intestinale et hépatique et d'interactions potentielles pour l'activité des transporteurs aussi ciblés par des polluants chimiques associés aux micro-plastiques.

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

Les effets des macro-/nano-plastiques sur les cellules humaines restent peu connus, mais les transporteurs membranaires au niveau des barrières, notamment digestives, pourraient constituer des cibles importantes et originales à étudier, car (i) ils sont au contact direct et initial de concentrations potentiellement importantes de micro-/nano-plastiques qui pourraient y exercer leur toxicité par contact avec les barrières, sans nécessairement pénétrer dans l'organisme, (ii) les transporteurs sont déjà connus pour interagir avec certains polluants chimiques adsorbés et/ou relargués par les micro-plastiques et d'éventuels effets cocktail des mélanges plastiques-polluants sur les transporteurs seraient par conséquent à considérer et (iii) le passage des substrats physiologiques de ces transporteurs (hormones, métabolites, nutriments...) pourrait être perturbé, ce qui pourrait ainsi constituer un mécanisme de toxicité des micro-/nano-plastiques.

Argumentation du choix des questions

Notre projet est principalement en lien avec la question 1 du champs « contaminants émergents/milieux et contaminations » et visera à préciser les effets potentiellement délétères des micro-/nano-plastiques sur des cellules humaines. Notre projet en étudiant les effets des cocktails « micro-plastiques/contaminants chimiques » sur les transporteurs sera aussi en lien avec la question 1 du champs « agents chimiques » et la question 4 du champs « perturbateurs endocriniens ».

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet, d'une durée de 24 mois, comprendra 3 principaux work-packages (WP).

Les micro-plastiques et nano-plastiques étudiés seront des billes calibrées et standardisées de polystyrène, provenant de fournisseurs commerciaux. Ils seront utilisées à différentes concentrations, n'altérant pas la viabilité cellulaire.

WP1 (Mois 1 à 10): Evaluation des micro-plastiques et nano-plastiques en exposition aiguë ou chronique sur l'activité de transporteurs ABC (P-glycoprotéine, MRPs, BCRP) et SLC (OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, MATE2-K, PepT1) dans des lignées/clones (HEK293) surexprimant ces transporteurs. Les substrats utilisés seront des sondes fluorescentes ou radiomarquées. Les effets sur des substrats physiologiques (notamment des hormones) seront également analysés. Pour les transporteurs impactés, les paramètres de l'inhibition (IC50) seront caractérisés.

WP2 (Mois 10 à 20): Caractérisation des effets de micro-plastiques et nano-plastiques sur le transport de molécules de référence (dont des substrats physiologiques tels que des hormones ou des acides biliaires, mais aussi des polluants chimiques associés ou adsorbés aux plastiques tels que le bisphénol A) dans des modèles cellulaires intégrées de barrière (Cellules Caco-2 : barrière intestinale ; cellules HepaRG : barrière hépatique). L'expression des transporteurs dans ces modèles sera aussi caractérisée, en l'absence ou en présence de micro-plastiques ou nano-plastiques (exposition aiguë ou chronique), par RT-qPCR et Western-blot.

WP3 (Mois 20 à 24): Effets du mélange de micro-plastiques ou nano-plastiques avec des contaminants chimiques (bisphénol A, tetrabromobisphénol A, pesticides organochlorés...) sur l'activité de transporteurs membranaires ABC ou SLC. Une éventuelle synergie ou une additivité d'effets inhibiteurs seront notamment recherchées.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : IRSET/INSERM U1085, Faculté de pharmacie - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Olivier Fardel

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 49 920 € TTC

Résumé VECTRAP - 2020_1_114

Responsable scientifique : M. Christophe Lagneau

Organisme : EID Méditerranée, Direction Technique - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Applicabilité et durabilité de la stratégie de piégeage de masse en milieu urbain contre *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*, vecteurs des virus de la dengue, du chikungunya et du Zika.

2. Questions à la recherche

LAVE 2 - Lutte anti-vectorielle : nouvelles substances actives et produits biocides, développement de technologies innovantes (lutte biologique, lutte génétique...) sans exclure l'optimisation des méthodes de piégeage et large spectre ; efficacité de la lutte anti vectorielle (indicateurs de type coût efficacité ou bénéfices-risques ; prise en compte des facteurs de pratiques culturelles.

3. Résumé

Objectif détaillé

Démontrer l'acceptabilité en termes d'efficacité biologique, de faisabilité opérationnelle, d'implication sociale, d'impact environnemental et de durabilité d'une nouvelle stratégie de lutte basée sur le piégeage massif contre *Aedes albopictus* (Aal) et *Ae. aegypti* (Aae), vecteurs de dengue, chikungunya et Zika en Métropole et en outremer. Elle repose sur la mobilisation sociale et associe des pièges à femelles gravides et en quête d'hôtes, présélectionnés. Le projet vise à (1) mesurer le coût-bénéfice-risque pour la santé et l'environnement (impact sur la biodiversité, effets sur la diminution de l'usage domestique et antivectorielle des insecticides) dans une approche intégrée ; (2) évaluer la réduction d'abondance de moustiques et l'incidence sur le risque vectoriel ; (3) identifier les facteurs sociaux et cognitifs favorisant l'implication active de la population et l'adoption de la stratégie en s'appuyant sur la participation sociale et (4) la diffuser et la vulgariser auprès des municipalités.

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

La lutte antivectorielle contre les *Aedes* (*Stegomyia*) repose principalement sur l'utilisation de biocides non sélectifs (pyréthrinoides) contre lesquels ces vecteurs ont développé une forte résistance notamment aux Antilles. Ce constat plaide pour le développement de méthodes de lutte alternatives. L'utilisation massive de pièges a fait l'objet de publications récentes. Une étude (USA, Johnson et al. 2018) impliquant la participation citoyenne a ainsi démontré l'efficacité de pièges à femelles gravides pour réduire des populations d'Aal, une autre leur efficacité contre Aae et la transmission du chikungunya (Porto-Rico, Barrera et al. 2019). Dans notre projet, la stratégie de piégeage est menée à la fois par les opérateurs publics (OP), les collectivités locales et les particuliers sur le modèle de la science participative. L'efficacité sera évaluée en termes de nombre de moustiques et de nuisance ressentie sur la base d'études psychométriques (enquêtes par questionnaire sur les pratiques, attitudes et perceptions). L'incidence sur le risque épidémiologique et sur la faune non cible seront estimés. L'atteinte des objectifs passera par le transfert de connaissances entre les partenaires OP et les scientifiques, experts en entomologie, piégeage, analyse des données, modélisation et sciences humaines. La démarche s'inscrit dans un esprit de lutte intégrée (coût-bénéfice santé-environnement).

Argumentation du choix des questions

Les vecteurs Aae et Aal représentent un enjeu de santé publique majeur en outremer et en Métropole. Leur opposer des insecticides est contrarié par leurs effets sur la santé, l'environnement, l'acceptabilité sociale

et la résistance aux insecticides autorisés en faible nombre. La recherche et l'évaluation de nouvelles méthodes complémentaires sans effets environnementaux et sanitaires sont donc prioritaires pour espérer agir sur ces arboviroses. Le recours aux insecticides devant être parcimonieux, la stratégie repose sur la mobilisation sociale pour éliminer les gîtes larvaires intradomiciliaires. A ce jour, aucune méthode accessible au grand public ne permet de réduire significativement l'abondance des moustiques. Cet objectif pourra être atteint en ciblant les larves et adultes de moustiques en combinant plusieurs méthodes incluant la participation citoyenne mais minimisant l'emploi d'insecticides. Le piégeage de masse peut constituer une méthode de lutte digne d'intérêt.

Description des méthodes mises en œuvre

Projet en 5 tâches (T) : T1 (Mois 1-30) Evaluation (labo, semi-field) des pièges les plus efficaces, sélectifs et adaptés aux espèces. Plusieurs types de pièges (BG-Sentinel, BG-GAT, AGO, MMagnet) sont déjà identifiés ; T2 (M5-12,17-24) Réalisation de 2 campagnes (=1,5 mois) de piégeage/an (an 1 et 2) sur domaines public et privé sur 6 blocs (=6 ha, =100 maisons) choisis au hasard sur 1 zone représentative/partenaire (Aae : Martinique; Aal : Occitanie, Rhône-Alpes). Evaluation efficacité et sélectivité (nb adultes, âge, parturité, nb œufs/piège, nb autres espèces), en comparant les 6 blocs traités à 6 blocs témoins sans piégeage sur la même zone. Optimisation et mesures complémentaires adoptées (an 2). (M27-30) Mise en place des pièges sous la responsabilité des particuliers et mesure d'efficacité par piégeage bimensuel sans interférence comportementale. Analyses multivariées des données, modèles linéaires généralisés. Estimation du coût économique, coût-bénéfice efficacité-santé-impact sur l'environnement (biodiversité) et sur le risque épidémiologique (modélisation) ; T3 (M3-12,15-24) Evaluation de l'impact comportemental et perceptif. Information en amont des populations et municipalités. Enquêtes par questionnaire sur perception/nuisance ressentie (3 ans) et changements comportementaux (suppression de gîtes, usage autres méthodes de lutte dont insecticides) ; T4 (M20 à 36) Dissémination (réunions publiques, 2 workshops, 1 colloque final), reproductibilité/transférabilité (création vadémécum, module de formation au piégeage pour municipalités et associations), publications ; T5 Gestion : copil ADEGE (ass° d'OP incluant 3 partenaires) et Vectopole Sud (réseau montpelliérain vecteurs & maladies émergentes). Avis du Conseil scientifique de l'ADEGE.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : EID Méditerranée, Direction Technique - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Christophe Lagneau

Equipe 2 : EIRAD - Chindrieux

Responsable de l'équipe : M. Rémi Foussadier

Equipe 3 : Service Démoustication Conseil Général - Fort-de-France

Responsable de l'équipe : M. Manuel Etienne

Equipe 4 : IRD, UMR IRD224-CNRS5290-UM MIVEGEC - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Simard

Equipe 5 : Ecole des Hautes en Santé Publique, Département SHSCS - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Jocelyn Raude

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 198 786 € TTC

Résumé VITEXPENTE - 2020_1_251

Responsable scientifique : Mme Sonia Grimbuhler

Organisme : Inrae, UMR ITAP - Montpellier

1. Titre

Projet complet

36 mois

Exposition des viticulteurs aux produits phytopharmaceutiques dans les vignes en forte pente

2. Questions à la recherche

ACHIM 3 - Impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, stress...).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif principal du projet est de caractériser l'exposition des opérateurs au fosetyl d'aluminium, au bruit et aux vibrations lors de l'utilisation d'un atomiseur à dos AD, d'un chenillard ou d'un drone de traitement dans les vignes avec des pentes supérieures ou égales à 30%. Les tâches étudiées pour chaque équipement seront les préparations de bouillie PB, les traitements T et le nettoyage du matériel N. Les facteurs techniques, organisationnels et humains qui peuvent exercer une influence sur les expositions, sur les contraintes et les astreintes physiologiques des opérateurs en viticulture en pente seront analysés.

Le projet permettra de formuler des recommandations aux professionnels pour minimiser leurs expositions en fonction des contraintes rencontrées.

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

Suite à l'arrêt des traitements aériens en 2014 (JO 0217 du 190914), chenillards et atomiseurs à dos AD ont remplacé les hélicoptères pour le traitement des vignes à fortes pentes; mais le renversement de machines, la pénibilité de la tâche ont augmenté, et il est difficile de recruter des opérateurs pour réaliser ces tâches.

Baldi et al(2006), Machera et al(2014), Thouvevin et al(2016) ont mesuré les expositions des viticulteurs avec un AD. Ces expositions varient de 2,6 à 99 mk/kg sa (Thouvenin et al). Selon les études, les mains et le torse sont les parties du corps les plus exposées. Par contre pour les 2 autres techniques, ils n'existent pas de données.

Dans le cadre de la loi Egalim, une expérimentation de traitement par drone est autorisée jusqu'à fin octobre 2021. Depuis 10 ans, cette technique se développe, des essais de dérive et d'efficacité sont menés (Pulvedrone 2018; Dubuis et al 2018), mais il n'existe pas de données d'exposition des opérateurs lors des différentes phases de PB, T, N; et d'analyse de l'activité des opérateurs.

Il apparaît ainsi nécessaire de mieux caractériser l'exposition aux fosetyl Al, aux bruits, aux vibrations en tenant compte de l'activité des opérateurs, des contraintes physiologiques et physiques de l'utilisation de ces 3 techniques de pulvérisation. L'originalité du projet est de mesurer l'exposition des opérateurs à l'aide d'une technique de pulvérisation, avec une démarche globale sur les aspects Santé Travail

Argumentation du choix des questions

Le projet rentre dans le cadre de la question ACHIM3

Le projet présent est le premier à s'intéresser à ces différentes expositions conjointe en viticulture, en fonction de ces 3 équipements qui remplacent le traitement aérien. Pour répondre aux objectifs, des méthodes d'expologie sont associées à celles d'ergonomie.

Les résultats issus de ce projet pourraient à terme aider à améliorer les conseils de prévention primaire vis à vis du risque associé à ces agents chimiques en milieu de travail mais également à une multi-exposition bruit, vibrations, pesticides pour les opérateurs viticoles.

Description des méthodes mises en œuvre

La population d'étude recrutée sera de 30 viticulteurs (localisation Banyuls Beaujolais Ardèche) utilisateurs de Fosetyl AI avec un AD ou un chenillard, dont l'exploitation est certifiée HVE avec des parcelles dont les pentes sont sup ou=30%.

M0-M3: Recrutement des viticulteurs

Mesures. Seront mesurées sur une demi-journée de travail réel :

- l'exposition au bruit au niveau des oreilles de l'opérateur, aux vibrations liées à la machine
- l'exposition cutanée au fosetyl-AI anti-mildiou de la vigne sélectionné avec les référents viticoles Ecophyto et le laboratoire. L'exposition cutanée potentielle et réelle sera mesurée lors des différentes phases de PB, T et N. Une analyse comparative des expositions en fonction des parties du corps, des phases et des machines sera effectuée.

M4-M9 Essais avec le Drone. Lors des PB l'exposition 10 viticulteurs préparant la bouillie sera mesurée et lors des T et du N ce sera celles du pilote du drone (n=10)

M4-M9 et M15-M21 Essais avec chenillard (n=10) et AD (n=10). Un opérateur pour toutes les tâches

En parallèle, lors de chaque essai une analyse de l'activité sera réalisée. Les observations seront filmées. La température cutanée, les pertes par sudation seront mesurées, ainsi que les paramètres environnementaux. La fréquence cardiaque des opérateurs sera mesurée dans le but d'évaluer l'effort physique déployé pendant l'activité. La grille de Meunier sera utilisée pour l'analyse de la pénibilité de la tâche. La distance parcourue, la vitesse de déplacement seront calculés.

M10-M14 et M22-M33 Les données obtenues seront croisées avec les mesures d'exposition. Analyse statistique. Les recommandations seront construites après les entretiens et l'auto-confrontation avec les opérateurs.

M10-M33: L'analyse des itinéraires techniques sur les 2 saisons observées permettra de réaliser une analyse objective des 3 systèmes de pulvérisateurs. Quelles solutions sont acceptables par les viticulteurs échantillonnés en fonction de : durée, nombre de PB, T, N, volume pulvérisé, durée du déplacement aux parcelles, des aspects économiques techniques et organisationnels.

M34-36 : restitution et rédaction du rapport

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INRAE, UMR ITAP - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Jean-Paul Douzals

Equipe 2 : Phytocontrol, EA 7352 CHROME - Nîmes

Responsable de l'équipe : M. Eric Capodanno

Equipe 3 : MSA, Service Santé Sécurité au Travail - Albi

Responsable de l'équipe : M. Marc Delanoë

5. Budget

Subvention demandée (€ TTC) : 199 264 € TTC