

Appel à projets de recherche "environnement-santé-travail" 2023

Résumés des dossiers déposés

Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 45 dossiers soumis aux appels à projets 2023 **et retenus pour financement** par le comité d'orientation à l'issu du processus de sélection

SOMMAIRE

Résumé 5G RETINASKIN - 2023_RF_009	4
Résumé 5G-S-CARE - 2023_RF_010	7
Résumé μ PLASTAIR - 2023_EST_102	10
Résumé Ah'airBtoC - 2023_EST_121.....	13
Résumé ALPHA - 2023_EST_042.....	16
Résumé Antibio-Inv - 2023_EST_008.....	19
Résumé B-CubePUF - 2023_EST_166.....	22
Résumé BIOMATICK - 2023_EST_019.....	25
Résumé BIP - 2023_EST_047	28
Résumé CARDIAPOLIS - 2023_EST_126	31
Résumé ChemVax - 2023_EST_136	34
Résumé CHILD_5G - 2023_RF_007	37
Résumé CIBOULO - 2023_EST_118	40
Résumé CLEAR-ISU - 2023_RF_002	43
Résumé COMBO - 2023_EST_033.....	46
Résumé CRESPI-SCOP - 2023_EST_046	49
Résumé CRYONOV - 2023_EST_104.....	52
Résumé DETECTOR - 2023_EST_077.....	55
Résumé ECEPCO - 2023_RF_020.....	58
Résumé ECO-DETOX - 2023_EST_021	61
Résumé EMOTIONAL - 2023_EST_150	64
Résumé Envi-dep - 2023_EST_127	67
Résumé EXAMEN - 2023_EST_145.....	70
Résumé EXPEND-RA - 2023_EST_085	74
Résumé EXPO-5G - 2023_RF_003	77
Résumé HEALTHSEA - 2023_EST_030	80
Résumé HepaPECAN - 2023_EST_117	83
Résumé IPIAMA - 2023_EST_133	86
Résumé METRONOME - 2023_EST_163	89
Résumé MOA-ID - 2023_EST_098.....	92
Résumé NanoPlastX - 2023_EST_043.....	95
Résumé NEOMIX - 2023_EST_073.....	98

Résumé OZONO-TOX - 2023_EST_040.....	101
Résumé PANAMA - 2023_EST_177.....	104
Résumé PESTIFOL - 2023_EST_071.....	107
Résumé PESTIMIN - 2023_EST_174.....	110
Résumé PICT-HYPHO - 2023_EST_122	114
Résumé ProtAqua - 2023_EST_061.....	117
Résumé RICOTTA - 2023_EST_169.....	120
Résumé SOLU-SI - 2023_EST_087	123
Résumé TOPEEC - 2023_EST_079.....	126
Résumé TOX-MIX - 2023_EST_116.....	129
Résumé UPEX-Paris - 2023_EST_123	132
Résumé VENDETTA - 2023_EST_108.....	135
Résumé WORK4HEALTH - 2023_EST_041.....	138

Evaluation in vitro de l'impact des ondes RF dont 5G sur modèles biologiques de peau et rétine

Mme Katia Grenier
CNRS LAAS UPR 8001 - Toulouse

Projet complet - 30 mois
Budget : 299 936 € TTC

Objectif détaillé

This interdisciplinary project is in the line with the in vitro study of cellular responses to exposure to radiofrequency (RF). The objective is to evaluate an effect of radiofrequency waves on cellular and tissue models of the skin and retina, more precisely at ranges of frequencies and powers comparable to the exposures encountered at the general public level or in a more strongly impacted professional environment, at usual communications frequencies, including low 5G. For this, the project relies on a dual metrology and associated protocol, which combines a calibrated RF exposure system operating with standard cell culture well plates and toxicity analyzes by the loss of cellular homeostasis.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Studies including several frequencies of mobile telephony including the low 5G frequency at 3.5 GHz are very limited. The originality of our approach is based on (1) the comparison of the results with GSM, 4G and the low 5G frequencies, (2) the use of cellular and tissue biological models from the skin and the retina, in healthy and UV-sensitized conditions, (3) the integration of computational simulations of cells and microstructure tissues for the understanding of RF waves and matter interaction, and (4) the synergy of the skills and tools required to conduct such a study, with a near-field and calibrated RF exposure system allowing the illumination of multiple samples cells and tissues, associated with a rapid cell toxicity analysis by loss of homeostasis. This project therefore aims to establish a screening of configurations according to different RF scenarios and biological models: keratinocyte cell lines, human skin and retina cells derived from stem cells (hiPSCs), human skin tissue models. The GSM and 4G frequency exposure system and the cell toxicity analysis technique by loss of cellular homeostasis are mastered by the partners and compatible with 24 and 96 well plates for exposure times of 24 and 48 hours. Computational simulations to deep the understanding of experimental results are well mastered by the Italian partner.

Questions de recherche

RFES 4.1 - Recherches sur les protocoles de mesure de l'exposition dans les bandes 3,5 GHz et 26 GHz notamment, pour les technologies associées (5G, antennes actives, petites cellules, etc...), et en situation d'usages réalistes.

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

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

The impact of RF waves on living organisms, including within the limits of use of ICNIRP and now with the deployment of 5G installations, is not yet clearly elucidated. Studies of effects at 5G frequencies (low and high) are also lacking in the literature.

To establish whether deleterious effects exist, in vitro studies of RF toxicity associated with an analysis of loss of homeostasis on various biological models (2D culture cells and 3D organotypic skin models) are planned. We will assay RF applications on two different cell conditions: normal healthy vs UV-sensitized cells in order to evaluate if adverse cell conditions such as oxidative stress can modulate RF effects, if any. We also aim to study several frequencies of interest, 868 MHz (connected objects), 2.45 GHz (wifi) and 3.5 GHz (low 5G band) for different exposure levels (2, 4 and 10W/kg) for 24 and 48 hours and to assess whether the interaction mechanisms differ according to the frequency by simulation.

Description des méthodes mises en œuvre

The RF exposure system already exists and includes a platform of RF applicators consisting of a network of radiating elements allowing simultaneous and calibrated illumination of several wells of the same standard culture plate, while integrating the biological positives and negatives controls. This patented system (used in DGA RAPID and ANSES programs) is placed in an incubator for long-term exposures (24 and 48 hours) and powered by a generator delivering mastered power levels (ramp) or modulation (CW, pulsed or other) at the desired frequencies (868MHz, 2.45GHz and 3.5GHz).

The biological tests will be carried out by AOP with its LUCS fluorescence technology, a test on living cells which measures the state of homeostasis or alteration (toxicity), developed and validated on the various 2D and 3D skin models envisaged for this study. This technology is also not limited in terms of cell models and has been optimized for high throughput on 96-well plates. The LUCS test has already been used on ANR, DGA RAPID and ANSES (PNA, Nanowave) programs. AOP will also provide a UVA application system (365 nm) dedicated to 96-well plates and operational for co-application with RF.

The tests will be done on two cellular models derived from 2 potential RF target tissues: the skin and the retina. On the skin side, the study will advantageously explore 2D and 3D models already optimized by partners: (1) HaCaT-type keratinocyte lines, fibroblasts, (2) human cells derived from human stem cells pluripotent cells (hiPSC) reprogrammed and then differentiated into skin phenotype, (3) human, dermal and dermo-epidermal skin models. On the retinal side, the project will benefit from RPE cellular models differentiated from the same hiPSC type stem cells.

WP1 (M0-3) Development of cutaneous and retinal models derived from stem cells. M0-6. Development of dermal and dermo-epidermal organotypic tissue models. M3-9. Standardization of the LUCS protocol on the various models developed; positive and negative controls.

WP2 (M0-6) Upgrade of the RF exposure system to 3.5 GHz 5G modulation (software purchase) and dosimetry.

WP3 (M6-30) Toxicity of RF waves (at 868 MHz, 2.45 GHz and 3.5 GHz; at 2, 4 and 10W/kg; 24 and 48 hours, in an incubator) on the different cells, tissue models, and cell conditions (healthy vs UV-sensitized). The RF calibration (Specific Absorption Rate) will be systematically checked for each frequency.

WP4 (M0-30) Microdosimetry modeling of the cells and the microstructure 3D tissues. Models will be setup from microscopy images and simulations runned to reproduce the experimental conditions for a deeper understanding of mechanisms.

Partenariat

LAAS-CNRS MH2F - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Katia Grenier

Anti Oxidant Power - AOP – Toulouse

Responsable de l'équipe : M. Christophe Furger

Sapienza, University of Rome - BioEMLab group – Rome

Responsable de l'équipe : Mme Micaela Liberti

Résumé 5G-S-CARE - 2023_RF_010

5G-26 GHz Radiofréquences et nanoparticules dérivées des produits de soin corporel et cosmétiques : évaluation des effets structuraux et fonctionnels sur la cellule après co-exposition aiguë et chronique

Mme Jelena Kolosnjaj-Tabi

IPBS Equipe de biophysique cellulaire - Toulouse

Projet complet - 36 mois

Budget : 220 480 € TTC

Objectif détaillé

The aim of 5G-S-CARE is to assess potential health risks upon exposure to 5G radiofrequency electromagnetic fields (5G-EMF) in the 26 GHz band alone and in combination with personal care/cosmetic products-derived nanoparticles (PCC-NPs). With the 5G rollout, questions are being raised concerning exposure, interaction, and possible health effects on living entities at specific 5G generated electromagnetic waves. 5G will use new frequency bands such as the upcoming 26 GHz band. As the frequency increases, the penetration of electromagnetic waves in tissues and organs decreases. 5G higher bands waves will penetrate within a few millimeters of a tissue. As a consequence of the weaker penetration, studies of effects and potential risks will be more focused on human skin, eyes or nerves terminations.

In parallel, nanoparticles are nowadays ubiquitous in different kinds of personal care products, such as deodorants, creams, sunscreens, which are frequently applied to the skin. The skin of adults and children is thus regularly supplemented with inorganic nanoparticles and acts as a reservoir of PCC-NPs, which could locally exacerbate biological effects of EMFs. **PCC-NPs are composed of metals (Ag, Au, Ti, Fe, ...) and metal oxides, and could theoretically act as local conductors or electric field amplifiers (Lekner, 2014).** As also confirmed in experimental settings, pulsed electromagnetic fields (Miklavcic et al., 2020, Ghorbel et al. 2019) potentiate the cell-membrane permeabilizing effect of gold NPs. In addition to the possible local enhancement of near field induced by exposure to 5G-EMF in the vicinity of nanoparticles, PCC-NPs may induce oxidative stress, trigger redox reactions, and cause premature aging or other potentially harmful biological effects, which have not yet been studied.

The objectives of this project are to: 1) Characterize ultrastructural modifications of cells/micro-tissues following 5G-EMF/PCC-NPs co-exposure with different microscopy techniques, and 2) Assess biological effects of 5G co-exposure by specific functional biochemical tests.

The effects of the co-exposure will be studied on healthy dermal fibroblasts/keratinocytes and cells involved in dermal cancer (melanocytes involved in melanoma formation). Using already mastered models, such as multicellular spheroids,

engineered cell sheets and reconstructed skin, we will evaluate the 5G-EMF/PCCNPs effects on cells and their intimate surrounding, the collagen rich extracellular matrix. Physical effects (heating, EMF induced enhancement of near field resulting in increased cell membrane permeabilization) and chemical effects (redox reactions) may be locally increased by PCC-NPs. This can lead to cell permeabilization/cell damage and matrix remodeling, resulting in diminished protective role of the skin. Potential effects will be studied upon short and long term (up to 6 weeks) co-exposure, in a single and multiple 5G-EMF exposure setting.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

The originality/innovation is multiple as: 1) we will expose cells to innovative designs of 5G-26 GHz exposure systems, which will allow new experimental investigations; 2) we will use organoids (spheroids and reconstructed skin models) mimicking human skin, which can be cultured over long periods (several weeks) and allow the longitudinal study of cells and the extracellular space. Cells exposed to stressors can secrete molecular signals and cellular constituents, such as cellular microvesicles, mitochondria and other organelles' debris. The microscopy follow-up studies on 3D-grown organoids will allow us to discern the character and the exact pericellular location of biologic/supramolecular structures (e.g. organelles' debris; extracellular matrices, such as collagen, which is secreted by fibroblasts, particularly during or after stress). We demonstrated that narrowband and moderate-band EMF do not alter cell proliferation, cell membrane integrity, viability, and ATP content (Gibot et al. 2019). Nevertheless, our recent unpublished results (obtained in Project-ANR-15-ASTR0017) indicate that cellular morphology can be altered after application of EMF signals. Observed ultrastructural modifications concern the cell (occurrence of micronuclei) and cellular environment (amplified secretion of extracellular matrix). These findings indicate that our current models are sensitive to EMF, and that morphological alterations do occur and may potentially alter biological processes. 3) The effects of 5G-EMF might be locally enhanced by PCC-NPs. To date and to our knowledge, no studies were published assessing local EMF enhancement by PCC-NPs derived from personal care/cosmetic products.

Questions de recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action de l'exposition (aiguë et chronique) du vivant aux radiofréquences, aux niveaux moléculaire et cellulaire, en tenant compte des évolutions d'utilisation de fréquences liées aux nouveaux usages et nouvelles technologies de communication. Les études s'intéressant aux bandes de fréquences nouvellement identifiées (pour la 5G par exemple) et encore peu étudiées (3,5 GHz, 26 GHz et au-delà, notamment) sont prioritaires.

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

RFES 1.1 and 2.3 We are regularly exposed to PCC-NPs in our personal care routine. The co-exposure 5G-26 GHz EMF/PCC-NPs thus represents a highly relevant exposure scenario for the population. PCC-NPs may act as EMF signal enhancers, and could physically and chemically act on cells, by permeabilizing cell membranes, modifying their structure and altering biological functions. This co-exposure study, conducted on skin-derived organoid models, will help investigate to which degree co-exposures of EMFs and PCC-NPs induce cellular effects.

Description des méthodes mises en œuvre

This project will be carried out thanks to a highly complementary consortium composed of two multidisciplinary partners: IPBS-CNRS expert in biology, skin models, nanoparticles and XLIM-CNRS expert in 5G EMF exposure systems, dosimetry.

0-9 month (M): Development of the 5G-26 GHz EMF exposure system for cell spheroids/engineered cell sheets/reconstructed skin (96- well plates), allowing multiple and long-lasting exposures in cell incubators; isolation and characterization of PCC-NPs (electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy)

9-27M: Exposure to individual and combined 5G-26 GHz-EMF and NPs. The effects of NPs isolated from beauty products will be compared to effects induced by commercially available standardized metallic and semiconducting nanoparticles. Exposure protocols will involve 5G-EMF; PCC-NPs; synthetic calibrated commercially available nanoparticles (SyNPs), 5G-EMF and PCC-NPs; 5G-EMF and SyNPs

9-36M: Assessment of morphological and biological effects (on cells: viability, growth, membrane integrity, lipid peroxidation, transmembrane potential, ATP content, genotoxicity; on the matrix: morphology alteration assessment by electron and second harmonic generation microscopy); comparison of the outcome in normal and cancerous cells over time.

Partenariat

IPBS-CNRS - CelPhy – Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Jelena Kolosnjaj-Tabi

XLIM - BioEm – Limoges

Responsable de l'équipe : Mme Delia Arnaud-Cormos

Analyse des microplastiques dans l'air en temps réel

Mme Rachel Gemayel

Institut national de l'environnement industriel - Verneuil-en-Halatte

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 997 € TTC

Objectif détaillé

La production mondiale annuelle de plastique a atteint 348 Mt en 2018. Cette production est supposée quadrupler pour parvenir à 1,2 Gt d'ici 2050 induisant une présence dans l'environnement accrue notamment sous forme de micro(μ) et nano-plastiques. Ceux-ci peuvent nuire gravement à l'écosystème et à la santé humaine en raison de leur grande mobilité, de leur persistance et de leur facilité d'absorption par les organismes. Différentes études ont fait état de l'observation de μ plastiques en air ambiant en zone urbaine mais aussi dans des zones éloignées de tout activité humaine montrant qu'ils peuvent être transportés sur de longues distances. Les μ plastiques en suspension dans l'air peuvent être inhalés induisant des effets toxiques. Ils peuvent aussi accumuler des contaminants biologiques et chimiques à leur surface augmentant d'autant plus leur potentiel toxique. De plus, les dépôts atmosphériques seraient une des principales contributions des μ plastiques dans les sols. La métrologie des μ et nano-plastiques atmosphériques reste peu développée et aucune méthode d'analyse ne permet leur mesure en temps réel sur une large gamme de taille. L'objectif de cette étude de faisabilité est de développer une méthode de mesure et caractérisation en temps réel des μ plastiques dans l'air ambiant par thermodésorption couplée à la spectrométrie de masse avec ionisation par transfert de proton (TD-PTR-MS).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les méthodologies de caractérisation des μ plastiques dans l'air couramment utilisées sont basées sur une collecte d'échantillon passive (déposition) ou active qui sont ensuite analysés en laboratoire afin d'étudier leurs propriétés physiques et/ou chimiques. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est la méthode la plus utilisée suivie par la spectroscopie Raman. Ces deux méthodes sont couplées à des microscopes (μ FTIR ou μ Raman) afin d'obtenir des informations sur la taille des μ plastiques (la taille minimale détectée est de 10 et 1 μ m respectivement). La pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse (Pyr-GC/MS) permet d'analyser différents polymères (mais pas tous) mais n'apporte pas d'information sur leur taille. Elle a l'avantage de nécessiter peu de traitement d'échantillon. Récemment, la méthode TD-PTR-MS a été utilisée pour analyser les μ et nano-plastiques présents dans les échantillons de glace ou de neige avec une sensibilité 100 fois plus importante que toute autre méthode et une limite de détection de l'ordre du ng par échantillon. L'originalité et le caractère novateur de notre étude de faisabilité réside dans le développement et l'application de l'analyse par TD-PTR-MS des μ plastiques dans l'air. L'utilisation du système VIA (Vocus inlet for aerosols) permettra

l'introduction et la thermodésorption des particules incluant les μ plastiques pour une analyse en temps réel par PTR-MS, évitant les étapes de collection et d'extraction d'échantillon. Cette méthode en temps réel, couvrant une large gamme de taille de μ plastiques (20 nm – 2 μ m) permettra d'obtenir une sensibilité suffisante pour leur analyse en air ambiant ou intérieur, et d'obtenir des empreintes chimiques caractéristiques afin de distinguer leur nature. Cette méthodologie constituera une grande avancée afin d'étudier ultérieurement l'occurrence et sources des μ plastiques dans l'air et l'exposition par inhalation à ces polluants.

Questions de recherche

CoEm 1 - Cas des plastiques (macro, micro, nano) : composition et métrologie des micro/nano-plastiques dans les compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des plastiques; biodégradabilité ; sources et voies d'exposition ; méthodes de détection et des mesures de l'accumulation dans les tissus humains ; risques induits pour l'Homme et l'environnement.

Cette étude de faisabilité s'inscrit en réponse à la question à la recherche sur les risques émergents CoEm 1. Ce travail s'inscrit dans un cadre de caractérisation et métrologie des μ /nano-plastiques dans l'air ambiant. Il permettra de disposer d'une méthode d'analyse en temps réel des μ plastiques atmosphériques facilitant l'évaluation des niveaux d'exposition par inhalation aussi bien pour la population générale que pour les travailleurs. A terme, la méthodologie permettra, une fois mis en œuvre sur le terrain, de distinguer la nature et déterminer les sources de μ plastiques en se basant sur leurs empreintes chimiques et en analysant les données de mesure temps réel au moyen de modèles statistiques de type source-récepteur.

Description des méthodes mises en œuvre

Le semestre 1 se concentrera sur la génération contrôlée de particules de différents types de matières plastiques afin d'optimiser la méthode d'analyse par TD-PTR-MS. Les μ plastiques générés seront caractérisés par INERIS en utilisant la microscopie électronique à transmission (MET) pour évaluer les tailles et formes produites afin de se rapprocher aux mieux des propriétés physiques des μ plastiques présents dans l'air. Lors des semestres 1 et 2, le développement de la méthode d'analyse par TD-PTR-MS sera coordonné par INERIS. L'optimisation des paramètres d'ionisation (différents ions réactifs possibles : H_3O^+ , NO^+ , O_2^+ , NH_4^+) pour la détection de différents polymères sera réalisée. En parallèle, les deux équipes optimiseront les paramètres de thermodésorption du VIA et évalueront l'efficacité de transmission et analyse des μ plastiques pour une large gamme de taille. Au-delà de la détection de chaque type μ plastique de façon séparée, l'enjeu sera de distinguer différents polymères (e.g. PET, HDPE, LDPE) une fois présents dans l'air. Le développement d'un traitement statistique par analyse en composantes indépendantes (ACI) permettant d'isoler chaque polymère à partir de son empreinte chimique sera nécessaire. Une évaluation de la méthode sur des échantillons réels collectés par LAU (Lebanese American University, Dr. N. Hayeck, prestation) dans différents environnements (air intérieur/extérieur) sera ensuite réalisée aux cours des semestres 3 et 4. Ce travail, effectué à partir d'échantillons de particules collectés sur filtres (la présence de μ plastiques sur les filtres sera confirmée par

des analyses FTIR), sera une étape essentielle avant application pour la mesure en temps réel des μ plastiques dans l'air. L'analyse des μ plastiques présents sur filtre nécessitera une oxydation préalable (H_2O_2) des matières organiques qui peuvent interférer avec les signaux des μ plastiques. L'optimisation des étapes de préparation de l'échantillon sera importante afin de l'inclure dans la méthode finale pour permettre la mesure en temps réel. Les μ plastiques collectées sur les filtres seront régénérées de façon similaire à l'approche utilisée pour le développement de méthode, et analysées par TD-PTR-MS. La méthodologie d'analyse développée sera enfin testée pour la détection des μ plastiques dans l'air ambiant/intérieur à INERIS sur 10 jours.

Partenariat

Ineris - ANAE - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : Mme Rachel Gemayel

Impact de la pollution atmosphérique sur les trajectoires pathogéniques de la DBP à la BPCO, une origine précoce AhR-dépendante ?

Mme Audrey Der Vartanian
UPEC IMRB U955 INSERM - Créteil

Projet complet - 36 mois
Budget : **199 656 € TTC**

Objectif détaillé

The main objective of our research program is to explore how prenatal air pollution stresses interact with the molecular networks driving bronchopulmonary dysplasia (BPD) to chronic obstructive pulmonary disease (COPD) predisposition. Following prenatal air pollution exposure, we will combine transversal skills and collaborations in order to:

Aim 1: Determine the role of xenobiotic signaling mediated by aryl hydrocarbon receptor (AhR) in alveologenesi.

Aim 2: Define, at molecular level, the trajectories from BPD to COPD.

Aim 3: Identify robust predictive biomarkers from BPD to COPD and revisit their susceptibility factors.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung disease of premature neonates born with predominantly disrupted alveolar lung development mainly due to mechanical oxygenation. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by a non-reversible airflow limitation due to alveolar abnormalities. No curative treatment is yet available for these two diseases. COPD is currently the third leading cause of death in the world in 2019 and is often diagnosed after 50 years old with a higher risk for smokers. However, without any possible association with active long-term smoking, diagnosis of early COPD in children and adolescents has increased in recent years. Importantly, a diagnosis of BPD will predispose later to COPD suggesting an early origin also for COPD. At the cellular level, alveolar stem cells and their niche are impaired in both BPD and COPD leading to an imbalance between tissue aggression and repair. Other common aspects concern oxygenation defect, chronic inflammation, pro-oxidative status and perturbed microvasculature in alveoli. Prenatal exposure to air pollution appears to be an early determinant of both BPD and COPD, but no study so far has demonstrated any correlation between the progression of COPD in children and air quality deterioration. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) is the canonical pathway that regulates the detoxification of pollutants. However, AhR is ubiquitously expressed and evolutionarily conserved, suggesting distinct other physiological roles. AhR is involved in, oxygenation, antioxidant,

immune and ECM remodelling response through a crosstalk with HIFs, Nfe2l2, NF-kB and TGF- β pathways respectively. Although the highest levels of AhR mRNA in human are detected in the placenta and lung, no study has identified AhR as a modulator of BPD and COPD trajectories yet.

AhR pathway could be involved in alveologenesis program and interfere with lung response to prenatal air pollution, which might impair lung function trajectory in return. Altogether, we hypothesise that targeting AhR signaling appears to be promising to highlight both biomarkers and therapeutic new avenue. To test this hypothesis, the project will propose for the first time an integrated study aimed to decipher the antenatal air pollution effects on the trajectories of BPD to COPD combining both experimental (Innovative hypothesis targeting AhR pathway, triple transgenic mice models, exposure to multiphasic and realistic air pollution) and clinical (local patient cohorts) multi-OMICS approaches.

Questions de recherche

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

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

AIR 2 - Liens entre pollution de l'air et effets sanitaires : recherche sur de nouveaux outils (bases de données sur la qualité de l'air par exemple, systèmes capteurs, modélisation, biomonitoring...) visant à améliorer l'étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques.

ACHIM2: The project will experimentally assess the impact of well-characterized air pollution on human populations suffering from rare lung diseases and therefore more vulnerable than the general population.

AIR2: The trajectories of BPD to COPD will be modeled using machine learning on Python environment and will be linked to air pollution severity (Paris-like versus Beijing-like).

CANC1: More than 30% of COPD patients will develop lung cancers later on. Thus, identifying new AhR-related biomarkers impacting BPD and COPD trajectories could be essential to the understanding of cancer risk linked to environmental exposures.

Description des méthodes mises en œuvre

Aim 1 (1 year) => Determine the role of xenobiotic signaling mediated by aryl hydrocarbon receptor (AhR) in alveologenesis.

The role of AhR in a physiological context will be explored, using a lineage tracing available at IMRB (Team1). SPCcreERT2; ROSA26(stop)Tomato; AhR fl/fl triple transgenic pregnant mice will be exposed to different types of air pollution (Paris-like or Beijing-like) from E13.5 (before the alveolar duct formation) to birth. Air pollution will be generated using Pollurisk platform to reproduce multiphasic and realistic atmosphere (www.pollurisk.cnrs.fr) at the LISA (www.lisa.u-pec.fr; Team 2). The rates of preterm and the weight of transgenic pups will be specified following air pollution exposure. At birth, histological characterization on lung tissue sections will be performed, inflammation and oxidative status will be analyzed by cytometer. High-throughput single-cell profiling, deep molecular analysis and mass spectrometry for biochemistry exploration will be used at IMRB platforms.

Aim2 (1 year) => Define, at molecular level, the trajectories from BPD to COPD.

The role of AhR in pathological trajectories will be pursued after the birth of the transgenic pups. Pups will be then hosted in hyperoxic (95% O₂) or normoxic condition from birth to post-natal day 5 (PN5) to replicate the arrest of lung development observed in human neonates with BPD. Control and hyperoxia-exposed pups will be analyzed at PN5; at PN21 after recovery in normoxia; as well as before (PN60) and after (PN 150) cigarette smoke exposure to evaluate their susceptibility to develop COPD. Lastly, using cell-behavior analysis and RNA velocity to characterize kinetics, we will develop effective machine-learning classifiers on Python environment to redefine pathophysiological stages based on stress pollution and AhR response. Several pharmacological modulators of AhR signaling will be tested in mice models to improve the lung development in the context of BPD and reduce the progression to COPD.

Aim 3 (last year) => Identify robust predictive biomarkers from BPD to COPD and revisit their susceptibility factors.

DNA methylome, mass-spectrometry-based lipidome analyses and circulating miRNA will be sought in serum of BPD and COPD transgenic mice models to identify specific signatures. Moreover, after inform consent, circulating transposable biomarkers will be quantified in both pregnant women and babies from the local cohort (CHIC, Team 3, and Hopital Privé d'Antony, Team 4). The follow-up will incorporate a questionnaire linking air pollution exposure of patients to their serum-specific signatures.

Partenariat

U955 INSERM IMRB UPEC - Genetic and Environmental Interactions in COPD, Cystic fibrosis and Other (rare) respiratory diseases – Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Audrey Der Vartanian

Laboratoire Inter-Universitaire des Systèmes Atmosphériques UMR CNRS 7583 UPEC – Pollution oxydante et particulaire - Créteil

Responsable de l'équipe : M. Patrice Coll

Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil – Pédiatrie – Créteil

Responsable de l'équipe : M. Ralph Epaud

Hopital Privé d'Antony - Gynécologie, obstétrique – Antony

Responsable de l'équipe : Mme Fatma Belmaghni

Analyse du PatHobiome des tiques et risques sanitaires Associés

M. Julien Verdon

Université de Poitiers Laboratoire EBI - Poitiers cedex

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 930 € TTC

Objectif détaillé

Avec une démarche intégrant le concept d'une seule santé, le projet ALPHA a pour objectifs de caractériser le pathobiome animal et humain associé aux tiques et d'en évaluer les risques sanitaires. Pour cela, nous chercherons i) à identifier chez ces dernières la présence de pathogènes bactériens au sein de tiques échantillonnées sur le périmètre d'une communauté d'agglomérations, ii) à identifier de potentiels vecteurs secondaires de ces pathogènes et iii) à évaluer des mécanismes moléculaires pouvant être à l'origine d'interactions entre pathobiome et microbiote.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La structure des communautés microbiennes au sein des organismes est modulée par plusieurs facteurs (température, génétique de l'hôte, abondance de microorganismes). Les changements globaux, de même que la végétalisation des espaces urbains, affectent la distribution et l'abondance de nombreux organismes dont des vecteurs d'agents pathogènes comme les tiques. Cela peut se traduire, entre autres, par une augmentation de l'incidence de certaines maladies infectieuses dont la Borréliose de Lyme. En France, *I. ricinus* (Ir), l'espèce la plus abondante, transmet un large panel d'agents pathogènes (pathobiome) pour l'Homme, les animaux domestiques et sauvages. La présence de plusieurs pathogènes (Tick-Born Pathogens TBP) tels que *Borrelia* ou *Anaplasma* au sein d'une même tique est maintenant bien documentée. Ces TBP y interagissent avec le microbiote commensal mais aussi avec l'hôte. Une des hypothèses expliquant ce phénomène serait la capacité de communication des TBP via le quorum sensing (QS). Ces interactions pourraient alors avoir un impact sur la virulence des TBP mais aussi sur des phénomènes de co-transmission. A ce jour, la nature et les conséquences de ces interactions restent inexplorées. Parallèlement, les microeucaryotes et notamment les protistes libres phagotrophes sont désormais bien identifiés comme réservoirs de microorganismes pathogènes. Ils pourraient servir de vecteurs secondaires mais aussi de niches protectrices, notamment lors des périodes de diapause, ou encore contribuer à favoriser les phénomènes de co-infection chez les tiques. Néanmoins, à ce jour, aucune donnée n'est disponible dans la littérature concernant la présence de protistes libres phagotrophes sur et/ou dans les tiques.

Ainsi, le projet ALPHA se propose d'étudier de manière approfondie les interactions entre les tiques et les pathogènes qu'elles peuvent transmettre. Via la compréhension de ces interactions, le projet pourrait ouvrir des pistes de développement de biocontrôle des vecteurs.

Questions de recherche

LAV 1 - Vecteurs & santé animale ou végétale : biologie, écologie, distribution et surveillance des vecteurs, relation hôte-pathogène, détection d'agents pathogènes, résistance.

ABIO 1.2 - Liens entre dégradation des écosystèmes, atteintes à la biodiversité et augmentation de la fréquence d'épidémies de maladies infectieuses zoonotiques et/ou vectorielles ou liées à des biotoxines, émergentes ou ré-émergentes : impacts de la perte de biodiversité sur le fonctionnement des écosystèmes en termes de régulation des maladies infectieuses

ABIO 3.3 - Comportement et devenir des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement et effets potentiels sur la santé humaine : étude de la charge en agents infectieux.

Les changements globaux et la végétalisation des milieux urbains affectent la distribution et l'abondance de vecteurs d'agents pathogènes comme les tiques, entraînant une augmentation de l'incidence de certaines maladies infectieuses. Par le biais d'une campagne de collecte dans différents milieux, ce projet permettra de caractériser le pathobiome des tiques et de mieux comprendre les interactions au sein du microbiote. Il répond donc à une problématique émergente d'écologie microbienne et de santé publique et animale.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1 (2x1 mois). Collectes de tiques sur le terrain. Des nymphes Ir seront collectées au cours de l'année 1 (une collecte par pic d'activité soit printemps et automne) dans différents environnements. Des Ir en quête seront collectées par la méthode du drapeau selon un gradient d'urbanisation croissant autour de Poitiers : une forêt péri-urbaine, un espace public urbain et le campus de l'université de Poitiers qui a une gestion par écopastoralisme. Des Ir gorgées seront collectées sur des populations animales présentes dans ces 3 zones : chevreuils, oiseaux et moutons respectivement. Cela sera rendu possible grâce à la participation de l'Office Français de la Biodiversité et de l'agglomération de Grand Poitiers. Nous pourrons ainsi constituer différents groupes d'échantillons pour l'analyse des résultats en Tâche 2 : tiques (quête, gorgées), localités, hôtes et pic d'activité. Nous prévoyons d'analyser 100 Ir en quêtes et 100 Ir gorgées.

Tâche 2 (18 mois). Caractérisation du pathobiome associé aux tiques. L'ensemble du microbiote de chaque tique sera caractérisé à l'échelle de l'individu. Pour cela, les tiques seront broyées à l'aide de billes et l'ADN extrait de la fraction bactérienne enrichie (microbiote incluant le pathobiome) sera analysé en séquençage hybride Illumina/Oxford Nanopore afin de reconstituer les génomes (Metagenome-assembled genomes MAGs) des organismes présents. Cela permettra une analyse à la fois de la diversité individu-spécifique mais aussi du contenu en gènes de l'ensemble du microbiote. Les infections transmises par les tiques sont nombreuses donc l'évaluation de la résistance aux antimicrobiens des TBP est une mesure de santé publique préventive. Ainsi, grâce aux MAGs obtenus, nous étudierons le résistome (ensemble des éléments génétiques associés à la résistance aux antibiotiques) des microbiotes identifiés et particulièrement les gènes de résistances (ARGs) des espèces infectieuses.

Tâche 3 (2x3 mois). Exploration de la diversité des protistes et bactéries associés. En complément des potentiels génomes obtenus en 2, des échantillons d'Ir (écouvillonnage de la cuticule et broyats) de la tâche 1 seront déposés sur géloses non nutritives additionnées d'une source alimentaire de type levure (Water Res. 2016). Les protistes libres isolés seront

identifiés par séquençage de leur génome et mis en soucier. La diversité bactérienne associée sera analysée par metabarcoding 16S.

Tâche 4 (24 mois). Implication du QS dans les interactions au sein de la tique d'un pathogène modèle, Borrelia. La fonctionnalité du système de QS LuxS-dépendant sera étudiée chez 3 souches de Borrelia de référence par la détection de l'AI-2 via des biosenseurs (*V. harveyi* BB120 et BB170). La création de mutants de délétion de luxS permettra d'évaluer le rôle du QS sur la fitness de la bactérie ainsi que dans ses interactions. Les souches sauvages et mutantes seront testées en co-culture et les bactéries seront quantifiées par qPCR. Les profils globaux d'expression des souches soumises aux molécules de QS (surnageants ou issus de synthèse) seront établis par analyse RNAseq. Enfin, les interactions entre bactéries infectantes (sauvage et mutants luxS) seront testées in vivo, seules ou en mélanges, sur modèle murin d'infection chez la souris Balb/c (suivi de la dissémination bactérienne par imagerie et analyse des paramètres immunologiques).

Partenariat

Ecologie et Biologie des Interactions, EBI UMR 7267 - Microorganismes, Hôtes, Environnements (MHE) – Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Julien Verdon

Maladies Infectieuses : Vecteur, Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle (UMR IRD 224-CNRS 5290) - Evolution des communautés hôtes-microbes (EVCO) – Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Olivier Duron

Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), INSERM U1111 - CNRS UMR 5308 - LegioPath – Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Jarraud

Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines (UR 15560) - Inflammation – Poitiers

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

Dynamique spatio-temporelle de l'invasion de communautés naturelles de cours d'eau par l'antibiorésistance

M. Christophe Merlin

LCPME, UMR7564 CNRS-Université de Lorraine - Vandoeuvre les Nancy

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 680 € TTC

Objectif détaillé

Avec ce projet, nous proposons d'explorer les mécanismes d'imprégnation de communautés naturelles aquatiques par l'antibiorésistance, avec une attention particulière portée sur (1) la relation entre pression anthropique et imprégnation, (2) l'importance du biofilm dans la succession des événements qui conduisent à cette diffusion de l'antibiorésistance, (3) la relation entre diversité et diffusion de l'antibiorésistance, et (4) la réversibilité des phénomènes.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'émergence et la dissémination de l'antibiorésistance repose sur deux piliers, la sélection de variants résistants et la diffusion des variants (et leurs gènes de résistance) dans des communautés microbiennes naïves. Au cours d'antibiothérapies, les variants résistants du microbiote de l'hôte sont sélectionnés au détriment de bactéries sensibles. Parce que nos systèmes de traitements n'ont pas été conçus pour les retenir spécifiquement, une partie de ces bactéries rejoint l'environnement avec nos rejets où elles sont en grande partie éliminées car peu adaptées aux conditions environnementales. Même courte, cette persistance environnementale peut leur permettre de transférer leurs gènes d'antibiorésistance aux bactéries autochtones grâce à des mécanismes de transfert d'ADN, impliquant notamment des éléments génétiques mobiles. Les bactéries autochtones devenues résistantes, plus adaptées à l'environnement, forment alors un réservoir environnemental de résistance, avec un risque de diffusion à l'humain ou l'animal en cas d'exposition. A cet égard, les sphères humaines, animales et environnementales apparaissent interconnectées, inscrivant donc pleinement la diffusion de l'antibiorésistance dans les problématiques rattachées au concept OneHealth.

Questions de recherche

ABIO 1.1 - Liens entre dégradation des écosystèmes, atteintes à la biodiversité et augmentation de la fréquence d'épidémies de maladies infectieuses zoonotiques et/ou vectorielles ou liées à des biotoxines, émergentes ou ré-émergentes : liens entre dégradation des habitats naturels (changement d'usage des sols ou incursion forestière liée aux activités humaines, déforestation, exploitation minière, agriculture...), augmentation des contacts entre humains ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce

Comprendre la diffusion de l'antibiorésistance dans les environnements aquatiques est rendu complexe par (1) la multiplicité des déterminants génétiques de l'antibiorésistance, (2) une prévalence qui n'est pas toujours contrastée entre sphères humaines, animales et environnementales, et (3) la multiplicité des sources qui limite les corrélations entre pratiques anthropiques et imprégnation de l'environnement. Ces difficultés sont contournables par des approches moléculaires. Dans un travail préliminaire, les partenaires de ce projet ont étudié l'imprégnation de biofilms épilithiques par PCR quantitative à haut débit (HT-qPCR) sur une cinquantaine de gènes d'antibiorésistance, permettant ainsi d'éviter des choix a priori. Les résultats obtenus sont sans appel, 1/3 des gènes testés était absents de l'écosystème, 1/3 était déjà présent partout, et finalement 1/3 résulte de l'imprégnation massive des communautés bactériennes épilithiques par l'antibiorésistance dès la traversée du premier hameau (50 habitations)(ABIO3). L'étude des communautés bactériennes par metabarcoding sur gènes d'ARNr 16S, a révélé que l'imprégnation est d'autant plus forte que leur diversité est faible (ABIO1).

Description des méthodes mises en œuvre

Antibio-Inv est un projet de 36 mois qui se décline en 3 tâches. La tâche 1 permettra de cartographier l'imprégnation par l'antibiorésistance dans deux cours d'eau vosgiens en tête de bassin (La hutte et le Rouge Rupt). Des biofilms épilithiques seront prélevés depuis des zones « pristines » jusqu'aux premières villes, et analysés par metabarcoding 16S et HT-qPCR pour une cinquantaine de gènes d'antibiorésistance choisis pour leur pertinence en santé humaine et animale. La pression anthropique locale sera mesurée par quantification d'indicateurs fécaux dans l'eau. Les résultats obtenus, recroisés avec le plan d'occupation du territoire, permettront de définir si la diffusion de l'antibiorésistance résulte de sources uniques ou multiples, si son origine est plutôt animale ou domestique. La saisonnalité du phénomène sera étudiée à travers 6 campagnes sur deux ans et des quantifications plus fines pourront être réalisées par qPCR/ddPCR sur des gènes de résistance identifiés comme pertinents. La tâche 2 est axée sur la dynamique de la diffusion de l'antibiorésistance in situ autour d'un site identifié en tâche 1 comme une entrée de pollution en antibiorésistance. Des biofilms seront formés sur substrats artificiels, en amont et en aval du site retenu, et analysés comme précédemment par metabarcoding et HT-qPCR. Cette partie du projet permettra de définir la séquence de formation du biofilm (espèces colonisatrices) et si l'imprégnation du biofilm par l'antibiorésistance (en aval) dépend de l'implantation de certaines espèces. Des biofilms « amont » de différents âges placés en aval de la source de pollution renseigneront sur la relation entre imprégnation et structure des communautés du biofilm. L'expérience réciproque (biofilms aval placé en amont) permettra de définir si une dépurabilité des biofilms est possible et avec quelle dynamique. Cette tâche, dépendante de la première, sera réalisée durant la seconde année sur 2 campagnes. La tâche 3 est dédiée aux aspects mécanistiques de la diffusion de l'antibiorésistance en biofilms. Des chambres d'écoulement permettront d'étudier in vitro l'implantation de bactéries antibiorésistantes modèles dans des biofilms de complexité variable : biofilms de différents âges, avec un nombre d'espèce contrôlé, biofilms naturels (obtenus sur support placé en rivière). Ce

dispositif de laboratoire autorisera l'utilisation d'espèces invasives modèles, génétiquement modifiées pour assurer le suivi de leur implantation et le transfert d'éléments mobiles vecteur d'antibiorésistance. Cette partie du projet permettra de dégager les paramètres moteurs de la diffusion de l'antibiorésistance (hydrodynamique, transfert de masse, temporalité, espèces clés), et de distinguer la contribution de l'implantation de la bactérie dans le biofilm de celle des transferts d'éléments mobiles vers la communauté. Réalisée sur 3 ans, cette tâche sera mise en œuvre pendant les périodes où la météo n'autorise pas le travail de terrain.

Le projet sera coordonné par C. Merlin et impliquera 2 partenaires : le LCPME (C. Merlin, F. Changey, L. Mathieu), et l'unité ANSES COLIPATH (S. Delannoy, P. Fach). Le LCPME apportera son expertise en microbiologie environnementale sur l'écologie et la diffusion de l'antibiorésistance, et la dynamique des biofilms. L'UCOLIPATH apportera ses compétences sur les approches moléculaires à haut débit, notamment en HT-qPCR. Les techniques et approches proposées dans ce projet sont déjà maîtrisées et ont déjà été implémentées par les deux partenaires lors d'une phase préparatoire.

Partenariat

LCPME, UMR7564 Université de Lorraine-CNRS - Microbiologie Environnementale – Vandoeuvre les Nancy

Responsable de l'équipe : M. Christophe Merlin

Anses - Unité COLIPATH / Plateforme IdentityPath – Maisons-Alfort

Responsable de l'équipe : M. Patrick Fach

Exposition aux particules ultrafines de la pollution de l'air ambiant et intérieur et vieillissement cérébral

Mme Fleur Delva

CHU Bordeaux Site Pellegrin- Centre ARTEMIS - Bordeaux cedex

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 914 € TTC

Objectif détaillé

Le vieillissement cognitif et les pathologies liées, comme la démence et sa principale cause la maladie d'Alzheimer, sont un enjeu majeur de santé publique. En raison du sous-diagnostic des démences en population et de leur très longue phase préclinique, les cohortes en population sont indispensables pour mieux comprendre le vieillissement cérébral dans un objectif de prévention. Des données de la littérature identifient l'exposition aux PM2.5 de la pollution atmosphérique comme associée au risque de démence et à un déclin cognitif accéléré (Sullivan et al. 2021). Les particules ultrafines ou PUF (< 100 nm) sont des composantes de l'aérosol des PM2.5 et des preuves de plus en plus nombreuses montrent l'importance de leur rôle dans les effets observés des PM10 et PM2.5 sur la santé (Stone et al. 2017). Leur capacité à passer les barrières biologiques et notamment hémato-encéphalique a été démontrée ainsi que les mécanismes toxicologiques à l'origine de dommages cellulaires et tissulaires (Oberdorster et al. 2005). Les PUF sont émises dans l'air par de nombreux procédés (moteurs, cuisson, soudure, usinage...) suggérant des prévalences d'exposition non négligeables dans tous les milieux (Manigrasso et al. 2019). Or, l'exposition cumulée aux PUF via ces multiples sources reste très mal caractérisée à ce jour. Enfin, peu d'études sur les PUF se sont intéressées à la période du vieillissement, qui est pourtant une période de fragilité, notamment pour le cerveau, un organe très vulnérable à la toxicité chimique dont les capacités de résilience pour compenser les dommages liés aux expositions toxiques sont altérées avec l'avancée en âge.

Dans ce contexte, l'objectif du projet B-CubePUF est d'évaluer les expositions aux PUF de l'air ambiant et intérieur de seniors inclus dans la cohorte B-Cube, nouvelle étude sur les déterminants précoces du vieillissement cérébral à partir de 55 ans. Les résultats contribueront à documenter l'impact sanitaire de l'exposition aux PUF sur les mécanismes précoces du vieillissement cognitif conduisant ultérieurement au développement de la démence.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le BPH INSERM U1219 et le CHU de Bordeaux ont lancé en mars 2022 la cohorte B-Cube qui inclura 2 000 seniors de Bordeaux métropole sur 3 ans (financement PIA3 et subvention équipe Fondation de France). De façon originale, les déterminants du vieillissement cognitif seront évalués par une approche complète de l'exposome à la fois externe (facteurs

environnementaux) et interne (biomoléculaire). Les sujets sont interrogés sur leurs histoires (écoles, domiciles, emplois) et habitudes de vie permettant de mettre à disposition les éléments nécessaires à l'évaluation indirecte des expositions. Dans ce sens, nous disposons d'un outil unique d'évaluation des expositions professionnelles aux PUF : la matrice emplois-exposition MatPUF (Audignon et al.2021). Sa performance a été démontrée par l'étude du lien entre les PUF et certains cancers et troubles de la reproduction (Manangama et al. 2020). De façon innovante, le concept de matrice emplois-exposition a été transféré aux expositions domestiques avec la matrice activité-exposition environnement MA2E fournissant l'exposition moyenne aux PUF lors d'activités domestiques. Enfin, nous proposons de compléter le profil d'exposition des sujets par l'intégration des mesures de PUF (nombre, granulométrie) issues de la surveillance de la qualité de l'air ambiant par ATMO Nouvelle Aquitaine (NA) et encore jamais utilisées à des fins de santé.

Questions de recherche

AIR 2 - Liens entre pollution de l'air et effets sanitaires : recherche sur de nouveaux outils (bases de données sur la qualité de l'air par exemple, systèmes capteurs, modélisation, biomonitoring...) visant à améliorer l'étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques.

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

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

Dans une logique exposome, des indicateurs d'exposition cumulée aux PUF de l'air ambiant et intérieur seront produits afin d'évaluer le rôle de ce polluant émergent dans le vieillissement cognitif devant poser des défis majeurs à l'avenir. Des éléments de réponse seront apportés aux recommandations ANSES sur l'exploitation à des fins épidémiologiques des données du réseau de la qualité de l'air ambiant, devant renforcer l'intérêt du déploiement national de la surveillance des PUF.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet se déroulera sur 36 mois en phase avec la cohorte B-Cube dont l'inclusion a démarré début 2022. Il s'articulera autour des méthodes et étapes suivantes : Année 1 / Recueil des données individuelles : traitement des questionnaires posés aux seniors (calendriers résidentiel et professionnel, questions portant sur les activités exposantes aux PUF incluses dans le questionnaire initial).

Années 2 & 3 / Estimation des expositions aux PUF :

- Professionnelle : application de la matrice emplois-exposition MatPUF fournissant l'exposition par emploi et sur la carrière vie entière (familles chimiques de PUF, probabilité, fréquence et ajout d'une intensité) ;

- Domestique : application de la matrice activité-environnement exposition MA2E en cours de finalisation (thèse de science 2020-2023) fournissant l'exposition moyenne par activité (ex : familles chimiques, probabilité, intensité, fréquence pour la cuisson) ajustée en fonction des déclarations des sujets (ex : hotte utilisée pendant la cuisson) ;

- Ambiante : application d'un système d'information géographique aux adresses de vie intégrant les mesures depuis 2014 de la station bordelaise d'ATMO NA.

- Tous milieux : construction d'algorithmes pour obtenir le profil général d'exposition de chaque sujet et sa cartographie (vie entière pour les expositions professionnelles, sur les 8 dernières années pour l'air ambiant et actuel pour les expositions domiciliaires).

Année 3 / i) Amélioration des connaissances sur les expositions individuelles (déterminants, niveaux) par une campagne de mesurage visant vingt sujets issus de la cohorte sélectionnés selon leur profil d'exposition et état cognitif : port d'instruments temps réel durant une semaine (nombre, diamètre moyen, surface) et remplissage d'un calendrier d'activités (espace budget-temps) ; ii) Développement de modèles pour estimer l'effet des PUF sur les performances cognitives à l'inclusion mesurées par des tests neuropsychologiques validés. La réussite du projet est renforcée par la mise en place d'un partenariat pluridisciplinaire (expologie, métrologie, épidémiologie) impliquant des équipes de recherche et de surveillance de la qualité de l'air en France :

- BPH INSERM U1219 : coordination, recueil des données individuelles, estimation des expositions, mesure terrain et analyse ;
- ATMO NA : mise à disposition des mesures en air ambiant et aide à l'exploitation ;
- CSTB / AIR BREIZH : expertise, appui méthodologique et aide à l'interprétation des mesures.

Partenariat

Bordeaux Population Health Research Center INSERM U1219 – EPICENE - Bordeaux
Responsable de l'équipe : Mme Fleur Delva

ATMO Nouvelle-Aquitaine – Service Partenariat et Innovation - Périgny
Responsable de l'équipe : Mme Agnès Hulin

AIR BREIZH AIR BREIZH – Service Études - Rennes
Responsable de l'équipe : M. Olivier Le Bihan

CSTB - Centre Scientifique et Technique du Bâtiment – Direction Santé Confort /
Division Qualité des Environnements Intérieurs – Marne la Vallée
Responsable de l'équipe : M. Olivier Ramalho

Bordeaux Population Health Research Center INSERM U1219 - ELEANOR - Bordeaux
Responsable de l'équipe : Mme Cécilia Samieri

Résumé BIOMATICK - 2023_EST_019

Identification de marqueurs d'exposition aux piqûres de tiques chez l'être humain et l'animal

Mme Sarah Bonnet

Institut Pasteur Unité Écologie et Émergence des Pathogènes Transmis par les Arthropodes - Paris

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 920 € TTC

Objectif détaillé

The main aim of the project is to generate a single or combination of biomarkers that can enable certainty to diagnose an individual (human or animal) as having recently been bitten by a tick, and this should provide credible intervals around which specific tick genus. We will first focus on the most widespread and abundant tick in Western Europe, *Ixodes ricinus*, which transmits a variety of important tick-borne diseases (TBD) in Europe, including anaplasmosis, babesiosis, tick-borne encephalitis (TBE) and Lyme disease. According to the results obtained we will then extend our work to other temperate and tropical tick species thanks to collaborations already implemented (Cambodia, Japan, Cameroon, Senegal).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ticks are among the most important vectors of viral, bacterial and parasite pathogens that affect humans and animals worldwide, and emergence or re-emergence of TBD is a growing threat. In that context, new surveillance tools are necessary to determine the presence of ticks where there were previously none and to assess host/vector contact. Further, the likelihood of the transmission of disease grows with increasing tick-exposure, thus, diagnostics for the quick and easy identification of pathogen presence would be of great help to the medical and the veterinary community. Tick-Borne Pathogens (TBPs) have been relatively neglected despite recognition of their potential health impact and especially so within a One Health perspective. Lastly, developing such biomarkers of exposure is essential to evaluate efficacy of anti-vector measures. Therefore, this project will offer potential new and effective strategies for the surveillance of tick related risk and then control and prevention of TBD.

To date, most surveillance strategies of TBD have focused on pathogen detection in vertebrate hosts or in ticks, or on modelling/forecasting approaches. Although host antibody responses to pathogens are commonly used in epidemiologic research to evaluate exposure and disease risk, few studies have addressed exposure to tick bites. Nonetheless, anti-tick immunity was first described almost a century ago, and many tick salivary proteins have been shown to be immunogenic in vertebrate hosts (Bonnet et al., 2018). Indeed, it has been well recognized since the early 1990s that during the bite, ticks inject salivary proteins that elicit

antibody responses, and that these antibody responses could be used as biomarkers of host exposure to tick bites (Schwartz et al., 1990). The specificity of the saliva-based immunological test is however a critical prerequisite, especially in areas with high biodiversity as regards hematophagous arthropod species (Fontaine et al., 2011). It is thus necessary to pursue efforts to obtain a comprehensive inventory of salivary components of the various species of ticks. In fact and to date, no efficient and specific biomarkers for the evaluation of tick exposure have been identified.

Questions de recherche

LAV 1 - Vecteurs & santé animale ou végétale : biologie, écologie, distribution et surveillance des vecteurs, relation hôte-pathogène, détection d'agents pathogènes, résistance.

LAV 2 - Lutte anti-vectorielle & santé animale ou végétale : nouvelles substances actives et produits biocides, développement de technologies innovantes (lutte biologique, lutte génétique...) dont l'optimisation des méthodes de piégeage et large spectre. Efficacité et impacts de la lutte anti vectorielle. Indicateurs de type coût efficacité ou bénéfices-risques.

BIOMATICK falls within the **scope of the topics "Lutte anti-vectorielle" LAV-1 and LAV-2**, and addresses the challenge of developing methods of vector surveillance and of evaluation of the efficacy of LAV. The rapid evolution of tick distribution and density has created an urgent need for more effective methods for surveillance and risk assessment for TBD. Risk assessment for human and animal populations will determine public and veterinary public health priorities, to ameliorate animal and human health, to ensure food security in the 21st century, and instruct the implementation of appropriate countermeasures or complementary studies.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1. Evaluation of the efficiency of CRT, IrSP1 and IrLIP1 as biomarkers of exposure to *I. ricinus* tick bites and developing cognate ELISA tests of the desired sensitivity (6 months). These 3 molecules will serve as the backbone of the initial investigations and methodology implementation. Calreticulin (CRT) has been identified as a promising candidate for evaluating exposure to tick bites of *I. scapularis* (Sanders et al., 1999) and *I. ricinus* (Hai et al. 2013). Longitudinal studies demonstrated that such antibodies in humans were found to persist for over a year following tick exposure (Alarcon-Chaidez et al., 2006). In addition to CRT, we identified two other candidates, *Ixodes ricinus* serine protease inhibitor (IrSPI) and *Ixodes ricinus* Lipocalin 1 (IrLIP1) that play role in immuno-modulation of the tick host and hence offer promise as use as biomarkers (Liu et al. 2014; Blisnick et al. 2019; Almazan et al. 2020). Recombinant proteins for the 3 candidate proteins are already available in the laboratory and the serum samples from tick-bitten individuals will be obtained through collaboration with CRMVT (Centre de Référence des Maladies Vectorielles Liées aux Tiques d'Île de France).

WP2. In silico identification of new immunogenic molecules from a previously generated salivary gland transcriptome of *I. ricinus* (Liu et al, 2014) (6-8 month). Selection will be done in collaboration with the Institut Pasteur Bioinformatics hub, using EpiMatrix to first run a virtual screen against thousands of compounds using high performance computing. In our screen, top hit candidates will be analyzed in I-Tasser and AlphaFold to predict protein

function and docking sites, selecting first those genes previously annotated, to evaluate their predicted immunogenicity. Molecular docking will be analysed using open-source tools such as Jupyter Dock. We will base our strategy on peptides, using the multi-peptide strategy that we used for neuropeptides as anti-tick vaccines (Almazan et al, 2020) to evaluate their true immunogenicity on the serum samples as in WP1.

WP3. Identification of homologous peptides of identified immunogenic biomarkers in WP1 and 2, in other important temperate (*Ixodes* sp., *Dermacentor* sp., *Rhipicephalus* sp.) and tropical (*Hyalomma* sp., *Amblyomma* sp., *Dermacentor* sp., *Rhipicephalus* sp., *Haemaphysalis* sp.) tick species (12 months). This will be first performed *in silico* using *rspblast* in NCBI and the tool *rpsblast2tbl* to compare our candidates with the newly collated TickSialoFam database (Ribeiro et al. 2020). Then, both ticks and serum samples will be obtained thanks to our other projects in the lab and already established collaborations : LABex Ibeid for samples from temperate areas, PICREID and Réseau International des Instituts Pasteur for Cambodia, Japan, Cameroon and Senegal. This will allow to develop cognate ELISA tests of the desired specificity.

Partenariat

Institut Pasteur - Ecologie et émergence des agents pathogènes transmis par les arthropodes – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Sarah Bonnet

Bioessais in vitro pour l'identification et l'évaluation du danger lié à la présence de produits phytopharmaceutiques dans les milieux aquatiques.

M. Davide Degli Esposti
Irstea UR Riverly - Villeurbanne

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 963 € TTC

Objectif détaillé

The project BIP proposes to develop and implement effect-based in vitro bioassays by **using crustacean Nuclear Receptors (NRs) as "xenosensors" for assessing the presence of phytopharmaceuticals (PPP)**. Most PPP are in fact not recognized by current chemical analysis or bioassays based on vertebrate NR, such as those based on human estrogen (ER), androgen (AR) or thyroid (THR) NRs (e.g. YES, ER-alpha CALUX), able to identify potential hormone agonists.

Due to their widespread use, mainly in agriculture, PPP are often released in continental, but also in marine waters, affecting ecosystems and human health. Few PPP are routinely measured in water and/or biota according to the Water Framework Directive, leading to a possible underestimation of their impact. To overcome these limitations, one of the current strategies adopted is the inclusion of bioassays, allowing the introduction of a bioanalytical approach based on ligand-receptor interaction and thus integrating all compounds/cocktails with a similar mode of action.

Current in vitro bioassays are available and deployed in continental, estuarine and marine aquatic environments as proposed by the European SOLUTION project. However, these bioassays are based on vertebrates NRs and therefore do not cover the wide diversity of NRs in metazoans. Notably, arthropods (insects and crustaceans) present a very different NR repertoire than vertebrates and are key species for ecosystems function. Including this diversity in new in vitro bioassays offers the opportunity to detect a larger panel of chemicals whose mode of action **involves specific interaction with arthropods' NRs**. In the project ThECA (Feasibility studies - ANSES 2019-1-112), we identified the ecdysone receptor (EcR) in gammarids (used as sentinel species in ecotoxicology) and we proved that it is possible to **apply the protocol developed by the Portuguese partner (André et al 2017) for gammarids' receptors** and develop a functional in vitro EcR cell reporter bioassay. In this context, this project will provide: 1) in vitro bioassays based on crustacean receptors with different ligand affinities; 2) a calibration of the in vitro test providing toxic equivalents to gammarid sentinel species; 3) an environmental investigation as proof of concept and a prioritization scale in terms of endocrine hazard.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

This project will provide the proof of concept of the importance of in vitro bioassays based on crustacean nuclear receptors to screen a greater diversity of chemical compounds and their potential biological activity in aquatic environments. This project addresses a major gap in hazard assessment, since validated test guidelines, such as those used by the international community for chemical evaluation (e.g. OECD Conceptual Framework, REACH), on NR-based bioassays with invertebrate models are still lacking.

Questions de recherche

ACHIM 3.2 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : 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. Etude des effets synergiques et antagonistes des substances en mélanges.

ACHIM 5 - Évaluation de l'efficacité des moyens de prévention et de réduction des expositions aux contaminants chimiques présentant un risque pour la santé humaine et les écosystèmes.

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

The development of in vitro bioassays based on crustacean receptors covering a greater diversity of chemical contaminants will provide optimized protocols to evaluate chemical risks (ACHIM 6). Its application on environmental samples will provide an evaluation of the relevance of these bioassays and a characterization of the biological responses affected by the exposures (ACHIM 3.2, 5).

Description des méthodes mises en œuvre

Task 1 (months 0-12). Development of in vitro bioassays based on receptors targeted by plant protection products in the crustacean sentinel species *Gammarus fossarum*. This task will identify orthologs of NRs in the crustacean *G. fossarum*, a freshwater sentinel species commonly used across Europe, and develop in vitro cell reporter assays measuring the activity of NRs that have an intrinsic ability of sensing PPP. The feasibility of this approach has been demonstrated in the project ThECA (ANSES 2019-112) that developed an Ecdysone Receptor (EcR) assay, based on receptor cloning into an expression vector containing the Renilla luciferase and its co-transfection with the reporter vector into COS-1 cells. The bioassay development will focus on the NR Retinoid X receptor (RXR) a target of organotins (antifouling agents and stabilizers in biocides), but also on other ligand-induced transcription factors, such as the Methyl farnesoate Receptor (MfR) a target of the insecticides analogous to juvenile hormones (e.g. pyriproxyfen). These receptors cover a great diversity of chemical targets and are involved in many physiological functions of aquatic arthropods.

Task 2 (months 6-24). Laboratory calibration of the in vitro bioassays. This task will calibrate each assay using model chemicals, known to activate the receptors, in order to normalize each receptor activity using a chemical equivalent approach. In the case of the EcR assay, the natural hormone Ponasterone A showed the highest activation and thus it was used to build the interpretation of equivalents for the other compounds. For the other receptors, the calibration of each assays will be performed using known agonists, such as natural

hormones or synthetic agonists (e.g. methyl farnesoate or juvenile hormone agonists for MfR; organotin compounds for RXR) in order to choose the chemical with highest affinity. Then, we will identify in vivo toxic equivalents in gammarids using acute toxicity and sub-chronic toxicity standardized assays available in our laboratory (e.g. feed inhibition, reprotoxicity), in order to express receptor activity in term of toxic effects. The investigation of in vitro activity-in vivo toxic equivalence could contribute to validate the NRs based tools for tier 2 (in vitro level) in the OECD Framework, and link it to higher tiers (in vivo levels), thanks to the knowledge our team has on the life cycle of *G. fossarum*.

Task 3 (months 24-36). Application of the in vitro activity assays for environmental assessment. This task will use the in vitro bioassays to screen environmental samples taken from around 50 sites in French watersheds representing the national diversity of anthropogenic pressures. The sites will be selected based on previous studies by the ecotoxicology team (e.g. French Water Agencies or the French plan Ecophyto II), taking care of including the continental and estuarine continuum. Environmental samples will be pretreated before analysis as already reported in the literature. The results of this task will provide a validation of the bioassays and a scale of contamination degree (high, mid or low) for each site for further investigation of high priority sites via chemical characterization and in vivo testing.

Partenariat

INRAE - Riverly – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Davide Degli Esposti

CIIMAR – ENDOCRINE DISRUPTORS AND EMERGENT CONTAMINANTS – Matosinhos

Responsable de l'équipe : Mme Raquel Ruivo

Impact des politiques publiques de réduction de la pollution de l'air sur la santé cardiovasculaire

Mme Benedicte Jacquemin
Inserm IRSET UMRS1085 - Rennes

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 883 € TTC

Objectif détaillé

Objectif principal

Évaluer les bénéfices liés à la mise en place de zones à faible émissions et mobilité sur la santé cardiovasculaire

Objectif secondaire

Évaluer la distribution des bénéfices sanitaires potentiels de ces politiques publiques au sein de différents groupes socio-économiques

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La pollution de l'air est aujourd'hui le déterminant environnemental de la santé des populations le plus important. Ses nombreux effets sur la santé représentent actuellement un lourd fardeau en santé publique, notamment cardiovasculaire avec des inégalités socio-économiques bien documentées. Cela a conduit en Europe et en France à mettre en place de politiques publiques de réduction de certaines émissions pour diminuer les niveaux de polluants de l'air de façon durable. L'une de ces politiques d'envergure concerne la mise en place de zones de faible émissions et mobilité (ZFE-m). En France, la première ZFE-m a été mise en place dans la région parisienne entre 2016 et 2019 et il est prévu que d'ici 2025, l'ensemble des agglomérations françaises de plus de 150000 habitants implémentent une ZFE. Cependant, l'efficacité de ces mesures sur la santé reste peu documentée ainsi que les implications en termes d'équité. A notre connaissance, aucune étude n'a étudié ces impacts avec des données observationnelles individuelles, qui permettent de prendre en compte de nombreux facteurs de confusion, ainsi que d'identifier la répartition des bénéfices potentiels au sein du gradient socio-économique.

Dans ce projet, nous étudierons l'impact de ces mesures sur les maladies cardiovasculaires (MCV), deuxième cause de mortalité en France, dans la cohorte Constances avec des données d'exposition aux particules et dioxyde d'azote estimées à une résolution spatiale fine, en utilisant des méthodes épidémiologiques innovantes. Évaluer comment les bénéfices liés à la mise en place des ZFE-m, qui constituent l'une des principales politiques de lutte contre la pollution en lien avec le trafic en France et en Europe, permettra de s'assurer que les efforts pour réduire les niveaux de pollution répondent aux objectifs annoncés et ainsi informer la mise en place des autres ZFE dans d'autres contextes. L'originalité de ce projet réside dans le fait d'étudier l'impact d'une politique de santé sur le

long terme, pour la première fois, avec des données individuelles et des méthodes épidémiologiques innovantes, ainsi que la prise en compte des enjeux de justice environnementale en lien avec les bénéfices sanitaires potentiels.

Questions de recherche

AIR 2 - Liens entre pollution de l'air et effets sanitaires : recherche sur de nouveaux outils (bases de données sur la qualité de l'air par exemple, systèmes capteurs, modélisation, biomonitoring...) visant à améliorer l'étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques.

SHS 5 - Prise en compte des approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux...) des inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux. Justice environnementale.

Nos résultats répondent à deux questions de recherche prioritaire : AIR 2 (étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques) et SHS 5 (justice environnementale). Nous étudierons les effets de l'exposition à la pollution de l'air sur le risque de MCV, évaluerons l'impact d'une politique publique phare, et estimerons des relations doses réponses. L'étude de la répartition des bénéfices sanitaires potentiels de ces politiques publiques au sein de différents groupes socio-économiques donnera des pistes sur les effets différentiels de ces politiques.

Description des méthodes mises en œuvre

Population

La cohorte Constances est un échantillon aléatoire de 220000 adultes âgés de 18 à 69 ans à l'inclusion, recrutés entre 2012 et 2019 dont 34204 participants dans Paris. Les données collectées à l'inclusion et aux suivis couvrent un large éventail de données socio-démographiques et de santé. L'historique résidentiel est disponible et géocodé depuis l'inclusion pour tous les participants, et depuis la naissance pour environ la moitié. Événements de santé

Des algorithmes basés sur la combinaison des données déclarées, et du Système National des Données de Santé (données hospitalières, consommations de soins), sont déjà disponibles dans la cohorte Constances permettant d'identifier les cas incidents de MCV (infarctus du myocarde, accidents cérébro-vasculaires (AVC)). Ces algorithmes ont permis d'identifier 138 cas incidents d'infarctus du myocarde et 96 d'AVC chez les participants recrutés dans les centres parisiens.

Exposition aux PM2.5, PM10 et NO2

Les concentrations moyennes journalières, puis annualisées, de PM2.5, PM10 et NO2 dans le Grand Paris seront estimées à l'échelle de l'IRIS à l'aide de modèles hybrides de land-use regression se basant sur des données de simulations numériques d'Airparif, des données de mesure, d'utilisation du territoire (e.g. espaces verts), météorologiques et d'images satellitaires.

Puissance statistique

Constances est la plus grande cohorte française d'adultes en population générale constituant un échantillon statistique très large, notamment sur les cas incidents de MCV qui constituent l'un des événements sanitaires les plus fréquents. De plus, d'autres études avec des échantillons beaucoup plus petits que celui de ce projet ont montré des associations précises sur le plan statistique entre pollution de l'air et MCV.

Analyses

D'abord, nous utiliserons des modèles ajustés de survie en utilisant des courbes dose-réponse variant dans le temps focalisant sur les différents événements incidents de MCV. Nous comparerons les participants exposés aux ZFE-m aux personnes n'y étant pas exposées, en fonction de leurs adresses de résidence tout en prenant en compte les déménagements. L'exposition aux ZFE-m sera faite via les données géographiques des IRIS visées par les ZFE-m que nous avons déjà recensés. Nous emploierons des méthodes basées sur des appariements via le score de propension permettant de prendre en compte de nombreux facteurs de confusion individuels et contextuels, y compris les expositions passées aux différents polluants atmosphériques. Nous considérerons les changements de niveaux de polluants (PM et NO₂) suite à la mise en place des ZFE-m comme médiateurs (pour valider les mécanismes impliqués). Nous évaluerons les inégalités sociales vis-à-vis de ces effets en incluant des termes d'interaction dans nos modèles puis en stratifiant nos analyses. Nous considérerons à la fois des indicateurs individuels (e.g. niveau d'éducation, revenus) et contextuels (e.g. indice de déprivation).

Calendrier

Année 1 : Nettoyage des données, estimation de l'exposition, construction des variables

Année 2 : Analyses statistiques

Année 3 : Publications, rapport

Partenaires

INSERM U1085 : Coordination, Épidémiologie environnementale

INSERM UMS011 : Environnement, SIG, coordination CONSTANCES, Épidémiologie

INSERM U970 : Epidémiologie cardiovasculaire

UC San Diego : Épidémiologie, exposition, biostatistique

Partenariat

INSERM U1085 – ELIXIR ÉQUIPE 9 – Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Benedicte Jacquemin

INSERM UMS011 – UMS011 – Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Emeline Lequy

INSERM U970 – Team 4 : INTEGRATIVE EPIDEMIOLOGY OF CARDIOVASCULAR DISEASES – Paris

Responsable de l'équipe : M. Jean Philippe Empana

University of California – Department of Family Medicine and Public Health and the Scipps Institution of Oceanography – CASPO - San Diego

Responsable de l'équipe : M. Tarik Benmarhnia

Résumé ChemVax - 2023_EST_136

Effets de l'exposition aux substances perfluorées alkylées sur les réponses vaccinales au Covid 19 chez l'homme.

M. Etienne Blanc

Université Paris 5 CUSP, INSERM 1124 - Paris

Projet complet - 24 mois

Budget : 150 072 € TTC

Objectif détaillé

Des études épidémiologiques suggèrent que les substances perfluorées alkylées (PFAS) altèrent la réponse immunitaire aux vaccins (taux d'anticorps) chez les jeunes enfants (PMID: 28654008). Cet effet est le critère pris en compte récemment par l'EFSA et a permis de définir la VTR pour l'évaluation des risques de la somme de quatre PFAS (PFOS, PFOA, PFHxS et PFNA). Outre les conséquences importantes de ces effets immunosuppresseurs dans la lutte contre les maladies évitables par vaccination, les réponses vaccinales sont aussi un critère pertinent dans des études épidémiologiques reflétant les changements fonctionnels du système immunitaire. Néanmoins, les réponses vaccinales modulées par des produits chimiques, y compris les PFAS, sont encore peu étudiées chez les enfants plus âgés et les adultes, et les mécanismes sous-jacents sont largement inconnus. Ainsi, seule la réponse anticorps est mesurée et essentiellement lors de vaccinations infantiles. **Ce projet s'appuie sur des échantillons recueillis dans le cadre du projet Covicompare qui regroupe des personnes vaccinées contre le SARS-Cov-2, déjà incluses dans des essais cliniques.** Il a pour objectif de quantifier 16 PFAS (Etude Esteban) dans le plasma et à mettre en relation ces dosages avec la caractérisation détaillée de la réponse immunitaire à cette vaccination. Ces données permettront de compléter la construction d'AOP (Adverse Outcome Pathway) sur l'immunotoxicité et d'établir des liens entre PFAS et les chaînons des AOP.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

En raison de la disponibilité des vaccins anti- Covid19 (issus de technologies innovantes), une vaccination intense a été réalisée ciblant toutes les populations (âgées, avec comorbidité, générale et à présent plus jeunes). La réponse à ces vaccins et la protection qui en découle n'est cependant pas homogène. L'exposition croissante de l'Homme aux polluants environnementaux est une hypothèse pouvant expliquer ces différences. La famille des composés perfluorés (> 4000 congénères) pourrait participer à ce phénomène. **L'originalité du projet est d'abord d'étudier les relations entre exposition chimique et réponse vaccinale sur une cohorte de personnes vaccinées et caractérisées dans le détail sur le plan immunologique. S'appuyant sur les essais cliniques du projet CoviCompare, c'est une opportunité unique d'étudier les effets de l'exposition aux PFAS sur la réponse immunitaire**

à la vaccination. Par ailleurs, réalisé chez des personnes âgées vulnérables, avec un système immunitaire moins performant, il mettra en lumière plus clairement l'effet de l'exposition. Il permettra également à plus long terme de supporter des études mécanistiques et fonctionnelles sur l'impact des polluants sur la réponse immunitaire.

Questions de recherche

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

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

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

Ce projet entre dans le cadre des questions relatives aux produits chimiques. Il s'intéresse à l'impact des PFAS (auxquels l'homme peut être exposé de manière chronique, à faibles doses- ACHIM1) sur la réponse à la vaccination antiCOVID, en ciblant particulièrement une population âgée à risque (ACHIM2- PE6) issues de cohortes. Il sera aussi support à de futures études mécanistiques en lien avec l'immunotoxicité.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet, conduit dans le cadre clinique du projet CoviCompare, inclut 318 volontaires, âgés (>65 ans) et jeunes (18- 45 ans), activement suivis pendant deux ans, sans antécédents Covid chez lesquels les réponses vaccinales immunitaires antiCOVID (Pfizer ou Moderna) sont déjà bien caractérisées.

Réponse vaccinale (P1).

Les tests analytiques gérés indépendamment de ce projet par Covireivac, branche spécialisée dans les essais Covid du réseau I- REIVAC, sont effectués 4 semaines après la 1ère injection, et juste avant la 2nd (V2). Il s'agit de données primaires de la réponse vaccinale : sérologie Spike (ELISA) et du domaine d'interaction RBD (neutralisation), mesure des IgA salivaires spécifiques contre Spike et la NucléoProtéine, mesure de la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Des mesures secondaires plus complexes ont aussi été réalisées : transcriptomique et cytométrie de masse ciblant le répertoire B.

Mesure d'imprégnation (P2).

Les niveaux d'exposition de 16 PFAS (cf. Etude Esteban) seront déterminés dans 0,5 mL plasma sur les échantillons V2, justifié par la longue demi-vie d'élimination. La caractérisation des niveaux d'expositions sera réalisée par LC- MS/MS sur les marqueurs suivants : PFBA, PFPA, PFHxAn, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFBS, PFHxS, PFHpS, PFOS, PFDS, PFOSi et PFOSa.

Analyses statistiques (P2- 1). Les associations entre les niveaux d'exposition et les paramètres vaccinaux seront évaluées pour chaque marqueur considéré individuellement, à l'aide de modèles de régression linéaire (variables continues) ou logistique (variables binaires) ajustés par les variables confondantes (âge, IMC). L'hypothèse d'associations non linéaires sera ensuite testée via des modèles additifs généralisés, pour considérer une stratification des

expositions. Les effets de mélanges seront enfin considérés via des modèles de régression de type machine à noyau bayésien (BKMR) tenant compte des interactions chimiques et de la non- linéarité. Des analyses stratifiées seront menées par tranches d'âge ou type de vaccin. AOP (P3).

Malgré l'existence d'associations entre exposition et perturbation immunitaire, il existe quelques AOP (implication du récepteur à l'IL-1, lien avec l'hépatite). Une étude systématique de la littérature sera réalisée avec différents outils comme AOPHelpfinder, développé par P1, ou ToxRTool. Complétée par les données issues de ce projet, elle contribuera à construire de nouvelles AOP (voire réseaux d'AOP) sur l'immunotoxicité et à établir des liens entre PFAS et les chaînons des AOP.

Calendrier :

M1 identification et envoi des échantillons (P1)

M2-6 dosage des PFAS (P2)

M7-18 analyse stat (P1-2)

M6- 24 revue de la littérature et intégration des données du projet pour la construction d'AOP (P3)

Partenariat

INSERM – T3S - Paris

Responsable de l'équipe : M. Etienne Blanc

APHP - IREIVAC - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Odile Launay

INRAE - LABERCA - Nantes

Responsable de l'équipe : M. German Cano Sancho

Résumé CHILD_5G - 2023_RF_007

Étude déterministe et stochastique chez les enfants et les femmes enceintes exposés aux fréquences 5G

Mme Giulia Sacco

IETR- CNRS UMR6164-Université de Rennes - Rennes

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 990 € TTC

Objectif détaillé

5G exploits a large spectrum, ranging from frequencies below 1 GHz and the mid-band range (up to 6 GHz) to millimeter-wave (mm-Wave) frequencies. The adoption of the mm-Wave frequencies for mobile communications is a point of discontinuity with respect to legacy 2G/3G/4G generations. So, the 5G systems integration with current 2-4G mobile networks will change environmental radiofrequency (RF) exposure spectrum. This context raised the need to assess and analyse the possible risk of 5G frequencies on human health, particularly for potentially more sensible subjects, like children and pregnant women. It is therefore urgent to address these concerns and thoroughly assess children and pregnant women exposure before the massive deployment of 5G mm-Wave networks will start.

Until recent years, little attention has been paid to the assessment of human exposure at frequencies above 6 GHz. With 5G networks, this evolves and ICNIRP has recently updated the RF guidelines on human health protection. However, at the research level, this topic is still in an infancy phase. Preliminary data on children exposure depending on the tissue permittivity, skin thickness, and blood flow variations at 26 GHz were obtained by the project consortium members. However, an in deep exposure assessment considering realistic exposure conditions, body models, new use cases and their variability is still to be performed.

CHILD_5G project intends to fill these gaps of knowledge and to address these critical and urgent issues by assessing and characterizing children and pregnant women exposure from wireless mobile devices and access points operating at 5G mm-Wave frequencies. CHILD_5G project will develop deterministic and stochastic computational methods, to cope with the high complexity and variability of the exposure scenario, including thermal analysis. Electromagnetic (EM) and thermal analysis will be performed on human models of increasing complexity accounting for the interindividual variability (including skin thickness, humidity, physiological condition), the age dependence of the dielectric and thermal properties, and anatomy.

This multifaced approach will allow providing accurate children and pregnant women exposure assessment considering both realistic and typical 5G exposures scenario and use cases.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

CHILD_5G will address for the first time the following open questions.

- Exposure assessment in 5G bands (with particular focus to 26 GHz) and analysis of the difference in terms of EM power absorption and heat rise in adults, children, and pregnant women.
- Cumulative exposure in realistic scenarios in presence of multiple wireless devices (e.g., mobile phones, tablets, connected watches) positioned in the near- and/or far- field of the user.
- Development of deterministic and stochastic approaches for the evaluation of the power absorption and heat rise.

Questions de recherche

RFES 4.2 - Recherches sur les spécificités de l'exposition réelle des enfants et femmes enceintes aux radiofréquences en situation d'usage des dispositifs radioélectriques (tablettes, téléphones, etc.).

RFES 4.3 - Recherches 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...).

The 5th generation of wireless communications will introduce new frequency bands close to the mm-Wave range that will impact the EM exposure of the population. The first 5G devices are already commercially available and their effect on the exposure of children and pregnant women is currently unknown. CHILD_5G project aims to timely assess this important issue and anticipate future exposure of children and pregnant women when using the 5G devices before the massive deployment of 5G mm-Wave networks.

Additionally, with the development of new technologies, many wireless devices are used simultaneously, exposing the user to multiple EM sources, both in the near- and far-field. The development of deterministic and stochastic techniques proposed in CHILD_5G will be then fundamental to characterize the most typical exposure scenarios.

Description des méthodes mises en œuvre

CHILD_5G is organized in 4 work packages (WPs).

WP1: Exposure scenario identification (M 1-6)

Definition of the exposure scenarios in terms of numerical models and EM sources. Tissue models with increasing complexity (from multilayer to anatomical) and with age-dependent properties will be used to characterize the exposure and compare the absorption in children and pregnant women to adults. Plane wave sources together with reconfigurable antenna arrays (representing 5G radiating sources) will be used to simulate far- and near-field exposure. The spatial position of the sources together with their number will be defined to represent a set of selected realistic exposure scenarios.

WP2: Deterministic and stochastic dosimetry (M 6-24)

Development of deterministic and stochastic techniques for the analysis and characterization of multiple realistic exposure scenario. Based on the exposure scenario identified in WP1, WP2 aims to build surrogate models able to estimate the distribution of EM exposure quantities of interest, considering variability of the exposure scenario. Non-

intrusive approaches, i.e., the ones for which the phenomenon to approximate is seen as a “black box”, will be the privileged ones to build the surrogate models.

WP3: Thermal study (M 22-32)

In addition to the EM power deposition computed in WP2, WP3 aims to numerically analyze how the temperature rise evolves in the scenarios described in WP1 children and pregnant women, compared to for adults. Along with the geometrical and permittivity variations, this WP will also consider the evolution of thermal parameters (i.e., heat conductivity, heat capacity and blood flow) with age.

WP4: Data gathering (M 30-36)

Data generated in the framework of the CHILD_5G project will be integrated with previous analysis and made available to support follow-up research and to help the definition of the **worst-case scenarios for wireless devices’ testing**.

Partenariat

IETR-CNRS UMR 6164 - eWaves – Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Giulia Sacco

Institute of Electronic, Information Engineering and Telecommunications of the National Research Council of Italy - EMF4Health - Milano

Responsable de l'équipe : Mme Marta Parazzini

Résumé CIBOULO - 2023_EST_118

Neurotoxicité développementale des retardateurs de flamme et plastifiants esters organophosphorés dans un contexte d'exposition cumulée: approche épidémiologique

Mme Cecile Chevrier

Université de Rennes Institut de recherche en santé, environnement et travail -

Rennes

Projet complet - 36 mois

Budget : 198 230 € TTC

Objectif détaillé

Les troubles neurodéveloppementaux chez l'enfant sont largement répandus et la prévalence de certains troubles du comportement semble augmenter depuis quelques décennies (HAS 2020). Ces troubles peuvent avoir des conséquences importantes, pour l'individu en diminuant la qualité de vie, les performances scolaires, le bien-être, et pour la société avec des baisses de productivité et des enjeux sanitaires, sociétaux et économiques importants (Bellinger 2012; Bellanger 2015).

Un nombre croissant de preuves indique que l'exposition aux substances chimiques neurotoxiques, en particulier lors du développement fœtal et post-natal de l'enfant, est un facteur de risque dans l'apparition de ces troubles et l'évolution de leur prévalence (Grandjean and Landrigan 2014). L'exposition au mercure, au plomb, et plus récemment aux insecticides organophosphorés, sont des exemples de cette neurotoxicité développementale, induisant par exemple une diminution du Quotient Intellectuel (QI) et des modifications de comportement chez les enfants.

Des mesures de prévention ont permis de réduire les expositions à ces composés. Cependant, malgré la réglementation des substances chimiques en Europe, il existe encore des lacunes dans les tests de neurotoxicité développementale avant la mise sur le marché des produits. Un grand nombre de substances ont ainsi été introduites et sont largement diffusées et présentes dans nos environnements (Grandjean and Landrigan 2014). Les esters organophosphorés (EOP) sont fabriqués à grande échelle depuis plusieurs décennies ; ils sont utilisés comme retardateurs de flamme et plastifiants dans les équipements électroniques, les plastiques, les colles, les vernis, les tissus d'ameublement, etc. Ils sont généralement peu liés chimiquement aux produits, sont semi-volatiles et donc relargués abondamment dans les environnements intérieurs (Chupeau et al., 2020). L'objectif de ce projet est d'évaluer le rôle de l'exposition prénatale aux EOP sur le développement cognitif et le comportement de l'enfant à partir d'une cohorte mères-enfants existante en population générale française. Le projet bénéficiera de l'évaluation neuropsychologique détaillée déjà réalisée auprès d'enfants de la cohorte – suivi qui a déjà démontré sa capacité à évaluer la neurotoxicité développementale d'autres contaminants

environnementaux (Viel 2015, Chevrier 2016, Cartier 2016, Béranger 2017) – et de mesures robustes d'exposition prénatale par biomarqueurs à un grand nombre d'autres neurotoxiques potentiels déjà disponibles (métaux, PCB, retardateurs de flammes bromés, insecticides organochlorés et organophosphorés, pyréthriinoïdes,...) permettant une évaluation des risques tenant compte des co-expositions.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Un travail récent mené par notre équipe a montré que les femmes enceintes et les enfants âgés de 3,5 ans de la population française de 2011 étaient tous exposés aux EOP (Chupeau et al., 2022). Or la question d'un effet neurotoxique des EOP pendant la grossesse et/ou l'enfance peut être posée pour différentes raisons : leurs structures chimiques sont parfois proches de celles des insecticides organophosphorés ; des études animales et in vitro confirment, pour certains EOP, un potentiel de neurotoxicité développementale incluant des mécanismes de perturbations neuroendocriniennes (Patisaul 2021) ; quelques études épidémiologiques mais pas toutes, pour majorité nord-américaines, ont suggéré récemment une atteinte possible de certains EOP sur les performances cognitives et le comportement du jeune enfant (Zhao 2022). Il apparaît donc décisif et urgent d'évaluer la neurotoxicité développementale de ces composés EOP imprégnant aujourd'hui les femmes enceintes et les enfants en France.

Questions de recherche

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

ACHIM 3.1 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail et en population générale, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, relationnelles, organisationnelles...).

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...). Détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

Ce projet se rattache à trois questions de recherche : la caractérisation des expositions à des substances chimiques pour lesquels des mécanismes de perturbation endocrinienne sont identifiés (ACHIM2 et PE6), l'étude de leurs impacts sur la santé en population générale (ACHIM2), en particulier les femmes enceintes et les enfants (PE6), incluant la prise en compte des expositions multiples et leur cumul (ACHIM 3.1).

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet s'appuie sur le suivi longitudinal de mères et leurs enfants de la cohorte PELAGIE mise en place en 2002 à l'Inserm Irset U1085 (<https://www.pelagie-inserm.fr/>). Les femmes ont été incluses pendant la grossesse et ont fourni diverses données et prélèvements biologiques, dans lesquels ont été dosées diverses substances chimiques. A l'âge de 6 ans des enfants, un suivi explorant les performances intellectuelles à travers deux batteries de tests

standardisés (WISC (QI), NEPSY) et les troubles comportementaux (SDQ) des enfants a été mis en place à domicile avec l'aide de psychologues. Un grand nombre d'autres données potentiellement liées à ces capacités neuropsychologiques a également été collecté depuis la grossesse jusqu'aux 6 ans des enfants (e.g. âge de la mère, allaitement, niveaux socioéconomiques individuel et contextuel, habitat rural/urbain, échelle HOME de stimulation familiale, etc.). Un total de 287 familles a participé à ce suivi.

Ce projet prévoit la mesure de l'exposition aux EOP et à des métaux à partir des mèches de cheveux maternels collectées à la naissance. Ces mesures seront réalisées par le laboratoire LERES, partenaire de ce projet, qui a spécifiquement développé une méthode analytique pour le dosage simultané d'une quinzaine d'EOP opérationnelle pour le présent projet (Chupeau et al. 2022) et qui est également spécialisé dans le dosage de multiples métaux (Mois 1-12).

L'impact de l'exposition aux EOP sur le développement neuropsychologique de l'enfant sera évalué grâce à des modèles de régression (linéaire ou spline), tenant compte des facteurs de confusion et des co-expositions à d'autres neurotoxiques suspectés. Des modèles multi-polluants (e.g. BKMR, DSA, Elastic Net, WQS) seront envisagés selon la force des corrélations entre les co-expositions (Maitre 2022).

Nous proposons également d'évaluer l'impact cumulé au niveau populationnel des neurotoxiques sur les points de QI, à travers des techniques de scoring et/ou de clusterings (profils). Dans ce cadre, le capital économique et socioculturel ne sera plus considéré comme facteur de confusion mais comme un déterminant primordial, qui a pu influencer les expositions et comportement en aval (Vineis and Barouki, 2022). L'ensemble de ces analyses (Mois 13-36) aboutiront à plusieurs valorisations scientifiques.

Partenariat

INSERM – Irset – Inserm UMR 1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Cecile Chevrier

EHESP - LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Le Bot

Caractérisation de L'Exposition Aux Rayonnements électromagnétiques de l'Individu Selon des Usages réalistes

Mme Marylène Cueille

Unviersité de Nice LEAT, UMR 7248 - Sophia Antipolis

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 680 € TTC

Objectif détaillé

Avec l'évolution constante des nouvelles technologies, les usages changent. Ainsi, alors que le téléphone était tenu à l'oreille il y a encore quelques années il est maintenant placé devant la bouche lors des communications, les oreillettes Bluetooth sont de plus en plus utilisées, l'âge de l'utilisateur diminue, le temps d'exposition augmente et les bandes de fréquence utilisées sont plus hautes (5G). De plus, l'augmentation significative du nombre d'objets connectés donne lieu à un cumul d'exposition correspondant aux différentes technologies émettant simultanément. Aussi, les bancs de test et les outils de simulation doivent être adaptés pour pouvoir prendre en compte les caractéristiques des différentes sources et cibles dans des cas d'usages actualisés notamment l'utilisation du téléphone par le jeune public.

Ce projet vise à faire une étude paramétrique de grande envergure en quantifiant l'exposition de personnes par le biais de simulations et de mesures. L'analyse dosimétrique tiendra compte de la variabilité des paramètres environnants comme les caractéristiques des sources (position/orientation par rapport aux individus, forme d'onde, fréquence, puissance d'émission) et des différentes morphologies (taille, poids, sexe, âge, enceinte ou non, posture).

Le LEAT possède une expertise de la méthode TLM à travers un code de calcul parallèle adapté à la dosimétrie numérique dans des milieux fortement hétérogènes comme le corps humain. Il permettra d'estimer les niveaux de champs, de DAS, de densité de puissance (DP) et de température dans les modèles réalistes voxélisés de la virtual family d'IT'IS. La plateforme de mesure ART-MAN développée par ART-Fi permet d'avoir un accès complet aux caractéristiques des signaux émis par les dispositifs connectés notamment l'amplitude, la phase, les variations temporelles ainsi que les variations fréquentielles. Ces grandeurs permettent de générer, à partir d'un ensemble de mesures réalisées sur le dispositif sous test, un modèle de sources équivalentes ayant le même comportement électromagnétique que celui du dispositif. Ces sources équivalentes permettent d'avoir une description fidèle du comportement du dispositif sous test qui ne peut être obtenue à travers des approches de simulation pure. En effet, il est rarement possible d'avoir accès au modèle détaillé du dispositif communiquant permettant d'avoir une modélisation précise de son comportement électromagnétique.

Dans le contexte des émissions multiples, la technologie de la plateforme ART-MAN permet de tester les dispositifs sous test dans leurs conditions réelles d'usage. Elle permettra de mettre en évidence l'impact de ce contributeur sur l'incertitude de la mesure de l'exposition cumulée.

La plateforme de mesure ART-MAN servira à valider, par la mesure des scénarios canoniques, les approches de calcul développées et implémentées à travers la méthode TLM.

Ainsi le projet devrait permettre la mise à disposition d'une base de données dosimétriques pour aider à répondre aux interrogations sur les limites d'exposition réglementaires et sur la pertinence des valeurs de référence. Une attention particulière sera portée aux spécificités morphologiques, anatomiques et à la nature des tissus lors d'expositions localisées ainsi qu'à la pénétration d'ondes millimétriques au niveau de la tête comme les conduits auditifs et oculaires.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet réside dans la double caractérisation numérique et expérimentale de l'exposition de cas réalistes sur diverses catégories d'individus dans une large bande de fréquence 4G/5G. Il vise à estimer les niveaux de champs, de DAS, de densité de puissance et de température en faisant varier des paramètres tels que les sources, la localisation/position des dispositifs (téléphone, oreillettes...), la morphologie et la nature des tissus afin de créer une base de données fiables grâce :

- A l'utilisation du code multiphysique du LEAT (qui s'appuie sur les calculateurs haute performance des centres nationaux) pour prendre en compte les diverses sources, la complexité et l'hétérogénéité des milieux.
- A l'utilisation de la plateforme de mesure ART-MAN afin de générer des modèles de sources équivalentes permettant d'avoir une description fidèle du dispositif sous test dans le code multiphysique du LEAT.
- A la mise en place de protocoles de mesures d'exposition cumulée pour compléter les normes dosimétriques actuelles en s'appuyant sur une campagne de mesure comparative sur ART-MAN.

Questions de recherche

RFES 4.1 - Recherches sur les protocoles de mesure de l'exposition dans les bandes 3,5 GHz et 26 GHz notamment, pour les technologies associées (5G, antennes actives, petites cellules, etc...), et en situation d'usages réalistes.

RFES 4.2 - Recherches sur les spécificités de l'exposition réelle des enfants et femmes enceintes aux radiofréquences en situation d'usage des dispositifs radioélectriques (tablettes, téléphones, etc.).

RFES 4.3 - Recherches 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...).

L'estimation des niveaux de champs dans les milieux humains nécessitent des moyens expérimentaux et numériques pour pouvoir prendre en compte la structure des sources et la grande hétérogénéité des tissus. Le code TLM permet d'éviter le lissage de maillage contrairement aux autres techniques de type FDTD. Il intègre un module permettant de faire du maillage par bloc pour discrétiser plus finement certaines parties sensibles comme les

yeux ou les oreilles et offre une solution inconditionnellement stable pour le calcul de l'élévation de température.

L'approche consistant à introduire des mesures dans le code numérique du LEAT permettra d'aboutir à une mise à jour des normes d'évaluation de l'exposition à travers les méthodes numériques en combinant la description précise du dispositif sous test par la mesure et la simulation de scénarios réalistes complexes à mesurer.

Dans le contexte d'émissions simultanées, la campagne de mesures comparatives servira à mettre à jour le protocole d'évaluation de l'exposition cumulée en tenant compte de l'impact de l'état de fonctionnement du dispositif sous test sur l'incertitude de mesure.

Les outils et les données du projet contribueront à apporter de nouvelles connaissances sur l'exposition de l'individu pour permettre d'adapter les méthodologies de mesure et l'évaluation de l'exposition.

Description des méthodes mises en œuvre

La durée du projet est de 36 mois.

- t0 à t0+2 : Études des cas d'usage au vu des études déjà menées (EXPO ENFANT...) et mise en place d'un protocole définissant les paramètres à étudier.
- t0+2 à t0+4 : Calibration Simulation + Mesure sur un cas test bien référencé (à 900MHz, téléphone à l'oreille)
- t0+6 à t0+30 : Études des cas en fonction de divers paramètres : nature des tissus, localisation et position du téléphone, exposition à une onde plane à diverses fréquences...
- t0+30 à t0+36 : Mise en place de la base de données des résultats de simulation et mesures.

Partenariat

LEAT-Ondes/Vivant LEAT – Sophia Antipolis

Responsable de l'équipe : Mme Marylène Cueille

ART-Fi – Orsay

Responsable de l'équipe : M. Stéphane Pannetrat

Résumé COMBO - 2023_EST_033

Combinaison de la métabolomique et du machine learning pour identifier les facteurs environnementaux conditionnant l'hétérogénéité spatiale des métabolomes microbiens au sein des biofilms aquatiques

M. Nicolas Creusot
INRAE - Cestas

Projet complet - 30 mois
Budget : 172 625 € TTC

Objectif détaillé

Given the need to improve the environmental realism of microbial ecotoxicology, this project aims to gain a better insight into the spatial heterogeneity of the aquatic biofilm metabolome assembly under various environmental conditions through the implementation of predictive meta-metabolomics approach. To this end, following the collection of autochthonous biofilm from sites with diverse chemical and ecological quality statuses according to the Water Framework Directive (WFD) criteria, the metabolome (i.e. microbial activity) of these microbial communities will be characterised by an untargeted approach based on high-resolution mass spectrometry (HRMS). The collected data will be used to apply meta-community ecology metrics and tools (α -diversity and β -diversity assessment), and further perform machine learning predictions in order to identify features or groups of features as predictors of specific environmental conditions and water quality indices. This would allow the identification of the leading ecological drivers of meta-metabolome assemblage and the part of the metabolome that is sensitive to confounding factors of the chemical stress. This knowledge will allow the translation of metabolomic responses of periphytic microbial communities to chemical stress under controlled conditions into real applications for biomonitoring purposes. More specifically, this project aims to address the following questions: Q1. How microbial metabolomes are assembled in periphytic communities under various water ecological and chemical status? Q2. What are the main environmental driving forces of meta-metabolome assemblage that contribute to its spatial heterogeneity?

Originalité et/ou caractère novateur du projet

To our knowledge, COMBO is the first project to implement such an innovative and original approach combining meta-metabolomics with predictive top-down modelling to uncover spatial heterogeneity of periphyton meta-metabolome assemblage. The better characterization of microbial metabolome assemblage according to environmental parameters and its biodiversity will support better understanding of their metabolic adaptation as well as the development of prediction of microbial activity (meta-

metabolome) in the context of global changes. Regarding microbial ecotoxicology, the identification of part of the metabolome that are determined by environmental factors (as confounding factors) would be very helpful to prioritize towards relevant metabolites (i.e. potential biomarkers) and associated pathways regarding chemical stress. Overall, this project is the first step prior the implementation of more ambitious ones at the national and European level at larger spatial and temporal scale integrating more descriptors covering complementary biofilm components (e.g. heterotrophs) and functions (e.g. OM decomposition). Such ambitious project will aim to provide a full understanding of the spatial and temporal heterogeneity of meta-metabolome assemblage towards the development of metabolomics based-biomonitoring methods and predictive models of ecosystem functions and associated services (biogeochemical cycles, bioremediation) in the context of global changes. Beyond the microbial world, this project will contribute to promote the use of this approach in ecology and ecotoxicology to gain knowledge about metabolic acclimation and adaptation mechanisms to the global changes in various organisms.

Questions de recherche

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

ACHIM 4 - Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques, développement de biomarqueurs d'exposition et d'effets, détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

CCLIM 1.5 - Impacts du changement climatique sur la santé humaine, incluant les impacts sur la santé mentale , et des écosystèmes : développement d'outils de mesure et développement d'indicateurs.

Through the implementation of field investigations, COMBO will contribute to gain knowledge about the combined effect of environmental stressors including mixture of micropollutants on microbial communities that play a major role in ecosystem services (ACHIM1). Moreover, this project will support the discovery of molecular biomarkers at the community level allowing the detection and even prediction of the impairment of ecological functions and associated ecosystem services. (ACHIM 4). Finally, beyond the chemical stress, COMBO will provide evidence about the impact of other environmental changes on microbial communities (CCLIM 1.5).

Description des méthodes mises en œuvre

The project COMBO will be organised in 2 tasks aiming to address Q1 and Q2, respectively. Task 1 will be implemented by ECOVEA during the first year. It will consist of the functional and structural characterisation of periphytic communities at 100 WFD stations corresponding to various ecological/chemical statuses for which physico-chemical/hydrobiological data are available (e.g. Naiades DB). To do so, the first step (M1-M4) will consist to select the sites to be investigated to provide statistical significance to the further prediction. Then (M5-M6), biofilms will be collected from rocks (4 replicates/site) at 75 sites to develop and then at 25 sites to validate the prediction in task 2. In addition, at 10 selected sites, biofilm will be colonised on a glass slide for one month (4 replicates/site) in order to compare the response with autochthonous communities regarding the maturation stage of the biofilm and its structure. In total, 440 biofilms samples will be investigated (M7-

M12) for global biomass (targeted assays at META), photosynthetic yield assessment (PhytoPAM), microbial diversity (i.e. Metabarcoding) and metabolome assemblage by using HRMS-based untargeted approach following robotised ethanolic extraction. Beyond metabolites annotation, α and β diversity analysis and ecological null modelling will be apply to the metabolomics dataset to uncover metabolome assemblage mechanisms (i.e. deterministic vs stochastic).

Task 2 will be implemented by META during the second year. It will consist in the processing of the metabolomics data obtained and gathered from task 1 to perform predictive top-down modelling. The models will combine (1) targeted and untargeted metabolic profiles with (2) phenotypic traits (e.g. the photosynthetic yield and the physico-chemical/hydrobiological measurements and overall ecological and chemical quality). Mathematical models will be developed based on a range of statistical tools such as GLM and partial least square analysis predicting phenotypic traits, which help generate models through feature selection and data reduction. Integrative multivariate statistics (e.g. principal component analysis, clustering approaches, and discriminant analysis) will also be used to describe metabolic changes at the community level. Data will be made publicly available through DataGouv following the FAIR principles after being validated using an independent repeat of the experimental set-up.

Partenariat

INRAE – UR1454 – EABX - ECOVEA - Cestas

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Creusot

Université de Bordeaux – UMR13337 – BFP – META - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. Pierre Pétriacq

Intérêt du Ménag'Score® pour identifier les produits de nettoyage ayant un impact délétère sur la santé respiratoire au travail

Mme Nicole Le Moual
Inserm U1168 - CESP - Villejuif

Etude de faisabilité - 24 mois
Budget : 49 994 € TTC

Objectif détaillé

Cette étude de faisabilité a pour objectif d'évaluer l'intérêt en santé au travail du Ménag'Score® (score variant de A à E), un outil d'information sur la toxicité des produits de nettoyage et de désinfection (PND).

L'objectif principal est d'évaluer les associations entre les PND de mauvais Ménag'Score®-santé (D ou E) et la santé respiratoire des personnels de crèches.

Un objectif secondaire est d'évaluer l'intérêt d'un indicateur plus simple de l'exposition et pertinent en santé respiratoire, par l'étude des associations entre le nombre de composants sensibilisants et irritants, identifiés dans les PND lors de l'attribution d'un Ménag'score®, et la santé respiratoire des personnels.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'usage de PND au travail est un facteur de risque établi de l'asthme professionnel mais les composés spécifiquement en cause sont mal connus. La crèche est un lieu de travail où l'exposition aux PND est élevée mais aucune étude à ce jour n'a évalué leur impact sur la santé respiratoire des personnels.

Les PND sont des mélanges complexes d'ingrédients, potentiellement irritants et sensibilisants, pouvant induire un asthme par des mécanismes restant à clarifier. Les études existantes ont évalué l'effet des sprays, d'irritants et d'un petit nombre d'ingrédients spécifiques, mais les connaissances actuelles ne permettent pas de formuler des recommandations de PND à faible risque pour la santé. La connaissance de la composition complète des ingrédients des PND pourrait le permettre.

L'Institut National de la Consommation (INC) a mis en place un Ménag'score® pour évaluer le niveau de toxicité, tant environnementale que sanitaire, des PND à partir de leur liste exhaustive d'ingrédients. Pour la première fois dans la littérature, nos équipes ont mis en évidence une association entre l'usage hebdomadaire à domicile de PND avec un mauvais Ménag'score®-santé (D/E) et des symptômes d'asthme plus fréquents chez 100 femmes françaises [Lemire et al 2022]. L'intérêt de cet outil pour l'usage de PND sur le lieu de travail n'a jamais été évalué.

L'originalité de ce projet sera d'évaluer l'intérêt en santé publique du Ménag'Score® dans le contexte professionnel, dans une étude épidémiologique auprès de personnels de crèche.

Ce projet est en cohérence avec une mesure phare du PNSE4 qui souligne le besoin d'une meilleure information des consommateurs et la création d'un score de toxicité des PND.

Questions de recherche

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

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

SHS 4 - Recherche sur l'efficacité, les impacts et enjeux des dispositifs d'information et de communication sur les risques sanitaires et environnementaux, notamment des dispositifs incitatifs (labels, scoring, etc.) , et des dispositifs de prévention des risques (recommandations sanitaires pour réduire les expositions, consultation en pathologies environnementales, des dispositifs de surveillance des pathologies et de vigilance des effets indésirables...) prenant en compte les éventuelles controverses liées à ces instruments.

Le projet satisfait aux questions 'ACHIM 1' et 'ACHIM 2' par une meilleure caractérisation des profils de PND par (a) un score toxicologique élevé [Ménag'Score® D ou E], (b) un nombre d'ingrédients irritants et sensibilisants, et par l'évaluation de leurs impacts sur la santé respiratoire des personnels de crèches ; 'SHS 4' par l'évaluation de l'intérêt du Ménag'Score® en tant qu'outil de santé publique en comparant notamment l'impact sanitaire selon ces 2 types de caractérisation des PND.

Description des méthodes mises en œuvre

Ces travaux seront réalisés dans le contexte de la cohorte CRESPI (<https://crespi.vjf.inserm.fr/>) dont l'objectif est d'étudier l'impact des PND sur la santé respiratoire des enfants et personnels, recrutés dans les 108 crèches en Ile-de-France (PNR-EST-2017-1-101). La cohorte CRESPI bénéficie de technologies innovantes, via notamment une application Smartphone, pour évaluer l'exposition aux PND en crèche. Un questionnaire standardisé complété par les participants à l'inclusion informe notamment sur l'usage de PND à domicile et sur la santé respiratoire.

Des données détaillées, notamment sur l'exposition professionnelle et la santé respiratoire, sont disponibles pour les 335 personnels qui ont participé à l'étude CRESPI. L'application smartphone a permis de scanner 5437 PND [861 PND uniques] auprès des personnels présents le jour de la visite en crèches. Une base de données avec une liste des ingrédients de ces PND est actuellement disponible.

Un Ménag'Score® global et deux spécifiques (santé, environnement) seront attribués aux PND utilisés en crèche. Par ingrédient, un niveau de danger santé et environnement est évalué à partir de toutes les notifications figurant dans l'inventaire des classifications des substances de l'ECHA (<https://echa.europa.eu/fr>) conformément au règlement européen REACH. Le niveau maximal de danger pour la santé et l'environnement est retenu par ingrédient puis pondéré notamment selon sa position dans la liste (ordre décroissant de concentration) et la catégorie de PND. L'algorithme utilisé permet, notamment après prise en compte d'effets cumulatifs et pondération sur la santé (70%) et l'environnement (30%), d'attribuer un Ménag'Score® par une approche de risque toxicologique. De plus, l'INC fournira par PND le nombre et le type d'ingrédients aux propriétés irritante et sensibilisante,

ces informations étant prises en compte dans l'algorithme de calcul du Ménag'Score®. Cette demande de financement propose de a/ Calculer, pour l'ensemble des PND, les Ménag'Score® (global, santé, environnement) et le nombre d'ingrédients irritants et sensibilisants [INC, mars 2024]; b/ Réaliser les analyses statistiques [Inserm, 2024-2025] répondant aux 2 objectifs. Nous faisons l'hypothèse que l'usage de PND de (1) Ménag'Score®-santé D/E et (2) avec un nombre élevé d'ingrédients irritants/sensibilisants est associé à une santé respiratoire dégradée, comme suggéré dans le contexte d'un usage à domicile [Lemire et al 2022]. L'intérêt de ce score directif sera discuté et la vérification de ces hypothèses serait un argument en faveur de l'intérêt d'un score toxicologique sur les emballages de PND pour informer les utilisateurs de leur toxicité.

Partenariat

Inserm U1018/CESP - **Équipe d'épidémiologie** respiratoire intégrative – Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Le Moual

INC - Institut National de la Consommation – **Centre d'essais comparatifs**

Responsable de l'équipe : M. Emmanuel Chevallier

Résumé CRYONOV - 2023_EST_104

Optimisation du Bioessai embryolaire Copépodes (BASIC) par la **CRYoconservation des œufs d' Eurytemora affinis : première étape vers le développement d'un NOuVeau kit «clé en main» d'évaluation de la toxicité de composés chimiques en milieu estuarien**

Mme Joëlle Forget-Leray
Université du Havre- LEMA ST2 - Le Havre

Etude de faisabilité - 24 mois
Budget : 50 000 € TTC

Objectif détaillé

La mise en œuvre de la DCE, DCSMM et REACH nécessite l'utilisation d'outils de bioévaluation de l'impact des contaminations sur les organismes inféodés aux milieux aquatiques. L'objectif de ce projet de faisabilité est (i) de finir de mettre au point la cryoconservation des œufs du copépode *Eurytemora affinis*, représentatif des estuaires de l'hémisphère Nord,(ii) d'évaluer la sensibilité de la réponse à des contaminants (Lithium et Benzo(a)Pyrène) à l'aide du bioessai embryolaire-Copépodes (BASIC) par rapport aux tests commerciaux existants et (iii) à terme déposer un projet de maturation pour développer un kit «clé en main» d'évaluation de la toxicité de composés chimiques en milieu estuarien utile aux gestionnaires de l'environnement et aux industriels. ce projet permettra d'optimiser et d'accélérer le développement du test BASIC, et apportera des connaissances inédites sur la cryoconservation des œufs.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le projet CRYONOV est innovant par (i) son approche cryoconservation des oeufs d' *E. affinis* issus de populations sauvages d'estuaire de Seine (ii) la disponibilité des oeufs toute l'année, indépendamment du cycle de reproduction saisonnier, pour réaliser le test BASIC et (iii) le développement par la suite d'un kit clé en mains adapté aux zones de transition. La cryopréservation des gamètes, embryons et larves de vertébrés marins a fait l'objet de nombreuses études (Campos et al, 2020). À ce jour, il n'existe pas à notre connaissance de publications sur la cryoconservation des œufs d' *E. affinis*, des études sur les invertébrés marins, étoiles de mer, huîtres et moules bleues sont disponibles (Liu et al, 2015 ;Tervit et al, 2005). Un projet Recherche d'Intérêt Normand (CRYOCOP) a déjà permis d'évaluer la toxicité de cryoprotectants (DMSO, Éthylène Glycol) et tester différents protocoles de cryocongelation (temps d'incubation, cinétique de congélation). Le test BASIC développé au laboratoire SEBIO (Lesueur et al, 2013,2015) permet d'évaluer à la fois la toxicité aiguë (taux de survie) et chronique (taux de croissance) de contaminants chimiques ou matrices environnementales sur les stades naupliens (N1 à N6) d' *E. affinis*, une espèce de choix en

écotoxicologie. Les caractéristiques de cette espèce sont particulièrement adaptée aux manipulations en laboratoire: taille réduite (1mm), dimorphisme sexuel, cycle de vie court (21 jours, stade nauplien, copépodite et adulte) bien caractérisé avec notamment des œufs portés par les femelles fécondées dans des sacs externes permettant ainsi la maîtrise de l'étape de la ponte. A notre connaissance, aucun kit de toxicité aiguë ou chronique développé chez une espèce de crustacé (i) estuarien endémique d'Europe (et notamment le copépode même si des normes AFNOR existent (ISO14669 1999 - ISO16778 2015 - ISO/DTS 18220)), et (ii) d'habitat pélagique (colonne d'eau) n'est à l'heure actuelle disponible. Le choix des contaminants étudiés s'est porté vers deux contaminants différents : le benzo[a]pyrene et le Lithium. Le BaP est considéré comme un Polluant Organique Persistant, largement retrouvé dans les estuaires et dont les effets sur la survie et la croissance des nauplii E. affinis sont connus (Leseur et al, 2015, Tian et al, 2017) tandis que le Li est un contaminant émergent peu renseigné sur sa toxicité et dont les concentrations environnementales sont amenées à croître dans les années à venir. Ce projet pourrait servir de base pour développer une CryoBank d'œufs de copépodes (à disposition de la communauté scientifique) nécessaire au développement d'un kit commercial BASIC (projet de maturation à envisager avec Normandie Valorisation).

Questions de recherche

ACHIM 3.2 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : 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. Etude des effets synergiques et antagonistes des substances en mélanges.

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

Le projet CRYONOV répond aux questions de recherche posées par le programme ANSES/EST(2023) autour des Agents chimiques : (ACHIM6) Pertinence du test BASIC pour déterminer la toxicité de substances chimiques (Valeurs écotoxicologiques de référence) en conditions contrôlées pendant les 4 premiers jours du développement larvaire (fenêtre d'exposition sensible); (ACHIM 3.2) Développement dans un futur proche d'un kit permettant de déterminer des effets létaux synergiques et antagonistes des substances chimiques en mélange. Différents acteurs sont aujourd'hui concernés par l'évaluation de la toxicité de matrices environnementales (sédiment, eau): les industriels ont obligation de contrôler leurs rejets, les ports (devenir des sédiments de dragage, qualité de l'eau des bassins) ou les stations d'épuration (effluents) ont également besoin d'évaluer leur impact sur l'environnement, et différents organismes publics tels que les Agences de l'Eau et l'OFB seront intéressés à utiliser des bioessais pour évaluer l'état de santé des milieux estuariens. Ce projet constituera une brique de plus pour permettre le développement à l'avenir de bioessai de toxicité à partir de souches sauvages, moins soumises à la dérive génétique des individus testés et plus représentatives du milieu naturel, que les souches laboratoire souvent coûteuses en énergie et temps pour leur maintien sur la durée.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet CRYONOV s'articulera en quatre tâches:

Tâche 1 : Validation du protocole de cryoconservation des œufs du copépode (Année 1/0-6 mois): Détermination des conditions optimum de cryoconservation des oeufs (% cryoprotectants, cinétique de congélation, digestion du sac ovigère) en fonction du (i) taux de viabilité des œufs en pré et postcryocongélation à l'aide d'un marquage fluorescent (ToPro) pour mesurer de l'intégrité de la membrane cellulaire (Gorokhova et al, 2010) et (ii) succès d'éclosion des œufs avant et après cryoconservation.

Tâche 2 : Optimisation du BASIC sur 96h et détermination de CL50 et CE50 (Année 1/6 mois)

Les expositions au Li et BaP seront menés sur des nauplii, isolés à partir de ponte de femelles ovigères d'une part et d'autre part d'oeufs cryoconservés, à des concentrations environnementales (0,5 X, 1X, 5X, 10X, 25X X=dose environnementale). Chaque condition d'exposition sera effectué en triplica plus un témoin, la mortalité évaluée à 48h et 96h et la croissance et le stade nauplien (N1 à N6) déterminés à 96h à l'aide d'un logiciel d'acquisition d'image sous loupe binoculaire.

Tâche 3 : Utilisation du kit commercial ARTOXKIT M avec l'espèce A. franciscana dans les mêmes conditions d'exposition que le test BASIC (Année 2/3 mois)

Tâche 4 : Analyse des résultats et rédaction de publications (Année 2/3 mois)

Côté finances en K€: CDD 12 m IE (36), Consommables (8), Missions (2,5), Indemnités M2 (3,5)

Partenariat

ULHN - SEBIO - Le Havre

Responsable de l'équipe : Mme Joëlle Forget-Leray

Développements en chimie analytique pour l'analyse multi-omique chez une espèce sentinelle : preuve de concept et démonstration de l'intérêt dans le cas des perturbateurs endocriniens

M. Arnaud Salvador

Université Claude Bernard Lyon 1 Institut des Sciences Analytiques - Villeurbanne

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 920 € TTC

Objectif détaillé

La protection des écosystèmes passe par le développement de méthodes d'essais spécifiques tant pour la détection de contaminants que par la mesure de leurs effets grâce aux « omiques ». Les analyses protéo-, métabo- et lipidomique permettent aujourd'hui de développer une vision systémique de la biologie d'espèces sentinelles des milieux aquatiques, comme le crustacé d'eau douce *Gammarus fossarum* (GF). Cependant, chaque omique est aujourd'hui considérée individuellement. Ainsi, les relations et les liens de causalité entre les classes de molécules ont peu de chance d'être révélés, puisque les profils moléculaires de chaque omique sont issus d'expériences, de laboratoires et/ou d'échantillons différents. Une vision holistique impose une analyse à partir d'un même échantillon. Récemment, nous avons montré qu'une telle préparation d'échantillon était possible sur organisme entier. Cependant ces mesures « diluent » et rendent moins mesurables les modulations dont l'expression est spécifique d'un organe ou d'un tissu. Dans le cadre de ce projet, nous nous focaliserons sur les cæcums hépatopancréatiques, lieux de nombreuses réactions biochimiques. Compte tenu de la taille de GF (20 mm) cela constitue un défi analytique pour une description des liens entre omiques. Pour relever ce défi, nous proposons de développer et d'appliquer une approche multi-omique comprenant (1) le développement d'une technologie MS innovante multiplexée et une préparation d'échantillon optimisée pour la multi-omique à partir du même échantillon (2) une stratégie d'analyse intégrative des données multi-omiques basée sur des statistiques multivariées et des méthodes de réseaux pour identifier les signatures multi-omiques. (3) Une preuve de concept en exposant des GF avec des perturbateurs endocriniens (PE) reconnus afin d'évaluer le niveau d'information supplémentaire apportée par le flux de travail mis en place. Flux qui sera transposable à d'autres organes et espèces.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Bien qu'il a été démontré dans les études de biologie systémique que l'intégration de multiples mesures omiques fournissait une vision plus complète et plus informative des voies biologiques, les méthodologies analytiques pour l'acquisition simultanée de ces données à partir d'un échantillon unique sont quasi inexistantes. Cette intégration se fait au niveau du traitement de données à partir d'informations acquises omique par omique par des

laboratoires et sur des d'échantillons différents. Outre l'aspect économique de multiplier les expérimentations et le nombres d'échantillons à analyser, la variabilité biologique entre les échantillons, liée à la variabilité entre les individus constitue une limite pour décrire et comprendre les liens entre ces échelles biologiques en introduisant différents niveaux de bruits statistiques. L'un des moyens de réduire ce bruit est de réaliser toutes les omiques à partir d'un unique échantillon. Ainsi nous proposons un changement fondamental dans la conception des études multi-omiques. L'expertise des différentes omiques au sein de l'ISA permet d'envisager un tel développement et de proposer de nouveaux outils analytiques pour les biologistes. Pour faire la preuve de concept, nous proposons de nous focaliser sur le métabolisme hormonal de GF pour répondre à terme au développement de biomarqueurs de PE. Nos partenaires de INRAE sont des experts de cette espèce en écotoxicologie et nous disposons de données préalables sur le protéo-, lipido- et métabolome. Cependant l'acquisition simultanée de toutes les données à partir d'un organe de petite taille et d'une même exposition est une véritable innovation. Enfin, le flux de travail « workflow » développé pourra être extrapolé à d'autres espèces et/ou organes.

Questions de recherche

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

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

ACHIM 4 - Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques, développement de biomarqueurs d'exposition et d'effets, détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

Le projet proposé s'inscrit dans plusieurs questions de recherche : notamment ACHIM1 et 4. Il vise à développer une approche analytique permettant de mesurer simultanément la réponse protéo-, lipido- et métabolomique d'un organisme exposé à une contamination. Cette approche doit permettre d'identifier les mécanismes de toxicité et de proposer à terme de nouveaux biomarqueurs d'exposition et d'effet chez une espèce sentinelle reconnue pour la surveillance des milieux. Cette proposition s'inscrit également dans la question PE5 puisque c'est le cadre de la perturbation endocrinienne en lien avec la reproduction qui est choisi pour faire la preuve de concept du développement analytique proposé.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1 : Méthodes d'acquisitions MS et optimisation des extractions

Du fait de sa sensibilité, sélectivité et reproductibilité nous proposons une acquisition des données omiques en mode ciblé. En effet, nous avons proposé récemment un nouveau mode d'acquisition MS « Scout-MRM » qui permet de suivre plusieurs milliers de transitions. La première étape sera de construire une méthode de quantification de plusieurs centaines de protéines à partir du protéome du caecum disponible. Nous avons des méthodes d'acquisitions pour le lipido- et métabolome chez GF qui représentent 63 voies biologiques différentes. Nous allons les enrichir par l'intégration des familles des ecdystéroïdes et des hormones juvéniles. Ces méthodes permettront d'optimiser les conditions d'extraction à partir d'un ou plusieurs caeca.

WP2 : Approches statistiques pour intégrer l'ensemble des données

La mise en place d'une stratégie d'apprentissage automatique comprenant l'analyse intégrative des données multi-omiques basée sur des approches de statistiques multivariées (t-sne, Analyse multiblock ...) et de réseaux moléculaires, aidera à identifier la signature (métabolites protéines ...) et permettra de discriminer les effets individuels ou en mélanges des PE.

WP3 : Preuves de concept après exposition à des PE

Les GF seront exposés à deux perturbateurs endocriniens (tributylétain et fenoxycarbe) séparément et en mélange afin d'évaluer les effets cocktails. L'approche multi-omique sera comparée aux approches omiques classiques multi individus \ expériences. Après traitement statistique les résultats seront comparés afin d'identifier les bénéfices et limites de l'approche.

Partenariat

Université Lyon 1 - Institut des Sciences Analytiques - AnabioMS - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Arnaud Salvador

Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement –
Fonctionnement des hydrosystèmes - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Olivier Geffard

Effet de l'exposition aux champs électromagnétiques sur les performances et la charge mentale perçue lors de la réalisation de tâches cognitives impliquant l'attention et la mémoire de travail en fonction du niveau de sensibilité électromagnétique

Mme Edith Galy
LAPCOS, MSHS - Nice

Etude de faisabilité - 24 mois
Budget : 49 512 € TTC

Objectif détaillé

Cette étude vise à tester la faisabilité d'un protocole de mesures des effets différentiels de l'exposition aux rayonnements électromagnétiques sur les performances cognitives et la charge mentale perçue dans des tâches dont les caractéristiques sont comparables à celles rencontrées dans les situations de travail. Ce projet est motivé par la volonté de mieux comprendre les enjeux de santé au travail pour les personnes exposées au quotidien dans le cadre de leur activité professionnelle au rayonnement émis par les sources les plus courantes (wifi, téléphones portables, antennes relais). Dans cet objectif, il apparaît nécessaire de procéder à la mise au point en laboratoire des outils d'investigation valides qui permettent une étude in situ par la suite.

L'objectif étant à terme de mener une étude micro-longitudinale écologique en situation de travail, plusieurs tâches préalables sont programmées afin d'assurer la validité des résultats. Chacune de ces étapes fera l'objet d'une communication des résultats, ces résultats intermédiaires présentant un intérêt scientifique en eux-mêmes.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La plupart des études mettant en relation la santé et l'exposition aux ondes électromagnétiques sont des études épidémiologiques qui évaluent les effets à long terme sur la santé physique des individus. L'originalité de ce projet tient au fait qu'il s'intéresse aux effets à court-terme sur les performances cognitives et qu'il prend en considération également les aspects de santé mentale.

Questions de recherche

RFES 3.3 - Recherche de liens entre les caractéristiques des champs électromagnétiques (fréquence, intensité, modulation, forme temporelle des signaux, etc.) et les symptômes ressentis par les personnes se déclarant EHS (expériences de provocation prenant en compte notamment la diversité et l'évolution de l'environnement électromagnétique, mesures d'exposition continues et recueil de symptômes, etc.).

RFES 2.1.7 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition (aiguë et chronique) 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)

L'objectif général du projet est de mieux comprendre les enjeux de santé au travail pour les personnes exposées au quotidien dans le cadre de leur activité professionnelle au rayonnement émis par les sources les plus courantes (wifi, téléphones portables, antennes relais), en ce sens ce projet s'inscrit pleinement dans les questions de recherche relevant de l'exposition professionnelle.

La charge de travail est un des facteurs de risques psycho-sociaux, c'est ainsi qu'il s'agit d'une notion importante dans le projet puisqu'il interroge la relation entre exposition aux ondes électromagnétiques et charge cognitive ressentie lors de l'exécution de tâches faisant intervenir la mémoire de travail et une attention soutenue.

Les évaluations d'électrosensibilité seront couplées avec des évaluations de l'anxiété et de la dépression. Cette étude corrélationnelle permettra d'éclairer les problématiques de santé mentale liées à l'exposition aux ondes.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1: Validation d'échelles de sensibilité au rayonnement électromagnétique. Il n'existe à notre connaissance aucune échelle de sensibilité électromagnétique validée en français. L'existence d'une importante variabilité interindividuelle apparaît pourtant très probable (Baliatsas et al., 2012, Bogers et al., 2018). Nous procéderons ainsi à la validation de l'échelle SaP (Symptoms and Perceptions) d'évaluation des symptômes non-spécifiques proposée par Yzermans et al. (2016) et de l'échelle d'évaluation d'intolérance idiopathique attribuée aux champs électromagnétiques (IEI-EMF, idiopathic environmental intolerance attributed to electromagnetic fields) de Köteles et al. (2013).

Une attention particulière sera portée à la sensibilité de ces mesures dans l'intervalle de réponses individuelles correspondant à des effets subjectivement identifiables sans pour autant relever du domaine pathologique (stress ou fatigue accrue). S'agissant de symptômes non spécifiques, la validation comprendra des mesures de personnalité (big five) et de profil de régulation émotionnelle (anxiété et dépression) afin de contrôler la part de variance de l'électrosensibilité imputable à une sensibilité générale au stress et à la fatigabilité.

Tâche 2: Identification d'une variable médiatrice objective

Elle consistera à identifier un marqueur physiologique de la sensibilité électromagnétique qui puisse être à terme déployée sur le terrain en situation de travail. Des dispositifs portatifs de mesure physiologique basés sur les ondes cérébrales et le rythme cardiaque sont désormais disponibles. Dans un premier temps, nous testerons en laboratoire la réactivité physiologique sur plusieurs critères de participants tout-venant présentant des niveaux de sensibilité électromagnétique variés évaluée par questionnaire. La plateforme H2C2 d'Aix-Marseille Université dispose du matériel permettant de mesurer la variabilité du rythme cardiaque, la conductance électrodermale, la température corporelle (caméra thermique) et les ondes cérébrales par EEG, dans un environnement dont le niveau d'exposition est contrôlé par l'usage d'une cage Faraday.

Le dispositif expérimental consistera en la réalisation d'une tâche cognitive complexe impliquant la mémoire de travail et l'attention de manière soutenue avec différents niveaux d'exposition aux rayonnements électromagnétiques courants (Microwaves and extremely low frequency, comprises entre 0 et 300 Hz). Nous nous attendons à un effet plus fort de la charge mentale induite par la tâche en situation d'exposition et ce d'autant plus que la personne est sensible aux ondes électromagnétiques. Ce patron de résultats est attendu au niveau des mesures subjectives (performance et charge mentale perçue) mais également au niveau physiologique. Une attention particulière sera portée aux ondes P300 particulièrement sensibles aux tâches impliquant l'attention, à la conductance électrodermale sensible à la charge cognitive et à la température corporelle qui est la mesure physiologique la plus liée à l'exposition au rayonnement électromagnétique (Johnston & D'Andrea, 2018).

Tâche 3: Validations des dispositifs de mesures portatifs

La tâche 3 consiste à évaluer en laboratoire dans une situation contrôlée la capacité des dispositifs de mesure physiologique portatifs à reproduire les résultats obtenus à l'aide des outils de mesure de laboratoire. Les deux dispositifs envisagés sont une montre de type Empatica Embraceplus qui permet une mesure précise de l'activité cardiaque, de la conductance électrodermale et de la température externe et un casque de mesure EEG portatif de type Emotiv Insight permettant une mesure de l'activité cérébrale peu invasive utilisable en situation de travail.

L'objectif sera de valider la capacité de ces dispositifs à mettre en évidence des corrélations intra-individuelles entre exposition aux ondes (exposimètres portatifs), mesures physiologiques et mesures subjectives répétées (Bogers et al., 2018).

Partenariat

Université Côte d'Azur - LAPCOS – Nice

Responsable de l'équipe : Mme Edith Galy

Aix-Marseille Université - PsyCLE – Aix-en-Provence

Responsable de l'équipe : M. Bruno Dauvier

Prédire la toxicité des furanes environnementaux à l'aide d'un modèle électrochimique

M. Xavier Cachet
Faculté de Pharmacie de Paris - PARIS

Etude de faisabilité - 24 mois
Budget : 50 000 € TTC

Objectif détaillé

La présence de composés furaniques d'origines végétales et fongiques dans l'environnement constitue un risque important de toxicité hépatique consécutive à l'ingestion de plantes et plus généralement de tout aliment susceptible de les contenir. Ce risque concerne également les plantes et leurs extraits entrant dans la composition de produits de santé tels que les médicaments et compléments alimentaires. Cette hépatotoxicité est associée à une bioactivation métaboliques par les cytochromes P450 (CYP450) et peut aller d'une inhibition enzymatique ou d'une hépatite toxique réversible à un carcinome hépatique. Ces toxines furaniques peuvent être des métabolites produits par la plante elle-même ou bien des mycotoxines (ex. aflatoxines), produites par des champignons microscopiques se développant sur les plantes. La consommation croissante des plantes dans le domaine de la santé et l'augmentation constante des teneurs en mycotoxines liées au réchauffement climatique (ce qui constitue un risque émergent) font de cette menace un enjeu sanitaire majeur actuel et futur. En outre, il existe une très grande diversité de structures furaniques naturelles et de fait, aucun élément systématique de relations structure-toxicité. Il est donc essentiel de disposer de modèles d'études efficaces permettant de prédire la toxicité de tels composés et d'établir la sécurité des plantes et aliments qui les contiennent en mélanges complexes. Ce projet a pour but de développer un modèle électrochimique simple qui mimera l'oxydation des furanes naturels par les CYP450 afin d'étudier leur toxicité potentielle. Le modèle électrochimique sera corrélé avec un modèle biologique in vitro pour une détermination effective de la toxicité hépatique. Si le projet de faisabilité se limitera à l'étude de composés isolés, le consortium réuni souhaite s'intéresser ensuite au développement de capteurs ou détecteurs pour l'analyse directe et rapide des mélanges.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La grande diversité chimique des molécules furaniques pouvant participer à l'exposome chimique « naturel » de l'être humain, l'absence d'étude systématique de la toxicité de ces molécules et des plantes/aliments les contenant (notamment car très peu de molécules commerciales sont disponibles), et la complexité des modèles d'évaluation utilisés jusqu'à lors (L'évaluation du potentiel toxique d'un furane est souvent basée sur la détection d'adduits formés avec des nucléophiles endogènes tel que le glutathion), nous a conduit à

explorer la mise au point d'un modèle électrochimique simple mimant l'oxydation des furanes par les CYP450 et donc l'activation métabolique responsable de la toxicité. Le modèle sera corrélé avec un test biologique in vitro original utilisant des cellules hépatiques humaines (HepaRG) qui surexpriment les CYP450, et donc capables de bioactiver le noyau furanique. Il permettra de prédire la toxicité de ces composés à partir de leur susceptibilité d'oxydation et d'établir des relations structure-toxicité systématiques dans cette série. Il s'agit d'un projet multidisciplinaire qui implique des expertises dans les domaines de la production, l'extraction et la caractérisation de métabolites secondaires d'origines végétales et fongiques, de l'électrochimie et de la culture cellulaire.

Questions de recherche

CoEm 2 - Etude de problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'Homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition.

ACHIM 3.3 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des co-expositions à des agents microbiologiques et chimiques sur la santé humaine et les écosystèmes.

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

ACHIM 3.3 & CoEm 2 : Ce projet s'intéresse au risque actuel et émergent d'exposition aux toxines furaniques environnementales d'origines végétales et fongiques. Ces toxines sont présentes en mélanges complexes et présentent une grande diversité structurale. Il n'existe actuellement aucune étude systématique de relations structure-toxicité.

ACHIM 6 - L'évaluation de la toxicité des furanes est complexe et nécessite le plus souvent le recours à un modèle biologique élaboré et généralement in vivo. Nous proposons dans ce projet de développer un modèle électrochimique simple qui mimera l'oxydation des furanes par les CYP450 afin d'étudier leur toxicité potentielle et permettra de s'affranchir de modèles biologiques plus difficiles à maîtriser et plus coûteux.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet ECO-DETOX sera divisé en 4 tâches interconnectées partagées entre les 3 partenaires P1-P3 :

1) Disposer de toxines furaniques d'origines végétales et fongiques pour évaluer leur susceptibilité d'oxydation et leur potentiel toxique sur un test biologique in vitro : i) Culture fongique et identification des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des furanes d'intérêt, surproduction de certains furanes (P2), ii) Sélection de plantes d'intérêt (P1), iii) Extraction, purification et caractérisation des furanes au moyen de méthodes chromatographiques et spectrales disponibles dans le laboratoire de P1.

2) Relier la valeur du potentiel d'oxydation des furanes avec la toxicité potentielle et synthétiser des métabolites (P1) : i) Mesure du potentiel d'oxydation par voltamétrie cyclique, ii) Synthèse de métabolites (idem générés par les CYP450 in vivo) par oxydation électrochimique (preuves mécanistiques).

3) Evaluation de la toxicité des furanes sur un modèle in vitro d'hépatocytes humains (cellules HepaRG qui présentent une surexpression des CYP450 comparable à celle des

hépatocytes humains en cultures primaires) et qui consistera à étudier l'inhibition de l'activité en particulier du CYP3A4 et CYP2E1 (P3) : i) Etude de l'inhibition des CYP3A4 et CYP2E1 par bioluminescence, ii) Etude de l'inhibition d'autres CYP par LC-MS/MS, iii) Preuves mécanistiques : identification d'adduits dans le milieu de culture cellulaire (LC-MS), par le P1 (tâche 2-ii) ; sondes fluorescentes : marquage des CYP450 à l'aide de furanes naturels ou synthétisés par le P1 et utilisés comme substrats suicides.

4) Etablir les relations structure-toxicité à partir des données générées au cours des tâches 2 et 3 (P1-3). La composition et la teneur en furanes des extraits végétaux et fongiques et donc des organismes les contenant pourront être déterminées par des techniques analytiques quali- et quantitatives maîtrisées par P1 (étude ici limitée à quelques modèles). A partir de l'analyse des mélanges il sera possible d'établir des relations structure-toxicité et prévoir leur toxicité qui pourra être vérifiée à l'aide du modèle biologique développé par le P3 appliqué aux extraits.

Les tâches 2 et 3 pourront démarrer dès l'année 1 en utilisant des molécules modèles commerciales ou issues des extractothèques de P1 et P2. Les résultats sont attendus dès la fin de la première année et seront enrichis par les nouvelles molécules obtenues dans la tâche 1.

Partenariat

Université Paris Cité – UMR 8038 CiTCoM CNRS - PARIS

Responsable de l'équipe : M. Xavier Cachet

Université Paris Cité – UMR LIED 8236 – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Florence Chapeland-Leclerc

Université Paris Cité – UTCBS UMR CNRS 8258 U1267 INSERM – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Céline Hoffmann

Résumé EMOTIONAL - 2023_EST_150

Estimation des iMpacts de la pOlluTion soNore chez les bivALves

Mme Delphine Mathias
SARL SOMME - BREST

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 690 € TTC

Objectif détaillé

Ce projet a pour objectif de caractériser les effets d'un agent physique, le son, sur deux espèces de bivalves : une espèce côtière (intertidale), l'huitre creuse (*Crassostrea gigas*) et une espèce plus hauturière (subtidale), la coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus*). Ces espèces sont des sentinelles de la santé environnementale, capables d'intégrer des stress biotiques et abiotiques multiples, susceptibles de se répercuter sur la santé humaine. Pour cela, nous développerons un protocole standardisé en aquarium afin d'étudier en condition contrôlée (WP1) les impacts d'exposition aiguës (intenses sur quelques heures) et chroniques (modérés sur plusieurs jours) à travers des réponses comportementales (ouvertures des valves et filtration, WP2) et physiologiques (biomarqueurs moléculaires de stress, WP3). Une synthèse des résultats des WP2 et WP3 permettra de mettre en place des seuils d'intensité acoustique pour la réalisation des évaluations de risques à partir des sons anthropiques pour les bivalves (WP4).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le bruit généré par les activités humaines est considéré comme une pollution émergente par la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM). Ainsi, préalablement à la réalisation de projets maritimes, il est demandé d'évaluer les zones d'impacts acoustiques potentiels sur la faune marine (Bonnell et al. 2022). Or, d'importantes lacunes sur l'impact potentiel de sons anthropiques subsistent pour de nombreux taxons dont les invertébrés. En effet, les études d'impact acoustique se focalisent uniquement sur les mammifères marins et poissons. Ce projet permettrait de pallier à ce manque en déterminant des valeurs seuils de référence pour les études d'impacts potentiels que ce soit pour les expositions aiguës et chroniques ainsi qu'en combinant les conséquences à la fois sur le comportement et sur la physiologie, jusqu'à présent inexistant pour les bivalves.

Questions de recherche

CoEm 2 - Etude de problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'Homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition.

Notre projet s'inscrit dans la question de recherche sur l'étude de problématiques émergentes : risques chimique, physique et biologique induits pour l'Homme et l'environnement, caractérisation de l'exposition (CoEm 2). En effet le bruit généré par les

activités humaines en milieu maritime est considéré que depuis les années 2010 comme une pollution par la DCSMM (Descripteur 11), visant à maintenir ou restaurer un bon fonctionnement des écosystèmes marins. Les résultats attendus dans ce projet permettraient alors une meilleure évaluation du risque de cet agent physique pour les bivalves.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1-Protocole d'exposition sonore aigu et chronique (Mois 1-6) :

L'objectif sera de développer un protocole standardisé pour exposer des bivalves à de la pollution sonore en aquarium afin de caractériser dans les WP2 et WP3 leurs réponses comportementales et physiologiques. Des bacs expérimentaux permettant de limiter la réverbération des sons émis par le haut-parleur (Olivier et al., 2022) seront adaptés. Les niveaux sonores reçus dans les bacs seront bien caractérisés par des mesures acoustiques dans chaque bac. Les **niveaux sonores d'émissions et les durées d'exposition (aiguë ou chronique)** seront choisis en cohérence avec ceux auxquels les bivalves rencontrent en **condition réelle**. L'exposition aiguë sera obtenue par l'émission de bruits ponctuels sur quelques minutes (ex. passage d'un navire, sons impulsions de battages de pieux). L'exposition chronique sera représentative d'une activité humaine constante sur plusieurs jours (ex. bruit continu de travaux de forage, trafic maritime dense). Chaque son anthropique sera testé sur plusieurs répliques. Des traitements contrôles (sans stress sonore) seront systématiquement mis en place lors des expérimentations. Les bivalves seront acclimatés aux conditions d'expérimentations avant d'être exposées à des enregistrements de sons d'origine anthropiques.

WP2-Réponses comportementales (Mois 6-18) :

L'objectif sera de caractériser les réponses comportementales à court terme et long terme des bivalves aux différentes expositions sonores. Les comportements seront suivis par des valvomètres (capteurs électromagnétiques couplés d'accéléromètres), permettant de suivre les mouvements et l'angle d'ouverture des valves au cours du temps. Cette méthode de suivi a déjà été mise en place avec succès par TBM environnement et SOMME sur des coquilles Saint-Jacques, en bassin et en milieu naturel pour décrire le rythme nyctéméral de cette espèce (Retailleau et al. 2023). Les valvomètres étant des capteurs à haute résolution (2Hz), il sera donc possible d'observer des réactions instantanées suite aux émissions sonores (stress aigu), puis de déterminer si les animaux reprennent un rythme régulier (possibilité d'accoutumance au son), ou si une exposition long terme perturbe durablement le comportement (stress chronique).

WP3-Réponses physiologiques (Mois 6-30) :

L'objectif sera d'explorer les conséquences de la pollution sonore sur plusieurs marqueurs de stress physiologiques des bivalves. Nous différencierons les réponses à court terme (sécrétions hormonales, altération du rythme cardiaque, etc) de celles plus intégratives (ajustements métaboliques, stress énergétique, stress oxydatif, dynamique d'érosion des télomères, etc) et susceptibles d'altérer négativement les trajectoires de vie (Dupoué et al. 2022). L'ensemble de ces marqueurs cellulaires et moléculaires seront mesurés en routine à l'Ifremer pour ces espèces. Nous utiliserons des approches expérimentales comme décrites précédemment pour faire le lien à l'échelle individuelle entre l'ensemble des réponses observées afin d'identifier les mécanismes fonctionnels impliqués en réponse au stress

sonore.

WP4-Synthèse et perspectives (Mois 30-36) :

Les résultats des WP2 et WP3 permettront de déterminer différents impacts de la pollution sonore sur les deux espèces de bivalves étudiés. Une synthèse de ces résultats permettra alors de déterminer des valeurs seuils de référence pour les études d'impacts acoustiques potentiels pour ces espèces bivalves. Enfin, des applications concrètes sur l'utilisation de ces seuils seront réalisées avec des mesures acoustiques de terrain, en modélisant spatialement les impacts potentiels de certaines activités humaines sur ces bivalves (SOMME dispose de données associées à différentes activités anthropiques côtière et offshore).

Partenariat

Société d'Observation Multi-Modale de l'Environnement - SOMME – BREST

Responsable de l'équipe : Mme Delphine Mathias

IFREMER – LEMAR – Landunvez

Responsable de l'équipe : M. Andréaz Dupoué

TBM Environnement – TBM – Auray

Responsable de l'équipe : Mme Aurélie Jolivet

Expositions environnementales et dépression périnatale : données de la cohorte nationale Elfe

M. Rémi Béranger

Université de Rennes IRSET - INSERM U1085 - Rennes

Projet complet - 30 mois

Budget : 103 125 € TTC

Objectif détaillé

L'objectif principal sera d'évaluer le lien entre l'exposition maternelle aux pesticides et le risque de dépression périnatale (estimé par l'Edinburgh Postnatal Depression Scale [EPDS]) au sein de la cohorte nationale Elfe.

Les objectifs secondaires seront :

- D'évaluer l'influence des espaces vert et bleu autour des lieux de résidence sur les mesures d'association entre l'exposition aux pesticides et score à l'EPDS (confusion et interaction).
- Pour chaque pesticide d'intérêt, de mettre en évidence une association entre le score EPDS et les sources d'expositions correspondantes de manière spécifique (usages domestiques, alimentation, usages agricoles estimés à 1000m des foyers).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La dépression périnatale (ou dépression du post-partum) touche plus de 10% des femmes dans les semaines qui suivent l'accouchement [Bales 2015]. Il s'agit d'une des principales causes de suicide, qui est ressorti comme la 2e cause de mortalité maternelle en France au cours des dernières années [Santé publique France 2021]. En termes de mécanismes, la littérature évoque notamment une altération du circuit de la récompense, basé sur l'ocytocine et la dopamine [Post 2018]. Différents inhibiteurs de la recapture de la dopamine et de la sérotonine semblent également avoir fait leur preuve comme traitement de la dépression périnatale [McDonald 2022].

Certaines familles de pesticides, comme les organophosphorés, les pyréthriinoïdes, les carbamates ou les néonicotinoïdes sont connues pour agir sur les récepteurs acétylcholinergiques, altérant le fonctionnement de la dopamine. D'autre part, l'expertise collective de l'Inserm de 2021 concluait à un lien entre l'usage professionnel de pesticide et de risque de dépression chez les agriculteurs (niveau de présomption « moyen »). L'exposition à certains organophosphorés, organochlorés ou phénoxy-herbicides étaient notamment mis en avant [Inserm 2021].

Une étude turque s'est intéressée à la concentration de résidus de pesticides organochlorés dans le lait maternel sans retrouver d'association avec le score des femmes à l'EPDS [Yalçin

2015]. Cette étude manquait toutefois de puissance (75 femmes) et ne permettait pas d'assurer que la contamination du lait maternel était liée à des expositions concomitantes à la période périnatale (bioaccumulation des organochlorés).

A notre connaissance, il n'existe aucune autre étude s'intéressant au lien entre l'exposition à ces familles de pesticides et le risque de dépression périnatale.

Questions de recherche

*PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une famille de substances chimiques).
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...). Détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.
CCLIM 5 - Impact de la biodiversité et des espaces de nature verts et bleus sur la santé et le bien-être humains, sur le plan physique et mental. Impact de la réduction de la biodiversité ou de la dégradation des espaces verts et bleus.*

L'étude de l'exposition simultanée à plusieurs dizaines de pesticides, dont certains sont suspectés d'être perturbateurs endocriniens, permettrait d'apporter des éléments de réponse aux questions

« ACHIM 3 », « PE 4 », « PE 6 ».

La prise en compte de la déprivation sociale et de l'impact des espaces vert et bleu dans notre étude des effets de l'environnement chimique sur la dépression périnatale permettrait de répondre aux questions « SHS 5 » et « CCLIM 5 ».

Description des méthodes mises en œuvre

Notre analyse ciblera les composés des familles suivantes : organochlorés, organophosphorés, pyréthriinoïdes, carbamates, néonicotinoïdes, et phénoxy-herbicides. Une revue de la littérature et une recherche via la base de données toxicogénomique CTD (<http://ctdbase.org>) sera conduite pour identifier d'autres composés potentiellement pertinents.

Notre étude se basera sur la cohorte de naissance Elfe, qui inclut plus de 18 000 femmes ayant accouché en 2011 en France métropolitaine. Dans le cadre d'un précédent projet, 140 biomarqueurs d'expositions de pesticides ou de métabolites ont été mesurés dans les cheveux de 311 femmes de la cohorte. Au total, 73 biomarqueurs correspondant aux familles évoquées ci-dessus sont disponibles, dont 34 avec des taux de détection compris entre 10 et 100%.

Sur les 18 000 femmes de la cohorte Elfe, près de 16 000 ont également complété la version française de l'EPDS, qui permet de dépister la dépression périnatale. Les données disponibles (questionnaires, entretiens) permettront de tenir compte des facteurs de confusion potentiels, mais aussi de caractériser les usages domestiques et les comportements alimentaires des femmes.

A l'aide des coordonnées GPS des lieux de résidence, nous caractériserons également les espaces autour des lieux de résidence au moment de l'accouchement. Nous pourrions ainsi définir le niveau de déprivation sociale, le niveau d'expositions aux espaces verts et bleus, et compléter les données déjà disponibles concernant l'estimation des expositions aux pesticides agricoles appliqués à proximité des foyers. Notre équipe dispose d'une expertise dans ce domaine.

La relation statistique entre les niveaux de biomarqueurs d'expositions et le score binaire (=12 ; 12 et plus) et continu à l'EPDS sera évaluée à l'aide de modèles multi-variables permettant l'étude simultanée des différentes expositions sur le sous-groupe de 311 femmes. Les facteurs de confusions inclus dans les modèles seront définis à l'aide d'un graph orienté acyclique (DAG). Les variables relatives aux espaces vert et bleu, et à la déprivation sociale seront testées comme covariable et comme terme d'interaction dans les modèles.

Dans un deuxième temps, nous identifierons les sources d'expositions (usages domestiques, alimentation, usages agricoles à proximité des foyers) correspondant aux différents composés d'intérêt. Nous rechercherons un lien statistique entre le score à l'EPDS et chacune de ces sources pour l'ensemble de la cohorte (environ 14 000 femmes avec des données d'exposition disponibles).

Calendrier :

- Mois 1 à 9 : Revue de la littérature et analyse des bases toxico-génomiques (identification des pesticides candidats) / demande d'accès aux données de la cohorte ELFE
- Mois 10 à 15 : Création des variables géographiques (déprivation sociale, espaces vert et bleu)
- Mois 16 à 27: Analyses statistiques et exploitation des données
- Mois 28 à 30 : Rédaction et soumission d'un article scientifique

Partenariat

Institut national de la santé et de la recherche médicale - IRSET – Rennes

Responsable de l'équipe : M. Rémi Béranger

EXposition des Agents de MENage aux contaminants de l'air intérieur liée à leur pratique professionnelle: identifier les opportunités à encourager pour diminuer leur exposition

Mme Marie Verrièle Duncianu
IMT Nord Europe - DOUAI

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 931 € TTC

Objectif détaillé

La perception de la qualité des environnements intérieurs a largement évolué depuis la crise épidémique de COVID-19. De nouvelles pratiques de nettoyage ont été induites, avec **des conséquences sur la qualité de l'air intérieur et les conditions de travail des agents** chargés de la propreté dans les espaces publics et entreprises. Non seulement la charge de travail a augmenté mais ces agents sont aussi en première ligne d'exposition aux émissions liées à l'usage intensif de produits ménagers. Cette exposition se cumule avec d'autres risques liés à leur pratique professionnelle (troubles musculo-squelettiques, précarité, faible valeur perçue du travail).

L'objectif du projet est d'évaluer et de proposer des solutions d'atténuation de l'exposition des agents de nettoyage aux polluants de l'air en considérant l'ensemble des facteurs ayant trait à leurs conditions de travail. Les questions sont les suivantes :

- Quels sont les contaminants auxquels les activités de nettoyage (dont les mesures renforcées) exposent les agents de ménage et les occupants des espaces publics et entreprises ?
- Quelles sont les expositions et les risques associés à ces expositions pour les agents de ménage et occupants? Comment prendre en compte les poly-expositions dans l'analyse des risques ?
- Quelles sont les solutions permettant de réduire ces expositions tout en garantissant l'hygiène des locaux ?
- Quelles sont les conditions au changement de pratiques (formation, accès aux données, implication de l'employeur...) nécessaires pour réduire l'exposition des agents et des occupants ?
- Quelles sont les conséquences directes (sur l'exposition et la santé) et indirectes des changements de pratiques : peut-on observer une évolution des compétences mises en œuvre et perçues ? Le sens accordé au travail, la visibilité et la valeur du travail en sont-ils modifiés?

Pour y répondre, 3 lots sont prévus : 1) Evaluation de l'exposition des agents de ménages et des occupants des espaces nettoyés ; 2) Risques sanitaires associés, en tenant compte à la fois des expositions chimiques, biomécaniques et psychosociales ; 3) Opportunités à

encourager pour diminuer les risques en lien avec la perception liée aux pratiques de ménage et aux changements opérés.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet repose sur son caractère pluridisciplinaire, permettant l'évaluation des expositions et du risque, l'incitation au changement de pratiques et la proposition d'actions concrètes transposables nationalement, en tenant compte de la vulnérabilité des populations considérées, de leurs conditions de travail et de leur capacité réelle au changement. **Les méthodes mises en œuvre sont innovantes** : infrastructures d'essai à échelle réelle comme préalable à une étude de terrain, analyse de risques combinant des données quantitatives et qualitatives, étude en sciences participatives pour une meilleure sensibilisation, pérennisation et opérabilité des bonnes pratiques.

Questions de recherche

ACHIM 3.1 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail et en population générale, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, relationnelles, organisationnelles...).

AIR 1 - Évaluation de l'exposition et des effets sanitaires liés aux substances chimiques, aux agents biologiques y compris aérobiologiques (ex : pollens, moisissures, endotoxines) et aux particules (selon leur composition chimique, leur taille et source) présents dans l'air et interaction avec d'autres facteurs environnementaux (ex : changement climatique) et socio-économiques :

- dans des secteurs d'activité notamment en extérieur (bâtiments et travaux publics (BTP), agriculture),
- dans les départements et régions d'Outre-Mer,
- dans des environnements intérieurs spécifiques (commerces, bureaux, hôpitaux, habitations situées à proximité de sites pétrochimiques ou de stations-services),
- liés aux niveaux d'empoussièrement et quantités et taux de poussière ingérée adaptés au contexte français.

SHS 1 - Recherche sur les contributions citoyennes et mobilisations sociales (savoirs profanes, épidémiologie populaire, lançements d'alerte, veille scientifique, dispositifs de vigilance, recherches et expertises participatives) :

- participation aux processus d'expertise et à la production de connaissances, y compris dispositifs de surveillance, en santé-environnement,
- participation aux processus de gestion des crises sanitaires et environnementales, dont les épidémies de maladies infectieuses,
- nouvelles formes de mobilisation (production et usage des données, mobilisation de l'open data, mesures réalisées par des citoyens, sujets émergents...).

Le projet répond aux questions de recherche des sections Agents chimiques, Air et Sciences Humaines et Sociales. Une question par section a été sélectionnée montrant les différentes facettes de ce projet. Les questions centrales se rapportent à l'évaluation de l'exposome et à la prise en compte des poly-expositions. Des propositions concrètes pour réduire l'exposition des agents de ménages et des occupants seront apportées avec une prise en charge des questions sociales et une démarche en science participative.

Description des méthodes mises en œuvre

Lot 1 "Renseigner les expositions": Il se déroule sur 24 mois (M1-M24) et intègre les équipes QAI de IMT NE et Santé Confort du CSTB. **# 1: détermination des facteurs d'émission liés à la pratique de nettoyage en milieu professionnel, il s'agit de :** inventorier les produits et identifier les pratiques sur le terrain, caractériser les émissions liées à l'utilisation des produits dans des enceintes d'essais à échelle 1:1, déterminer la contribution des pratiques sur les émissions. Cette tâche aboutie à la priorisation des solutions pour limiter l'exposition en activant des leviers tels que le changement de produit, de dosage ou de mode d'application, **et l'optimisation de l'aération. #2: renseigner l'exposition individuelle des agents et usagers** de bâtiments via le déploiement massif de systèmes capteurs embarqués sur agents et occupants et en fixe dans les bâtiments. Cette tâche est déployée sur 6 mois (M12 -M18) et inclut la participation de collectivités qui mettront à disposition leurs agents et bâtiments. Des accords de principe ont été obtenus des villes de Lille, Nancy, Douai et Rennes. Une sélection sera effectuée pour viser les cohortes les plus pertinentes.

Lot 2 "De la poly-exposition à l'évaluation du risque": Il est piloté par l'EHESP et se déroule sur 24 mois (M13-M36). Il intègre également des équipes partenaires (dont INRS) en vue de construire une démarche intégrative des poly-expositions. **#1: estimation quantitative du niveau d'exposition aux polluants de l'air selon différents scénarii d'usage et différentes populations (professionnels / occupants, adultes /enfants). #2: prise en compte des conditions de vie, de travail et de santé des agents pour une meilleure appréciation du cumul des risques professionnels. Il s'agira alors de hiérarchiser les profils de poly-expositions selon les risques au travers des données recueillies et de la littérature (dont profils des travailleurs du secteur de la propreté).**

Lot 3 "Opportunités en faveur d'un changement de pratiques" : Porté par IMT NE, il investit sur 24 mois (M12-M36) les moyens de sensibilisation aux bonnes pratiques pour le collectif d'agents (des villes partenaires) et des occupants des bâtiments. Le projet inclut un accompagnement de l'information par voie hiérarchique, par formation professionnelle et par surveillance individuelle de l'exposition des agents. Des entretiens semi-directifs sont **menés pour comprendre l'évolution de la perception de l'objet QAI. Seront étudiés,** l'évolution de la valeur du travail au niveau des personnels de nettoyage et des autres acteurs de la relation de service ; la modification des compétences et leur visibilité par la mise en **œuvre de nouvelles pratiques ; la mise en avant de la contribution du travail des agents à la QAI** en vue de favoriser un enrichissement des tâches et un accroissement du sens accordé au travail. Au-delà, **l'apport du collectif et les impacts de la sensibilisation en dehors du cadre de travail** seront étudiés.

Partenariat

IMT Nord Europe – CERI EE – DOUAI

Responsable de l'équipe : Mme Marie Verrièle Duncianu

CSTB – Direction Santé Confort - Saint Martin d'Hères

Responsable de l'équipe : Mme Melanie Nicolas

Université de Lille – CLERSE – Lille

Responsable de l'équipe : M. Francois-Xavier Devetter

Résumé EXPEND-RA - 2023_EST_085

EXpositions aux Polluants et perturbateurs ENDOcriniens atmosphériques et risque de polyarthRite rhumAtoïde dans la cohorte de femmes françaises E3N

Mme Raphaële Seror

hopital bicetre service de rhumatologie - le Kremlin Bicetre

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 984 € TTC

Objectif détaillé

Evaluer les associations entre quatre perturbateurs endocriniens (PE : dioxines, cadmium, polychlorobiphényles PCB et benzo[a]pyrène BaP) et polluants atmosphériques : particules fines (PM10 et PM2.5), dioxyde d'azote (NO2) et ozone (O3), et le risque de développer une polyarthrite rhumatoïde (PR) dans la cohorte de femmes françaises E3N.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La PR est une maladie auto-immune (MAI) dont la prédominance féminine (70% des PR) et le pic d'incidence après la ménopause, suggèrent l'implication des hormones féminines dans sa physiopathologie. Certaines expositions sont associées au risque de PR, en particulier via les voies aériennes (i.e. tabac, exposition professionnelle à la silice) et possiblement digestives (profils alimentaires). Le "priming" de l'auto-immunité au niveau pulmonaire a d'ailleurs été clairement démontré pour le tabac. De rares études suggèrent une association entre l'exposition à la pollution liée au trafic (i.e. O3 et NO2) et le risque de PR. Jamais étudiés dans le PR, les PE, par leurs effets sur les fonctions endocriniennes, auraient une action immunomodulatrice et semblent impliqués dans l'incidence croissante des MAI. Certains PE, tels que le cadmium, les dioxines, PCB et du BaP, présents dans l'air mais également dans l'alimentation ont une action « estrogen-like » qui pourrait être impliquée dans la survenue des MAI, sans que nous ne disposions à l'heure actuelle d'études spécifiques sur la PR. Ce projet s'intéressera, pour la première chez les patients PR, à des expositions aériennes auxquels les individus sont exposés quotidiennement (PE inhalés et polluants atmosphériques), avec un rationnel physiopathologique solide, au regard du site de développement de l'auto-immunité dans cette pathologie.

Questions de recherche

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...). Détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

AIR 2 - Liens entre pollution de l'air et effets sanitaires : recherche sur de nouveaux outils (bases de données sur la qualité de l'air par exemple, systèmes capteurs, modélisation, biomonitoring...) visant à améliorer l'étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques.

Ce projet s'intéressera, pour la première fois au cours de la PR, aux risques potentiels des PE inhalés et polluants atmosphériques, auxquels les individus sont exposés (directement et indirectement). Grâce à des méthodologies innovantes (base de données qualité de l'air, modélisation, approche dose/effet) permettant d'estimer les expositions et un suivi prospectif prolongé (24 ans), il sera possible de déterminer s'il existe une fenêtre d'exposition critique et une relation dose-effet. Le projet se positionnera donc sur les questions de recherche AIR2 et PE6.

Description des méthodes mises en œuvre

Population. La cohorte E3N (Etude Epidémiologique auprès de femmes de l'Education Nationale) est une cohorte prospective de 98 995 femmes âgées de 40 à 65 ans au recrutement en 1990, affiliées à la Mutuelle générale de l'Education Nationale et résidant en France métropolitaine. Les participantes ont complété, tous les 2 à 3 ans, des questionnaires sur leur état de santé, lieux de résidence, consommation de tabac, événements de la vie reproductive, et alimentation.

Design. Etude cas-cohorte sur les 698 cas validés de PR incidentes (1) et 20 000 femmes représentatives (en termes d'âge et de répartition géographique) de la cohorte. Avec cet effectif, la puissance pour trouver un Hazard Ratio (HR) de 1,3 pour une exposition de 20% est de 86%.

Estimations des expositions (Année 1)

L'historique résidentiel des femmes d'E3N (sur la période de 1990-2014) a été géocodé avec « BD Adresse for ArcGIS » (2). La précision du géocodage permettra une estimation au plus juste des niveaux de pollutions dans l'air à partir des modèles développés par l'équipe « Prévention Cancer & Environnement » (3).

Les méthodes d'estimation seront :

- Dioxines, Cadmium : une métrique spatio-temporelle calculant directement aux adresses. Cette méthode a déjà été appliquée et validée par comparaison avec un modèle de dispersion dans de multiples contextes (urbain, rural, industriel) (4). Elle s'appuie sur un inventaire et une géolocalisation détaillés des sources émissions en France (4).
- PCB, BaP : concentrations modélisées par le modèle CHIMERE, (concentrations horaires avec une résolution de 7x7km sur la France entière).
- NO₂, PM₁₀, PM_{2.5} et O₃ : modèles Land Use Regression (concentrations annuelles avec une résolution de 50x50m mesurées par les stations du réseau ATMO France). Pour chaque sujet à chaque adresse, nous estimerons les expositions moyennes annuelles de chaque contaminant sur la période d'étude (1990-2014). Les valeurs moyennes cumulées d'exposition aux différents polluants seront calculées en faisant la moyenne des valeurs annuelles.

Mesures des associations entre polluants et PR (Années 2 et 3)

Les associations seront estimées à l'aide de modèles de régression de Cox, adaptés aux cas-cohortes, permettant l'estimation des rapports de risque instantané (HR) et leurs intervalles de confiance à 95%. Les modèles seront ajustés sur les potentiels facteurs de confusion incluant tabagisme, expositions hormonales, indice de masse corporelle et données socio-économiques (indice de défavorisation sociale FDEP, niveau d'étude et profession). Pour chaque PE, les modèles seront aussi ajustés sur l'exposition alimentaire au même PE (données

déjà disponibles) (5) permettant ainsi d'étudier l'indépendance de l'exposition atmosphérique dans l'association au risque de PR. Enfin d'éventuelles relations dose-effet des différents polluants seront recherchées.

Valorisations. Les résultats seront présentés lors de congrès nationaux et internationaux et feront l'objet de publications dans des revues scientifique indexées.

Comparativement au projet soumis à l'appel d'offre 2022, le projet se concentre sur la recherche d'association entre chaque polluants/ PE d'origine atmosphérique et le risque de PR. Chaque exposition sera donc analysée individuellement en prenant en compte les facteurs de confusion tels que le tabac, la profession et le niveau social.

Le consortium pour ce projet inclut 3 équipes qui ont déjà travaillé ensemble, avec de nombreux résultats scientifiques publiés sur les estimations des expositions aux polluants atmosphériques, leur impact sur le risque de cancer, ainsi que sur l'impact de l'exposome sur le risque de PR. Elles collaboreront à chaque étape du projet : conception, mise à disposition des données de la cohorte E3N, géocodage, mesures des expositions atmosphériques aux contaminants d'intérêt, analyses, interprétation des résultats et valorisation scientifique.

Partenariat

Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes – Auto-immunité - le Kremlin Bicêtre

Responsable de l'équipe : Mme Raphaële Seror

Centre de recherche en Epidémiologie et santé des populations – Exposome et Hérité - Orléans

Responsable de l'équipe : Mme Carine Salliot

Centre Léon Bérard – Prévention Cancer et Environnement – Lyon

Responsable de l'équipe : M. Thomas Coudon

Résumé EXPO-5G - 2023_RF_003

Nouvelle approche multi-physique pour évaluation réaliste d'exposition à des fréquences émergentes pour 5G / 6G

M. Maxim Zhadobov

Université de Rennes IETR - UMR CNRS 6164 - Rennes

Projet complet - 36 mois

Budget : 189 946 € TTC

Objectif détaillé

The upcoming mass deployment of 5G wireless networks will make ubiquitous human exposure in the upper part of the microwave spectrum. Because of the physical limitations, the conventional 3G/4G dosimetry techniques employed below 6 GHz are not directly scalable to higher microwave frequencies. Due to this, free-space measurements of the incident power density are performed to assess the user exposure at 5G frequencies above 6 GHz (including 26-28 GHz, 39 GHz and 60 GHz bands), without accounting for antenna / body interaction. Recently, it was demonstrated that the absorbed power density (APD), used as the main dosimetric quantity above 6 GHz, can be significantly underestimated if the impact of the user proximity on the radiation performances of the wireless device is neglected [1]. Therefore, accounting for antenna/body interactions is of crucial importance for accurate exposure assessment in the forthcoming 5G scenarios to avoid any overexposure risk.

In this project, we will address open challenges related to accurate and realistic exposure assessment for 5G wireless devices located close to body (such as smartphones, tablets, laptops, etc.). EXPO-5G will explore a novel approach for realistic experimental assessment of user exposure above 6 GHz accounting for antenna/body interactions. To this end, we will design, optimize and fabricate a novel solid tissue-equivalent phantom with electromagnetic (EM) scattering characteristics optimized for multi-physics dosimetry at frequencies allocated for 5G (e.g. around 26 GHz). Several phantoms will be designed reproducing scattering characteristics of adult as well as child tissues. The original feature of this novel approach consists in combining infrared (IR) measurements for APD retrieval with so-called lock-in technique. This will allow to perform APD measurements with sub-mm spatial resolution while significantly enhancing the sensitivity of conventional IR-based measurements. Note that this non-resonant approach is broadband and enables measurements of cumulative exposure, simultaneously at several frequencies. The proposed approach will be validated for generic 5G antenna modules with representative signals and modulations expected to be used in 5G mobile communication systems.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Due to upcoming mass deployment of 5G wireless networks, accurate and realistic assessment of general public exposure constitutes a major public concern. For the first time, in the frame of this project a new approach will be explored for broadband APD measurements with high spatial resolution and enhanced sensitivity, accounting for antenna / body coupling, using both adult and child models.

Questions de recherche

RFES 4.1 - Recherches sur les protocoles de mesure de l'exposition dans les bandes 3,5 GHz et 26 GHz notamment, pour les technologies associées (5G, antennes actives, petites cellules, etc...), et en situation d'usages réalistes.

This project is primarily related to the question "RFES 4.1. Recherches sur les protocoles de mesure de l'exposition dans les bandes 3,5 GHz et 26 GHz notamment, pour les technologies associées (5G, antennes actives, petites cellules, etc...), et en situation d'usages réalistes" and will substantially contribute to realistic assessment of user exposure to new wireless communication systems operating at frequencies above 6 GHz. It is also partly related to the question "RFES 4.2. Recherches sur les spécificités de l'exposition réelle des enfants..." as adult as well as child models of tissues will be designed and used in the frame of this project. Finally, as the proposed approach is broadband and allows for performing simultaneous measurements at several frequencies it will also partly cover the question "RFES 4.3. Recherches sur la caractérisation de l'exposition des personnes dans le cadre du cumul d'expositions".

Description des méthodes mises en œuvre

The work program is divided into four technical tasks outlined below.

Task 1. Analysis of 5G use cases and exposure scenarios [M1] – [M6]

1.1. Numerical analysis of representative 5G use cases (26 GHz, 39 GHz, etc.)

1.2. Definition of the exposure specifications (radiation type, antenna / body separation distance, spectral characteristics, waveforms, etc.)

Task 2. Design of phantoms reproducing adult and child skin properties [M6] – [M15]

2.1. Design and optimization of EM skin-equivalent structure with target R/T characteristics

2.2. Fabrication and experimental validation of the phantom

Task 3. Experimental implementation of multi-physics APD measurement approach [M12] – [M30]

3.1. Broadband measurements based on high-resolution IR imaging

3.2. Retrieval of APD at air/phantom interface

Task 4. Experimental validation using generic 5G antenna modules and signals [M27] – [M36]

4.1. Validation for generic 5G antenna modules

4.2. Uncertainty analysis

Partenariat

IETR / CNRS - eWAVES – Rennes

Responsable de l'équipe : M. Maxim Zhadobov

IRSET / INSERM - DREAM – Rennes

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

Approche intégrative de l'évaluation des effets du changement global sur la robustesse du Bar Européen (*Dicentrarchus labrax*)

M. David Mazurais
IFREMER Technopole Brest - Plouzané

Projet complet - 24 mois
Budget : 199 920 € TTC

Objectif détaillé

Le concept du "one health" repose sur le principe selon lequel la santé humaine est liée à celle de l'animal et de leurs interactions avec l'environnement. Ainsi, de la bonne santé des différents maillons des écosystèmes océaniques dépendent à la fois la biodiversité et la santé humaine. Plus de la moitié des espèces connues de poissons vivent en zone côtière/estuarienne et de nombreuses espèces d'intérêt halieutique réalisent la phase juvénile de leur cycle de vie dans ces habitats. Ces nourriceries dont dépend l'accomplissement du cycle de vie et le renouvellement des populations sont, de ce fait, considérées comme des habitats essentiels. Les différents rapports du GIEC indiquent que ces zones sont les plus vulnérables face aux pressions combinées du changement climatique et des activités humaines. Plusieurs études ont montré que les facteurs environnementaux associés au réchauffement, à l'acidification des océans et aux épisodes hypoxiques, pouvaient avoir des impacts physiologiques, notamment endocriniens (perturbation des axes corticotropes et hypothalamo-pituitaire-gonadotrope), sur ces jeunes poissons marins à courts termes mais qu'ils sont également susceptibles d'affecter leur survie ultérieure dans le milieu naturel en modifiant leur génome via des régulations épigénétiques. Si les effets mono-factoriels de ces composantes environnementales ont fait l'objet d'études ces dernières décennies, les effets du scénario réaliste combinant l'exposition aux trois facteurs climatiques (deadly trio), sur l'état physiologique qui détermine la valeur sélective du poisson n'ont à notre connaissance jamais été étudiés. Une meilleure prédiction de la survie des espèces de poisson dans leur milieu complexe et en évolution dépend de notre aptitude à mieux appréhender leur robustesse et notamment leur capacité à faire face à des stress aigus tels que les multiples pathogènes présents dans leur milieu naturel. Dans ce contexte, le projet vise à appréhender l'impact d'un scénario côtier réaliste combinant des paramètres abiotiques et biotiques, réchauffement, acidification des océans, épisodes hypoxiques et microorganismes pathogènes, sur l'état de santé et la robustesse du bar Européen, espèce de poisson marin d'intérêt économique (pêchée et élevée) et écologique (nourriceries côtières/estuariennes). Ce scénario environnemental reposera sur une approche combinant des données de performances physiologiques (résistances à des challenges viraux et bactériens), des analyses de virulence des pathogènes, et des caractérisations de l'état physiologique du poisson, intégrant la composition de son

microbiote, ses statuts endocrinien et immunitaire, son transcriptome et son épigénome. Cette caractérisation permettra d'appréhender les mécanismes d'action des facteurs étudiés à l'échelle moléculaire (génique et épigénétique), tissulaire ou individuelle, et d'identifier des marqueurs d'exposition à ces facteurs.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Si de nombreuses données établissent que les organismes vivant dans les zones côtières vont être exposés en continu ou à fréquences accrues à une multitude de stress biotiques ou abiotiques d'ici l'horizon 2100, les impacts des effets combinés de ces facteurs (exposome) sur la fitness des poissons n'ont pas fait l'objet de suffisamment d'études étayées permettant de prédire leur capacité à y faire face. Fort de ce constat, l'innovation majeure et l'originalité du projet consistent à reproduire expérimentalement des scénarios de forçages environnementaux réalistes tant par la nature et l'intensité des facteurs étudiés que par la durée des expositions. Les effets sur différentes composantes de la fitness des organismes seront évalués au travers d'analyses de performances physiologiques (évaluation de la résistance à des pathogènes) combinées à des caractérisations phénotypiques et mécanistiques.

Questions de recherche

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

CCLIM 1.3 - Impacts du changement climatique sur la santé humaine, incluant les impacts sur la santé mentale, et des écosystèmes : impacts indirects via les modifications de la qualité des milieux et de l'alimentation.

CCLIM 4 - Quantification des bénéfices pour la santé et l'environnement de mesures d'adaptation au changement climatique.

Le projet permettra des avancées sur la compréhension des effets de la combinaison de nombreux facteurs environnementaux en lien avec le changement global sur l'état de santé du Bar Européen ayant une phase de vie en nurserie côtière. Ce questionnement revêt un intérêt écologique indéniable pour prédire les effets du changement global sur la biodiversité marine, et sur les services écosystémiques qui en découlent. Le modèle bar est représentatif des espèces tempérées des côtes françaises avec le double intérêt d'avoir des populations sauvages et domestiquées, présentes toutes deux dans ces mêmes zones côtières et potentiellement confrontées au même type d'exposome. Les données acquises pourront enrichir une démarche d'évaluation des risques, notamment en termes de santé des écosystèmes, d'évolution des stocks de poissons (source d'alimentation humaine) et de biodiversité.

Description des méthodes mises en œuvre

Les procédures expérimentales seront soumises à l'avis d'un Comité d'Ethique et à l'autorisation du MESRI. Des juvéniles de bar seront exposés à l'âge de J45 (stade à partir duquel le bar colonise les zones côtières) à deux scénarios environnementaux. Condition « A » : pH et température actuelles de la rade Brest et Condition « E » : pH -0.4 et température + 3°C, scénario GIEC RCP8.6 à l'horizon 2100. Ces deux modalités de pH et de température seront maintenues pendant l'intégralité de l'étude (12 mois). A environ 6 mois, une partie des

poissons de chaque modalité sera exposée en plus à un épisode hypoxique modéré (60% de saturation en O₂) de trois semaines afin de mimer la baisse d'oxygénation observée dans les eaux côtières en période estivale. En plus du suivi de survie et de croissance, des caractérisations physiologiques des animaux seront réalisées : RNAseq couplé à des analyses hématologiques, épigénétiques (analyses de méthylation par HPLC) et biochimiques, ciblées sur le sang ou des tissus en lien avec les systèmes endocriniens et immunitaires. **A l'issue de cette période d'exposition à l'hypoxie, tous les poissons seront maintenus dans les conditions A et E pendant 2 mois supplémentaires.** A 9 mois, le potentiel de résistance des bars juvéniles issus des 4 modalités sera évalué face à des infections virale et bactérienne. **Le virus sera celui de l'encéphalopathie et de la rétinopathie, et la souche bactérienne sera Tenacibaculum maritimum,** deux pathogènes très prévalents au stade juvénile. En plus de **l'évaluation de la résistance des poissons** aux pathogènes, les charges en pathogènes et différentes composantes épigénétiques, physiologiques, du système immunitaire du poisson et de son microbiote seront évaluées.

Partenariat

IFREMER – FITNESS-LEMAR – Plouzané

Responsable de l'équipe : M. David Mazurais

INRAE - NUMEA – Saint-Pée-sur-Nivelle

Responsable de l'équipe : Mme Lucie Marandel

ANSES - VIMEP – Plouzané

Responsable de l'équipe : M. Thierry Morin

Résumé HepaPECAN - 2023_EST_117

Etude des effets cocktail de perturbateurs endocriniens et cancérogènes chimiques dans le développement des maladies chroniques hépatiques chez l'homme

Mme Sophie Langouet
INSERM IRSET UMR Inserm 1085 - Rennes

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 784 € TTC

Objectif détaillé

Les études sur l'exposome qui visent à appréhender l'exposition continue des individus à de faibles doses de contaminants de l'environnement et de l'alimentation sont un enjeu de santé publique et une priorité des travaux de santé environnementale. Ces expositions pourraient expliquer l'apparition de perturbations métaboliques (obésité, diabète), l'augmentation de maladies hépatiques chroniques (stéatose, fibrose) et le développement de carcinome hépatocellulaire (CHC) (3e cause de mortalité par cancer; 500 000 cas/an). Dans ce contexte de pathologies multifactorielles, il est crucial d'étudier dans le foie humain les effets conjugués des perturbations métaboliques et des atteintes génotoxiques de mélanges de composés particulièrement préoccupants.

Les données épidémiologiques suggèrent que l'exposition aux perturbateurs endocriniens (PE) contribue à l'accélération de la progression des pathologies hépatiques vers la fibrose, étape majeure dans le développement du CHC. Parmi les PE, certains perfluoroalkylés (PFAS), molécules classées comme polluants organiques persistants, se fixent sur des récepteurs nucléaires (PPAR α , PPAR γ , PXR/CAR) et entraînent une dérégulation du métabolisme glucidique et lipidique. De plus, les amines hétérocycliques aromatiques (AHA), contaminants de l'air et de l'alimentation au potentiel cancérogène préoccupant (classe IARC 2A/2B), pourraient jouer un rôle majeur dans l'incidence du CHC. L'objectif est de développer un modèle prédictif in vitro de l'effet des cancérogènes chez l'homme dans un contexte de perturbation métabolique hépatique. Compte tenu des différences inter-espèces, les études seront réalisées sur un modèle innovant d'hépatocytes humains cultivés en organoïdes (Hepoid) en mono et co-culture pouvant être couplé à un système de microfluidique permettant un traitement continu et dynamique par les mélanges de composés.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les études des effets d'une exposition à faibles doses dans des cellules hépatiques humaines sont limitées par les caractéristiques de la plupart des modèles actuels. Le modèle Hepoid composé d'hépatocytes humains permet de lever ces limites: tout en gardant une sensibilité similaire aux hépatocytes humains cultivés en 2D, il associe pour la première fois de façon simultanée prolifération et différenciation. Il permet ainsi d'étudier les effets à long-

terme toxiques et génotoxiques de contaminants préoccupant et de réaliser des études de mutagénèse, étape clé de l'initiation du cancer. Ce modèle Hepoid a récemment été complexifié en intégrant en co-culture 3D les principales cellules impliquées dans la réponse fibrotique que sont les cellules endothéliales et les cellules étoilées

Notre étude propose un mélange original d'agents perfluorés associés aux AHA pour étudier les mécanismes qui sous-tendent l'évolution multifactorielle des maladies chroniques du foie, de la stéatose vers le CHC. Ceci sera réalisé sur les Hepoid en mono et co-culture dans un système de microfluidique mis au point à l'IRSET comme approche pertinente pour l'étude de l'effet des mélanges.

Ce projet est dans la continuité et complémentaire des projets OBERON (EU 2019-2023) montrant l'effet stéatosant de plusieurs PE dont PFOA et PFOS dans les Hepoid (pas d'étude des mélanges dans le cluster eurion-cluster.eu) et 3D-IVMA (ITMO Cancer 2019-2022) qui a permis de mettre au point sur les modèles 3D des tests de génotoxicité et de mutagénèse et de démontrer leur spécificité et sensibilité.

Questions de recherche

ACHIM 3.1 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail et en population générale, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, relationnelles, organisationnelles...).

ACHIM 3.2 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : 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. Etude des effets synergiques et antagonistes des substances en mélanges.

ACHIM 10 - Développement de nouveaux outils toxicologiques (modèles 3D, biologie synthétique) applicables à l'évaluation des risques. Validation et limite de l'utilisation de ces modèles.

Nous combinerons des approches de biologie cellulaire/moléculaire, des analyses biochimiques et des tests de génotoxicité pour comprendre les mécanismes qui soutiennent la toxicité et l'effet cocktail des PFAS associés aux AHA suite à des traitements long-terme d'hépatocytes humains organisés en mono et co-culture en organoïdes et traités par microfluidique. Au total, le projet, au-delà des résultats scientifiques attendus et en adéquation avec la règle des 3R, permet un changement d'échelle pour évaluer dans un cadre réglementaire l'effet cocktail de contaminants de l'environnement chez l'homme : automatisation des expositions et criblage de nombreuses combinaisons.

Description des méthodes mises en œuvre

L'étude transversale ESTEBAN (2019) sur 17 PFAS montre pour la première fois en France leur persistance dans l'environnement et l'imprégnation de la population en dépit des restrictions d'utilisation. Nous nous proposons de traiter les Hepoid avec 3 PFAS préoccupants pour lesquels il existe des données d'exposition mais peu d'information sur leurs effets sur le foie humain. Nous avons sélectionné les 3 composés les plus fortement dosés dans ESTEBAN : PFOS, PFOA et PFHxS. Les concentrations utilisées seront basées sur les concentrations sériques publiées dans l'étude afin d'être au plus proche de l'exposition réelle des individus sur la gamme de dilutions 10X, 1X, 1/10X, 1/100X de chaque composé. Le

Tributylétain (TBT), contaminant de l'environnement fortement stéatosant dans notre modèle sera utilisé comme contrôle positif.

Nous étudierons les effets de 2 AHA génotoxiques ciblant le foie : AaC et IQ à des concentrations plasmatiques de 5, 10 et 20uM. De précédentes études ont démontré leur activation métabolique et la formation d'adduits à l'ADN dans les hépatocytes humains primaires.

- L'analyse de la toxicité et des perturbations métaboliques liées à l'exposition long terme(14 jours) et faibles doses aux mélanges PFAS/AHA sera réalisée dans les Hepoid en mono et co-culture avec les proportions suivantes: 10 hépatocytes/5 HUVEC (cellules endothéliales)/1 LX2 (cellules étoilées)

Dans les différents systèmes de culture, nous étudierons:

* cytotoxicité et paramètres métaboliques dans un milieu dépourvu de sérum: production/stockage triglycérides et glycogène, b-oxydation, respiration mitochondriale, contenu en ATP, apport de la microfluidique(1-18 mois)

* génotoxicité : quantification altérations primaires de l'ADN (histone gH2Ax, test des comètes) et aberrations chromosomiques (test du micronoyau)(18-36 mois)

* mécanismes de toxicité impliqués: expression de gènes et protéines des voies métaboliques et détoxification après traitement et invalidation de l'expression de récepteurs nucléaires (PPARa/g, PXR, CAR). Effet sur l'expression et l'activité fonctionnelle des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et la nature des interactions(12-30 mois)

Ces données permettront de déterminer la nature des interactions entre les divers composés (effet additif ou synergique) grâce à des méthodes statistiques appropriées.

Partenariat

Inserm/UMR-S 1085 IRSET – DYMEC2 (Dynamique du microenvironnement, Cancer et contaminants) – Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Sophie Langouet

Inserm/UMR-S 1124 – T3S-Team 1 – Paris

Responsable de l'équipe : M. Etienne Blanc

Evaluation de l'intelligibilité de la parole dans le bruit par des méthodes d'intelligence artificielle pour des travailleurs malentendants appareillés

M. Jean-Pierre Arz
INRS - Vandoeuvre

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 780 € TTC

Objectif détaillé

L'intelligibilité de la parole dans le bruit est un problème majeur pour les travailleurs malentendants appareillés. En effet, les difficultés de compréhension peuvent conduire à des effets extra-auditifs importants (tels que gêne, fatigue, stress, perte de sommeil, etc.) et compromettre leur sécurité au travail. On peut estimer, en considérant les personnes âgées de 20 à 65 ans qui déclarent des limitations fonctionnelles auditives allant de moyennes à totales, que le nombre de salariés qui devraient porter des prothèses auditives en France s'élève à plus de 2 millions.

Or le port d'une prothèse auditive ne permet pas au salarié de bénéficier d'une compréhension équivalente à celle d'un salarié normo-entendant, malgré les récentes avancées technologiques comme la directivité adaptative ou la réduction de bruit. Par ailleurs, étant donné que les tests auditifs subjectifs pour caractériser l'intelligibilité sont chronophages, il n'est pas envisageable de les appliquer pour évaluer la performance de chacune des multiples stratégies de traitement du signal présentes dans les aides auditives actuelles.

En outre, les situations sonores les plus difficiles pour les porteurs d'aides auditives sont les conversations à locuteurs multiples pour lesquelles le malentendant appareillé s'appuie sur la localisation spatiale des sources utiles (démasquage binaural) pour améliorer sa compréhension. Or les méthodes actuelles de prédiction objective de l'intelligibilité sont incomplètes car elles ne permettent pas de prendre en compte à la fois l'aspect binaural de l'écoute et l'effet des traitements réalisés par les prothèses auditives.

Ainsi l'objectif de ce projet est de développer des méthodes objectives de caractérisation de l'intelligibilité de la parole dans le bruit pour les travailleurs porteurs d'aides auditives. Plus spécifiquement, il s'agit de développer un indicateur capable de prédire l'intelligibilité de la parole dans le cas de conversations à locuteurs multiples, en tenant compte de l'aspect binaural de l'écoute et des traitements réalisés par les prothèses.

Ces méthodes permettront d'objectiver la gêne du salarié au poste de travail et donc les effets extra-auditifs associés et d'aider les audioprothésistes, lors de la phase de réglage des

appareils auditifs, à paramétrer les options de traitement spécifiques pour garantir une bonne intelligibilité dans les environnements de travail bruyants. D'autre part, elles offriront aux salariés malentendants appareillés la possibilité de mieux sélectionner les types de traitements proposés par leurs aides auditives.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de ce projet réside dans la mise au point d'une méthode objective de caractérisation de l'intelligibilité qui sera beaucoup plus rapide à mettre en œuvre que la méthode classique des tests auditifs subjectifs. Elle s'articulera autour de deux points :

- L'utilisation de nouvelles méthodes basées sur l'intelligence artificielle (apprentissage profond par réseaux de neurones) pour caractériser l'intelligibilité en sortie d'aides auditives
- La validation de la méthode par la réalisation d'une importante campagne de tests subjectifs d'intelligibilité auprès d'un minimum de vingt malentendants appareillés.

Questions de recherche

NSON 1 - Évaluation des effets extra-auditifs pour la population générale et/ou les travailleurs (par exemple pathologies respiratoires, perturbations du sommeil, apprentissage scolaire).

On peut estimer que plus de 2 millions de salariés français devraient porter des aides auditives. Or les difficultés de compréhension de la parole éprouvées par les malentendants appareillés génèrent des effets extra-auditifs importants et affectent leur sécurité au travail. Par ailleurs, le calcul objectif de l'intelligibilité pour des conversations à locuteurs multiples, tout en tenant compte des pertes auditives et de l'impact des aides auditives, reste à l'heure actuelle problématique. C'est pourtant un élément essentiel dans l'estimation de la gêne additionnelle subie par les malentendants appareillés et de ses conséquences extra-auditives.

Ce projet vise à mettre au point et valider une méthode pour prédire l'intelligibilité de la parole en fonction des options de traitement de la prothèse et de ses réglages, dans le but d'améliorer la compréhension de la parole et de limiter ainsi les effets extra-auditifs associés, conformément à la question NSON 1.

Ce projet est orienté sur les travailleurs mais ses résultats seront également applicables à la population générale.

Description des méthodes mises en œuvre

La méthodologie envisagée comprend trois étapes principales :

- 1) **Mesures subjectives des scores d'intelligibilité de la parole** auprès d'un minimum de vingt malentendants représentatifs de la majorité de la population malentendante active (surdité moyenne) et équipés de leurs propres aides auditives. Les aides seront réglées suivant le programme de traitement « parole dans le bruit », censé favoriser l'intelligibilité dans les environnements bruyants, qui utilise une combinaison complexe de plusieurs options de traitements élémentaires. **Les scores d'intelligibilité ainsi obtenus (plus de mille scores attendus) constitueront la « vérité terrain » et seront utilisés comme jeu d'évaluation des approches par réseaux de neurones,**
- 2) Mesures acoustiques en sortie des aides auditives. Les aides seront placées sur un mannequin acoustique et divers signaux de parole cible et de bruits masquants seront

générés pour constituer de multiples environnements sonores spatialisés en entrée des appareils. Les mesures en sortie des appareils seront répétées pour les différentes options de traitements élémentaires. Le but de cette étape est de collecter un grand nombre d'échantillons (plusieurs dizaines de milliers) pour permettre de couvrir le programme de traitement complexe « parole dans le bruit » de l'aide auditive étudié à l'étape 1. Les données ainsi récoltées serviront de jeu d'apprentissage pour les modèles développés,

3) Développement d'un modèle de réseaux de neurones pour la prédiction d'un indicateur d'intelligibilité qui prend en compte l'aspect binaural et les traitements réalisés par les prothèses. L'utilisation de données simples à l'apprentissage permettra de passer à l'échelle, d'utiliser des approches auto-supervisées et de s'affranchir des indicateurs existants dans le processus d'annotation. Le modèle sera évalué sur des données subjectives (étape 1) non vues à l'apprentissage (étape 2).

Le projet, d'une durée de 36 mois, rassemble trois partenaires aux compétences complémentaires, issus de l'INRS, du LORIA et du LEMTA. Il est prévu de réaliser un contrat de thèse (36 mois) et deux contrats post-doctoraux (12 mois chacun).

Partenariat

INRS – ACOUSTIQUE AU TRAVAIL (ACT) – VANDOEUVRE-LÈS-NANCY

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

LORIA – MULTISPEECH - VANDOEUVRE-LÈS-NANCY

Responsable de l'équipe : M. Romain Serizel

LEMTA – ACOUSTIQUE - VANDOEUVRE-LÈS-NANCY

Responsable de l'équipe : M. Joël Ducourneau

Résumé METRONOME - 2023_EST_163

Mesure En Temps Réel du potentiel Oxydant, NOuvelle Métrique de **l'Exposition aux** aérosols en hygiène industrielle et en air ambient

M. Davy Rousset
INRS - Vandoeuvre-lès-Nancy

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 791 € TTC

Objectif détaillé

L'exposition aux particules ambiantes (PM) est un problème majeur de santé publique avec plus de 40000 décès annuels attribuables à l'exposition aux PM_{2.5} en France [1]. De nombreuses études épidémiologiques indiquent que les expositions à ces PM affectent la santé respiratoire et cardiovasculaire via des processus inflammatoires associés à un stress oxydant [2]. Le potentiel oxydant des particules de l'air (PO), traduisant leur capacité à produire des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou à oxyder des molécules, apparaît comme une métrique pertinente pour prédire leur réactivité biologique et leur toxicité potentielle. Cette métrique a été mise en œuvre pour la caractérisation des PM environnementales et plus récemment en atmosphère de travail [3-5]. La mesure du PO est souvent réalisée à l'aide de tests acellulaires utilisant des composés réducteurs comme le Fe-xylénol orange (FOX) ou le dithiothreitol (DTT), qui a été retenu comme méthode standard dans le cadre du projet européen RI Urbans. Les spécificités et sensibilités de ces tests sont différentes, en fonction du type (suies, aérosols organiques secondaires (AOS)) et de la composition des aérosols (métaux, carbone organique). Pour une utilisation effective de cette méthodologie afin d'évaluer les effets sur la santé des PM, plusieurs améliorations sont encore nécessaires. Elles constituent les objectifs de ce projet:

- **Harmonisation:** Il est actuellement difficile de comparer les valeurs de PO obtenues par ces différentes méthodes. Les protocoles ne sont pas harmonisés et il n'existe pas d'étalon représentatif de l'atmosphère à étudier utilisable pour des intercomparaisons. Cela est d'autant plus nécessaire que ces deux méthodes ne sont pas représentatives du même processus biologique: le DTT peut être considéré comme un analogue au glutathion, un antioxydant cellulaire majeur alors que le test FOX reproduit la réaction de Fenton pouvant avoir lieu dans l'organisme en présence de peroxydes en libérant des radicaux hydroxyles.
- **Rapidité (mesure en ligne, analyse en temps réel) pour améliorer la précision et la représentativité de la mesure.** Les tests acellulaires réalisés au laboratoire après prélèvement sur filtre (analyse différée) entraînent en effet une sous-estimation du PO réel par disparition de ERO à vie courte présentes dans les aérosols [6,7]. Il convient donc de développer des méthodes d'analyse en ligne et en temps réel pour limiter cet artefact.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Aussi bien en santé travail qu'en santé publique, plutôt que la masse ou le nombre, la mesure directe du PO des aérosols pourrait permettre d'identifier des pics ou périodes d'exposition à des événements oxydants plus intenses, et ainsi permettre des alertes rapides et éventuellement la mise en œuvre de mesures de prévention. Des développements technologiques dans ce sens sont en cours mais les instruments sont encore au niveau du prototype [8-12] et leur mise en œuvre est rendue difficile par une absence d'harmonisation des protocoles de mesure, d'étalonnage et d'expression des résultats.

L'aspect novateur de ce projet repose donc sur le développement de méthodes harmonisées et complémentaires de mesure du PO en temps réel et qui permettra de définir leur applicabilité sur le terrain, en santé publique ou en hygiène industrielle. Ses points forts reposent sur 1) le développement de 2 instruments de mesure complémentaires, transportables, de détermination du PO en temps réel, 2) la génération maîtrisée et reproductible d'échantillons représentatifs de ceux rencontrés dans un atelier ou en air ambiant, 3) la comparaison directe des valeurs de PO de particules variées, 4) la caractérisation physico-chimique des PM collectées ou analysées en temps réel pour l'interprétation des mesures des 2 méthodes de PO, 5) une longue expérience de travail du porteur de projet avec les 2 autres équipes garantissant une collaboration efficace.

Questions de recherche

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

Ce projet, concernant l'exposition à des particules fines et ultrafines générées lors d'activités industrielles ou dans l'air ambiant, apporterait des éléments de réponses à la question AIR3 en proposant une évaluation directe d'une métrique en lien avec un effet sur la santé. L'optimisation des méthodes d'évaluation du PO en ligne pour l'exposition à des polluants métalliques ou organiques est en lien avec la question ACHIM 6.

Description des méthodes mises en œuvre

Principales étapes:

- 1) Validation instrumentale de la mesure en ligne du PO (2 prototypes développés par les partenaires et basés sur les tests DTT et FOX) par un plan d'assurance et de contrôle qualité (sensibilité, limites de détection, interférences, résolution temporelle...)
- 2) Elaboration d'étalons communs pour normaliser les résultats entre ces 2 méthodes
- 3) Comparaison de méthodes en ligne vs collecte sur filtre dans différents environnements caractérisés:
 - + En laboratoire: génération contrôlée selon des protocoles établis disponibles parmi les partenaires, d'aérosols organiques (brouillard d'huiles, AOS) et métalliques (fumées de soudage)

+ Lors d'essais de terrain dans l'air des lieux de travail ou dans le cadre de la surveillance de la qualité de l'air

Calendrier prévisionnel:

- M1-6 Optimisation des prototypes (transportabilité, fréquence/durée de mesure, sensibilité, validation des étalons pour normalisation du PO)
- M7-18 Caractérisation comparative des prototypes en laboratoire
- + Production avec bancs de génération des PM et caractérisation physico-chimique (distribution en taille, morphologie, composition élémentaire)
- + **Mesure du PO particulaire/gazeux et étude de l'efficacité de collecte en fonction de la taille des particules**
- M18-30 Mesures de terrain en atmosphère de travail et en milieu urbain, analyse des données
- M18-36 Valorisation (rapports, articles scientifiques, conférences)

Bibliographie:

[1] Medina et al. 2021. <https://www.santepubliquefrance.fr/>. [2] Bates et al. 2019. DOI [10.1021/acs.est.8b03430](https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03430). [3] Ghanem et al. 2021. DOI [10.3390/atmos12010030](https://doi.org/10.3390/atmos12010030). [4] Moreno et al. 2017. DOI [10.1016/j.atmosenv.2016.10.045](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.10.045). [5] Sauvain et al. 2021. DOI [10.1016/j.ijheh.2021.113775](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113775). [6] Pietrogrande et al. 2019. DOI [10.1007/s11356-021-12604-7](https://doi.org/10.1007/s11356-021-12604-7). [7] Yang et al. 2014. DOI [10.1016/j.atmosenv.2013.10.049](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.10.049). [8] Berg et al. 2020. DOI [10.1016/j.atmosenv.2019.117132](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.117132). [9] Fang et al. 2014. DOI [10.5194/amtd-7-7245-2014](https://doi.org/10.5194/amtd-7-7245-2014). [10] Eiguren-Fernandez et al. 2017. DOI [10.5194/amt-10-633-2017](https://doi.org/10.5194/amt-10-633-2017). [11] Puthussery et al. 2018. DOI [10.5194/amt-11-5767-2018](https://doi.org/10.5194/amt-11-5767-2018). [12] Campbell et al. 2019. DOI [10.1021/acs.analchem.9b03282](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03282)

Partenariat

INRS – Département Métrologie des Polluants (MP) – Laboratoire Analyse Inorganique et Caractérisation des Aérosols (LAICA) - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Davy Rousset

IMT Nord Europe – CERI Energie-Environnement (EE) – Unité de Recherche Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement **5SAGE**) - Douai

Responsable de l'équipe : M. Laurent Alleman

Unisanté – Département Santé Travail Environnement (DSTE) – Unité Ingénierie Environnementale – Lausanne

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Suarez

Méthode d'identification des modes d'action des perturbateurs thyroïdiens par une combinaison de tests sur Eleuthero-embryons

M. Laurent Sachs
CNRS UMR 7221 PhyMA CP 32 - Paris

Projet complet - 24 mois
Budget : 197 049 € TTC

Objectif détaillé

Selon la réglementation Européenne, « Un perturbateur endocrinien (PE) est une substance qui altère les fonctions du système endocrinien et de ce fait induit des effets néfastes dans un organisme intact (...) ». Pour qu'une substance soit identifiée PE il faut donc que la manière dont elle induit des effets délétères passe par un mode d'action (MoA) endocrinien identifié. Il existe pour chaque axe endocrinien plusieurs modes MoA possibles : une interaction avec le récepteur mais également une perturbation de la production, du transport, l'élimination ou la régulation d'une hormone. Certains de ces MoA peuvent être révélés par des tests *in vitro*, comme l'interaction avec le récepteur mais d'autres nécessitent un organisme entier pour être révélés, c'est le cas notamment de l'inhibition du transport. La stratégie d'évaluation européenne des pesticides et biocides passe par la réalisation d'une série de tests permettant de déterminer leurs potentielles activités sur les axes endocriniens. Les tests sont réalisés selon des lignes directrices validées par l'OCDE. Pour la perturbation thyroïdienne, deux lignes directrices reposent sur des évaluations morphométriques lors de la métamorphose des amphibiens. Les travaux du laboratoire Watchfrog et l'UMR7221 sont à l'origine de la troisième ligne directrice : le test XETA (Xenopus Eleutheroembryonic Thyroid Assay). Il s'agit d'un test utilisant une lignée transgénique dans laquelle l'expression d'un gène codant la GFP est placée sous le contrôle d'un promoteur répondant à la signalisation thyroïdienne. Dans les embryons, des variations de la fluorescence indiquent que la substance testée est active sur l'axe thyroïdien. Au-delà de la mise en évidence de l'activité endocrinienne, le XETA apporte également des indices sur le MoA : le test est réalisé en absence et en présence d'hormone thyroïdienne (mode non-dopé et dopé), les directions de variations de la fluorescence dans chacun des deux modes dépendent du MoA de la substance. Un agoniste du récepteur induit une augmentation de fluorescence dans les deux modes alors qu'un inhibiteur induira une augmentation uniquement en mode dopé. Certains MoA ne sont toutefois pas détectés comme l'inhibition de l'import d'iode. Nous développons actuellement sur le même principe un test de détection des molécules actives sur l'axe thyroïdien, TETHYS (Transgenic Eleutheroembryo Thyroid Specific test), basé sur une lignée de poisson médaka. Ce test sera la base du développement d'une nouvelle ligne directrice OCDE. La lignée transgénique est basée sur une construction génétique dans laquelle le promoteur de la Thyroglobuline contrôle l'expression de la GFP. Cette lignée exprime la GFP dans les follicules thyroïdiens comme attendu. Un traitement

avec de l'hormone thyroïdienne ou avec un inhibiteur de la TPO induisent comme attendu respectivement une diminution et une augmentation de fluorescence (la synthèse de la thyroglobuline est influencée par la boucle de rétrocontrôle de l'axe thyroïdien et est donc induite lorsque la concentration de l'hormone diminue). Comme pour le test XETA, le sens de variation de la fluorescence apporte donc des indices sur les modes d'action possibles de la substance. Les MoA non détectés par le XETA le seront par le test TETHYS, comme l'inhibition de l'import d'iode.

Notre objectif est de développer une méthode d'identification des MoA des perturbateurs thyroïdiens basée sur la combinaison des tests XETA et TETHYS. Nous appliquerons ensuite cette méthode aux 16 substances classées prioritaires par l'ANSES pour l'évaluation de leur caractère PE. Nous sélectionnerons ensuite les deux substances présentant les activités les plus problématiques et nous étudierons les conséquences d'une exposition à ces substances sur le transcriptome des Eleuthero-embryons. Cette analyse permettra d'affiner la caractérisation des MoA thyroïdiens mis en jeu et apportera des données sur une possible action sur d'autres axes endocriniens.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'identification des modes d'action des perturbateurs endocriniens est un enjeu majeur du point de vue réglementaire, la méthode que nous développerons permettra de renseigner sur les mécanismes d'action des substances actives sur l'axe thyroïdiens en utilisant des tests *in vivo* qui ont une réelle pertinence physiologique contrairement aux tests *in vitro*. Bien qu'utilisant des organismes vertébrés entiers, les tests sur eleutheroembryons ne sont pas soumis à la réglementation sur l'expérimentation animale et présentent en ce sens une alternative éthique aux tests *in vivo* à des stades plus avancés qui de plus n'apportent que peu d'éléments sur les mécanismes d'action possibles.

Questions de recherche

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, présumées ou suspectées.

Le projet répondra directement à la question « Développement de méthodes permettant d'investiguer des mécanismes d'action » et apportera des éléments à la question « Développement de biomarqueurs d'exposition à des substances perturbatrices endocriniennes ».

Description des méthodes mises en œuvre

Les 9 premiers mois seront consacrés à enrichir le jeu de données disponibles pour le test TETHYS en testant des substances de référence dont les modes d'action sont connus et pour lesquelles des données XETA sont disponibles. La comparaison des résultats obtenus avec chacun des deux tests permettra de caractériser les différences de sensibilité pour chaque mode d'action, les directions de variations de fluorescence observées et les modes d'action non détectés pour chaque test. Nous pourrons ainsi déduire le ou les modes d'action possibles d'une substance inconnue selon les variations de fluorescence obtenues dans chacun des deux tests.

Nous testerons ensuite (mois 10 à 20) en utilisant les tests XETA et TETHYS les 16 substances classées prioritaires par l'ANSES pour l'évaluation de leur caractère PE et déterminerons les modes d'action possibles pour celles qui sont actives sur l'axe thyroïdien. Nous étudierons les conséquences d'une exposition à deux des substances positive sur le transcriptome des Eleuthero-embryons (mois 21 à 30). Cette analyse permettra d'affiner la caractérisation des modes d'actions thyroïdiens mis en jeu et apportera des données sur une possible action sur d'autres axes endocriniens. Les six derniers mois du projet seront consacrés à la synthèse des données et à la rédaction des publications scientifiques et du rapport final.

Partenariat

Equipe 1 : CNRS - RoDEo - Paris

Responsable de l'équipe : M. Laurent Sachs

Equipe 2 : Laboratoire Watchfrog – R&D - Evry

Responsable de l'équipe : M. David Du Pasquier

Résumé NanoPlastX - 2023_EST_043

Exposition orale à des nanoplastiques : devenir, transformations physico-chimiques et toxicité sur l'écosystème digestif

Mme Muriel Mercier Bonin
Inra ToxAlim UMR 1331 - Toulouse

Projet complet - 36 mois
Budget : 198 581 € TTC

Objectif détaillé

Le projet NanoPlastX a pour objectif d'élucider, après exposition orale, le devenir et les effets toxicologiques de nanoplastiques (NPL) sur les parties hautes et basses du tractus gastro-intestinal à la fois *in vitro* dans des modèles de digestion chez l'Homme et *in vivo* (modèle murin) afin d'identifier des indicateurs de dysfonctionnement (caractéristiques physico-chimiques « critiques » après digestion, dysbiose du microbiote intestinal, rupture de la fonction barrière intestinale, translocation et distribution dans les organes périphériques, perturbations révélées/exacerbées sous stress nutritionnel...). Le lien sera établi avec des méthodes innovantes pour la synthèse et la caractérisation de ces formes plastiques nano-dimensionnées à l'état natif puis dans les fluides digestifs et autres matrices d'intérêt.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet se situe à plusieurs niveaux : (i) la synthèse de NPL marqués « à façon » (or) (IPREM) permettant d'appréhender, par des outils analytiques dédiés (IPREM), leur devenir et leurs transformations physico-chimiques durant la digestion, (ii) l'exploration des interrelations NPL/épithélium/mucus/microbiote aux effets largement méconnus (Toxalim) et (iii) l'évaluation des conséquences de la toxicité des NPL sur un système « sensibilisé » via la fragilisation de la barrière intestinale (Toxalim).

Une thèse en co-encadrement entre Toxalim et IPREM a débuté en 2022 sur cette thématique. Le travail proposé s'appuiera également sur la collaboration entre Toxalim et MEDIS pour son expertise sur les modèles dynamiques *in vitro* mimant l'environnement digestif humain (thèse soutenue en 2022 sur les microplastiques (MPL)). Il bénéficiera enfin de l'apport de l'ANSES sur les aspects analytiques ainsi que de la collaboration avec le Synchrotron SOLEIL et la ligne de lumière LUCIA (cartographie élémentaire par fluorescence X).

Questions de recherche

CoEm 1 - Cas des plastiques (macro, micro, nano) : composition et métrologie des micro/nano-plastiques dans les compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des plastiques;

biodégradabilité ; sources et voies d'exposition ; méthodes de détection et des mesures de l'accumulation dans les tissus humains ; risques induits pour l'Homme et l'environnement.

Le projet NanoPlastX a été construit en réponse à la question CoEm1. Véritable terra incognita, la problématique autour de l'impact des NPL sur la santé humaine, vue sous l'angle de la santé digestive, trouve ici, par le choix des questionnements scientifiques et des modèles expérimentaux, une exploration innovante, basée sur une approche interdisciplinaire dans un continuum in vitro-in vivo, associant toxicologie, physiologie, chimie de synthèse macromoléculaire et analytique, physico-chimie et physique.

Description des méthodes mises en œuvre

Les connaissances sur la toxicité intestinale des NPL sont très limitées, l'essentiel des travaux décrits à ce jour portant sur les MPL. Par ailleurs, les rares études menées in vivo ont été réalisées en condition de fonction barrière de l'intestin intègre. Or, l'Homme contemporain est confronté à un certain nombre de stress environnementaux (« exposome »). Dans ce contexte, les hypothèses de travail sont les suivantes : (i) en raison de notre alimentation et de notre environnement, il existe une exposition, par ingestion, aux NPL dont la toxicité sur la sphère intestinale n'a pas été évaluée, (ii) des interrelations, à ce jour jamais abordées ou de manière parcellaire, peuvent s'instaurer entre ces formes plastiques et la fonction barrière de l'intestin, (iii) la toxicité intestinale est liée à des transformations physico-chimiques des NPL lors de la digestion, (iv) cette toxicité intestinale peut être renforcée sous stress nutritionnel (régime de type Western), du fait de son impact délétère sur la fonction barrière de l'intestin. L'objectif du projet est ainsi d'explorer, par le couplage d'approches in vitro et in vivo et le développement d'outils analytiques, les effets d'une exposition orale aux NPL sur la sphère intestinale et, plus particulièrement, sur la fonction barrière de l'intestin, intègre ou fragilisée, via le triptyque épithélium/mucus/microbiote. Le volet 1 (1-18 mois) portera sur l'élaboration et la caractérisation de NPL sphériques et monodisperses, versus polydisperses et polymorphes, à base de polystyrène (PS), marqués à cœur par une espèce métallique (or) (IPREM). Il sera ainsi possible d'accéder à des NPL de taille contrôlée (<1000 nm), avec une fonctionnalité de surface (groupements carboxyliques) mimant l'oxydation des NPL environnementaux. Différentes analyses chimiques (SP-ICPMS, RMN, IR), morphologiques (MEB, MET, AFM), de taille et de distribution (diffusion de lumière, AF4) permettront une caractérisation complète des NPL.

Le volet 2 (3-15 mois) s'intéressera à la caractérisation des NPL et leurs transformations physico-chimiques au cours de la digestion humaine par simulation in vitro en conditions statiques selon le protocole INFOGEST (Toxalim). Cette étape permettra de sélectionner les NPL à tester dans le dispositif in vitro de digestion gastro-intestinale complexe TIM1 (MEDIS). Ce modèle reproduit de manière physiologique les paramètres physico-chimiques rencontrés dans l'estomac et les trois parties de l'intestin grêle humains (dynamique du pH gastrique et intestinal, péristaltisme, temps de transit, sécrétions d'enzymes digestives et absorption de l'eau et des produits de digestion). Différentes analyses seront réalisées par SP-ICPMS, AF4 couplée à la diffusion de lumière, microscopies MEB, MET et AFM (IPREM) et par imagerie de fluorescence X (XRF) sur la ligne LUCIA (SOLEIL) afin de localiser spatialement l'or (signature des NPL) et le soufre (signature biologique) et ainsi identifier la formation éventuelle d'agrégats de NPL et/ou d'une couronne protéique autour des NPL. La toxicité

résultante sera déterminée sur un modèle cellulaire intestinal in vitro (Toxalim). Le volet 3 (15-36 mois) chez des souris adultes, mâles ou femelles, évaluera l'impact d'une exposition orale subchronique (90 jours) aux NPL incorporés dans la nourriture (Toxalim). L'intégrité de la barrière épithéliale et du mucus ainsi que la réponse inflammatoire seront déterminées. La composition du microbiote fécal sera analysée par séquençage 16S et les modifications de son activité métabolique révélées par spectroscopie RMN 1H. L'axe intestin/foie sera également exploré. Par ailleurs, l'ensemble des outils analytiques sera mis en œuvre pour localiser/quantifier les NPL dans les différents organes et fluides/tissus biologiques et caractériser leurs transformations physico-chimiques (IPREM, SOLEIL, ANSES). L'effet potentiellement révélateur/synergique d'un régime de type Western sera enfin évalué.

Partenariat

INRAE - ToxAlim UMR 1331 – Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Muriel Mercier Bonin

Université Clermont Auvergne-INRAE – Unité 454 MEDIS – Clermont Ferrand

Responsable de l'équipe : Mme Blanquet-Diot Stéphanie

SOLEIL – INRAE – Ligne LUCIA – UAR TRANSFORM – Nantes

Responsable de l'équipe : Mme Camille Rivard

IPREM UMR 5254 UPPA/CNRS – PCM-nanoplastic – Pau

Responsable de l'équipe : Mme Stéphanie Reynaud

ANSES (EPA) Lsal- site de Boulogne sur mer – Physico-chimie des produits de la pêche et de **l'aquaculture** - Boulogne sur mer

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Duflos

Multiexposition néonatale aux plastifiants des dispositifs médicaux: effets cocktails de perturbation endocrinienne et neurodéveloppement

Mme Lise Bernard
CHU Clermont-Ferrand - Clermont-Ferrand

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 985 € TTC

Objectif détaillé

Les nouveau-nés et prématurés de réanimation néonatale (RN) sont quotidiennement exposés aux plastifiants des dispositifs médicaux (DM) en PVC utilisés pour leur prise en charge thérapeutique, tels que le DEHP (di-éthylhexylphtalate), autres phtalates et assimilés. Cette polyexposition est problématique au regard des propriétés reprotoxiques et de perturbation endocrinienne (PE) avérées ou présumées de certains d'entre eux. Ils peuvent impacter fortement le développement de l'enfant: perturbation de la voie de signalisation thyroïdienne affectant la croissance, le développement cérébral, modification de la synthèse des hormones stéroïdes, comme les oestrogènes, la testostérone, l'hormone folliculaire, l'hormone lutéinisante ou d'autres hormones impliquées dans la fertilité. De plus, les périodes foetale et néonatale sont particulièrement sensibles aux effets des PE. Cela s'inscrit dans le concept de DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) qui postule que l'exposition à certains facteurs environnementaux pendant des périodes critiques du développement et de la croissance peut avoir des conséquences significatives sur la santé des individus à court et long termes. Des méta-analyses font état d'un risque accru de maladies neurocomportementales et psychiatriques (autisme, déficit de l'attention, troubles de l'anxiété, etc) chez des enfants exposés en période postnatale à des PE comme le DEHP. Ces effets sur le neurodéveloppement (ND) pourraient en partie être liés à une perturbation hormonale durant la période de mini-puberté (4-12 semaines après la naissance) au regard de l'impact substantiel des taux de testostérone sur le développement cérébral et le comportement dans l'enfance.

Jusqu'ici, nous avons mis en évidence la capacité individuelle in vitro des métabolites de ces différents plastifiants à modifier des réponses hormonales aux concentrations retrouvées dans les urines des patients de RN, présageant ainsi d'un potentiel effet PE (projet ARMED NEO-Assessment and Risk management of MEDical Devices in plasticized polyvinylchloride in NEOatology). Néanmoins, en situation clinique, les nouveau-nés de RN sont exposés à un panel de plastifiants intégrés dans les DM de compositions qualitative et quantitative extrêmement variées. Cette multiexposition suppose un risque d'effet « cocktail », étant donnée la capacité des plastifiants et de leurs métabolites, à produire des

effets combinés différents de ceux produits individuellement et ainsi engendrer une toxicité supérieure en mélange (synergie).

L'objectif principal sera de répondre aux questions suivantes :

- Existe-t-il un effet cocktail PE lié à la multiexposition aux plastifiants en période néonatale ?
- Cet effet est-il associé à un surrisque de troubles du neurodéveloppement chez les nouveau-nés exposés ?

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La promotion de la substitution des PE est au cœur des stratégies, dans le but d'engager les industriels à innover et de protéger les individus («Safer by design»). Il n'existe actuellement aucune démarche pour évaluer le risque lié à l'exposition via les plastifiants des DM, particulièrement en population vulnérable de néonatalogie. Par ailleurs, les effets « cocktail » ne sont encore pas décrits dans ce domaine.

Questions de recherche

ACHIM 3.1 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des expositions à des substances chimiques en milieu de travail et en population générale, multi-expositions ou expositions cumulées à d'autres types de nuisances (nuisances physiques, biologiques, relationnelles, organisationnelles...).

ACHIM 3.2 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : 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. Etude des effets synergiques et antagonistes des substances en mélanges.

ACHIM 3.3 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : impacts des co-expositions à des agents microbiologiques et chimiques sur la santé humaine et les écosystèmes.

Notre projet s'inscrit dans une démarche d'évaluation de l'impact de multiexpositions en population particulièrement sensible que sont les nouveau-nés de RN. Grâce à l'implication d'équipes pluridisciplinaires, une approche transversale de la problématique est rendue possible et permettra de d'identifier le risque toxique de ces multiexpositions postnatales et d'en mesurer les impacts cliniques en termes de neurodéveloppement. Cela contribuera à apporter des réponses quant aux interrogations portant sur la substitution d'un plastifiant par un autre dans les DM utilisés chez le nouveau-né et sur la hiérarchisation de leurs combinaisons en RN, afin de mettre en place des recommandations et d'envisager les solutions au meilleur rapport bénéfice/risque (B/R) en concertation avec les industriels.

Description des méthodes mises en œuvre

1- Identification du danger lié à un effet cocktail des métabolites des plastifiants des DM (M1 à 36)

* Détermination des principaux mélanges de métabolites de plastifiants retrouvés dans les urines des patients de RN

=> une technique de factorisation par matrice non négative (NMF) appliquée aux analyses des échantillons urinaires de la cohorte ARMED NEO permettra de définir un nombre réduit

(vraisemblablement <10) de mélanges de métabolites reflétant le plus fidèlement possibles la variété des expositions subies. L'effectif de 97 patients (soit 508 mesures x 22 métabolites) devrait permettre une définition suffisamment stable de ces mélanges.

* Evaluation des effets « cocktail » des mélanges définis

Réalisation de biotests spécifiques permettant de mesurer un mode d'action hormonal (activation transcriptionnelle sur récepteurs aux œstrogènes, androgènes, thyroïdiens, ou perturbation de la stéroïdogénèse). Le choix des concentrations de ces mélanges sera décisif afin de comparer les effets à ceux des métabolites seuls et d'identifier d'éventuels « drivers » de ces mélanges. Des premiers résultats présentés au XVI^e Congrès International de Toxicologie (septembre 2022) ont montré des effets combinés avec certains métabolites.

* Comparaison des résultats expérimentaux (courbes doses-réponse) à ceux de modèles prédictifs décrits dans la littérature

=> addition de doses (ou concentrations), addition des effets (ou réponses) et/ou effet synergique

2- Evaluation de l'impact à moyen terme de la multiexposition néonatale aux mélanges de plastifiants sur le ND (M6 à 24)

Mise en évidence, en tenant compte des covariables faisant partie de l'exposome, d'un éventuel lien de corrélation entre le ND des enfants issus de la cohorte ARMED NEO et leur niveau de multiexposition postnatale aux plastifiants via les DM utilisés en RN. => étude clinique observationnelle, qui mesurera chez ces patients désormais âgés de 3/4 ans, des potentiels troubles du ND (TND) grâce à l'ASQ3 (Ages & Stages Questionnaire). => analyse par score de propension pour déterminer un éventuel surrisque de perturbation du ND avec prise en compte des facteurs confondants susceptibles d'impacter le score (socio-économiques et comportementaux des parents, cliniques/physiopathologiques des patients, etc).

Cette étude clinique sera réalisée sur 2 centres, les CHU de Clermont-Ferrand et de Lille, d'où proviennent initialement les 97 patients de la cohorte ARMED NEO.

Partenariat

CHU Clermont-Ferrand - Pharmacie – Clermont-Ferrand

Responsable de l'équipe : Mme Lise Bernard

INSERM – Équipe NUTOX (INSERM UMR U1231) - Dijon

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Christine Chagnon

CHU Lille - Pharmacie – Lille

Responsable de l'équipe : M. Bertrand Décaudin

Comparaison de la toxicité des résidus de fumée d'incendie présents sur les tenues de protection des sapeurs-pompiers, avant et après décontamination par ozonolyse

Mme Anne Platel

Institut Pasteur de Lille Laboratoire de Toxicologie Génétique - Lille

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 50 000 € TTC

Objectif détaillé

Dans le cadre de leur lutte contre les feux, les sapeurs-pompiers (SP) sont exposés directement aux fumées d'incendie lors des phases d'extinction ou indirectement aux résidus de fumées présents sur leurs équipements de protection individuelle (EPI). La décontamination de leurs EPI reste une source d'inquiétude majeure. Des armoires à ozone (O3) ont récemment été intégrées aux protocoles de décontamination comme une alternative au lavage classique. Néanmoins, aucune étude n'a encore évalué la toxicité des produits d'oxydation alors formés, à l'instar des dérivés oxygénés et nitrés des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). L'objectif de cette étude de faisabilité est de comparer (1) la composition chimique en HAP et leurs dérivés (i.e., oxy- et nitro-HAP) et le potentiel oxydant des résidus de combustion sur les vestes de feu, avant et après ozonolyse, et (2) d'évaluer leur toxicité en termes de mutagénicité/génotoxicité, de stress oxydant, de réponse inflammatoire et d'altération de voies de signalisation critiques dans des modèles in vitro d'épithéliums pulmonaires et cutanés humains.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

En 2022, le CIRC a classé l'exposition professionnelle des SP comme cancérogène, notamment du fait de leur exposition aux fumées d'incendie. En 2021, si les incendies n'ont représenté que 5,4% des interventions, ils ont cependant mobilisé 15% des effectifs (38000 SP). L'ANSES avait en 2019 déjà souligné la nécessité d'améliorer la prise en compte des risques encourus par les SP pendant et surtout après leurs interventions de lutte contre les incendies. Certes, le port correct des EPI les protège efficacement des substances toxiques des fumées d'incendie lors de leurs interventions. Cependant, une source importante d'exposition persiste après leurs interventions, de par la présence de résidus de combustion sur les EPI, et notamment sur les vestes de feu. Les SP et les personnels dédiés à leur appui logistique sont alors exposés à ces résidus toxiques par voie respiratoire ou cutanée. Une méthode émergente de décontamination des EPI par ozonolyse est déjà utilisée comme alternative au lavage classique. D'après les fabricants des armoires à O3, la réaction d'ozonolyse permettrait non seulement une décontamination biologique mais aussi la dégradation de contaminants chimiques, tels que les HAP. En France, plus de 600 de ces armoires ont été commercialisées et près de la moitié des Services Départementaux

d'Incendie et de Secours (SDIS) en est équipée. Lucena et al. (2021), dans la seule étude publiée à ce jour, ont certes rapporté une dégradation partielle des HAP par ozonolyse mais ont **surtout suggéré la formation d'oxy-HAP** génotoxiques et mutagènes. Ces résultats, très alarmants, soulignent l'importance et l'urgence d'étudier plus en avant la réactivité chimique des résidus de combustion, avant et après ozonolyse, de même que leurs toxicités pulmonaire et cutanée. L'originalité et le caractère novateur de notre étude de faisabilité résident dans l'apport de données toxicologiques sur cette problématique émergente encore très peu documentée afin de vérifier que l'ozonolyse des résidus de combustion présents sur leurs EPI n'expose pas insidieusement les SP à de nouveaux dangers. Les résultats de cette étude pourraient servir à un futur projet complet intégrant plus de familles de composés chimiques présents dans les résidus de combustion et l'ensemble des EPI, afin de s'assurer de l'innocuité des protocoles de décontamination basés sur l'ozonolyse.

Questions de recherche

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

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

ACHIM 5 - Évaluation de l'efficacité des moyens de prévention et de réduction des expositions aux contaminants chimiques présentant un risque pour la santé humaine et les écosystèmes.

Cette étude de faisabilité s'inscrit en réponse aux questions à la recherche ACHIM 5, AIR 3 et CANC 1. Après leurs interventions de lutte contre les incendies, les SP restent exposés à des résidus de combustion toxiques persistant sur leurs EPI. Il est donc très important d'assurer une décontamination post-intervention de ces équipements et surtout de s'assurer de l'innocuité de la méthode de décontamination par ozonolyse actuellement utilisée par plus de la moitié des SDIS (ACHIM 5). En effet, la persistance sur leurs EPI de ces résidus de combustion et surtout de leurs produits d'oxydation par ozonolyse pourrait exposer les SP à ces nouveaux dangers majoritairement par voie respiratoire, et dans une moindre mesure par voie cutanée (AIR 3). Le caractère génotoxique et mutagène de ces résidus de combustion, post-ozonolyse (oxy- et nitro-HAP), sera spécifiquement déterminé afin de contribuer à une meilleure évaluation du risque de cancers de cette exposition professionnelle émergente des SP (CANC 1).

Description des méthodes mises en œuvre

Le semestre 1 sera consacré à l'extraction des résidus de combustion à partir des vestes de feu des SP, avant et après ozonolyse. Des vestes de feu (n=5) seront récupérées après une séance de formation des SP dans un caisson à feu réel. Deux échantillons (100 cm²/veste, couches externe/interne) seront prélevés au niveau de la poitrine, l'un avant et l'autre après ozonolyse, dans une armoire à O₃ de l'Eq.3-SDIS-62. L'extraction des résidus par solvant et les dosages de 22 HAP, dont 16 classés prioritaires par l'OMS, et de 64 oxy- et nitro-HAP seront réalisés par LC-Fluorescence et GC/MS à l'INERIS par le Dr A. ALBINET (prestation). Le potentiel oxydant des extraits de résidus sera aussi évalué (i.e., H₂DCFDA, AA, DTT, GSH)

par l'Eq. 2-ULR4483 de même que sa mutagénicité (i.e., test d'Ames) par l'Eq. 1-LTG.

Le semestre 2 permettra d'exposer les modèles in vitro d'épithéliums pulmonaires et cutanés humains (i.e., cultures primaires: cellules épithéliales bronchiques/fibroblastes pulmonaires, kératinocytes/fibroblastes dermiques), déjà développés et caractérisés par les Eq. 1-LTG et Eq. 2-ULR4483, à l'interface air-liquide (IAL) pendant 4 h à des doses croissantes d'extraits de résidus, puis d'évaluer la cytotoxicité (i.e., ATP, G6PD, bleu Trypan) après 20 h. Pour chacun des deux modèles, trois doses seront choisies (i.e., CL10 à CL30) pour l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires de toxicité.

Les semestres 3 et 4 seront dédiés à l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires de toxicité des résidus de combustion dans les deux modèles in vitro d'épithéliums pulmonaires et cutanés, 20 h après leur exposition à l'IAL pendant 4 h aux 3 doses d'extraits de résidus (n=6/modèle/dose, soit 96 échantillons au total) : stress oxydant (i.e., NRF2, 8-OHdG, 4-HNE, GSH) et inflammation (i.e., NFkB, panel de cytokines) (Eq. 2-ULR4483), génotoxicité (i.e., tests des comètes et du micronoyau) et réparation de l'ADN (i.e., signatures géniques) (Eq. 1-LTG).

Partenariat

Institut Pasteur de Lille - Laboratoire de Toxicologie Génétique – Lille

Responsable de l'équipe : Mme Anne Platel

Université de Lille – ULR 4483 - IMPECS – Lille

Responsable de l'équipe : Mme Ophélie Simonin

Service départemental d'Incendie et de Secours - 62 – Groupement Logistique –
Pharmacie – ST LAURENT BLANGY

Responsable de l'équipe : Mme Valerie Martial

Résumé PANAMA - 2023_EST_177

Dose inhalée de pollution atmosphérique - une approche intégrative vers une évaluation personnalisée de l'exposition à la pollution atmosphérique chez des participants avec et sans maladies respiratoires

Mme Sarah Koch

Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal) - Barcelona

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 964 € TTC

Objectif détaillé

PANAMA will introduce the inhaled dose of air pollution (IDoAP) concept as a personalized approach to integrate the combined effects of air pollution and physical (in)activity on respiratory health. In participants with and without respiratory disease PANAMA aims to:

- develop algorithms to estimate IDoAP (work package (WP) 1);
- validate algorithms to estimate IDoAP (WP2); and
- assess the effects of IDoAP on respiratory health and biomarkers (WP3).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Chronic respiratory disease is a substantial contributor to global mortality. In 2017, 545 million individuals lived with chronic respiratory diseases. Physical activity is a strong, independent determinant of improved health, while air pollution impairs health. The combined effects of air pollution exposure and physical activity on respiratory health are insufficiently understood. Elevated breathing rates associated with physical activity increase the volume of pollutants entering the respiratory tract. Therefore, physical activity could catalyze negative effects of air pollution on respiratory health.

Inhaled dose of air pollutants (IDoAP), the product of inspired air (i.e. minute ventilation (VE)) and ambient air pollution concentrations, quantifies the volume of pollutants effectively entering the respiratory tree. Algorithms to estimate VE do not exist for adults with respiratory disease, and those existing for healthy adults have not yet been validated "in the real world", meaning "outside of the laboratory". Regarding air pollution assessment methods, comparisons between IDoAP estimates derived from wearable air pollution sensors, air pollution modelling approaches, or stationary data are lacking. Moreover, personal exposure to novel air pollutant metrics such as black carbon (BC) and ultrafine particles (UFP) remain unexplored. Consequently, the lack of VE algorithms and validation thereof in real-life settings in adults with and without respiratory disease, in addition to limited knowledge of the impact of various air pollution assessment methods, impede the

opportunity to assess the combined respiratory health impact of physical activity and air pollution exposure through a valid, non-invasively derived parameter such as IDoAP.

Questions de recherche

AIR 2 - Liens entre pollution de l'air et effets sanitaires : recherche sur de nouveaux outils (bases de données sur la qualité de l'air par exemple, systèmes capteurs, modélisation, biomonitoring...) visant à améliorer l'étude de la relation dose-réponse utile à l'évaluation des risques.

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

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

Digital health refers to the use of information and communication technologies in medicine to manage illness and health risks and to promote health. Recent advances in wearable technology, processing of physical activity and air pollution time series, and digital literacy in the general population were catalyzed by the COVID-19 pandemic. PANAMA aims to overcome current limitations in the assessment of VE and air pollution exposure to subsequently introduce IDoAP as a novel parameter to research in adults with and without respiratory disease by: (1) leveraging existing graded exercise test (GXT) data to develop VE algorithms for the calculation of IDoAP; (2) collecting new data to validate generated VE algorithms in real-world settings and compare various air pollution assessment methods; and (3) assessing the effects of IDoAP on respiratory and inflammatory health.

PANAMA is designed for success because it builds on collaborations between emerging and senior successful researchers from France and Spain with a track record in respiratory and environmental health.

Description des méthodes mises en œuvre

Each research question of PANAMA constitutes one work package that relies on existing data (WP1 and WP3) and newly collected data (WP2 and WP3).

POPULATION & DESCRIPTION OF EXISTING DATA

GXTs (WP1): laboratory-controlled, from >500 adults with COPD, asthma, or those free of respiratory disease conducted at the Barcelona Hospital Clinic, all including direct VE assessment through a facemask.

EGEA (WP3): 30-year follow-up cohort: 2047 subjects at baseline (EGEA 1 1992 – 95. Incl 655 with asthma) followed-up at EGEA 2 (2004-2007), and EGEA 3 (2011-13). A new follow-up, EGEA 4, will start mid-2023.

MOBILISE-D COPD CAT (WP3): 160 COPD patients from 3 Catalan primary care centers and 3 hospitals assessed at baseline, and 6, 12, 18, and 24 months of follow-up (2021-2023)

WORK PACKAGES & MEASURES & STATISTICAL ANALYSES

WP 1: GENERATION OF VE ALGORITHMS USING EXISTING GXT DATA

GXTs from the laboratory provide VE measures at continuously increased exercise intensities. We will use multiple linear regression modeling with various combinations of

participant (e.g., age, sex, height, weight), exercise (e.g., heart rate, breathing rate, metabolic equivalent of task), and lung function characteristics (e.g., spirometric outcomes) to develop a series of algorithms to estimate VE and subsequently IDoAP for healthy adults, and those with a COPD and asthma diagnosis.

WP2: (A) VALIDATION OF DEVELOPED VE ALGORITHMS FOR THE ESTIMATION OF IDoAP AND (B) COMPARISON OF AIR POLLUTION ASSESSMENT METHOD IMPACT ON IDoAP ESTIMATES

To validate the VE algorithms from WP1 we will use direct VE measures at the mouth collected from a wearable metabolic cart (incl. facemask) in a real-world setting (field study) as gold standard. Intraclass correlation coefficients (ICCs) and Bland Altman plots will be used to quantify and visualize the reliability between VE measured from the wearable metabolic cart and VE estimates from the WP1 algorithms. Additionally, using Lin Coefficients of Concordance (LCCs) we will compare IDoAP estimates using the best performing VE algorithm and various air pollution measures from wearable sensors, air pollution modeling approaches, and stationary stations only.

Pollutants we will assess in our IDoAP calculations include BC and UFP. These new air pollution and physical activity data will be collected by recruiting participants with and without asthma and COPD at ISGlobal and the Université Côte d'Azur.

WP3: ASSESSMENT OF RESPIRATORY AND INFLAMMATORY EFFECTS OF IDoAP
Using the best performing, validated algorithm from WP1 and WP2, we will estimate IDoAP for adults with and without respiratory disease from EGEA and MOBILISE-D COPD CAT to investigate the effects of IDoAP on lung function parameters (via spirometry) and inflammatory markers (via fraction of exhaled nitric oxide (FENO) and IL-6) using mixed effect regression modelling adjusted on potential confounders. We will use previously collected air pollution data measured via wearable sensors (MOBILISE-D COPD CAT) and air pollution modelling (EGEA and MOBILISE-D COPD CAT), and physical activity data from accelerometers (EGEA, MOBILISE-D) and questionnaires (EGEA).

Partenariat

Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal) – Non-communicable Diseases and Environment - Barcelona

Responsable de l'équipe : Mme Sarah Koch

Université Côte d'Azur – LAMHES (Laboratoire Motricité Humaine Expertise Sport Santé) – Nice

Responsable de l'équipe : Mme Valerie Bougault

INSERM U1029, IAB, équipe d'Epidémiologie Environnementale appliquée au Développement et à la Santé Respiratoire – La Tronche

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Siroux

INSERM U1018, équipe d'Épidémiologie Respiratoire Intégrative – Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Raphaëlle Varraso

Résumé PESTIFOL - 2023_EST_071

Déterminants socio-économiques de l'exposome et de ses conséquences génotoxiques chez les enfants

M. Pierre-Alexandre Vidi
Institut de Cancérologie de l'Ouest - Angers

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 384 € TTC

Objectif détaillé

The goal of this project is to characterize the impact of socioeconomic disparities on exposures to pollutants (incl. pesticides) and their biological effects in children. Many studies have focused on adults and shaped environmental regulations. Yet environmental contaminants accumulate at higher doses in children, who may have unique sensitivities to certain contaminants. It is therefore important to conduct environmental studies with children. We will combine quantification of DNA damage in hair follicles, exposome assessment in the hair matrix, and evaluation of socioeconomic indicators. To this end, a partnership was established between the Institut de Cancérologie de l'Ouest (Vidi, cell biology & Bellanger, SHS), the Human Biomonitoring Research Unit at the Luxembourg Institute of Health (Appenzeller, analytical toxicology), and the Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail (Chevrier, epidemiology and exposure science). Secondary goals will be to develop methodology for detection of DNA damage in follicular stem cells and assess feasibility of sample collection by the parents for follow-up studies.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

- PESTIFOL focuses on children who are often not represented in environmental studies.
- The impact of socioeconomic patterns on the nature and biological outcomes of the exposome is poorly understood. The socioeconomic status (SES) is often only considered as a confounding factor rather than an overarching determinant of health.
- Assessing DNA damage in hair follicles is a novel approach. Follicular cells are exposed to circulating chemicals. Plucking hair follicles is minimally invasive and practical.
- We will expand our protocol to specifically assess stem cells, for which biosampling approaches are lacking.
- The hair matrix reveals cumulative internal exposures corresponding to a specific time period. It is well established but its implementation is relatively new.
- Combining measures of DNA damage and the chemical exposome in the same context (hairs) is novel.

Questions de recherche

CANC 6 - Identification et/ou validation de biomarqueurs pour évaluer les risques dans des situations d'exposition environnementales ou professionnelles.

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

SHS 5 - Prise en compte des approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux...) des inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux. Justice environnementale.

CANCER 6: DNA damage is a molecular risk factor for cancers. PESTIFOL will characterize the exposome and DNA damage of pre-teen children, an age corresponding to a window of susceptibility for cancers. childhood exposures might be associated with long-lasting effects in adulthood. A secondary goal is to develop methodology focused on stem cells which are relevant to cancer initiation.

ACHIM 2: We will characterize the exposome of children. Our approach is to quantify a broad range of chemicals, including >145 pesticides from different classes (neonicotinoids, azoles, piperonyl butoxide), and other pollutants such as bisphenols, perfluorinated, and flame retardants. Quantifying many pollutants is needed to consider mixture effects and to infer causal relationships between exposures and outcomes.

SHS 5: The study will address the impact of social inequalities on the exposome and its biological consequences. It is therefore relevant to environmental justice.

Description des méthodes mises en œuvre

Overview: PESTIFOL will be a prospective study with 9-11-year-old children in the region of Pays de la Loire. A data collector will consent the participants and their guardian, obtain relevant data (questionnaire), pluck 5-10 hair follicles for DNA damage quantification, cut locks of hairs for chemical analyses, and provide a STEM educational activity. Repeated measures at two periods of the year will allow for intra-individual comparisons to control control for biological characteristics of the participants, such as differences in DNA repair. Participants will be recruited via established partnerships between the ICO and schools as well as community partners in Angers and Nantes. The participants will be divided in **high and low SES groups, based on the "socially preserved" vs "socially disadvantaged" areas of their elementary schools**, set by the INSEE National Institute for Statistics. Our target is N=50 per SES group. This sample size would enable us to detect an effect size (DNA damage) of 0.08 (Cohen's d) with >80% power. To place this in perspective, the effect size between rural and urban children in our previous study in North Carolina (Lepetit, Arcury, Vidi, et al., under review) was 0.74. We will consider sex as a variable and enroll similar numbers of girls and boys.

Questionnaires will include sociodemographic, socioeconomic, and other characteristics of the participants and their families (such as age, gender, height, weight, places for outdoor play, number of siblings, parents' education/occupation, organic food consumption, pets in household). **Acceptability of 'self-collection' of hairs will also be addressed.**

DNA damage will be quantified in plucked hair follicles using a sensitive, established protocol. Hairs are plucked from the scalp and fixed in formalin. DNA double-strand breaks

are detected in follicular cells by immunostaining for DNA break markers (53BP1 and gH2AX) which form distinct foci, quantified in microscopy images from the tip of the follicles. Multiplex staining methodology will be developed for stem cells analyses.

Exposome assessment will be based on hair analysis, with methodology developed by Dr. Appenzeller, an expert in the field. The relevance of this matrix is now well accepted and has been demonstrated in several groups, including children. Hair gives access to temporal windows representative of the chronic exposure. Contrary to urine and blood, the concentration of chemicals in hair is not affected by short-term variations in the exposure, allowing to detect differences with smaller groups of participants than when using fluids. The non-invasive sampling of hair is well adapted to children, does not require specific settings, and samples can be easily stored and transported.

Data analyses and interpretation will be done collaboratively, combining expertise in DNA damage (Vidi), SHS (Bellanger), exposome assessment (Appenzeller) and epidemiology/statistical methods (Chevrier). We will notably implement a model selection procedure to identify specific chemicals/chemical mixtures associated with DNA damage.

Timeline (Months_Tasks):

1-6_CPP (Comité de protection des personnes) protocol & participant identification

1-12_Method development for stem cell labeling (facultative to project)

7-20_Participant recruitment

10-12 + 21-23_Questionnaires & hair collection 1 (winter)

14-16 + 26-28_Hair collection 2 (spring)

17-30_DNA damage quantification & chemical analyses

31-34_Statistical analyses

33-36_Reporting

Partenariat

Institut de Cancérologie de l'Ouest - InGenO - Angers

Responsable de l'équipe : M. Pierre-Alexandre Vidi

Institut de Cancérologie de l'Ouest – Sciences Humaines et Sociales

Responsable de l'équipe : Mme Martine Marie Bellanger

Luxembourg Institute of Health - Human Biomonitoring Research Unit - Strassen

Responsable de l'équipe : M. Brice Appenzeller

Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail – Elixir – Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Cecile Chevrier

Résumé PESTIMIN - 2023_EST_174

Analyse multiple de pesticides dans les matrices biologiques (cheveu, sérum et liquide céphalospinal) issues de la biocollection du registre national français de la mort inattendue du nourrisson OMIN

M. David Boels

Service de Santé publique - CHU Nantes, Hôpital St Jacques - NANTES

Projet complet - 36 mois

Budget : 188 952 € TTC

Objectif détaillé

- Evaluer les niveaux et profils d'exposition interne des enfants décédés de mort inattendue du nourrisson (MIN) aux familles de pesticides organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoides, et néonicotinoïdes, via la mesure de biomarqueurs à partir de prélèvements biologiques disponibles dans la biocollection du registre français des morts inattendues du nourrisson (OMIN <https://www.omin.fr/>)
- Identifier les couples marqueurs / matrices les plus pertinents à considérer en fonction du type de compartiment biologique (stockage, circulant, à la cible) et des propriétés des substances considérées (persistantes, non persistantes)
- Caractériser d'éventuelles associations entre ces niveaux et profils d'exposition interne et les sous-catégories de MIN, via des approches d'analyses statistiques permettant d'évaluer les effets de marqueurs individuels et en mélange.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La mort inattendue du nourrisson, c'est-à-dire le décès brutal alors que rien dans les antécédents ne le laissait prévoir, est la première cause de mortalité infantile en France, responsable d'environ 300 décès par an d'enfants âgés de moins de 2 ans. Le registre OMIN a inclus, entre mai 2015 et juin 2021, les données de 1257 enfants décédés. Bien que certains facteurs de risque tels que l'environnement de couchage, l'exposition au tabac soient maintenant bien connus, 50% des cas de MIN demeurent inexplicés; on parle alors de mort subite du nourrisson (MSN). Selon l'hypothèse du « triple risque », les MIN sont d'origine multifactorielle, survenant chez un enfant vulnérable par son histoire (prématuré, petit poids...), à une période critique de son développement neurologique, respiratoire et cardiaque, exposé à des facteurs « de stress » environnementaux [Filiano et al. (1994)]. Or, les expositions prénatales aux pesticides sont associées à de nombreux événements de santé chez les nourrissons : naissance prématurée, malformation congénitale, petit poids de naissance, petit périmètre crânien, petite taille [Petit et al. (2012), Mayhoub et al. (2014), Pascale et al. (2020)]. Ces expositions pourraient également participer à des processus physiopathologiques (perturbations endocriniennes, toxicité neurologique, cardiaque)

impliqués dans la survenue de MIN [Wasley et al. (2002), Termopoli et al. (2015)]. Notre projet s'appuie sur une biocollektion unique au monde et s'inscrit dans la démarche des 1000 premiers jours de vie, programme prioritaire de santé publique.

Questions de recherche

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale, en milieu de travail en fonction de l'âge et du genre, et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques, insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale...).

ACHIM 4 - Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques, développement de biomarqueurs d'exposition et d'effets, détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

La caractérisation des expositions aux pesticides dans la population des enfants décédés de MIN est innovante à l'international. Ce projet aborde les expositions à plusieurs molécules d'une même famille de contaminants (ACHIM 2, PE 4 et PE 6).

L'utilisation d'indicateurs biologiques pour l'évaluation de l'exposition aux pesticides a l'avantage, par rapport à l'approche d'évaluation de l'exposition externe, de prendre en compte toutes les sources et voies d'exposition, ainsi que les particularités individuelles des nourrissons exposés. Par ailleurs, le liquide cébrospinal (LCS) est rarement disponible (prélèvements invasifs). L'analyse des échantillons de LCS permettra d'améliorer les connaissances sur le passage de la barrière hémato-encéphalique chez les nourrissons des différentes familles de pesticides étudiés, prenant notamment en compte leur toxicité neurologique (ACHIM 4).

À terme, les résultats générés nourriront la réflexion en cours concernant la mise en œuvre d'actions de réglementation et prévention centrées sur certaines familles de pesticides (ACHIM 6).

Description des méthodes mises en œuvre

Population étudiée et classes de pesticides étudiées:

La population d'étude est constituée de l'intégralité des nourrissons de zéro à 23 mois décédés dans un contexte de MIN et pris en charge dans l'un des 35 centres de référence du territoire français. Après investigations (examen, prélèvements biologiques, imagerie, autopsie), les MIN sont classées en sous-catégories : MSN et expliquées (origine cardiaque, respiratoire, infectieuse, traumatique). Le catalogue de données regroupe des données socio-environnementales, épidémiologiques, médicales et paracliniques. La biocollektion débutée en 2020 est centralisée par le Centre de Ressources Biologiques du CHU de Nantes (certifié AFNOR NF S96-900 depuis 2014).

Les classes de pesticides étudiées seront les organochlorés (une trentaine de marqueurs cibles dont HCH, HCB, DDE..), les organophosphorés (p-nitrophenol, TCPy, chlorpyrifos-methyl..), les pyréthriinoïdes (tétraméthrine, perméthrine, phénothrine..) et les néonicotinoïdes (imidaclopride, acétamipride, thiaclopride..).

Ce choix se justifie via les sources bibliographiques :

- par leur fréquence documentée tant pour l'exposition externe (rapport Pesti'home (ANSES) ; Campagne Nationale Exploratoire de mesure des résidus de Pesticides dans l'air ambiant (2018-2019) du laboratoire central de surveillance de la qualité de l'air ; actualisation des indicateurs de risque alimentaire lié aux résidus de pesticides (ANSES)), que pour l'exposition interne [Béranger et al. (2020), Antignac et al. (2022)].
- par leur effet potentiel sur la survenue de MIN (base toxicogenomics)

Analyse d'échantillons et modélisation:

L'analyse portera sur tous les sujets pour lesquels les 3 types de prélèvements biologiques cheveux, plasma et LCS sont disponibles (n=103 au 31/12/2022).

Pour la mesure des classes de pesticides dans le plasma et le LCS, le LABERCA utilise des méthodes validées par couplage chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse haute résolution (GC-HRMS). Concernant les analyses dans le cheveu, l'IRSET et ses partenaires ont développé avec succès des méthodes basées sur la GC-MS/MS et la chromatographie liquide à très haute performance (UPLC – MS/MS).

Une analyse descriptive des variables d'exposition et une analyse centrée-patient (analyse en profil latent) [Yonkman et al. (2023)] permettront d'identifier des profils type d'exposition et leur répartition en fonction des sous-catégories (MSN, origine cardiaque, respiratoire, traumatique ou infectieuse).

Rétroplanning:

M0-M9

Activation des volets du projet : scientifique, technique, administratif, réglementaire, financier

Extraction et formatage des données OMIN

Consortium tripartite avec les laboratoires

Conditionnement et transport des prélèvements

M9-M21

Analyse des échantillons

Récupération des données

M22-M33

Analyses descriptives exploratoires et comparatives des résultats

M24-M36

Rapports scientifiques et soumission de l'article princeps

Partenariat

CHU NANTES - Service de santé publique – Nantes

Responsable de l'équipe : M. David Boels

CHU NANTES - CIC plurithématique 0004 (Femme-Enfant-Adolescent) - Nantes

Responsable de l'équipe : Mme Christèle GRAS-LEGUEN

INRAE - ONIRIS - Laberca UMR 1329 – Nantes

Responsable de l'équipe : Mme Alicia Grivaud

INSERM - IRSET U1085 – Rennes

Responsable de l'équipe : M. Rémi Béranger

EHESP – LERES - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Fabien Mercier

Evaluation de la pertinence de l'approche PICT (Pollution Induced Community Tolerance) appliquée aux communautés d'hyphomycètes aquatiques pour la caractérisation des contaminations des cours d'eau par les pesticides

M. Michael Danger

Université de Lorraine, Laboratoire LIEC - UMR7360 - Metz

Etude de faisabilité - 18 mois

Budget : 48 932 € TTC

Objectif détaillé

Le projet PICT-HYPHO vise à évaluer la pertinence scientifique et opérationnelle de l'utilisation de l'activité de sporulation des hyphomycètes (champignons) aquatiques pour caractériser les effets biologiques de la contamination des cours d'eau par les pesticides. Cette première étude portera sur les effets de 2 molécules modèle ubiquistes : l'AMPA et le tébuconazole (indépendamment et en mélange). Elle permettra l'établissement de courbes dose-réponse et un test de l'approche PICT.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'approche PICT est une méthode de biosurveillance reposant sur la capacité des communautés à développer une résistance aux contaminations (par acclimatation et adaptation physiologique, sélection d'individus tolérants) lors d'expositions chroniques. Ainsi, la tolérance d'une communauté vis-à-vis d'un contaminant (mesurée au laboratoire) indique que cette communauté y a très probablement été exposée in situ. Au contraire de la majorité des bio-indicateurs existants, elle permet de cibler l'effet d'une substance en particulier. Jusqu'à présent, la méthode s'est appuyée sur l'impact des contaminants sur la physiologie (activités enzymatiques, photosynthétique) des communautés microbiennes phototrophes benthiques (biofilms) et du sédiment des cours d'eau.

Les hyphomycètes (champignons) aquatiques sont quant à eux les micro-organismes responsables de la décomposition de la matière organique végétale dans les cours d'eau. Malgré leur rôle écologique primordial, il n'existe pas de base de données sur la toxicité des pesticides sur ces organismes, et ils ne sont pas pris en compte dans l'évaluation réglementaire du risque lié aux pesticides. Les hyphomycètes aquatiques produisent de grandes quantités de conidies (reproduction asexuée). Leur production (sporulation) est mesurable au microscope, est un proxy fiable de l'activité de ces organismes, et est fortement influencée par une variété de facteurs environnementaux. Il semblerait donc pertinent d'utiliser cette réponse biologique pour établir des tests standardisés (courbes doses réponses) pour l'effet de contaminants sur les hyphomycètes aquatiques, permettant in fine de développer une approche PICT. Cela apparaît particulièrement pertinent pour

évaluer l'impact des fongicides, pour lesquelles les outils reposant sur d'autres compartiments biologiques s'avèrent nécessairement moins adéquats. Dans le cadre de cette étude de faisabilité, nous focaliserons sur l'impact de 2 substances phytosanitaires modèles ubiquistes : un fongicide (tébuconazole) et le métabolite principal du glyphosate (AMPA). L'opérationnalité de la méthode sera optimisée par des tests de miniaturisation des protocoles et par l'application de méthodes de comptage et d'identification automatisées (machine-learning) développées au sein de l'équipe 2 pour les diatomées.

Questions de recherche

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

ACHIM 6 - Appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques : amélioration des méthodes, notamment en termes de rapidité, en conservant la représentativité des impacts sur la santé humaine et les écosystèmes, production de données utiles à la construction de valeur toxicologique de référence.

ACHIM 11 - Caractérisation des niveaux d'exposition au niveau des écosystèmes pour la biosurveillance environnementale.

Le projet PICT-HYPHO vise au développement d'une méthode de biosurveillance environnementale permettant la caractérisation du niveau d'exposition des cours d'eau à 2 substances (AMPA et tébuconazole) (ACHIM 11). Le projet impliquera l'établissement de courbes dose-réponse pour ces 2 molécules, étudiées indépendamment ou en mélange (ACHIM 1). Si la méthode s'avère pertinente d'un point de vue scientifique et opérationnel, les protocoles développés constitueront un nouvel indicateur prenant explicitement en compte l'impact des contaminants sur les écosystèmes, et pourront par ailleurs servir à l'établissement de valeurs toxicologiques de référence (ACHIM 11), en particulier pour les fongicides.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet est organisé en 3 axes dont la réalisation sera répartie sur 6 trimestres (T1-T6) à compter du début du projet (hiver 2023-2024):

Axe 1 – Optimisation des protocoles existants (détermination des concentrations des molécules testées, de la durée d'incubation et du volume d'échantillon) (T1) et développement d'un outil d'analyse automatique des images acquises au microscope par une approche de machine learning (T1-T2). Le développement de cet outil sera réalisé à partir d'échantillons de sporulation pré-existants sur lesquels un algorithme d'analyse d'images déjà disponible sera spécialisé.

Pour les axes 2 et 3, le taux de sporulation des hyphomycètes sera mesuré dans 4 réplicats le long des mêmes gradients de contamination (8 concentrations) : (1) un gradient de concentration en AMPA, (2) un gradient de concentration de tébuconazole et (3) un mélange des 2 molécules (concentration fixe d'AMPA réaliste + gradient de concentration de tébuconazole).

Axe 2 - Établissement de tests standardisés (courbes dose-réponse) pour 3 souches d'hyphomycètes aquatiques, incluant si possible une espèce tolérante, une espèce sensible et une espèce intermédiaire. Les souches seront isolées (T1) dans des sites non contaminés et cultivées au laboratoire, où leur activité de sporulation sera mesurée le long des 3 gradients de contamination (T2-T3).

Axe 3 - Test de l'approche PICT en utilisant des communautés naturelles issues de 2 cours d'eau. L'axe 3 portera sur les communautés naturelles de 2 cours d'eau (la Cleurie dans les Vosges et la Morcille dans le Beaujolais) pour lesquels les contaminations par l'AMPA et le tébuconazole (respectivement) ont fait l'objet de travaux par les membres des équipes 2 et 3 (cf. projet PESTINTER en cours sur la Cleurie). Sur chaque cours d'eau, les communautés d'hyphomycètes aquatiques autochtones issues de 2 stations (1 référence et 1 contaminée) seront prélevées puis exposées, au laboratoire, aux différents gradients de contamination (T2-T3). Selon l'approche PICT, les communautés issues de stations contaminées devraient présenter une tolérance (EC50 des taux de sporulation) plus importante que les communautés issues des sites de référence.

Les trimestres 4 à 6 seront dédiés au comptage des conidies pour les axes 2 et 3, à l'analyse des données et à la préparation des livrables. Ces derniers incluront les données brutes, les protocoles détaillés, et un rapport final qui présentera les courbes dose-réponse pour la sporulation des hyphomycètes aquatiques vis-à-vis des pesticides ainsi que la preuve de concept pour l'approche PICT et l'automatisation du comptage des conidies. Un article scientifique sera préparé à l'issue du projet et soumis à un journal à comité de lecture. La subvention demandée permettra notamment le financement de jours de travail (équipe 4, ca. 150 homme-jours), d'une gratification de stage (automatisation), de déplacements inter-équipe et sur le terrain et de l'ensemble des consommables.

Partenariat

LIEC – Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, UMR 7360 – EMMA - Metz

Responsable de l'équipe : M. Michael Danger

LMGE – Laboratoire Microorganismes, Génomes, Environnements, UMR 6023 BIOADAPT - Aubière

Responsable de l'équipe : M. Joan Artigas

Etude du transfert et du devenir de parasites protozoaires pathogènes dans les milieux aquatiques

Mme Stéphanie La Carbona
Actalia Département Sécurité des Aliments - Saint-Lô

Projet complet - 36 mois
Budget : 197 902 € TTC

Objectif détaillé

Le changement climatique, en particulier les extrêmes de précipitation et de température, impacte les modes de transmission des maladies infectieuses et augmente le risque d'exposition de l'Homme aux micro-organismes pathogènes fécaux transmis via l'eau (Cissé et al, 2019). Parmi ces pathogènes, les parasites protozoaires sont responsables d'importantes épidémies d'origine hydrique dans le monde (Ma et al, 2022;Guzman-Herrador et al, 2015;Franceschelli et al, 2022) et en France, telle que la récente épidémie de cryptosporidiose à Grasse due à une contamination de l'eau potable (2019). Pourtant, les parasites demeurent négligés et les données sur leur circulation dans les milieux aquatiques restent peu nombreuses.

Ce projet vise à étudier et à modéliser le transfert et le devenir des parasites protozoaires *Cryptosporidium* spp. (Csp), *Giardia duodenalis* (Gd) et *Toxoplasma gondii* (Tg), dans les milieux aquatiques. Le rôle potentiel des macro agrégats aquatiques dans le transport des parasites (Shapiro et al, 2013) sera évalué en caractérisant leur capacité à s'agréger sous l'influence de différents paramètres environnementaux. La survie des parasites (viabilité/infectiosité) sera étudiée afin d'appréhender le risque associé à leur transfert dans les milieux aquatiques. Une étude *in situ* permettra d'accumuler des données sur la contamination en parasites de la Risle (affluent de la Seine fortement contaminé par des bactéries pathogènes (Touron et al, 2007) et *Cryptosporidium*) et de caractériser la dynamique spatiale et temporelle de cette contamination sur un gradient amont-aval. Enfin, en s'appuyant sur l'ensemble des données recueillies, une modélisation statistique par approche bayésienne de la contamination hydrique et du risque microbiologique pour l'Homme lié à l'usage des eaux sera proposée.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet a pour ambition d'améliorer la compréhension du transfert des parasites dans différents compartiments hydriques et à développer un outil de modélisation capable de prédire la distribution des concentrations en parasites le long de la Risle selon différents paramètres environnementaux. Il associe des compétences en modélisation statistique, hydrogéologie, parasitologie environnementale et humaine. Par une approche originale de mesures morphogranulométriques, la capacité des parasites à former des agrégats selon les conditions environnementales sera évaluée afin de déterminer leur potentiel de

dissémination dans l'eau. La contamination en parasites sera étudiée dans différents types d'échantillons représentatifs de la colonne d'eau, sur un continuum hydrique présentant des caractéristiques environnementales et hydrogéologiques spécifiques et contrastées de l'amont à l'aval. Des mollusques bivalves naturellement présents seront utilisés comme outils innovants pour caractériser de manière intégrée la circulation des parasites dans les masses d'eau (Bigot-Clivot et al, 2022; Géba et al, 2022). La modélisation combinera les approches bayésiennes, rendant compte des processus mis en jeu et des densités de probabilités des données dans cette zone géographique, et statistiques, prenant en compte les aspects de dilution-concentration dans la colonne d'eau et transfert lors des événements hydrologiques normaux et extrêmes.

Questions de recherche

ABIO 1.3 - Liens entre dégradation des écosystèmes, atteintes à la biodiversité et augmentation de la fréquence d'épidémies de maladies infectieuses zoonotiques et/ou vectorielles ou liées à des biotoxines, émergentes ou ré-émergentes : apports d'une biosurveillance des écosystèmes et de la faune sauvage en termes de prévention et de cartographie des hot spots à risques.

ABIO 3.1 - Comportement et devenir des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement et effets potentiels sur la santé humaine : étude dans les milieux aquatiques et les sols

CCLIM 1.3 - Impacts du changement climatique sur la santé humaine, incluant les impacts sur la santé mentale, et des écosystèmes : impacts indirects via les modifications de la qualité des milieux et de l'alimentation.

Ce projet adresse le comportement et le devenir des parasites protozoaires dans différents milieux aquatiques en s'intéressant aux phénomènes impliqués dans leur transfert et leur survie, en fonction des caractéristiques des compartiments hydriques. De telles données, non disponibles à l'heure actuelle, sont essentielles pour comprendre le potentiel de dissémination des parasites dans les eaux et mieux appréhender leur impact sur l'exposition et la santé humaine (ABIO 3.1). Par ailleurs, l'effet de phénomènes météorologiques intenses sur la qualité des milieux sera étudié in situ permettant d'aborder leur impact sur la dissémination des parasites et par conséquent sur l'exposition de l'Homme (CCLIM1.3). Enfin, la modélisation proposée dans ce projet contribuera à améliorer la surveillance des écosystèmes aquatiques vis-à-vis des parasites (ABIO 1.3).

Description des méthodes mises en œuvre

1. Etude de l'agrégation et de la survie des parasites en laboratoire [M1-M12]

Variables : T°C, pH, salinité, turbidité (quantité/types de MES), UV.

Agrégation : les protozoaires étant majoritairement associés aux particules organo-minérales ou agrégés sous forme de floccs organiques, la taille des particules sera mesurée (morphogranulomètre à flux continu).

Survie (infectivité/viabilité) : culture cellulaire (Cspp et Tg), RT-qPCR (Gd).

2. Caractérisation de la contamination en parasites in situ [M1-M30]

Site d'étude : continuum de la Risle, affluent de la Seine sous influence humaine et animale ; usages récréatifs et productifs ; gradient amont-aval depuis Ajou (zone karstique ; fortes infiltrations et résurgences entre surface et souterrain) jusqu'à Berville (bouche de l'estuaire de Seine ; mélange eau douce/eau de mer ; zone de fortes turbidité et concentrations de particules en suspension, Le Hir et al, 2001), et l'estuaire marin de la Seine.

Plan d'échantillonnage : 30 mois ; intégrer variabilité hydroclimatique et phénomènes extrêmes (pluviométrie importante, évènement de type orageux, période d'épandage de boues de station d'épuration) (Nmax=300) ; échantillons d'eau, sédiments et bivalves.

Analyses : recherche/quantification Csp., Gd et Tg (qPCR, N FT 90455), indicateurs bactériens de contamination fécale ; génotypage Csp. ; paramètres physicochimiques de l'eau ; informations relatives au cours d'eau et à la météorologie.

3. Modélisation [M31-M36]

Les données de terrain permettront de définir les fonctions de distribution des parasites dans les différents compartiments. L'ajustement de lois de probabilités à ces fonctions permettra une modélisation bayésienne de la concentration parasitaire. Le transfert des parasites depuis une source de pollution continentale jusqu'aux écosystèmes côtiers sera abordé par modélisation statistique des phénomènes hydrologiques et météorologiques engendrant dilution ou concentration des parasites dans l'eau. Le risque d'exposition de l'Homme selon les usages sera traité de manière probabiliste en comparant les résultats des modèles précédents et les doses infectieuses connues pour chacun des pathogènes.

Partenariat

ACTALIA - Sécurité des Aliments - Saint-Lô

Responsable de l'équipe : Mme Stéphanie La Carbona

Université de Rouen Normandie - Escape – Rouen

Responsable de l'équipe : M. Loic Favennec

Université de Caen Normandie – UMR CNRS M2C – Caen

Responsable de l'équipe : M. Laurent Dezileau

Université de Reims Champagne Ardenne - Escape – Reims

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Villena

Résumé RICOTTA - 2023_EST_169

Charge toxique des particules fines urbaines selon leur classe et contamination en composés perturbateurs endocriniens : approches combinées pour identifier un indicateur de qualité **sanitaire de l'air.**

Mme Lucie Oziol

Université Paris-Sud 11 Groupe Santé Publique Environnement, UMR 8079 Ecologie

Systematique Environnement - Châtenay-Malabry

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 010 € TTC

Objectif détaillé

Les effets néfastes de la pollution de l'air sur la santé humaine sont avérés. Ces effets seraient principalement liés à l'exposition pulmonaire de l'Homme aux particules atmosphériques, PM, fines (PM_{2,5} et PM₁) très présentes en milieu urbain. Ces PM urbaines peuvent adsorber une multitude de composés organiques semi-volatils (COSV), véhiculés ou non par des microplastiques, dont des perturbateurs endocriniens (PE) : phtalates, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), alkylphénols, polychlorobiphényles (PCB). Ces micropolluants ou leurs mélanges peuvent contribuer au potentiel PE de la pollution atmosphérique et des perturbations hormonales seraient associées à leur présence dans l'air. A ce jour, l'exposition aux PE par inhalation reste moins étudiée que celle par voie orale, alors que le piégeage des PM fines au sein du système respiratoire peut favoriser la bioaccessibilité des composés adsorbés.

Récemment, nous avons mis en évidence que la fraction fine des PM en Ile-de-France porte une grande partie de la charge particulaire en COSV responsable d'effets œstrogénique et dioxin-like. Cependant, le lien entre effets toxiques et niveau de contamination en COSV reste à préciser et il n'existe pas d'indicateur de qualité de l'air en regard de sa contamination particulaire en COSV de type PE, excepté pour le benzo(a)pyrène. L'analyse exhaustive de la charge en COSV des PM étant impossible, considérer son potentiel toxique s'avère une approche pertinente qui intègre les effets « cocktail » entre molécules.

Ce projet a pour objectif d'identifier des indicateurs de qualité sanitaire de l'air en regard de la charge toxique en COSV des PM fines urbaines (PM_{2,5} et PM₁). Il permettra d'approfondir les connaissances sur l'exposition pulmonaire de la population générale à des COSV à effet PE adsorbés sur ces PM, selon leur classe granulométrique, leur composition chimique et leur potentiel toxique.

Divers outils de mesure seront utilisés et croisés : des mesures in vitro de potentiel toxique (œstrogénique, dioxin-like, génotoxique, hépatique, oxydant), des analyses chimiques (PM, COSV, microplastiques), des essais de bioaccessibilité pulmonaire.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le caractère novateur du projet concerne sa caractérisation de l'exposition pulmonaire à la contamination en COSV de PM urbaines fines, en considérant non seulement leur charge toxique associée à leur contamination en familles de PE et en microplastiques, mais aussi en appréhendant la bioaccessibilité de cette contamination au niveau pulmonaire.

L'originalité du projet réside aussi dans sa diversité d'approches combinées pour préciser l'exposition pulmonaire aux PM fines selon diverses classes et leur contamination en COSV de type PE : analyses chimiques, spectroscopiques (par imagerie spectrale et spatiale) et toxicologiques in vitro.

La combinaison des approches méthodologiques (outils de mesures chimiques, toxicologiques et de bioaccessibilité) permettra de définir des indicateurs de qualité sanitaire de l'air en regard de la charge toxique en COSV des PM fines urbaines. Le projet permettra d'appréhender les doses journalières d'exposition par inhalation aux PM fines et à des COSV d'intérêt qu'elles adsorbent, en considérant leur concentration dans l'air (dose externe), mais aussi la bioaccessibilité pulmonaire de ces COSV, étape clé avant passage dans la circulation sanguine (dose interne) et effets toxiques sur le foie, principal organe de détoxification.

Questions de recherche

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...). Détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

CoEm 1 - Cas des plastiques (macro, micro, nano) : composition et métrologie des micro/nano-plastiques dans les compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des plastiques; biodégradabilité ; sources et voies d'exposition ; méthodes de détection et des mesures de l'accumulation dans les tissus humains ; risques induits pour l'Homme et l'environnement.

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

Le projet s'intègre dans les thématiques « Perturbateurs endocriniens » et « Contamination des milieux », avec l'étude sur les niveaux d'exposition directe pour la population générale aux micropolluants de la famille de PE (PE6), en lien avec leur présence à l'état adsorbé sur des particules fines de l'air urbain (AIR3) et des microplastiques (CoEm1). Par la mesure d'indicateurs de toxicité in vitro, ce projet apportera des informations concernant les effets potentiels sur la santé, liés à l'exposition à diverses classes de PM fines (AIR3), et permettra de définir un nouvel indicateur de qualité sanitaire de la pollution particulaire atmosphérique, selon la taille des PM fines et leur charge toxique en COSV.

Description des méthodes mises en œuvre

Les PM fines seront collectées sur l'année 1 avec des dispositifs adaptés (2 préleveurs Digitel DA77) au cours de 2 saisons (été/hiver) en air extérieur sur deux sites urbains parisiens (stations Airparif) : pollution de fond et pollution liée au trafic. Sur chaque site, les prélèvements seront réalisés en parallèle sur les 2 Digitel, l'un équipé d'une tête de prélèvement de PM_{2,5} et l'autre d'une tête PM₁. Nos précédents travaux ont validé la faisabilité de collecter sur Digitel des particules en quantité suffisante et adaptée à la sensibilité des analyses chimiques et toxicologiques envisagées.

Les analyses chimiques seront effectuées en années 1 et 2 par GC/MS-MS ou LC/MS-MS pour quantifier, dans les extraits organiques des PM, 57 COSV appartenant à 9 familles de PE avérés ou suspectés et classés en partie comme « polluants nécessitant l'acquisition de données relatives à leur occurrence dans l'air ambiant et potentiellement de données sanitaires » (Saisine « n°2015-SA-0216 ») : phtalates, HAP, polybromodiphénylethers, parabènes, alkylphénols, muscs, pesticides, PCB et autres composés organochlorés. Les microplastiques présents dans les fractions collectées seront caractérisés par Py-GC-MS et microscopie Raman. La teneur en carbone total des PM, mais aussi en métaux (potentiellement impliqués dans leur potentiel toxique) sera considérée dans l'exploitation des données obtenues.

Les analyses toxicologiques seront réalisées en années 1 et 2 sur les extraits organiques des PM par tests cellulaires de transactivation pour quantifier leur potentiel perturbateur œstrogénique et dioxin-like. Leur potentiel génotoxique sera également mesuré par SOS Chromotest. Leur potentiel toxique sur le foie sera évalué par technologie xCELLigence permettant d'analyser en temps réel plusieurs paramètres (morphologie, adhérence, prolifération, viabilité). Le potentiel oxydant des PM sera mesuré par un test biochimique acellulaire dans un fluide pulmonaire simulé.

La bioaccessibilité pulmonaire de la charge en COSV des PM collectées sera estimée en début d'année 3 par quantification de leur extraction par un fluide pulmonaire simulé. Le passage de la barrière épithéliale des COSV cibles, adsorbés sur PM ou non, sera étudié en interface air-liquide sur un modèle 3D d'épithélium bronchique humain.

Partenariat

Université Paris-Saclay - UMR 8079, équipe PEPA – Gif-sur-Yvette

Responsable de l'équipe : Mme Lucie Oziol

Sorbonne Université - UMR 7619, équipe Chimie des contaminants – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Elodie Guigon

Université Paris Cité - UMR-S 1124, équipe T3S – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Karine Andréau

Université Paris Cité - UMR 8251, équipe RMCX – Paris

Responsable de l'équipe : Mme Stephanie Devineau

Effets croisés de la pollution lumineuse nocturne et sonore sur **l'immunité et les communautés bactériennes d'une espèce** sentinelle des zones humides

Mme Nathalie Mondy

Université Lyon 1 UMR 5023, LEHNA - Villeurbanne

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 972 € TTC

Objectif détaillé

L'approche « Santé Unique » souligne la nécessité d'une meilleure compréhension des perturbations de la dynamique des interactions entre les populations humaines et animales pour le contrôle des épidémies futures. Les pollutions lumineuse nocturne (ALAN pour Artificial Light At Night) et sonore liée majoritairement au trafic routier affectent des territoires considérables, y compris dans des zones de protection de la biodiversité. Or, ces pollutions ont un impact majeur sur l'immunité de nombreux taxons. Le système immunitaire, fonction modulée en miroir des conditions environnementales locales, contrôle la composition des espèces bactériennes chez les espèces hôtes (notamment par les voies d'entrées intestinale et cutanée). En milieu naturel, elle permet de lutter contre le challenge constant représenté par les agents pathogènes. C'est une fonction cruciale qui affecte la fitness et l'abondance des organismes et peut modifier les probabilités d'interactions entre chaque population. Nous avons récemment montré que les gènes liés à la réponse immunitaire innée de têtards de crapaud commun soumis à ALAN sont sous-exprimés par rapport aux animaux témoins, alors que ceux liés à l'inflammation sont très sur-exprimés. L'objectif de ce projet est de caractériser fonctionnellement l'impact croisé d'ALAN et de la pollution sonore sur (i) le phénotype immunitaire des adultes et des têtards de crapaud commun et (ii) les communautés bactériennes (commensales et pathogéniques) de cette espèce considérée comme sentinelle des zones humides. Sachant que l'immunité est responsable de l'état de santé global des organismes (résistance aux maladies infectieuses, bactéries pathogènes, développement de cancers) et que les études multi-stress en milieu naturel sont encore rares, les résultats obtenus permettront de mieux appréhender les effets cocktails de l'exposition croisée de ces deux pollutions anthropiques sur la faune sauvage.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

A ce jour, peu d'études établissent un lien de causalité entre de multiples sources de pollution anthropique, l'état de santé des organismes sauvages et d'éventuels effets sanitaires qui en résulteraient, notamment en raison de la difficulté de travailler avec des espèces non-modèles et dans des conditions de stress multiples réalistes. Nous avons choisi d'étudier les effets croisés d'ALAN et de la pollution sonore sur la santé du crapaud commun. Les amphibiens sont le groupe de vertébrés qui, actuellement, présente la plus forte perte

de biodiversité, principalement en raison de leur mode de vie terrestre et aquatique. Notre ambition est de combiner une approche de terrain sur les adultes prenant en compte la complexité de l'environnement et une approche expérimentale sur les têtards, plus précise sur le niveau d'exposition aux pollutions. Cette double approche est, à notre connaissance, particulièrement novatrice en éco-immunologie, discipline émergente et transversale à l'écologie et aux sciences vétérinaires. Ce financement permettra d'initier une collaboration entre les membres de l'UMR 5023, spécialistes en écologie et biologie de la conservation travaillant déjà sur ALAN et la pollution sonore et des chercheurs en éco-immunologie et épidémiologie de la faune sauvage de VetAgroSup Lyon (UMR 5558), afin de mettre au point des protocoles de mesures, reproductibles et pertinents in natura. La fonction immunitaire étant extrêmement conservée au cours de l'évolution chez les Vertébrés, les résultats obtenus sont susceptibles de concerner de nombreux taxons. De plus, les résultats seront exploitables par les gouvernances territoriales pour l'établissement de trames noires et l'adaptation des éclairages publics. Ils auront des conséquences directes sur la santé des populations animales en milieu naturel et la préservation des écosystèmes, mais aussi pour la santé humaine.

Questions de recherche

LUMI 1 - Caractérisation des expositions et des impacts de la pollution lumineuse pour la population générale et pour l'environnement. Étude des effets combinés de la pollution lumineuse et du bruit.

ABIO 1.1 - Liens entre dégradation des écosystèmes, atteintes à la biodiversité et augmentation de la fréquence d'épidémies de maladies infectieuses zoonotiques et/ou vectorielles ou liées à des biotoxines, émergentes ou ré-émergentes : liens entre dégradation des habitats naturels (changement d'usage des sols ou incursion forestière liée aux activités humaines, déforestation, exploitation minière, agriculture...), augmentation des contacts entre humains ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce

Ce projet, qui a pour but de mieux appréhender les liens entre pollutions lumineuse et sonore, état de santé de la biodiversité et fonctionnement des écosystèmes s'inscrit totalement dans la question de recherche LUMI1, mais aussi ABIO1.1 en raison de son positionnement dans le concept « Une seule santé ». En effet, la probable détérioration du système immunitaire des amphibiens due à ces pollutions est susceptible de jouer un rôle majeur dans la disparition de ces espèces, déjà menacées par des épidémies bactériennes ou fongiques majeures qui déciment certaines populations. En mesurant, non seulement l'immunité, mais aussi les communautés bactériennes intestinales et cutanées des individus, en lien avec l'exposition à ces stressors anthropiques, les résultats ouvriront de nombreuses pistes en termes de santé environnementale et humaine.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous travaillerons avec une double approche : a) in natura sur des crapauds échantillonnés le long d'un gradient urbain-rural de pollution lumineuse afin de cartographier l'état sanitaire des populations en fonction du gradient environnemental. Pour chaque site (environ 16), nous caractériserons de façon précise le degré d'urbanisation et les niveaux de pollutions lumineuse et sonore ; b) expérimentale sur les têtards qui seront élevés dans une animalerie agréée où nous manipulerons la pollution lumineuse et sonore (design croisé) en contrôlant de possibles facteurs confondants (par ex qualité de l'eau, température). Nous caractériserons des composantes innées et acquises de l'immunité des individus

(formule leucocytaire, électrophorèse des protéines du plasma, mesures qualitatives et quantitatives des lymphocytes par cytométrie en flux, dosages de protéines inflammatoires) ; ainsi que des mesures de capacité immunitaire (Bacterial Killing Ability) et de condition (hématocrite, albumine). Nous y associerons la caractérisation de leurs communautés bactériennes cutanées et intestinales des individus (méta-barcoding). Les résultats obtenus permettront de comparer les niveaux de réponses immunitaires des individus et la diversité et composition de leurs microbiotes en fonction de leurs expositions aux pollutions lumineuse et sonore.

L'expérimentation de terrain, l'approche en animalerie et les mesures d'immunité seront réalisées aux cours de l'année 1. L'analyse bioinformatique et l'exploitation des résultats aura lieu au cours de l'année 2 qui servira aussi de repli pour le terrain en cas de conditions défavorables l'année 1.

Budget demandé : 50K€ (séquençage 17k€, 6 mois de post doc bioinformatique 23K€, consommables, missions de terrain 10K€)

Partenariat

UMR 5023 LEHNA - Ecophysiologie Comportement Conservation – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Nathalie Mondy

UMR5558 LBBE - Biodémographie évolutive – Marcy l'Etoile

Responsable de l'équipe : Mme Emmanuelle Gilot

Développement d'un modèle TOxicocinétique pour relier exposition interne aux PErturbateurs Endocriniens et concentration dans les Cheveux (TOPEEC).

M. Nicolas Venisse

Centre d'Investigation Clinique CIC INSERM 1402 CHU Poitiers - Poitiers

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 469 € TTC

Objectif détaillé

L'exposition aux PE est le plus souvent mesurée dans les urines ou dans le sang avec des prélèvements ponctuels de type spot d'urine. Leur interprétation pose problème pour les PE dont les demi-vies ($t_{1/2}$) sont courtes, comme les bisphénols (BPs) et les parabènes (PBs). Ceci a été illustré chez la femme enceinte avec une forte variabilité intra-individuelle des concentrations de PE dans l'urine (Vernet C, EHP 2018). Ces variations liées aux $t_{1/2}$ courtes rendent difficile l'estimation de l'exposition à long terme à ces PE pour faire le lien avec des issues de santé.

L'analyse des concentrations de PE dans les cheveux a été proposée par certains auteurs comme une alternative pour évaluer leur exposition à long terme. En effet, l'incorporation dans les cheveux à partir du sang dépend des concentrations sanguines qui sont le reflet des propriétés toxicocinétiques et du transfert capillaire, caractéristiques qui dépendent notamment des propriétés physico-chimiques des molécules. Il existe quelques études qui montrent que, dans la population européenne, ces PE peuvent être mesurés dans les cheveux. Toutefois l'interprétation des concentrations capillaires et des relations avec la dose interne est à ce jour difficile, limitant l'intérêt pour évaluer leur impact sur la santé. C'est pourquoi l'objectif de cette étude est de développer un modèle toxicocinétique (TK) pour relier la concentration capillaire de ces PE à courte demi-vie à l'exposition interne mesurée par la concentration sanguine.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

1er modèle reliant les concentrations capillaires et l'exposition interne à ces PE. Etude menée avec des dérivés deutérés pour éviter la contamination avec ces polluants ubiquitaires : BPA-d16, BPS-d8, BPF-d10, DichloroBPA-d12, methylPB-d4, propylPB-d14 Exposition interne déterminée directement dans le sang sans extrapolation à partir des concentrations urinaires.

Développement d'un modèle animal qui sera ensuite extrapolé à l'homme
Validation de l'extrapolation des données animales à l'homme grâce aux résultats obtenus après exposition chez le volontaire sain à 2 PE représentatifs.

Questions de recherche

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

ACHIM 4 - Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques, développement de biomarqueurs d'exposition et d'effets, détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.

ACHIM 4 et PE 5 : développement d'un outil pour estimer l'exposition à long terme aux PE à t1/2 courte et faciliter la catégorisation des sujets dans les études avec des issues de santé.

L'objectif : confirmer la relation entre concentration plasmatique (exposition interne) et concentration dans les cheveux. Pour cela, un modèle TK sera développé pour décrire ces échanges après des expositions contrôlées avec des polluants sous forme marquée au deutérium.

Description des méthodes mises en œuvre

WP1 [N. VENISSE 0-6 mois]: Etude in vitro du transfert des PE après application externe à des doses correspondant à celles retrouvées dans les shampoings pour les PBs et dans l'environnement (air et eau) pour les BPs afin de choisir la meilleure méthode de lavage/décontamination car c'est l'exposition interne qui nous intéresse. Différentes conditions de contamination artificielle seront testées : milieux aqueux et solide, temps d'incubation, type de cheveux (enfant, adulte). Différentes méthodes de décontamination seront testées pour évaluer leur efficacité pour éliminer la contamination externe.

WP2 [N. HAGEN, 6-18 mois]: Etude du transfert in vivo sang-poils des PE après exposition interne chez le rat. Les BPs et PBs seront administrés en mélange à 3 doses : dose journalière admissible (4 µg/kg pour BPA) et une dose 100 fois et 1000 fois supérieure à la DJA. Les administrations seront répétées 3 jours/semaine par gavage pendant 1 mois. Les 60 rats seront rasés dans la région du dos avant le début des administrations. Des prélèvements sériés de sang et d'urine seront réalisés pour caractériser la TK après la première administration. Afin d'évaluer la cinétique de passage des contaminants dans le poil, les rats seront sacrifiés à différents temps, 1, 2 et 4 semaines après le début de l'exposition (20 rats par temps, soit 6-7 rats/dose). Le sacrifice sera réalisé 2-4 heures après le dernier gavage afin d'évaluer la TK après les administrations répétées. Les PBs et les BPs seront dosés dans les différents échantillons biologiques par LC/MS-MS grâce aux méthodes déjà développées et validées. Un modèle TK compartimental sera construit (Phoenix, Pharsight) pour déterminer les paramètres TK et simuler les profils d'exposition des rats aux PBs et aux BPs pendant la période de 1 mois. L'indice du taux d'incorporation de ces PE dans les poils de rat sera déterminé par le ratio entre la concentration dans les poils et l'AUC des concentrations plasmatiques.

WP3 [N. VENISSE, 18-30 mois] : Etude du transfert in vivo sang-cheveux chez 12 volontaires sains après exposition interne à dose unique, après obtention des autorisations nécessaires (ANSM et CPP). Deux composés représentatifs, BPS-d8 et MePB-d4, seront simultanément administrés à une dose orale 100 fois inférieure à la NOAEL pour le BPS (0.1 mg/kg) et inférieure à la DJA pour le MePB (1 mg/kg). Après administration, plusieurs prélèvements sanguins (entre T0 et T24h) et urinaires seront réalisés pour caractériser l'exposition interne. Un prélèvement de cheveux sera réalisé à distance de la prise (entre M1 et M2), les volontaires

s'engageant à ne pas se faire couper les cheveux dans l'intervalle. L'étude sera menée au Centre d'Investigation Clinique du CHU de Poitiers, structure adaptée pour les études chez volontaire sain. Une étude similaire y a déjà été conduite (Etude PRECEPT, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04788810>). Les mêmes méthodes analytiques que pour le WP2 seront utilisées.

WP4[S. HADDAD,18-36 mois]: Un modèle permettant de relier concentrations dans les cheveux/poils de rats et exposition interne sera développé et validé (Matlab) en tenant compte des paramètres physiologiques pertinents dans la pousse de cheveux et le transfert capillaire. Pour cela, le follicule pileux peut être traité comme un compartiment périphérique dont le volume croît au cours du temps et dont les échanges se font en fonction de la concentration sanguine. Les concentrations sanguines seront déterminées grâce à un modèle développé spécifiquement pour chaque PE. Un modèle chez le rat sera développé et calibré avec les données expérimentales obtenues dans WP2. En ajustant pour la physiologie capillaire humaine, le modèle sera ensuite extrapolé à l'homme et validé grâce aux données expérimentales obtenues dans WP3 (BPS, MePB) et des données de TK sanguine chez l'homme disponibles dans la littérature (BPA, BPF, DCBPA et propyl-PB).

Partenariat

Inserm - CIC Inserm 1402 et EBI UMR CNRS 7267 – Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Venisse

INRAE - Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Nicole Hagen-Picard

Université de Montréal - Département de Santé environnementale et santé au travail – Montréal

Responsable de l'équipe : M. Sami Haddad

Modèles **Toxico-Dynamique** pour **l'évaluation de la toxicité des mélanges** de contaminants dans les milieux aquatiques : outils **d'aide aux politiques publiques**

Mme Christelle Lopes

Université Lyon 1 UMR CNRS 5558 - LBBE - Villeurbanne cedex

Projet complet - 36 mois

Budget : 198 615 € TTC

Objectif détaillé

Le projet TOX-MIX vise à développer des modèles toxico-dynamique (TD) pour interpréter les données de contamination issues des réseaux de biosurveillance en terme de toxicité sub-létale et létale, et de les proposer comme outils d'aide à la gestion. La directive 2013/39/UE a privilégié l'utilisation du biote à celle de l'eau ou du sédiment pour la surveillance chimique des milieux. La mesure de la bioaccumulation intègre non seulement la contamination dans le temps, mais aussi les facteurs qui gouvernent la biodisponibilité des contaminants (e.i., dureté, compétition) et ainsi l'effet cocktail des mélanges. Depuis 2018, une méthode de biosurveillance active, basée sur la mesure de la bioaccumulation des contaminants chez des gammares engagés in situ, est utilisée par les agences de l'eau pour la surveillance. Aujourd'hui, plus de 3500 déploiements ont été réalisés sur 700 stations réparties en France pour lesquels la teneur dans les gammares d'une soixante de contaminants sont bancarisées et disponibles (<https://naiades.eaufrance.fr>). Si les données actuellement obtenues permettent d'identifier les niveaux de contamination, en revanche elles ne renseignent pas sur leur danger (i.e. toxicité).

La force des modèles TK-TD (ToxicoKinetic-ToxicoDynamic) est de formaliser le lien entre l'exposition à un contaminant et sa bioaccumulation (partie TK), reliée ensuite aux effets induits sur les traits d'histoire de vie de l'organisme (partie TD). Parmi eux, les modèles GUTS (General Unified Threshold Model of Survival) [1] offrent un formalisme théorique et opérationnel pour décrire la survie des organismes en fonction de la concentration d'exposition, démarche aujourd'hui recommandée pour l'évaluation des risques par l'EFSA. En s'affranchissant de la partie TK et en injectant directement des données de bioaccumulation (indicateur de l'exposition aux mélanges) dans la partie TD, ces modèles constituent un cadre solide pour prédire les effets toxiques des mélanges auxquels ont été exposés les organismes engagés in situ et ainsi aller au-delà de l'évaluation de la contamination des milieux.

L'objectif du projet est de développer des modèles TD basés sur le formalisme GUTS pour établir les liens entre les mélanges de contaminants accumulés dans les gammares engagés et leurs effets sur la survie et la reproduction, et de les proposer comme outils d'aide aux

acteurs de l'eau. Comme preuve de concept, ce travail se focalisera sur 7 métaux : les prioritaires (Cd, Pb, Hg, Ni, Zn) et des éléments d'intérêt pour les agences (Ag et Co), tous mesurés dans les gammes engagés pour la surveillance.

[1] Jager & Ashauer (2018). https://leanpub.com/guts_book

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de ce travail réside en trois points :

- (1) Développer des modèles TD pour une utilisation en biosurveillance. Ces premiers modèles TD basés sur les concentrations bioaccumulées constitueront un outil original et innovant pour les acteurs de l'eau afin de prédire les effets toxiques de mélanges de métaux.
- (2) Aller plus loin que la qualification de la contamination métallique des milieux actuellement menée. L'outil proposé permettra non seulement de prédire les effets toxiques, mais également d'identifier les contaminants les plus impliqués dans ces effets et donc les plus problématiques pour l'environnement, point crucial pour les gestionnaires.
- (3) Notre proposition s'inscrit totalement dans le principe FAIR, en réutilisant des données issues de la surveillance réalisée par les agences de l'eau et bancarisées sur Naiades.

Questions de recherche

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

ACHIM 3.2 - Prise en compte et caractérisation des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : 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. Etude des effets synergiques et antagonistes des substances en mélanges.

ACHIM 11 - Caractérisation des niveaux d'exposition au niveau des écosystèmes pour la biosurveillance environnementale.

Le projet TOX-MIX s'inscrit dans les questions Agents Chimiques (ACHIM1 et 3.2) en s'intéressant aux effets cocktails de contaminants dans les milieux aquatiques et la prédiction de leurs effets toxiques. Ce projet répond également à la question ACHIM 11 en proposant un outil pour améliorer la surveillance des milieux, basé sur l'utilisation des données acquises dans le cadre des réseaux de surveillance.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet sera structuré en 3 tâches:

Tâche 1 (mois 0-16). Acquisition de données de toxicité pour la calibration des modèles dans la tâche 2. Pour chaque métal, il s'agira d'établir la relation entre concentration bioaccumulée et effets observés sur la survie et la reproduction (production de descendants vivants). Pour ceci, nous utiliserons le protocole de Geffard et al. (2010) [3] : 10 réplicats de 10 couples seront exposés à 12°C sur 20 jours à une gamme de 6 concentrations métalliques (espacées d'un facteur 5 plus un témoin), renouvelées tous les jours. La survie sera quantifiée quotidiennement. L'accumulation et le nombre de jeunes vivants dans le marsupium seront déterminés à 5 pas de temps sur les 20 jours d'exposition.

Tâche 2 (mois 12-30). Développement et validation des modèles TD pour prédire la toxicité de mélanges de métaux accumulés. Cette tâche sera réalisée en trois étapes : (1) développer

un modèle TD (basé sur le formalisme GUTS) pour chaque substance et chaque trait et l'ajuster, par inférence Bayésienne, aux données obtenues dans la tâche 1 ; (2) proposer un modèle TD de mélange pour chaque trait en considérant l'hypothèse de l'additivité des effets, comme recommandé dans la review de Martin et al. (2021) [4] ; (3) tester la robustesse et la pertinence du modèle proposé avant son utilisation en tâche 3. Pour ceci, nous quantifierons le pourcentage de sous-estimation des effets (point essentiel pour les gestionnaires) en expérimentant au laboratoire une vingtaine de mélanges, et en comparant les observations aux prédictions du modèle.

Tâche 3 (mois 28-36). Application des modèles aux données disponibles. Cette partie du travail vise à démontrer la pertinence de l'outil proposé pour la surveillance et l'évaluation de la qualité des milieux. Pour ceci, les données d'accumulation disponibles chez les gammarens encagés depuis 2018 seront extraites de la base Naiades. Ces données seront traduites en terme de toxicité létale et sub-létale à l'aide des modèles proposés en tâche 2. La plus-value de l'approche proposée sera illustrée par la cartographie de la toxicité des stations suivies par les agences, mais également via l'identification des métaux les impliqués dans les effets observés et donc les plus problématiques pour les milieux.

[3] Geffard et al. 2010. Environ. Tox. Chem. (DOI [10.1002/etc.268](https://doi.org/10.1002/etc.268))

[4] Martin et al. 2021. Environ. Intern. (DOI [10.1016/j.envint.2020.106206](https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106206))

Partenariat

CNRS - UMR CNRS 5558 – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Christelle Lopes

INRAE - Riverly – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Olivier Geffard

Évaluation de l'exposition aux particules ultrafines à Paris et de leur impact sur la santé dans la cohorte Constances

Mme Emeline Lequy
INSERM - VILLEJUIF

Projet complet - 24 mois
Budget : 201 453 € TTC

Objectif détaillé

This project aims to estimate exposure to ultrafine particles (UFP) in Paris and its health impacts as follows:

1. Produce original exposure surfaces for UFP for the Constances cohort following three steps:
 - 1a. Conduct UFP measurement campaigns in a large number of fixed sites covering Paris over many neighborhoods during two weeks both in summer and winter to characterize UFP levels, from different sources, in contrasted meteorological conditions,
 - 1b. Build land-use regression (LUR) models, i.e. including land-use variables or other spatial data as explanatory variables, and using advanced methodologies to derive UFP long-term exposure surfaces at a high spatial resolution for summer, winter and annual levels,
 - 1c. **Back-extrapolate exposure surfaces to 2012 (Constances' cohort first reference year)** based on existing measured and modelled air pollution data (e.g. ELAPSE-ESCAPE or chemistry-dispersion models).
2. Compare the measured and modelled Paris UFP exposure estimates to:
 - 2a. those of an analogous multi-seasonal study conducted in Montreal, Quebec,
 - 2b. the levels of several UFP-related metals from measurements in urban mosses in Paris in 2018 (Lequy et al 2022).
3. Analyze the links between long-term UFP exposure and cardio-respiratory health in Constances for Parisian participants.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Fine particulate matter (PM_{2.5}) contribute to deleterious health effects. The fraction of PM_{2.5} defined as ultrafine particles (<0.1µm) may explain, at least partially, the observed associations of PM_{2.5} with many cardio-respiratory outcomes. While UFP contribute little to the mass of PM_{2.5}, they largely contribute to the number and surface area of PM_{2.5}. UFP can penetrate deeply into the lungs, bloodstream and organs once inhaled. There is little available evidence on the possible links between UFPs and health: generating UFP exposure surfaces in France would open the door to original French research on the potential links between UFPs and any disease outcome.

Yet in France, no UFP exposure surface has been developed. Only UFP exposure measurements targeting specific populations (i.e., children, taxi drivers) have been conducted so far in Paris. This impedes our ability to estimate UFP exposure for large

population-based studies. Developing UFP exposure surfaces would enable epidemiological studies on UFP based on large cohorts, such as Constances, the largest French population-based cohort with 219,000 participants, 34,204 of which were included in Paris. The methodology chosen is based on a previous study conducted in Montreal, Quebec, Canada, to develop UFP exposure surfaces using a short-term fixed site data collection protocol spread over two seasons to account for various humidity, temperature, and sources of outdoor UFP. This will allow for comparison with UFP data collected in Montreal and the resulting exposure surfaces in Paris, two cities with similar population size but different urban designs and climates. This comparison will be the first-of-its-kind and will pave the way for understanding more specifically the determinants of outdoor UFP levels. Co-located comparisons with UFP data from monitoring stations by AirParif since 2019 will also help understand regional and temporal trends and facilitate back-extrapolation in time of the exposure surface. Since UFP can contain a fair amount of metals, we will compare the spatial variations of UFP levels to those of metal concentrations obtained by moss biomonitoring in Paris in 2018.

Finally, although developed and applied to the city of Paris, the methods we develop will later be applicable to other French areas. The exposure surfaces developed will be on open-access for any research team requiring them.

Questions de recherche

AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition. Pour les particules de l'air ambiant extérieur, inclure des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le carbone suie (black carbon), le carbone organique et les éléments métalliques.

AIR3. This project focuses on UFP, a fraction of PM2.5. The health effects of exposure to UFP are not well understood; this is considered a priority research theme. This project will advance scientific and public health knowledge by elucidating methodological issues on UFP measurement and modelling, providing exposure estimates for a large population, understanding drivers of UFP levels in Paris to perhaps help design mitigation strategies. It will provide a unique tool for research on the role of UFP in the etiology of many diseases in the Constances cohort.

Description des méthodes mises en œuvre

1. UFP data collection and analysis (Year 1, months 1-10)

- Design and organize the campaigns: choose sampling sites, plan routes, hire and train staff to measure UFP,
- Compare these campaigns to those conducted in Montreal,
- Compare UFP levels to metal concentrations from 2018,
- Derive land use predictors (e.g., road length, park areas) around the measurement sites from the open-source database Urban Atlas,
- Build different LUR models (summer, winter, annual) using a classic stepwise approach and machine learning algorithms that account for potential nonlinear relationships.

2. UFP exposure surfaces (Years 1-2, months 8-18)

-Apply the LUR models to develop fine spatial resolution exposure surfaces (target 100x100m),

-Back extrapolate the exposure surfaces up to 2012 based on relationships with NO₂, black carbon, or PM_{2.5} concentrations extracted from existing data,

-Use the novel UFP continuous measurements of AirParif to constrain regional and temporal trends and back-extrapolate in 2019-2021. We have already agreed with AirParif, a frequent collaborator, to access their unique UFP data.

3.Epidemiological study (Year 2, months 15-24): link UFP exposures to geocoded residential addresses of Constances participants and estimate the associations with several chronic cardio-respiratory outcomes, starting with obstructive lung disease (expected n=2,000), and hypertension (expected n=10,000), using appropriate analyses adjusted for relevant individual and contextual confounders.

Consortium:

France (Inserm) UMS11: E Lequy (air pollution exposure assessment, environmental epidemiology), M Zins (PI of Constances), S Kab (hypertension).

U1018: N Roche, R Nadif (respiratory health)

Canada:

Univ. of Victoria: L Minet (UFP monitoring, designing dedicated UFP measurements, LUR building)

Univ. of Toronto: M Hatzopoulou (air pollution and its exposure assessment especially of UFP, LUR building)

Univ. of Montreal: J Siemiatycki (epidemiology, PI of UFP exposure assessment in Montreal)

Request: 200,000€ for equipment, staff (measurement campaigns), travel, congress, data management, analyses, and publication costs

Partenariat

INSERM – UMS11 – VILLEJUIF

Responsable de l'équipe : Mme Emeline Lequy

University of Victoria – CleanAirLab – Canada

Responsable de l'équipe : Mme Laura Minet

University of Toronto - Transportation and air quality research group – Canada

Responsable de l'équipe : Mme Marianne Hatzopoulou

CRCHUM - Carrefour de l'Innovation – Montréal

Responsable de l'équipe : M. Jack Siemiatycki

Inserm U1018, CESP - Respi – Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Rachel Nadif

Réacteur d'antibiorésistance : rôle des bivalves dans la production, la dissémination et la surveillance de l'antibiorésistance dans le milieu aquatique

Mme Mélissa Palos Ladeiro

Université de Reims UFR Sciences Exactes et Naturelles - Reims

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 686 € TTC

Objectif détaillé

L'OMS considère l'antibiorésistance (ATBr) comme un problème majeur de santé publique et a souligné la nécessité d'une approche « One Health » afin d'appréhender sa dissémination dans les différents compartiments (environnement, animaux, Homme). L'environnement, notamment aquatique, est souvent le milieu récepteur de nombreux bactéries/gènes ATBr et de polluants pouvant agir comme agents sélecteurs de l'ATBr. Il offre ainsi de bonnes conditions de dissémination de l'ATBr des bactéries anthropiques vers les bactéries environnementales et, de là, permet de nouvelles contaminations humaines ou animales via l'irrigation de cultures par exemple. Ainsi, différentes études soulignent que des bactéries ATBr et des éléments génétiques mobiles (EGM) vecteurs de gènes ATBr, tels les intégrons, se retrouvent dans les différents compartiments des milieux aquatiques (i.e eau, sédiments, biofilms) dans des abondances corrélées avec le niveau de pression anthropique. Ces milieux aquatiques renferment aussi des mollusques bivalves qui, en lien avec leur écologie (i.e filtreurs), sont connus comme des bioaccumulateurs avec des facteurs de concentration élevés (i.e 100x) de contaminants chimiques, dont certains antibiotiques (ATB ; ex : oxytétracycline, florfénicol, sulfaméthoxazole) susceptibles d'être sélecteurs d'ATBr, et de microorganismes (i.e E. coli ou bactériophages) présents dans leur milieu de vie. Cette capacité de bioaccumulation multiple, concentrant en un même endroit bactéries, bactériophages et composés chimiques, pourrait représenter un contexte favorisant la persistance et/ou le transfert d'EGM vecteurs d'ATBr.

Le projet VENDETTA vise à étudier les interactions entre un mollusque bivalve, *Dreissena polymorpha*, et les acteurs de l'ATBr (ATB, bactéries, EGM) afin de mieux appréhender i) le rôle potentiel de la faune sauvage comme bioréacteur favorisant la dissémination de l'ATBr dans l'environnement mais également ii) son intérêt potentiel pour surveiller l'ATBr au sein des milieux aquatiques ainsi que iii) la toxicité potentielle des éléments associés à l'ATBr chez les organismes aquatiques.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Des résultats préliminaires du consortium soulignent, suite à une exposition en rivière à un gradient amont/aval d'un rejet de station d'épuration, la capacité de la dreissène à accumuler des bactéries viables mais également la présence de marqueurs d'ATBr (gènes

d'ATBr et EGM). Ainsi, de façon originale, le projet propose de tester si cette capacité d'accumulation représente un facteur favorisant, via la présence de sélecteurs et/ou de microorganismes, la persistance et le transfert d'EGM vecteurs d'ATBr et donc le rôle possible de la dreissène comme bioréacteur. De façon plus opérationnelle, une meilleure connaissance des capacités et cinétiques d'accumulation de bactéries/gènes ATBr et des ATB par cette espèce complétera le spectre (chimique et microbiologique) d'utilisation de cette espèce à des fins de surveillance de la qualité des masses d'eau comme cela est proposé actuellement pour d'autres familles de contaminants chimiques et biologiques.

Questions de recherche

ACHIM 11 - Caractérisation des niveaux d'exposition au niveau des écosystèmes pour la biosurveillance environnementale.

ABIO 3.1 - Comportement et devenir des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement et effets potentiels sur la santé humaine : étude dans les milieux aquatiques et les sols

ABIO 5 - Impacts des co-expositions à des agents microbiologiques et chimiques sur la santé humaine et les écosystèmes.

L'étude des interactions entre un mollusque accumulateur et les acteurs de l'ATBr (ATB, bactéries, EGM...) permettra i) d'améliorer les connaissances sur le comportement d'agents pathogènes dans l'environnement (milieu aquatique) (ABIO 3.1), ii) de considérer les conséquences d'une co-exposition des milieux à des agents chimiques et microbiologiques sur l'ATBr pour les écosystèmes et l'homme (ABIO 5), iii) et, in fine, de contribuer, grâce à la prise en compte de ces capacités de bioaccumulation, à l'amélioration de la caractérisation des niveaux d'exposition des écosystèmes pour la biosurveillance environnementale (ACHIM 11).

Description des méthodes mises en œuvre

Pour atteindre les objectifs du projet, ce dernier est organisé autour de 3 tâches scientifiques.

La 1ère tâche (WP1 : M0-M10) vise à caractériser le « résistome » et l'imprégnation en sélecteurs (ATB) chez des dreissènes. Des dreissènes provenant de la population contrôle seront exposées in situ (SEBIO) sur des sites soumis à des effluents urbains ou d'élevages, puis mises en dépuration au laboratoire. Des centaines de gènes d'ATBr et d'EGM (qPCR haut-débit, sous-traitance Resistomap) et une large gamme d'ATB (ISA) seront quantifiés afin d'identifier les acteurs de l'ATBr présents en plus grande concentration (suite à l'exposition) et les plus persistant (durant la dépuration) au sein de la dreissène. Ces données serviront à sélectionner pour la tâche 2 : i) un ATB accumulé et connu pour induire le transfert d'EGM et ii) une espèce de bactérie (Gram + ou -) accumulée et dont une souche disponible au sein du LCPME possède un chromosome et un EGM vecteur d'ATBr marqués, afin de permettre le suivi de leur persistance/dissémination dans les différentes matrices (eau, dreissène) par qPCR/dPCR.

La 2de tâche (WP2 : M10-M28) vise à définir en condition de laboratoire, l'implication de la dreissène dans la persistance/dissémination de l'ATBr ainsi que les effets de ces acteurs sur l'immunité de la dreissène. Des dreissènes contrôles seront exposées (SEBIO) par balnéation durant plusieurs temps à une gamme de concentration (dont charges environnementales) de l'ATB et de la souche sélectionnés (WP1) seuls ou en mélange (incluant les blancs avec ou

sans dreissènes). A l'issue de cette phase d'exposition, une part des organismes sera mise en eau claire pour suivre la dépuración. Sur ces différentes conditions seront suivis :

- Action 1 : les bactéries/EGM marqués dans l'eau et les dreissènes afin d'évaluer leur persistance/dissémination vis-à-vis de la biomasse présente (ADNr 16S) (LCPME)
- Action 2 : la cinétique de bioaccumulation de l'ATB incluant la mesure du facteur de bioaccumulation par couplage chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse en tandem (ISA)
- Action 3 : les effets des acteurs de l'ATBr sur l'immunité de la dreissène au niveau cellulaire (i.e phagocytose) ou plasmatique (i.e protéines) (SEBIO).

Une 3ème tâche (M26-M36) visera à décrire les relations entre les schémas de i) bioaccumulation, ii) de persistance/dissémination des marqueurs de l'ATBr et iii) d'écotoxicité vis-à-vis de l'organisme hôte, afin d'évaluer l'implication de ces organismes accumulateurs dans la diffusion de l'ATBr mais également leur intérêt pour mieux évaluer et surveiller cette ATBr dans les masses d'eau naturelles.

Partenariat

Université de Reims Champagne Ardenne - UMR-I 02 SEBIO – Reims

Responsable de l'équipe : Mme Mélissa Palos Ladeiro

Université de Lorraine - UMR CNRS 7564 LCPME – Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Frédérique Changey

Institut des sciences analytiques - UMR CNRS 5280 TRACES – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Emmanuelle Vulliet

Impact des facteurs psychosociaux au travail sur la santé et le recours aux soins via les données médico-administratives du SNDS

Mme Isabelle Niedhammer
INSERM INSERM U1085 - Angers

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 992 € TTC

Objectif détaillé

Les objectifs du projet sont :

- Mener des études étiologiques sur les associations prospectives des facteurs psychosociaux au travail sur la santé via des données médico-administratives
- Evaluer le rôle des co-expositions, expositions multiples et effets synergiques des expositions aux facteurs psychosociaux au travail
- **Prendre en compte les comportements à risque dans l'étude de ces associations prospectives**
- **Tester les différences dans ces associations prospectives selon le genre, l'âge, et le statut socio-économique**

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La littérature internationale fournit des éléments convaincants sur les associations des facteurs psychosociaux au travail sur la santé, en particulier sur la santé mentale et cardiovasculaire. Néanmoins, une limite majeure aux connaissances actuellement disponibles porte sur l'existence potentielle d'un biais de déclaration susceptible de surestimer les associations observées, les données d'exposition et de santé étant souvent déclarées par les individus enquêtés. Les données déclarées sont en effet susceptibles d'être influencées par divers tiers facteurs liés notamment à la personnalité ou à la désirabilité sociale. Une approche pour réduire ce biais de déclaration consiste à utiliser des données de **santé dites objectives**, c'est-à-dire issues de sources extérieures aux individus enquêtés, en particulier les bases de données médico-administratives. De telles études sur les facteurs psychosociaux au travail sont à ce jour inexistantes en France et rares au plan international.

De plus, la littérature existante porte généralement sur un nombre limité de facteurs psychosociaux au travail et ne prend pas toujours en compte les autres expositions professionnelles (physico-chimiques). Elle se focalise surtout sur les troubles de la santé mentale et les maladies cardiovasculaires et tend à négliger les autres pathologies. Notre projet vise à explorer plus largement les facteurs psychosociaux au travail et les problèmes de santé, afin de **fournir des connaissances sur l'impact des facteurs psychosociaux au travail sur des aspects de santé moins ou pas étudiés.**

Questions de recherche

SHS 16 - Étude des déterminants de l'organisation du travail ou des pratiques managériales sur la santé physique ou mentale.

L'étude de l'impact de l'organisation du travail via les facteurs psychosociaux au travail sur la santé physique et mentale apparaît cruciale. Notre projet comporte plusieurs aspects novateurs dans la thématique afin de faire avancer la connaissance :

- Utiliser des données de santé objectives, médico-administratives via le SNDS, afin de réduire le biais de déclaration
- Explorer les troubles de la santé mentale et les maladies cardiovasculaires mais aussi d'autres types de pathologies
- **Mener des études prospectives, permettant d'établir clairement la chronologie entre exposition et maladie**
- Explorer le caractère multidimensionnel des facteurs psychosociaux au travail et les co-expositions, expositions multiples et effets synergiques des expositions

Description des méthodes mises en œuvre

Le présent projet s'appuiera sur des bases de données existantes, déjà appariées aux données médico-administratives du SNDS, mises à disposition par l'IRDES via le CASD, après obtention des autorisations réglementaires (CESREES et CNIL).

L'Enquête Santé et Protection Sociale (EPS) est une enquête périodique menée par l'IRDES, les différentes éditions ayant eu lieu entre 1988 et 2014. L'enquête est réalisée par sondage en population générale, l'échantillonnage a été modifié en 2010 et repose depuis sur l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires (EGB) de l'Assurance Maladie. A chaque édition, l'enquête comporte un échantillon national représentatif de ménages (environ 8000 ménages) et de personnes incluses dans ces ménages (environ 23000 personnes). L'enquête est menée en panel, avec un suivi tous les 4 ans. Cette enquête présente deux grands atouts au regard du présent projet. Elle inclut depuis 2010 un questionnaire 'santé-travail' dédié aux conditions de travail et aux expositions professionnelles. De ce fait, nous nous focaliserons sur les données des éditions 2010, 2012 et 2014 (échantillon d'environ 6000 personnes actives en emploi à chaque édition). L'enquête est aussi appariée aux données médico-administratives du SNDS. Au regard de ces 3 éditions, l'appariement aux données du SNDS a été fait sur la période 2010-2016 (échantillon d'environ 4000 personnes à chaque édition).

Les données du questionnaire 'santé-travail' permettront de construire des variables relatives aux facteurs psychosociaux au travail, pour lesquels la littérature montre des associations avec des variables déclarées de santé : demande psychologique, latitude décisionnelle, soutien social (dimensions du modèle de Karasek), reconnaissance/récompenses (concept du modèle de Siegrist), temps de travail prolongé, précarité et insécurité de l'emploi, changement organisationnel et situations de tension avec le public. Des indicateurs d'exposition conjointe/multiple seront construits. D'autres expositions professionnelles seront prises en compte : travail de nuit, expositions biomécaniques, et expositions chimiques.

Les données détaillées du SNDS permettent d'explorer différents aspects de la santé : recours aux soins, via les consultations, soins primaires et externes hospitaliers et différents actes, prescription de médicaments, séjours hospitaliers avec les diagnostics médicaux, ALD, maladies professionnelles... Elles permettent donc d'évaluer, via des indicateurs ou algorithmes, l'état de santé et de fournir des informations sur des pathologies précises.

Les études étiologiques seront réalisées selon les standards les plus récents de l'épidémiologie étiologique sur la thématique des facteurs psychosociaux au travail. Un soin particulier sera apporté aux points suivants : construction de variables d'exposition et de la maladie, mesure de co-expositions, expositions multiples et profils d'exposition, choix de co-variables (variables d'ajustement et/ou confusion), et méthodes statistiques multivariées permettant de prendre en compte la temporalité (modèles d'analyses de survie), le caractère multi-niveaux des données (ménages/individus et données répétées), la pondération (et donc le plan de sondage et la non-réponse) et les effets d'interactions (additives, multiplicatives).

- Eléments de calendrier

Année 1 : élaboration du plan de gestion des données, data management, construction de variables, analyses statistiques, début de la valorisation des travaux

Années 2 et 3 : poursuite des analyses statistiques et de la valorisation

Rédaction de 5-6 manuscrits minimum pour publication

Partenariat

INSERM U1085 - ESTER – Angers

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Niedhammer

IRDES - IRDES – Paris

Responsable de l'équipe : M. Thierry Rochereau

CNAM - CNAM – Paris

Responsable de l'équipe : M. Tuppin Philippe