

# Appel à projets de recherche 2021 du PNR EST

## Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 33 dossiers soumis aux appels à projets 2021 et retenus pour financement par le comité d'orientation à l'issue du processus de sélection

## SOMMAIRE

Résumé 5G-EYE - 2021_2 RF_005 .....	3
Résumé 5G-HumBO - 2021_2 RF_024.....	5
Résumé AGING - 2021_1_184.....	7
Résumé BELIEFS - 2021_2 RF_017 .....	9
Résumé CIPROP - 2021_1_169.....	12
Résumé COREXCA - 2021_1_188.....	14
Résumé CRAFT - 2021_1_094.....	16
Résumé DEEP - 2021_1_217.....	19
Résumé ED-SCREEN - 2021_1_131.....	21
Résumé Elimalkyl - 2021_1_226 .....	23
Résumé EMESIBAT - 2021_1_021 .....	25
Résumé EXMINA - 2021_1_077 .....	27
Résumé EXSOCAR - 2021_2 RF_010.....	29
Résumé FiltreUV - 2021_1_126.....	31
Résumé MAM-HOPES - 2021_1_201 .....	34
Résumé MANGA - 2021_1_239 .....	37
Résumé MOLDASTH - 2021_1_202 .....	40
Résumé NanoMuc - 2021_1_016.....	43
Résumé NEMESIS - 2021_1_149.....	45
Résumé OMICS4TOOL - 2021_1_072.....	48
Résumé PAH-ProMetGen - 2021_1_107.....	51
Résumé PHARE - 2021_1_089.....	54
Résumé PLASTICIDE - 2021_1_176.....	56
Résumé PlasToxPreg - 2021_1_121.....	59
Résumé POLLUSPORT - 2021_1_142.....	62
Résumé PolyExpoTMS - 2021_1_030.....	64
Résumé PopsDim - 2021_1_020.....	67
Résumé ReMéta5G - 2021_2 RF_014.....	69
Résumé RFM Expo - 2021_2 RF_025.....	71
Résumé SPICE - 2021_1_199 .....	73
Résumé TIQoJARDIN - 2021_1_050 .....	75
Résumé ToxiPulFraCAm - 2021_1_137.....	77
Résumé UTILE - 2021_1_018.....	79

# Résumé 5G-EYE - 2021\_2 RF\_005

## Effets oculaires de l'exposition chronique aux radiofréquences 5G

Mme Alicia Torriglia

Inserm U 1138 - De la physiopathologie des maladies rétiniennes aux développements cliniques- Paris

**Etude de faisabilité - 24 mois**

**Budget : 49 920 € TTC**

### Objectif détaillé

The use of cellular mobile communications has increased the exposure of the population to electromagnetic fields, mostly to radiofrequencies (RF). The new generation of communication signals (5G) will use frequencies already used by previous technologies but will also invest new frequencies, some in the millimeter range. Because of the low penetration of these latter waves, the skin and the eyes are mostly concerned. Actually, *in silico* modeling show a localized increase in temperature at the anterior chamber of the eye, reflecting its poor management of temperature (Weesapan, J of Heat transfer 2012), a factor probably involved in the development of cataracts and other corneal and retinal defects seen after exposures to high energy RF (Edler, Bioelectromagnetics 2003). In this project we will investigate in the rat, the ocular effects of a chronic exposure to 5G RF signals (0,9 and 24-27 GHz). We aim to evaluate the possible induction of toxic effects such as cell stress responses and cell death in different eye structures, all processes involved in keratitis, cataracts and retinal degenerations, common eye diseases leading to loss of vision. We will, in this way, test the hypothesis of potential harmful effects of 5G frequencies on the eye.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

- This will be the first study exploring the ocular effects of two RF signals belonging to the 5G technology: a low frequency which penetrates inside the living tissues (900MHz, one of the first frequency range used by french operators), and the other with poor tissue penetration (24-27 GHz). The effects of the latter frequency have never been investigated. Previous studies investigated the effects of millimeter waves above 40 GHz.

- This study will use the longest whole body RF exposure, for an eye study. Rats will be chronically exposed (one month), while most studies used few hours or even minutes of focalized exposures.

- This project, will analyze main ocular structures: cornea, trabeculum, lens and retina, given a global picture of the effects of 5G frequencies exposures on the eye.

- Finally, we will investigate if males and females have similar responses. If this issue was already studied for the brain, the potential sex-dependent impact of RF has never been investigated in the eyes. Interestingly, estrogens have been shown to protect retina from light degeneration (Getter, J Biol Chem 2019). Similar effects could be hypothesized for RF.

## Questions de recherche

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

This research project will identify the physiopathological, effects of 5G RF' exposure on the eye structures that could be affected after a whole body chronic exposure, more realistic than a single localized exposure, at a level corresponding to the ICNIRP threshold. By using the same methodology to evaluate the effects of two different RF signals with different penetration capacity, we will generate data on the role of the frequency, an important issue to predict effects of these new 5G signals used by mobile phones or connected objects. This will specifically answer to the research question « Étude des effets des champs électromagnétiques sur le vivant dans les bandes de fréquences aujourd'hui peu étudiées, notamment au-dessus de 2,5 GHz, associées aux prochains déploiements de la technologie 5G et aux usages émergents concernant les objets communicants »

## Description des méthodes mises en œuvre

This project will use animals from the RADIODEP project, conducted by Anne Pereira de Vasconcelos and supported by ANSES (2020/2RF/012), in order to reduce the number of animals used in experimentation (the "reduce" of the 3R ethic's rule). Eight cohorts of 36 adult male or female rats (50/50) will be exposed in a reverberant chamber (RF and Sham groups), home cage controls being placed outside the chamber. Rats will be exposed 4h/day, 5 days/week at 61 V/m as permitted by the ICNIRP standard for exposure of the general public. The rat exposures will run between end of 2021 and mid 2023. At the end of the exposure, the animal will be sacrificed and brain (RADIODEP project) and the eyes will be saved. The eyes will be prepared in order to perform morphological and biochemical studies. By using immunohistology (year 1), western blot and QPCR (year 2), the activation of cell death pathways (including apoptosis, necroptosis, autophagic cell death among others), endoplasmic reticulum stress, Heat shock proteins, cellular inflammation and cellular senescence will be investigated .

## Partenariat

**Inserm U 1138 - De la physiopathologie des maladies rétinienne aux développements cliniques – Paris**

Responsable de l'équipe : Mme Alicia Torriglia

**Université de Strasbourg, Faculté de psychologie – Strasbourg**

Responsable de l'équipe : Mme Anne Pereira De Vasconcelos

## Résumé 5G-HumBO - 2021\_2 RF\_024

### Impact des radiofréquences associées à la technologie 5G sur le développement cérébral à partir d'organoïdes cérébraux humains

M. Vincent El Ghouzzi  
Inserm UMR1141 - NEURODIDEROT - Paris

Projet complet - 36 mois

Budget : 233 900 € TTC

#### Objectif détaillé

Le développement massif de la téléphonie mobile expose aujourd'hui des enfants de plus en plus jeunes aux champs électromagnétiques. Le déploiement de nouvelles technologies comme la téléphonie 5G pose la question de leur impact sur le développement cérébral de l'enfant. En particulier, le statut immunitaire de l'individu jeune et les pathogènes, notamment viraux, qu'il croise nécessairement au cours de l'enfance pourraient constituer des fenêtres de vulnérabilité le rendant sensible aux radiofréquences. Une telle vulnérabilité a récemment été démontrée chez des rats traités au LPS pour induire une neuroinflammation et soumis à une exposition aiguë d'une fréquence GSM de 1800MHz (Occelli, Neurosci 2018, PMID29902504), mais on ignore si ces résultats sont transposables à l'homme. Même s'ils sont relativement conservés entre les espèces, les mécanismes à l'origine du développement cérébral, en particulier du cortex font intervenir des progéniteurs spécifiques à l'homme et, outre des différences majeures liées au nombre de neurones et à leur organisation, des spécificités géniques influent sur le devenir des progéniteurs, leur mode de division et leur différenciation (Kalebic & Huttner, Trends Neurosci 2020, PMID32828546).

Les organoïdes cérébraux humains (3D-HumBO ou « mini-brains ») sont des structures 3D obtenues à partir de cellules pluripotentes induites (hiPSCs), capables de reproduire in vitro l'apparition séquentielle des progéniteurs humains, leur organisation spatiale et l'architecture laminaire des couches de neurones qui apparaissent successivement pour former notamment le cortex (Chiaradia & Lancaster Nat Neurosci 2020, PMID33139941). Les 3D-HumBO peuvent être gardés en culture pendant plusieurs mois et produisent des réseaux de neurones, des cellules gliales et microgliales permettant d'apprécier la différenciation, la survie et la migration neuronales et étudier la neuroinflammation. Ce modèle a permis d'identifier par exemple les mécanismes pathogènes de l'infection au ZIKA (Qian, Development 2017, PMID28292840).

Dans ce projet, nous proposons d'utiliser les 3D-HumBO pour évaluer l'impact potentiel d'une exposition cérébrale aux radiofréquences à 3,5GHz de la technologie 5G. Les 3D-HumBO seront soumis à des temps croissants d'exposition pour déterminer si leur développement est perturbé au-delà d'un certain temps d'exposition. Par une stratégie de double-hit, nous déterminerons également si un contexte pro-inflammatoire peut constituer un terrain de vulnérabilité rendant le développement cérébral plus sensible aux ondes électromagnétiques. Dans ce but, les 3D-HumBO seront soumis au poly(I :C), un mimétique viral capable de déclencher une neuroinflammation, pendant une exposition aux radiofréquences à 3,5GHz.

## Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'impact des hautes fréquences associées à la technologie 5G sur le cerveau humain en développement n'a pas été évalué. L'originalité du projet tient dans le recours à un modèle humain et à la pertinence des organoïdes pour mimer le développement cérébral humain et induire une neuroinflammation caractéristique des infections virales.

## Questions de recherche

*RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant aux niveaux cellulaire et moléculaire, en tenant compte des évolutions d'utilisation de fréquences liées aux nouveaux usages et nouvelles technologies de communication. Les études sur les futures bandes de la 5G (3,5 GHz et 26 GHz) sont prioritaires.*

Le projet permettra de déterminer si l'exposition aux signaux 5G-3.5GHz est susceptible d'affecter le développement cortical humain, en particulier en présence d'une neuroinflammation.

Les 3D-HumBO permettront non seulement d'étudier les progéniteurs neuraux et les neurones post-mitotiques mais également les cellules microgliales, cellules immunitaires du cerveau.

## Description des méthodes mises en œuvre

Les expériences seront réalisées à Paris dans notre plate-forme dédiée ([www.brainorganoid.org](http://www.brainorganoid.org)) à partir d'hiSPCs contrôlés selon un protocole déjà validé. Un système permettant d'exposer les 3D-HumBO à des signaux 5G à la fréquence de 3.5 GHz sera défini en fonction des supports biologiques potentiels (plaques 6-puits en particulier) et en fonction de la maîtrise des expositions (homogénéité, intensité du débit d'absorption spécifique - DAS, température, agitation). Le dispositif retenu sera intégré à un incubateur et couplé à un contrôle de l'exposition (Wattmètre, monitoring). L'effet d'un niveau d'exposition aux signaux 5G-3.5 GHz (DAS compris entre 0.1 et 4 W/kg) sera évalué sur le développement de 3D-HumBO cultivés pendant 1, 2 ou 3 mois sous agitation à 37°C avec 5% de CO2 avec ou sans Poly(I :C). L'exposition et l'analyse seront réalisées en aveugle avec des contrôles expérimentaux après un calcul de puissance pour déterminer la taille des échantillons. Dans chaque condition, le nombre et la nature des progéniteurs neuraux, la différenciation neuronale et la migration, la différenciation gliale et microgliale des 3D-HumBO seront analysés par immunofluorescence et par analyse transcriptomique des différents types cellulaires.

Le projet a pour durée 36 mois avec 4 tâches :

1. Définition et validation du protocole d'exposition des 3D-HumBO aux signaux 5G-3.5 GHz (6 mois)
2. Réalisation du protocole d'exposition, immuno-marquage des 3D-HumBO, analyse des résultats, livraison du rapport intermédiaire (12 mois)
3. Nouvelle série d'expériences pour extraction d'ARN et analyse transcriptomique (12 mois)
4. Analyse statistique et livraison du rapport final (6 mois)

## Partenariat

**Inserm UMR1141 - NEURODIDEROT – Paris**

Responsable de l'équipe : M. Vincent El Ghouzzi

**Université de Limoges, XLIM UMR CNRS 7252 - Limoges**

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

# Résumé AGING - 2021\_1\_184

## Estimation de la structure d'âge des populations de moustiques *Aedes aegypti* par Spectrométrie de Masse MALDI-TOF couplée à l'Intelligence Artificielle.

M. Nicolas Pocquet

Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie, Unité de Recherche et d'Expertise en Entomologie Médicale - Nouméa

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 966 € TTC

### Objectif détaillé

La structure d'âge d'une population de moustiques vecteurs est un paramètre essentiel pour évaluer le risque épidémique. Disposer d'un outil fiable et rapide pour déterminer cette structure d'âge permettrait également d'évaluer l'efficacité des méthodes de lutte anti vectorielle conventionnelles ou plus modernes. Ce projet de faisabilité vise à mettre au point un outil permettant d'évaluer l'âge des moustiques *Aedes aegypti* de laboratoire (porteurs ou non de *Wolbachia*), en utilisant le MALDI-TOF et l'Intelligence Artificielle (IA). Cet outil sera ensuite testé sur des *Ae. aegypti* en condition semi-opérationnelles.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

D'un point de vue épidémiologique, la structure d'âges d'une population de vecteurs comme *Aedes aegypti* est un facteur essentiel dans l'évaluation du risque de transmission de virus tel que celui de la dengue, du Zika ou du chikungunya. En effet, lors d'une épidémie, ce sont les femelles les plus âgées qui sont le plus susceptibles de transmettre ces virus. Ceci résulte du temps nécessaire au virus pour infecter le moustique, disséminer dans le corps de celui-ci et enfin atteindre les glandes salivaires (i.e. période d'incubation extrinsèque). La structure d'âge de la population de moustique dans une zone donnée permettrait donc d'avoir un proxy du risque de transmission.

A ce jour, il n'existe pas de technique simple et rapide pour évaluer la structure d'âge d'une population de moustique de terrain. La spectrométrie de masse MALDI-TOF est un outil de plus en plus utilisé en entomologie médicale. L'analyse des spectres protéiques avec les méthodes du constructeur ont permis de répondre à de nombreuses questions d'intérêt. Plus récemment, de nouveaux outils d'exploration de données tel que l'Intelligence Artificielle (IA) ont été utilisés pour permettre une analyse plus fine des spectres générés par le MALDI-TOF.

La Nouvelle-Calédonie est actuellement le seul territoire français d'outre-mer qui a mis en place le World Mosquito Program (WMP) pour lutter contre les arboviroses. Le WMP est un programme innovant de contrôle des arboviroses qui utilise la capacité de la bactérie *Wolbachia* à bloquer la réplication virale au sein des moustiques *Ae. aegypti* infectés. Ce projet étant mis en place à Nouméa uniquement, il en résulte une situation entomologique originale qui nous permettrait de mettre au point la technique de détermination de l'âge des moustiques par MALDI-TOF sur des *Ae. aegypti* de différent statut (porteurs de *Wolbachia* ou non).

## Questions de recherche

*LAVE 1 - Vecteurs et santé animale ou végétale, vecteurs et santé humaine : biologie, écologie, distribution des vecteurs, relation hôte-pathogène, surveillance des vecteurs, détection (relations agent pathogène - pathogénicité ; vecteur sentinelle...), exposition différenciée, résistance, dynamique des maladies vectorielles (dont zoonotiques) et changements climatiques. Rôle de la faune et de la flore sauvage dans la diffusion de ces maladies.*

*LAVE 2 - Lutte anti-vectorielle : nouvelles substances actives et produits biocides, développement de technologies innovantes (lutte biologique, lutte génétique...) sans exclure l'optimisation des méthodes de piégeage et large spectre ; efficacité de la lutte anti vectorielle (indicateurs de type coût efficacité ou bénéfices-risques) ; prise en compte des facteurs de pratiques culturelles, d'élevage, de la proximité entre les espèces sauvages, les espèces domestiques et les humains et de l'acceptabilité des populations lors de l'utilisation des nouvelles substances et/ou produits sur le terrain.*

Si les résultats de ce projet de faisabilité sont concluants, les structures d'âges des populations de moustiques de terrain pourront être utilisées pour :

(i) Évaluer le risque de transmission des arbovirus tels que les virus de la dengue, du chikungunya et du Zika dans des zones où *Ae. aegypti* est vecteur (les femelles les plus âgées étant le plus susceptible de transmettre les arbovirus).

(ii) Étendre cette méthodologie à d'autres vecteurs d'importance dans le Pacifique, l'Océan Indien et en Europe, comme *Aedes polynesiensis* ou *Aedes albopictus*.

(iii) Évaluer l'effet de *Wolbachia* sur les populations d'*Ae. aegypti* de Nouméa, suite à l'application du World Mosquito Program (WMP). En effet, cette technique de contrôle des arboviroses utilisant la bactérie *Wolbachia* est actuellement mise en place sur la ville de Nouméa. Il a déjà clairement été démontré que *Wolbachia* a un effet sur la répllication virale au sein des moustiques. L'intérêt serait ici d'étudier la structure d'âge des *Ae. aegypti* porteurs de *Wolbachia* pour évaluer un éventuel coût entraînant une diminution de l'espérance de vie des moustiques, et par conséquent de la capacité vectorielle de ces populations.

### Description des méthodes mises en œuvre

- Générer les spectres protéiques pour des *Ae. aegypti* d'âges connus et de différents statuts d'infection, porteurs ou non de *Wolbachia* (6 mois)
- Analyser les spectres par Deep-Learning et sélectionner les modèles les plus fiables (6 mois)
- Tester les modèles sélectionnés sur des *Ae. aegypti* élevés en conditions contrôlés et semi-contrôlés sur le terrain (9 mois).
- Rapport et valorisation (3 mois)

### Partenariat

**Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie, Unité de Recherche et d'Expertise en Entomologie Médicale – Nouméa**

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Pocquet

**Université de Nouvelle Calédonie, Laboratoire ISEA EA-7484 (Institut des Sciences Exactes et Appliquées) – Nouméa**

Responsable de l'équipe : Mme Nazha Selmaoui-Folcher



# Résumé BELIEFS - 2021\_2 RF\_017

## Comportements et anticipations expliquant les liens entre interoception, exposition perçue aux ondes électromagnétiques et symptômes somatiques fonctionnels

M. Cédric Lemogne

AP-HP.Centre-Université de Paris UF de Psychiatrie - Paris

Projet complet - 24 mois

Budget : 198 415 € TTC

### Objectif détaillé

Functional somatic symptoms attributed to electromagnetic fields (i.e. “electromagnetic hypersensitivity” (EH)) are poorly understood. Cognitive mechanisms underlying functional somatic symptoms are the focus of growing interest (1). This research program aims to better understand underlying mechanisms of EH, and identify specific treatments, in light of a recent cognitive model of functional somatic symptoms.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

A recently sketched out theoretical model of functional somatic symptoms based on cognitive biases may improve our understanding of EH. On this view, bodily experiences result from the integration of two sets of information: sensory cues from the body on the one hand, and cognitive expectations about what bodily experiences will be on the other. In functional somatic symptoms, strong cognitive expectations of negative bodily experiences may outweigh sensory cues.

Here, we wish to investigate experimentally whether this model can account for EH. Furthermore, we aim to test whether this novel account can help fostering innovative treatment programs for EH, as we recently suggested (1–3).

### Questions de recherche

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

*RFES 3.7 - Recherches sur l'usage, l'efficacité et les éventuels effets secondaires des mesures thérapeutiques (prise en charge de certains symptômes (acouphènes) ou de certaines affections (migraines) chez des sujets se déclarant EHS, traitements utilisés).*

The cognitive model of EH will be tested with specific behavioral experiments. Behavioral results will subsequently be tested as predictors of the effects of cognitive behavior therapy adapted for EH. Changes in these measurable mechanisms will also be tested as potential mediators of the effects of cognitive behavior therapy. An interdisciplinary team involving psychiatrists, environmental physicians, health psychologists and cognitive science researchers will lead this research agenda.

## Description des méthodes mises en œuvre

Ambulatory patients with EH as their core problem for consultation and treatment will be recruited in specialized care units. Controls will be recruited via an ad-hoc database, matched on age and gender. Exclusion criteria will be: age < 18, no French speaking, no internet access. Physical and psychiatric comorbidities will be assessed. The same group of patients will undergo series of behavioral experiments before and after completing a dedicated treatment program. Experimental paradigms will be based on standard procedures, that have not been used yet to investigate patients with EH. The rationale for the number of participants included and statistical analysis plans will be greatly detailed in the long proposal.

Behavioral testing before treatment (patients & controls, year 1):

- Experiment 1 will focus on interoceptive abilities. We will compare interoceptive expectations with interoceptive accuracy in the context of one's own heartbeats perception, with a design allowing separate assessments of sensitivity and response criterion, according to the signal detection theory framework. We hypothesize that performances of patients with EH will be more driven by expectations than in healthy controls'.
- Experiment 2 will focus on attributed causes of bodily experiences. Building upon previous studies (4), we will propose a real versus sham Wi-Fi task. We hypothesize that somatic symptoms will increase when patients believe the Wi-Fi is turned on irrespectively of whether exposure is real or sham. This will confirm the major influence of cognitive expectations about causes of symptoms.
- Experiment 3 will focus on beliefs about the significance of symptoms. It will be based on similar tasks as Experiment 2 with further manipulation of the meaning of the induced bodily experiences that will be presented as either benign or threatening. We hypothesize that bodily symptoms will be particularly increased when patients believe they signal a potential threat for their health.

**Treatment program** (patients, year 1-2):

A trained therapist will run the treatment program, assisted with dedicated online tools. As we recently suggested (5), it will focus on rebalancing cognitive expectations and sensory cues using cognitive behavior therapy (CBT) but also biofeedback and interoceptive training depending on each patient's underlying mechanisms.

The aim of the program is to substantially improve patients' quality of life. It is be part of the therapy to gradually inform about cognitive biases in EH and manage potential reluctance. Yet, patient's full adhesion to the model is not mandatory. We will run a qualitative investigation of how patients cope with the cognitive model of EH. We postulate that discussing underlying cognitive mechanisms, including the role of emotions and personality traits in cognitive biases, will foster therapeutic adherence (3).

Behavioral testing after treatment (patients, year 2):

After completing the treatment program, patients will go through the same 3 experiments once again. This will quantify how the expected relief of symptoms correlates with the correction of cognitive biases, thus allowing tracking intermediary markers of treatment efficacy.

Overall, the results will offer the chance to foster personalized treatments adapted to each patient's cognitive functioning. They will be the preliminary step before a randomized controlled trial assessing a dedicated treatment program for EH.

## Partenariat

### **AP-HP.Centre-Université de Paris UF de Psychiatrie – Paris**

Responsable de l'équipe : M. Cédric Lemogne

### **Hôpital Hôtel Dieu-APHP, Centre de Pathologies Professionnelles et environnementales – Paris**

Responsable de l'équipe : Mme Lynda Bensefa-Colas

### **KU Leuven – University of Leuven Belgique**

Responsable de l'équipe : M. Omer Van Den Bergh

### **University of Mainz, Abteilung für Klinische Psychologie, Psychotherapie und Experimentelle Psychopathologie – Mainz, Allemagne**

Responsable de l'équipe : M. Michael Witthöft

# Résumé CIPROP - 2021\_1\_169

## Cinétique de formation et caractérisation des produits de dégradation des plastiques dans l'environnement marin

M. Matthieu George  
Université Montpellier L2C, UMR5221 - Montpellier

Projet complet - 36 mois  
Budget : 197 340 € TTC

### Objectif détaillé

La pollution par les déchets plastiques est un défi environnemental majeur résultant de leur accumulation dans les milieux terrestres et marins, sous forme de macro, micro, voire de nano-plastiques.

Le but de ce projet est de déterminer la cinétique de génération de sous-produits de dégradation particuliers (micro- et nano- plastiques (MPs, NPs)) ou partiellement solubles (oligomères, par exemple) et de caractériser les tailles, natures chimiques et temps de persistance de ces produits en milieu marin. Ces études seront menées à la fois pour des plastiques conventionnels et pour des matériaux biodégradables alternatifs, dont on ne peut exclure à l'heure actuelle qu'ils produisent également des MP, étant donné que leur biodégradation ultime requiert des conditions spécifiques rarement réunies dans un environnement aquatique. Mieux connaître les sous-produits de dégradation des plastiques dans l'environnement est essentiel pour évaluer ensuite leur potentielle toxicité.

Cette étude sera menée sur deux polymères, choisis pour représenter des cas extrêmes: le polyéthylène basse densité (LDPE), qui est le déchet plastique le plus abondant dans l'océan et le polybutylène adipate téréphtalate (PBAT), qui est l'un des polymères biodégradables les plus couramment utilisés.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Malgré le volume croissant de publications sur le sujet, la durée de vie et la cinétique de formation des micro ou nano-plastiques dans l'environnement sont encore mal quantifiées. Ce projet vise à obtenir, pour la première fois, des déterminations et prédictions quantitatives de la fragmentation des débris plastiques en MP, et de la libération de NP et produits solubles. Deux aspects particulièrement novateurs sont : l'analyse exhaustive des produits de dégradation en solution pour un polymère conventionnel mais aussi pour un polymère biodégradable, et l'étude du rôle de la morphologie, cruciale à l'échelle de la dizaine de microns [1,2], sur la génération des produits de dégradation.

### Questions de recherche

*NANO 1 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants.*

*CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des micro-plastiques ; risques induits pour l'homme et l'environnement.*

Ce projet s'inscrit dans deux des questions scientifiques de l'AAP : CoEM 1 et Nano 1.

Pour caractériser la pollution émergente constituée par les microplastiques et ses impacts potentiels sur les écosystèmes et la santé humaine, il est indispensable de savoir comment ces microplastiques évoluent (fragmentation, libération de nano-plastiques ou d'autres produits solubles) en fonction du compartiment aquatique dans lequel ils se trouvent et donc du mécanisme de dégradation préférentiel auxquels ils sont soumis. C'est l'objet principal du projet que nous proposons. Ce travail contribuera, entre autres, à la levée d'un verrou actuel qu'est la difficulté de simuler des environnements réalistes pour la détermination des impacts. La distribution en taille et la forme des fragments, particules et oligomères libérés en solution constituent, par exemple, des informations cruciales pour déterminer la capacité d'adsorption d'agents pathogènes sur les MPs et leur capacité à être assimilés par des organismes vivants.

### Description des méthodes mises en œuvre

Les méthodes mises en œuvre consisteront à:

1- soumettre des films de polymères, d'épaisseur et de morphologie contrôlées (IMMM, 3 mois), à 3 processus de dégradation différents, à savoir l'oxydation UV en chambre de vieillissement accéléré (IMMM, 21 mois), l'hydrolyse enzymatique (L2C, 21 mois) et la biodégradation par les microorganismes marins (IATE, 21 mois) des films de PBAT vierges et vieillis. Ces trois processus seront conduits sous agitation mécanique contrôlée de manière à provoquer une fragmentation similaire à celle produite par les vagues ou les courants dans l'océan. Ceci nous permettra de mesurer le niveau de contrainte seuil de fragmentation du film polymère;

2- suivre simultanément pour chacun des processus et en fonction de la contrainte appliquée : (i) l'évolution de la structure des films (DSC, diffusion des RX, POM) (ii) l'endommagement de surface provoqué par les différents mécanismes de dégradation par des cartographies topographique et mécanique (MEB, AFM) ainsi que des cartographies de structures chimiques (micro-spectroscopie infrarouge et Raman). (iii) la nature, le nombre et la taille des fragments et espèces en solution (granulométrie, microscopies, diffusion statique et dynamique de la lumière, SEC et GC-MS), (iv) le bilan matière, qui quantifie le niveau de dégradation obtenu (titration du carbone organique total et dissous, respirométrie, perte de masse).

3- produire un modèle basé sur les cinétiques d'érosion différentes entre phases amorphes et cristallines et sur la mécanique de la rupture (distribution de défauts induits par la dégradation, seuil critique de propagation de fissure) pour interpréter quantitativement ces résultats et prédire à la fois les contraintes critiques de fragmentation et la taille et la quantité des fragments générés (L2C, 12 mois).

### Partenariat

**Université Montpellier L2C, UMR5221 – Montpellier**

Responsable de l'équipe : M. Matthieu George

**Le Mans Université, IMMM UMR CNRS 6283**

Responsable de l'équipe : Mme Fabienne Lagarde

**Université de Montpellier, Département Génie Biologique**

Responsable de l'équipe : Mme Emmanuelle Gastaldi

# Résumé COREXCA - 2021\_1\_188

## COMposante Radiologique de l'EXposome, poly-expositions et risques de CANcers dans la cohorte Constances

M. Olivier Laurent

Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire IRSN, PSE-SANTE/SESANE/LEPID -  
Fontenay-aux-Roses

**Projet complet - 36 mois**

**Budget : 198 953 € TTC**

### Objectif détaillé

COREXCA vise d'abord à réaliser la reconstitution la plus exhaustive possible des doses de rayonnements ionisants (RIs) d'origines environnementales (radon, rayonnements telluriques et cosmiques, alimentation, installations nucléaires, autres sources artificielles), professionnelles et médicales (procédures diagnostiques, thérapeutiques) reçues par 100 000 participants de la cohorte Constances depuis leur naissance selon une approche « vie entière », puis à analyser les risques de cancers associés à ces doses cumulées.

Grâce à la richesse de données de Constances, l'influence de facteurs de confusion ou d'interaction potentiels sera évaluée, par exemple le tabac et l'alcool, le surpoids mais aussi des expositions à des substances chimiques et à d'autres facteurs de risque. L'analyse portera en priorité sur les cancers les plus fréquents associés aux RIs (poumon, sein, côlon, prostate) et sera étendue à d'autres localisations tumorales si les effectifs le permettent.

COREXCA s'inscrit dans un programme de recherche plus large à long terme, qui inclura l'étude d'autres pathologies chroniques, les effets d'autres poly-expositions (RIs et autres expositions environnementales) et l'étude de biomarqueurs de risque. Ce programme contribuera à améliorer la caractérisation de l'exposome et de ses liens avec les pathologies chroniques. Dans cette perspective, l'estimation d'expositions à différentes substances chimiques susceptibles d'être facteurs de confusion dans la relation entre RI et cancers (ex : éléments traces métalliques) sera réalisée dans le cadre de COREXCA.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

La quantification des effets de poly-expositions aux RIs et à d'autres facteurs de risque de cancer est peu documentée, excepté pour l'interaction entre tabac et radon sur le risque de cancer du poumon. De même, les relations entre expositions aux RIs à différents stades de la vie (ex : durant l'enfance) et effets sanitaires tardifs sont encore mal caractérisées. La reconstitution d'historiques résidentiels et la collecte d'autres informations rétrospectives par questionnaire chez 100000 participants de la cohorte Constances recrutés à l'âge adulte sont des ressources uniques pour étudier ces questions.

### Questions de recherche

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

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

*CANC 3 - Identification de facteurs de risques environnementaux ou professionnels des cancers.*

Les effets cancérogènes des RIs sont bien documentés pour des doses de 100 milligrays ou plus. Des controverses subsistent sur les risques associés à des doses plus faibles. Chacun est exposé aux RIs à des niveaux variables, via de multiples sources naturelles et artificielles, dans le cadre de l'environnement résidentiel, d'activités professionnelles ou autres ou d'actes médicaux. Il est crucial de pouvoir intégrer l'influence de ces différentes sources pour éviter des biais au stade de l'analyse épidémiologique.

COREXCA s'intéressera aux sources d'expositions environnementales et professionnelles aux RIs. Si ces dernières ne concerneront qu'un pourcentage limité de personnes dans Constances (ex : travailleurs médicaux, industriels), l'intégration de cette composante sera essentielle pour ces personnes. Les doses d'origine médicale seront prises en compte. Les doses estimées seront cumulées à différents âges de la vie entière pour mieux caractériser les risques associés à long terme.

### Description des méthodes mises en œuvre

Années 1 et 2 : Les historiques résidentiels reconstitués dans Constances et les réponses aux questionnaires déjà administrés dans cette cohorte (ex : sur l'alimentation ou l'habitat) seront couplés à des données sur les niveaux de radioactivité des milieux disponibles à l'IRSN (ex : cartographies du radon et des rayonnements telluriques, niveaux de contamination des aliments) pour évaluer des doses individuelles pour chaque année de vie. Des questions complémentaires seront posées aux participants pour estimer les doses associées à d'autres sources ou activités spécifiques. Le Système d'Information de la Surveillance de l'Exposition aux Rayonnements Ionisants de l'IRSN sera interrogé pour reconstituer les expositions professionnelles. Les doses d'origine médicale seront estimées grâce aux données renseignées dans le Système National des Données de Santé, complétées par questionnaire. Les demandes d'accords éthiques ont été anticipées. Les modalités des prises en compte d'incertitudes sur ces estimations d'expositions seront détaillées dans la proposition complète.

En parallèle, un Système d'Information Géographique intégrant des méthodes d'analyse spatiale développées par l'Ineris dans le cadre de l'outil PLAINE (Plateforme d'Analyse Intégrée des Inégalités Environnementales) pour fournir une base informatique capable de relier les informations des expositions agrégées (eau, air, sol, alimentation) avec des données au niveau individuel sera exploité pour évaluer les expositions environnementales aux polluants chimiques des membres de la cohorte. La possibilité d'incorporer en complément les données du réseau de Biosurveillance des Retombées Atmosphériques Métalliques par les Mousses (BRAMM) sera explorée.

Année 3 : L'analyse épidémiologique des risques de cancer associés aux RIs sera réalisée en prenant en compte l'information disponible sur les autres facteurs de risque, notamment les polluants chimiques.

#### Partenariat

##### **Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire IRSN, PSE-SANTE/SESANE/LEPID – Fontenay-aux-Roses**

Responsable de l'équipe : M. Olivier Laurent

##### **INERIS, Direction Sites et Territoires, Unité Impact Sanitaire et Expositions – Verneuil-en-Halatte**

Responsable de l'équipe : Mme Nathalie Velly

##### **Inserm UMS 11 – Villejuif**

Responsable de l'équipe : M. Marcel Goldberg

## Résumé CRAFT - 2021\_1\_094

### Effet synergique de la carence gestationnelle en folate et de l'exposition aux toxiques environnementaux sur le développement cérébral : impact sur le transport des folates au niveau des interfaces sang-cerveau

Mme Brigitte Leininger

UMR\_S Inserm-UL 1256 NGERE Faculté de Médecine – Vandoeuvre-Lès-Nancy

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 992 € TTC

#### Objectif détaillé

Les effets délétères de la carence en folates sur le développement du tube neural sont largement décrits et ont conduit aux recommandations de l'OMS visant à supplémenter les femmes en période péri-conceptionnelle. En accord avec l'hypothèse du fetal programming, la carence précoce en folates a également un impact sur le développement cognitif de l'enfant et l'apparition de pathologies neurologiques, notamment de troubles du spectre autistique.

Grâce au modèle animal de carence gestationnelle en folates développé au laboratoire NGERE, nous avons mis en évidence une réduction de la neurostéroïdogenèse responsable de la neurogenèse ainsi que des altérations moléculaires et épigénomiques au cours du développement cérébral de rats carencés. Le maintien d'une homéostasie intracérébrale en folates dépend de l'action de transporteurs spécifiques FRa (folate receptor), et PCFT (proton-coupled folate transporter) localisés dans les plexus choroïdes, et un transport via RFC (reduced folate carrier) peut-être induit au niveau de la barrière hémato-encéphalique (BHE) par activation du récepteur de la vitamine D3 (ou VDR).

L'exposition chronique aux polluants environnementaux en période de procréation, de gestation et périnatale joue également un rôle déterminant dans le développement de pathologies comme l'autisme. Les toxiques environnementaux et les perturbateurs endocriniens, ligands du facteur de transcription AhR comme la dioxine, réduisent l'expression des gènes des transporteurs des folates. Ceci signifie qu'une exposition chronique à de telles molécules (nombreuses et de nature variée) pourrait contribuer à la carence cérébrale en folates par défaut de transport à travers les interfaces sang-cerveau. Une supplémentation en folates de souris exposées à la dioxine a un effet bénéfique sur ses effets toxiques.

Notre projet vise à tester l'hypothèse selon laquelle une carence précoce en folate peut être amplifiée par l'exposition à des facteurs environnementaux entraînant une altération du développement cérébral postnatal, en affectant le transport des folates au niveau des interfaces sang-cerveau.

L'expertise synergique de nos différents groupes permettra de répondre aux questions suivantes :

1. Quel est l'impact respectif et combiné d'une déficience précoce en folate et de l'exposition à des xénobiotiques ligands du AhR sur le transport des folates au niveau de la BHE et des plexus choroïdes, et le mécanisme de régulation des transporteurs impliqués par le AhR?



2. Quelle est l'influence respective et combinée de la déficience et de l'exposition sur le contenu en folate et ses métabolites et la neurogenèse postnatale dans le cerveau?

3. Une supplémentation en vitamine D3 ou en folate réduit permet-elle de restaurer l'homéostasie intracérébrale en folate?

4. L'altération du transport de folates peut-elle constituer un test prédictif de toxicité sur le développement cérébral?

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Selon l'OMS, l'exposition aux perturbateurs endocriniens et la carence en folate représentent un problème majeur de santé publique, d'autant plus que la carence en folate reste très fréquente chez les femmes en âge de procréer. L'originalité de ce projet réside dans une approche pluridisciplinaire visant à démontrer qu'une carence en folates d'origine nutritionnelle peut être aggravée notamment au niveau cérébral par l'exposition à des toxiques environnementaux via des mécanismes affectant le transport des folates à travers les interfaces sang-cerveau, pouvant impacter le développement cérébral. Ce projet s'inscrit dans une étude plus vaste visant à déterminer les risques de développer des affections psychiatriques à l'âge adulte comme l'autisme en tenant compte de l'exposome, et de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur l'utilisation de ligands du VDR pour renforcer le contenu en folates dans le cerveau en développement.

### Questions de recherche

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

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

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

ACHIM 3 : Impact de l'exposition à des perturbateurs endocriniens ligands du AhR sur la carence en folates d'origine nutritionnelle.

PE 1 : Développement de modèles in vivo et in vitro pour l'étude des mécanismes d'interaction entre le transport des folates et AhR.

PE 7 : Mise en place de modèles cellulaires pour l'évaluation de l'exposition à différents toxiques du neurodéveloppement sur le transport des folates.

### Description des méthodes mises en œuvre

WP1 (ans 1-2). Rats Wistar +/- exposés à la dioxine, recevant soit une alimentation appauvrie en folates, soit une alimentation standard, un mois avant l'accouplement (4 groupes). Études d'expression et de transport sur microvaisseaux isolés et plexus choroïdes (rats J21) et sur modèles in vitro de cellules épithéliales choroïdiennes et endothéliales cérébrales.

WP2 (ans 1-2). Mesure des taux de folates et des marqueurs de leur métabolisme dans le cerveau des rats. Étude de la neurogenèse: mesure des intermédiaires métaboliques de la neurostéroïdogenèse (analyses transcriptomiques, western-blot et immunohistochimie)

WP3 (an 3). Restauration de l'homéostasie en folates : comparaison de l'efficacité entre une supplémentation en calcitriol ou en acide folique réduit.

WP4 (ans 2-3). Impacts de différents toxiques du neurodéveloppement sur le transport de folates dans les modèles cellulaires.

## **Partenariat**

**UMR\_S Inserm-UL 1256 NGERE Faculté de Médecine – Vandoeuvre-Lès-Nancy**

Responsable de l'équipe : Mme Brigitte Leininger

**Université Paris Descartes, T3S-1124 - UMR-S 1124 – Paris**

Responsable de l'équipe : M. Xavier Coumoul

**Université de Paris, Inserm UMRS1144**

Responsable de l'équipe : M. Xavier Decleves

**CRNL Eq FLUID, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS**

**UMR5292, UCBL1 – Bron**

Responsable de l'équipe : M. Jean-François Gherzi-Egea

## Résumé DEEP - 2021\_1\_217

### Impact d'une exposition chronique à un mélange de faibles doses de pesticides sur l'apparition de la maladie de Parkinson et du diabète de type 2 dans des modèles murins transgéniques, et étude des liens entre ces deux pathologies

Mme Safia Costes

Institut de Génomique Fonctionnelle, Inserm U1191 - Montpellier

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 955 € TTC

#### Objectif détaillé

Le partenaire 3 du projet a montré qu'un mélange de pesticides administré pendant 12 mois dans l'alimentation de souris aux doses journalières admissibles chez l'homme entraîne un surpoids, une intolérance au glucose, une hyperglycémie caractéristiques du diabète de type 2 (DT2) et une stéatose hépatique (Lukowicz 2018). Certaines données épidémiologiques suggèrent que le DT2 serait associé à un risque accru de maladies d'Alzheimer et de Parkinson (MP). Par ailleurs plusieurs méta-analyses confirment le lien entre exposition professionnelle aux pesticides et MP.

L'objectif de notre projet est de mettre en synergie nos compétences pour évaluer l'impact neuropathologique et métabolique de ce mélange de pesticides chez des souris transgéniques (partenaire 2) qui expriment l'alpha-synucléine humaine (mutée A53T), protéine dont l'agrégation, accompagnée d'une phosphorylation en sérine 129, caractérise les lésions des patients atteints de maladies regroupées sous le terme de « synucléinopathies », comme la MP ou la démence à corps de Lewy.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

De récentes données épidémiologiques rapportent un risque accru de développer la MP chez des patients atteints de DT2, suggérant une prédisposition génétique commune ou l'existence de mécanismes pathogéniques communs à ces deux pathologies (De Pablo-Fernandez 2018). L'alpha-synucléine, protéine amyloïdogénique centrale dans le développement de la MP, est aussi exprimée par les cellules beta pancréatiques, et joue un rôle délétère sur la sécrétion d'insuline et la survie de ces cellules (Geng 2011, Steneberg 2013). L'agrégation d'alpha-synucléine dans les îlots de patients DT2 (Steneberg 2013) ainsi que l'accumulation de sa forme phosphorylée en sérine 129 dans les cellules beta de patients atteints de synucléinopathie ou de DT2 (De Pablo-Fernandez 2018) renforcent l'intérêt d'élucider les mécanismes liant ces deux pathologies. En dépit de ces observations chez l'homme, l'étude des mécanismes moléculaires au niveau pancréatique dans un modèle murin de synucléinopathie n'a jamais été réalisée, et encore moins dans des conditions d'exposition alimentaire à un mélange de pesticides à faibles doses, pertinente au regard de l'évaluation des risques de l'alimentation humaine. Ce projet devrait ainsi nous permettre de répondre à deux questionnements majeurs pour la population : i) l'impact de telles expositions phytopharmaceutiques envers des maladies neurodégénératives et métaboliques; ii) le lien physiopathologique entre maladie neurodégénérative et diabète.

## Questions de recherche

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

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

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

Notre projet vise à apporter des connaissances sur les liens potentiels qui n'ont jamais été explorés à notre connaissance entre exposition alimentaire à des pesticides et des maladies humaines chroniques fréquentes, les synucléinopathies et le diabète, à l'aide d'un modèle « humanisé » au regard des synucléinopathies. Notre projet envisage l'évaluation de la toxicité d'un mélange de 6 pesticides (captan, boscalide, chlorpyrifos, thiachlopride, thiophanate et ziram) à des doses supposées ne pas exercer d'effets sur la santé chez l'homme mais rapportées pour induire un effet obésogène/diabétogène chez des souris non transgéniques (Lucowickz 2018, partenaire 3). Bien que l'utilisation de certains pesticides, tels que le chlorpyrifos et le thiachlopride, soit désormais restreinte, leur utilisation est effective depuis le début des années 2000 et leur présence est toujours détectable dans l'alimentation (EFSA, 2019), justifiant ainsi d'évaluer les conséquences de cette exposition à long terme. En utilisant ce mélange, nous étudierons alors le lien entre les perturbations métaboliques observées et les mécanismes qui sous-tendent le développement de la MP dans nos modèles de souris transgéniques.

### Description des méthodes mises en œuvre

- Année 1-2: Exposition des souris transgéniques et contrôles à l'aliment enrichi avec le mélange de 6 pesticides (captan, boscalide, chlorpyrifos, thiachlopride, thiophanate et ziram) décrit par le partenaire 3, à partir de l'âge de 4 mois et pendant 6 ou 12 mois :

Nous utiliserons la lignée de souris transgéniques M83 exprimant l'alpha-synucléine humaine mutée A53T. Ce modèle murin, dont l'agrégation protéique est facilitée par la mutation, permettra d'évaluer l'impact du mélange sur la neuropathologie. Nos résultats préliminaires montrent la présence très précoce d'alpha-synucléine phosphorylée en sérine 129 dans les îlots pancréatiques des souris transgéniques.

Au cours de l'exposition : suivi de la prise alimentaire, des concentrations urinaires de pesticides, suivi hebdomadaire du poids corporel, tests de tolérance à l'insuline, au glucose et glycémie à jeun.

- Année 2 : Sacrifice et prélèvements post-mortem de cerveau, foie, tissu adipeux et pancréas (étude de la neurodégénérescence et de la neuroinflammation, recherche de l'agrégation de l'alpha-synucléine dans le cerveau et le pancréas, masse des cellules beta). Isolement d'îlots pancréatiques (analyses protéiques et fonction insulinosécrétoire).

- Année 3: Analyse et valorisation

### Partenariat

**Institut de Génomique Fonctionnelle, Inserm U1191 – Montpellier**

Responsable de l'équipe : Mme Safia Costes

**Anses, Unité Maladies neurodégénératives - Lyon**

Responsable de l'équipe : M. Thierry Baron

**Inrae, UMR 1331 Toxalim – Toulouse**

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Payrastré

# Résumé ED-SCREEN - 2021\_1\_131

## Criblage virtuel des modalités de perturbation du système endocrinien

M. Enrico Mombelli  
Ineris - Verneuil-en-Halatte

Projet complet - 36 mois  
Budget : 199 977 € TTC

### Objectif détaillé

The proposed project is focused on the development of a freely available computational tool aimed at providing an insight into Endocrine Disruption modes of action for the Estrogen, Androgen, Thyroid and Steroidogenesis (EATS) pathways. Information on EATS mediated endocrine disruption will be gathered at two levels: a chemoinformatic analysis and a bioinformatic analysis. Moreover, information on basic toxicokinetics (TK) properties will also be provided. The analysis of these sources of information will enable decision makers to prioritize chemical lists as a function of hazard linked to EATS modalities and the TK profile of chemicals (i.e. an approximation of exposure and hence chemical risk).

The only input that users will have to provide is the chemical structure of substances (SMILES codes) or a gene expression profile (if available).

Information about the disruption of EAT targets will be provided by QSAR models that the members of the consortium have developed in the framework of other projects. On the other hand, novel QSAR model for the disruption of steroidogenesis will be developed during the ED-SCREEN project. Models will cover both nuclear receptor mediated effects as well as other potential modes of actions (e.g. TPO for thyroid disruption or aromatase inhibition for steroidogenesis process). QSAR models will also be developed for the prediction of oral adsorption and volume of distribution.

Archived (in vitro/in vivo) transcriptomics data for Endocrine Disruptors Chemicals (EDC) will be analyzed with innovative bioinformatics approaches such as gene co-expressed networks (WGCNA) and Qualitative Gene expression Activity Relationships (QGexAR) to define gene signature profiles associated with EDC as well as the transcriptomics space of EDC (in comparison to other chemicals).

Finally, for two chemicals with an unknown ED profile but predicted to bind to the ER and AR, an experimental determination of their transactivation properties will be realized to assess the reliability of the predictions. For one of these chemicals its transcriptomics properties will also be experimentally determined to validate the proposed approach.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Decision-makers are faced to fragmented information and they lack a comprehensive overview of one of the main concerns associated with ED: a perturbation of the EATS axis. Another piece of information they need is information on TK properties. Indeed, in the absence of information on TK it is impossible to gauge the impact of chemical hazard assessed in in vitro systems vs. the effects linked to the TK behavior of chemicals.

Moreover, decision-making could be reinforced by transcriptomics analysis that are still underexploited in the field of regulatory toxicology even if they can provide mechanistic insights.

Therefore, the innovative nature of the project is a top-down approach that starting from multidisciplinary data will summarize the potential risk of chemicals thanks to a unique index while visualizing detailed and multi-layered information (hazard, TK, mechanistic driven). This overview will be made possible by a free computational tool that will enable a ranking of chemical lists according to their potential risk for human health.

## Questions de recherche

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

This project answers a question that is central to the call: the development of methods to characterize ED modes of action.

## Description des méthodes mises en œuvre

### 1/ Hazard analysis

Structure-activity relationships (QSAR) established in previous projects will be integrated to provide predictions for E, A and T disruption and dermal permeability. New QSAR models for steroidogenesis, oral adsorption and volume of distribution will be developed. These developments will be based on state-of-the-art approaches based on the computation of hundreds of chemical descriptors, and the application of algorithms ranging from structural alerts based predictions to machine-learning techniques. All the models will be developed in conformity with the recognized OECD validation principles for QSAR.

### 2/ TK analysis

QSAR models will be developed for oral adsorption and volume of distribution by applying the technical methodology outlined previously.

### 3/ Bioinformatics analysis

Gene expression analysis will be performed to assess the genes highly deregulated by EDCs. Notably the WGCNA approach to identify modules of genes related to metabolic pathologies and the QGexAR approach to predict the potential perturbation of new EDC.

### 4/ Programming of the computational tool

A free software tool not relying on commercial licenses will be designed to present relevant information to risk assessor for prioritization purposes.

### 5/ Experimental validation of the approach

A transcriptomic analysis will be carried out for one chemical. This analysis will also be accompanied by the in vitro assessment of transactivation properties for ER, AR (two chemicals) using reporter cell lines. At the same time, experimental data on glucocorticoids will be kept aside and used only at the end of the modeling process for an unbiased evaluation of the in silico approach with respect to this chemical class.

Computational models will be developed during the first two years of the project. The final in silico tool will be developed during the last year.

## Partenariat

### Ineris - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. Enrico Mombelli

### Université de Paris, UFR Sciences du Vivant - Unité BFA

Responsable de l'équipe : M. Olivier Taboureau

### Instituto Di ricerca farmacologica mario negri – Milan, Italie

Responsable de l'équipe : Mme Alessandra Roncaglioni

# Résumé Elimalkyl - 2021\_1\_226

## Analyse des mécanismes d'élimination des composés alkyls perfluorés pour une démarche préventive de leur bioaccumulation

Mme Véronique Gayraud

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Physiologie - Toulouse

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 955 € TTC

### Objectif détaillé

Contrairement à de nombreux autres polluants organiques persistants qui s'accumulent dans les tissus, le niveau élevé des concentrations circulantes de composés alkyls perfluorés (PFC) chez l'homme est attribué à leur très lente élimination corporelle, leur distribution étant limitée au sang et au milieu extracellulaire. La réduction des niveaux d'exposition systémique des PFC au-dessous des valeurs critiques pour l'expression des effets perturbateurs endocriniens et métaboliques des PFC est un véritable enjeu de santé publique. Dans ce contexte, l'objectif de notre projet est de caractériser les mécanismes qui conduisent à l'accumulation des PFC et d'identifier des réponses précoces de biomarqueurs prédictifs d'effets perturbateurs métaboliques des PFC. Cette approche constituera les bases de l'élaboration de stratégies de remédiation visant, soit à limiter l'accumulation, soit à augmenter l'élimination corporelle des PFC déjà accumulés pour en réduire les expositions internes.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

La prévention des effets délétères des contaminants environnementaux repose essentiellement sur la réduction des expositions externes via l'établissement de doses sans danger. Cette approche ne permet cependant pas de protéger l'homme des substances chimiques ubiquitaires et qui s'accumulent dans l'organisme, comme certains PFC. Il n'existe pas à l'heure actuelle de données expérimentales qui expliquent l'origine de la très faible capacité d'élimination corporelle de ces composés qui conduit à leur accumulation. La limitation de leur accumulation via une augmentation de l'élimination de ces composés représente le seul moyen plausible de prévenir leurs effets délétères. Notre projet vise à caractériser les processus physiologiques qui limitent l'excrétion des PFC afin de prédire leur impact sur la clairance corporelle des PFC et d'identifier des cibles de remédiation. L'établissement d'une relation entre l'exposition interne aux PFC et des biomarqueurs prédictifs d'effets perturbateurs métaboliques permettra d'évaluer la capacité de notre approche à réduire les expositions aux PFC et au-delà, sa pertinence vis-à-vis des impacts sur la santé.

### Questions de recherche

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

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

Le projet est positionné sur 2 questions à la recherche relatives aux perturbateurs endocriniens.

PE3 : Notre projet se propose d'utiliser l'outil de la relation exposition interne aux PFC et effet précoce sur un ou plusieurs biomarqueurs fonctionnels comme critères de jugement des approches de remédiation

PE7 : Notre approche permettra de caractériser l'impact de paramètres physiologiques et de leurs facteurs de variation sur les clairances rénales des PFC. Notre but ultime est d'identifier des facteurs capables de moduler les expositions internes en PFC et d'orienter les études de biosurveillance pour leur prise en compte épidémiologique, notamment pendant les fenêtres d'exposition critique.

### Description des méthodes mises en œuvre

Année 1 : Quantification des processus de clairance des PFC

Une étude toxicocinétique (TK) réalisée chez la souris permettra d'évaluer sélectivement les contributions des clairances rénale, métabolique, biliaire et intestinale à la clairance totale. Des modèles non linéaires à effets mixtes seront utilisés pour analyser simultanément les cinétiques des concentrations en PFC dans le plasma, les urines, les fèces et la bile obtenues à partir de 2 prélèvements par animal suite à l'administration par voie intraveineuse d'un mélange représentatif des différentes catégories de PFC (0.05µmoles/kg).

Année 2 : Analyse des mécanismes de clairance rénale et de la relation exposition-effet

L'identification des mécanismes de clairance rénale des PFC, qui a priori jouerait un rôle majeur par rapport aux autres clairances, sera basée sur des manipulations pharmacologiques avec des inhibiteurs du transport des anions organiques rénaux suspectés d'être responsables de la réabsorption quasi-totale des PFC (substrats des OAT et OATP). La clairance glomérulaire sera comparée à la clairance rénale pour quantifier l'importance des processus de filtration glomérulaire, de réabsorption et de sécrétion tubulaires. Ces approches seront menées en parallèle avec l'étude des clairances urinaires des PFC des souris invalidées pour les récepteurs nucléaires CAR (Constitutive Androstane Receptor) et PXR (Pregnane X Receptor) qui régulent les transporteurs des anions organiques dans différents organes dont les reins.

L'établissement de la relation exposition-effet sera basé sur l'analyse des effets d'une exposition chronique (28 jours) de souris adultes au PFC le plus représenté chez l'homme (PFOS), à des doses permettant d'encadrer les expositions humaines et établies sur la base des données TK. Les différents biomarqueurs analysés seront issus des mesures de tolérance au glucose et de sensibilité à l'insuline, des dosages hormonaux et de lipides, des analyses histologiques et des mesures d'expression de gènes.

Une dernière étape consistera à explorer les approches capables d'augmenter la clairance rénale des PFC (Ex : substrats naturels des OATP comme des flavonoïdes) pour en estimer la faisabilité et l'intérêt pour diminuer les expositions internes et réduire leurs impacts sur la base de la relation exposition-effets.

Année 3 : Relation structure-activité et application aux données humaines

Les données TK des PFC permettront d'analyser la relation entre les structures moléculaires des PFC et leurs mécanismes de clairance rénale. Ces données TK seront utilisées pour comprendre les expositions chez l'homme et ses facteurs de variation. La mesure des concentrations plasmatiques et urinaires des PFC dans une cohorte déjà constituée de 327 femmes en âge de procréer permettra de mesurer les clairances rénales des PFC (indépendante de l'exposition externe) et d'analyser ainsi les facteurs de variation des expositions internes.

### Partenariat

**Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Physiologie**

Responsable de l'équipe : Mme Véronique Gayraud

**Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, UMR1436 INRAE/ENVT Intheres**

Responsable de l'équipe : Mlle Béatrice Roques



# Résumé EMESIBAT - 2021\_1\_021

## Etude sur la Maitrise d'Exposition aux particules de Silice cristalline lors d'opérations sur des matériaux de construction dans le domaine du BATiment

Mme Alison Alazard  
OPPBTB – Boulogne Billancourt

Projet complet - 30 mois

Budget : 199 566 € TTC

### Objectif détaillé

Le secteur de la Construction présente de hauts niveaux d'expositions à la silice cristalline. Dans son rapport de 2019 « dangers, expositions et risque relatifs à la silice cristalline » l'ANSES estime qu'entre 14 600 à 22 400 salariés de la construction seraient exposés au-delà de la VLEP. Des solutions telles que le captage à la source ou le travail à l'humide existent, néanmoins peu de données sur leurs efficacités sont disponibles. Pour proposer des solutions efficaces aux entreprises, il faut quantifier objectivement, le gain apporté en matière de réduction des émissions. Ce besoin est d'autant plus important avec la parution de l'arrêté du 26 octobre, transposant la directive européenne n°2017/2398 en droit français qui ajoute les travaux exposant aux poussières de silice cristalline à la liste des substances cancérigènes. Il est essentiel de proposer aux entreprises des solutions techniques et organisationnelles d'intervention et des moyens de prévention adaptés. L'objet de ce projet est d'aider à l'évaluation du risque d'exposition à la silice cristalline et d'étudier la pertinence des solutions existantes (moyens de Protection Collective) en vue de réduire les émissions de silice cristalline et déterminer les conditions optimales d'intervention lors d'opérations courantes (de type sciage, perçage) dans le domaine du bâtiment.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet s'inscrit dans la démarche d'évaluation de l'exposition professionnelle à la silice cristalline lors d'opérations courantes du bâtiment. L'axe de recherche porte sur la connaissance de l'empoussièrerie générée à la source et l'évaluation de solutions existantes pour le réduire au niveau le plus bas possible. Cette étude vise à apporter des éléments objectifs permettant de promouvoir au sein de la filière bâtiment les meilleures méthodes de travail de réduction de l'empoussièrerie.

### Questions de recherche

*ACHIM 5 - Évaluation de l'efficacité des moyens de prévention relatif aux contaminants présentant un risque pour la santé humaine et la biodiversité.*

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

- dans des environnements spécifiques (commerces, bureaux, moyens de transport),
- à proximité de sources d'émissions (routes, ports, aéroports, activités agricoles...).

Nous proposons d'étudier les performances d'abattement et de réduction d'émission de méthodes existantes associées à l'utilisation de outils courants (perceuse, ponceuse) sur plusieurs matériaux. L'originalité du projet réside dans sa double approche laboratoire et terrain. Les solutions

testées en laboratoire permettront de valider les méthodes de travail performantes pour ensuite être reproduites sur chantiers. Le projet permettra de définir précisément pour les situations de travail investiguées les paramètres à respecter pour garantir la plus faible exposition possible. Les connaissances générées permettront de promouvoir de meilleures méthodes de travail.

### Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet comportera 4 tâches, menées sur la durée totale de l'étude.

**Tâche 1** : Etat des lieux des situations de travail du bâtiment et choix des couples matériaux/sollicitations associé à des MPC (T0 - T0 + 5 mois)

L'objectif de cette phase est de réaliser un état des lieux des situations de travail du bâtiment montrant de forts empoussièrtements en silice cristalline. De ce constat, des choix seront réalisés de couples matériaux/sollicitations de matériels et des moyens de maîtrise. En lien avec ces choix, une recherche bibliographique sera réalisée sur les MPC existants sur le marché et des différents composants d'intérêts adaptés aux machines.

**Tâche 2** : Tests en laboratoire (matériaux/matériels et MPC) pour identifier les conditions optimales de réduction des émissions de silice cristalline (T0 + 5 mois- T0 + 17 mois)

L'objet de cette tâche est d'étudier les niveaux d'émission de poussières de silice cristalline de différents matériaux d'intérêts (béton, carrelage, brique) associés à une sollicitation mécanique (perçement, ponçage, découpe) dont le choix sera basé sur les conclusions de la tâche 1. Un banc d'essai existant au CSTB (aéro test) sera adapté pour quantifier le relargage particulaire produit par les couples étudiés matériaux/matériels en présence et absence de MPC. Une campagne d'essais sera réalisée sur les différentes matrices choisies. Les particules produites lors des processus étudiées seront caractérisées en nombre et en granulométrie avec des analyseurs en temps réel (tel que COP, APS, mini Wrass et CPC), et en masse pour les fractions alvéolaire (PM4) et les fractions fines (PM1) par des prélèvements. La teneur en silice cristalline des prélèvements et des matériaux sera analysée en DRX. Ces caractérisations permettront d'objectiver la pertinence des MPC étudiés, et d'identifier les conditions optimales pour maîtriser les niveaux d'empoussièrement et garantir la réduction des émissions d'aérosol dont la silice cristalline.

**Tâche 3** : Tests sur chantiers des conditions identifiées et validation des modes opératoires vertueux (T0 + 17 mois- T0 + 27 mois)

Cette phase du projet permet d'évaluer sur le terrain les conditions optimales établies en laboratoire. L'objectif étant de fournir aux entreprises des possibilités d'intervention garantissant une réduction de l'exposition aux poussières. La mise en œuvre des solutions techniques sur le terrain, sera réalisée sous l'observation externe d'un superviseur OPPBTP pour garantir la bonne mise en œuvre des conditions à tester et une traçabilité des conditions opérationnelles.

**Tâche 4** : Promotion des méthodes de travail validées (T0 + 27 mois- T0 + 30 mois)

L'ensemble des solutions techniques sera mis à disposition des entreprises au travers de publications et guides. Les entreprises pourront ainsi s'approprier les solutions en les mettant en place directement ou s'inspirer des résultats pour modifier leurs procédures. Les résultats de l'étude pourront servir à alimenter des bases de données métiers, et profiter à l'ensemble de la branche du bâtiment.

### Partenariat

#### CSTB – Champs sur Marne

Responsable de l'équipe : M. Sebastien Ritoux

#### OPPBTP – Boulogne Billancourt

Responsable de l'équipe : Mme Alison Alazard

## Résumé EXMINA - 2021\_1\_077

### Évaluation de l'exposition orale aux micro et nanoplastiques et de leur translocation dans les barrières gastro-intestinales humaines.

Mme Cristina Villanueva  
ISGLOBAL – Barcelona, Espagne

Projet complet - 24 mois

Budget : 199 996 € TTC

#### Objectif détaillé

EXMINA aims to assess the human exposure to micro and nanoplastics (MNP) and plastic additives through drinking water and to evaluate MNP translocation in the gastrointestinal barrier. Specifically, we will 1) Develop and apply methods to measure MNP in drinking water, stool and urine samples; 2) Quantify oral exposure to MNP and plastic additives through drinking water and the concentrations of MNP and plastic additives in urine and stool samples in a population with different food habits; 3) Identify determinants of MNP and plastic additives concentrations in biological samples, including drinking water concentrations and food habits; 4) Evaluate translocation of MNP in the gastrointestinal barrier using in vitro models.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

MNP constitute an emerging concern. However, the magnitude of human exposure is unknown. The assessment of human exposure remains challenging because the analytical methods for MNPs are not fully developed. There are few quantitative analytical approaches for determining trace levels of plastic particles in complex samples. Typically, different techniques are required, such as microscopy-based techniques for characterisation (i.e. shape, size) and to count the particles, and chromatography-based techniques to identify polymer type and concentration. Smaller size MNP tend to be more abundant in the aquatic environment, drinking water, and possibly also in other exposure sources, and are more biologically relevant. However, the analysis of nanoparticles is particularly challenging. Plastic additives are intimately bound to plastics, may be linked to health effects, and analytical tools are already available. EXMINA will develop analytical methods to determine MNP in drinking water, urine and stool samples, with a particular focus on the nano-range. In addition, EXMINA will elucidate the translocation of NP in the gastrointestinal tract.

#### Questions de recherche

*NANO 1 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants.*

*NANO 3 - Évaluation de l'exposition humaine (y compris par voie orale) aux nanomatériaux manufacturés (mesures, modélisation) tout au long du cycle de vie.*

*CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des micro-plastiques ; risques induits pour l'homme et l'environnement.*

EXMINA will contribute to elucidate the human exposure to MNP and their associated chemicals, and to provide mechanistic evidence on translocation in the gastrointestinal tract. It will address the following questions: NANO-Nanomatériaux et nanoparticules, 1) Répartition et devenir des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants. 3) Évaluation de l'exposition humaine (y compris par voie orale). CoEm–Contaminations émergentes, 1) Cas des micro-plastiques.

### Description des méthodes mises en œuvre

WP1. Enrolment of study subjects and collection of samples - 6 months, Lead ISGlobal

We will enrol 48 adult volunteers (50% women, 50% men), selected based on the primary source of drinking water (50% bottled, 50% tap consumers) and diet (50% vegetarian, 50% omnivorous). We will collect drinking water, urine and stool sample of volunteers. A detailed questionnaire will be used to ascertain personal information on dietary and lifestyle habits in the study subjects.

WP2. Laboratory analysis of MNP and plastic additives - 9 months, Lead CSIC

The different types of samples will be extracted and pre-cleaned according to their nature (water, urine, stool). Then, MNP will be measured using size exclusion chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) to analyse the polymers and  $\mu$ -FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) to assess the number of particles, shapes and some components for identification. Plastic additives will be analysed by suspect screening followed by confirmatory analysis, both steps by reverse phase LC-HRMS.

WP3. Translocation of NP in experimental models - 12 months, Lead SyMMES

EXMINA will quantify nanoplastic particles translocation on representative in vitro models of the human gastrointestinal epithelium, i.e., co-cultures of enterocytes and mucus-secreting cells and on co-cultures of enterocytes and M-cells, which are the major sites of nanoparticle translocation through the intestine. A combination of microscopy techniques will be used, with fluorescent or metal-doped NP (confocal and electron microscopy,  $\mu$ X-ray fluorescence,  $\mu$ FTIR), as well as monitoring of transepithelial resistance, passage of labelled dextran, expression of junction proteins and cell viability after acute and chronic exposure to NP, as probes of epithelial integrity.

WP4. Statistical analysis - 12 months, Lead ISGlobal

We will estimate oral exposure to MNP and their chemical additives based on the drinking water samples collected and on the personal information provided by the volunteers (diet, drinking water). Literature on MNP and chemical additive concentrations in food will be reviewed. EXMINA will estimate the association between oral exposure to MNP/plastic additives and concentration in stool and urine, and between urine and stool measurements.

WP5. Dissemination – 6 months. – Lead ISGlobal.

Scientific publications (1 on human exposure, 1 on health risks based on human MNP and plastic additives concentrations and NP gut translocation in the gastrointestinal tract). Presentation in conferences.

### Partenariat

#### ISGLOBAL – Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Cristina Villanueva

#### CEA Grenoble DRF/IRIG/DIESE/SyMMES/CIBEST

Responsable de l'équipe : Mme Marie Carriere

#### Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Farré Marinella

# Résumé EXSOCAR - 2021\_2 RF\_010

## Etude des effets d'une EXposition de type 5G sur le SOMmeil, la thermorégulation et la fonction CARdiovasculaire

Mme Amandine Pelletier

Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Pérیتox - UMR-I 01 Ineris - Amiens

Projet complet - 36 mois

Budget : 200 000 € TTC

### Objectif détaillé

Depuis novembre 2020, les opérateurs ont l'autorisation d'émettre des champs électromagnétiques de type 5G. L'expansion devrait s'étendre jusque 2030. L'accès à la 5G sera ainsi rendu possible pour les deux tiers de la population. Pour cela, en France, 3 bandes viendront supplémentées celles déjà utilisées pour la 4G : 10 et 50 MHz, et 3,5 GHz réparties entre les 4 opérateurs en 2020, sans exclure l'utilisation d'une bande de fréquence de 26 GHz.

Au 1er novembre 2020, 54 000 sites d'émission contenant parfois plusieurs antennes étaient installées en France, soit 30 000 de plus qu'il y a 5 ans (ANFR). Cette expansion croissante couplée à l'arrivée de la 5G sont sources d'inquiétudes pour la population qui s'interroge sur les effets sur la santé notamment les personnes souffrantes d'hypersensibilité électromagnétique. Les principaux symptômes ressentis sont des troubles du sommeil, de l'anxiété, des maux de tête, des troubles digestifs et cardiovasculaires.

Dans ce contexte, nous voulons tester si une exposition de type 5G induit des modifications physiologiques qui ont pour origine une activation des processus de thermogenèse. En effet, nos précédents travaux (Pelletier et al., 2013, 2014, Mai et al., 2020) ainsi que ceux d'Arendash (Arendash et al., 2010, 2012) montrent une vasoconstriction périphérique et une prise alimentaire inadaptées pour l'homéothermie lors d'une contrainte thermique, une sensibilité différente à la température ambiante et une augmentation de la température corporelle de 1°C parfaitement corrélée aux sessions d'exposition. L'ensemble de ces effets sont des réponses de type réaction au froid alors que le niveau d'exposition est trop faible pour induire un effet thermique chez les animaux. Dans ce projet, en plus d'évaluer les effets sur la thermorégulation, nous évaluerons les effets sur des fonctions physiologiques qui participent à la régulation thermique: sommeil et fonctions cardiovasculaire et digestive.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le caractère novateur est l'étude des effets de l'exposition 5G alors que celle-ci n'est pas encore complètement déployée sur le territoire et que les études sur ce type d'exposition sont peu nombreuses. Pour cela, nous nous appuyons des paramètres étudiés dans notre laboratoire afin d'évaluer les effets d'une exposition de 900 MHz qui ont montré une activation de la thermogenèse.

### Questions de recherche

*RFES 2.1.5 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur le système nerveux autonome ;*

*RFES 2.1.6 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur le développement fonctionnel et cérébral en fonction de l'âge (in utero, juvénile, adulte et sujet âgé), en engageant des études longitudinales chez l'animal, afin d'identifier des périodes de sensibilité/vulnérabilité éventuelles ;*

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

Afin d'étudier les effets d'une exposition 5G, nous avons choisi d'analyser simultanément des fonctions physiologiques (sommeil et thermorégulation) dont les modifications ont déjà été observées pour une exposition à 900 MHz dans notre laboratoire. L'étude de la fonction cardiovasculaire selon les stades de sommeil permettra d'évaluer les éventuels effets sur le système nerveux autonome. L'étude des effets à différents âges clés du développement et chez l'adulte selon différentes modalités d'exposition permettra d'évaluer les effets sur le court, moyen et long terme.

### Description des méthodes mises en œuvre

L'étude inclura des groupes de 6 rats à différents âges, exposés ou non à 3,5 GHz pendant une semaine d'exposition (durée nécessaire pour observer d'éventuels effets) de façon chronique (23h/24, 7j/7) ou aiguë (une ou plusieurs sessions d'une heure par jour).

Pendant la semaine d'exposition, la température caudale des animaux qui reflète l'état vasomoteur sous contrôle ortho-parasympathique, sera mesuré par caméra infrarouge. Après une semaine d'exposition, les enregistrements physiologiques (EEG, ECG et pression artérielle) débiteront simultanément à différentes températures ambiantes afin d'évaluer les différents types de réponses mises en place par la thermorégulation pour maintenir l'homéothermie. Pour évaluer l'implication des centres de contrôle de la thermorégulation, l'implantation stéréotaxique de microcanules intracérébrales sera effectuée afin d'injecter en intracérébral des inhibiteurs et activateurs des différents circuits neuronaux impliqués dans cette fonction.

Des analyses post-mortem seront effectuées. Pour la fonction cardiovasculaire, la réactivité aortique sera évaluée à partir de l'aorte prélevée lors du sacrifice et installée dans un dispositif de mesure de contraction isométrique. Les capacités de vasoconstriction et de vasorelaxation seront évaluées par l'étude des effets de la phényléphrine (agoniste adrénergique des récepteurs  $\alpha$ -1), de l'acétylcholine (tester la fonctionnalité de l'endothélium vasculaire) et du nitroprussiate de sodium (tester la vasorelaxation endothélium-indépendante). A l'issue de ce test, le remodelage tissulaire sera évalué après inclusion des aortes dans des blocs de paraffine qui seront coupés puis colorés afin de mesurer l'épaisseur et la lumière vasculaire. Le cœur sera également prélevé pour effectuer des dosages biochimiques et mesurer un éventuel remodelage.

Pour évaluer l'activation ou non des différents centres de contrôle de la thermorégulation, le cerveau sera prélevé pour réaliser un marquage immunohistochimique avec c-Fos et d'autres marqueurs plus spécifiques de la neuroinflammation (anti-NeuN pour le marquage des neurones, anti-ATF-6a pour le marquage de la protéine URP, anti-GRP78 pour le marquage des protéines de choc thermique et anti-Iba1 pour le marquage de la microglie) et de récepteurs thermiques (TRPM8,...).

### Partenariat

**Université de Picardie Jules Verne Laboratoire Pérیتox - UMR-I 01 Ineris - Amiens**

Responsable de l'équipe : Mme Amandine Pelletier

**Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie**

**– Fisiologia – Bologna, Italie**

Responsable de l'équipe : M. Giovanna Zoccoli

**Université Grenoble Alpes, PRETA - La Tronche**

Responsable de l'équipe : M. Stephane Tanguy

**CHU Amiens Sud, Département PlatAnN – Salouel**

Responsable de l'équipe : Mlle Julie Le Ber

# Résumé FiltreUV - 2021\_1\_126

## Emission, devenir et effets environnementaux des filtres UV issus de crèmes solaires – Avantages et risques des substances chimiques ou nanoparticulaires.

M. Jerome Labille  
CEREGE - Aix en Provence

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 999 € TTC

### Objectif détaillé

Ce projet porte sur la problématique des filtres UV (FUV) utilisés dans les crèmes solaires et dissipés dans les eaux de baignade. Qu'il s'agisse de nanoparticules minérales ou de molécules organiques, ils sont décriés quant à leur impact potentiel sur l'homme et l'environnement. Notre objectif est d'étudier le déversement de ces FUV, leur devenir et leur toxicité à travers des scénarii de baignade estivale sous climat tempéré ou tropical, simulés au laboratoire et suivis sur le terrain.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les crèmes solaires contiennent des FUV organiques et/ou minéraux (souvent nanoparticulaires). Alors que le critère de produits plus sains pour la santé et l'environnement émerge, le statut de ces deux familles de filtre suscite le débat car des lacunes de connaissances subsistent. Les impacts respectifs des FUV minéraux et organiques ont rarement été étudiés ensemble dans une approche comparative, et encore moins en cocktail.

Une première étude réalisée sur des plages marseillaises (1) a permis de préciser les questions scientifiques. La pénétration cutanée et la photodégradation des filtres organiques d'une part, et la persistance des filtres nanoparticulaires d'autre part, suggèrent des impacts différenciés et contrastés sur l'utilisateur et l'environnement. De plus, le climat, via la chimie de l'eau et l'activité touristique, peut moduler ces effets.

La force innovante de ce projet est d'impliquer des laboratoires experts dans l'étude du devenir de ces deux familles de filtre UV, et de leurs effets biologiques, afin de répondre à ce besoin d'information sur leurs risques relatifs.

### Questions de recherche

*NANO 1 - Répartition et devenir, dans les compartiments environnementaux, des nanomatériaux auxquels sont exposés la population générale et les organismes vivants.*

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

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

Ce projet s'inscrit dans l'axe Contamination Emergentes, car il aborde la caractérisation de l'exposition des FUV, et les risques induits pour l'homme et l'environnement. Il aborde aussi l'axe Nanomatériaux et nanoparticules, dont il traite de l'émission et le devenir dans l'environnement. Enfin, par son approche toxicologique sur deux modèles de poisson, il traite aussi l'axe Perturbateurs endocriniens.

### Description des méthodes mises en œuvre

#### **Tâche 1 :** Emission/altération/devenir des FUV en conditions contrôlées (années 1,2)

Postulat: Simuler le scénario de baignade en laboratoire permet de révéler les mécanismes mis en jeu.

Des crèmes solaires formulées à façon seront appliquées sur un échantillon de peau. Le scénario d'émission vers l'eau de baignade sera reproduit afin de mesurer le facteur de rétention cutané. L'altération sera aussi simulée en enceinte climatique avec lampe solaire. Les FUV émis dans l'eau seront quantifiés et caractérisés.

La stabilité photochimique des filtres organiques et leurs sous-produits sera étudiée (HPLC-MS-MS) en fonction des facteurs susceptibles d'affecter la photolyse directe et radicalaire (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, pH, T, a. humique) (2). Ces deux mécanismes seront distingués. Sur les nanoparticules, la dégradation de l'enrobage industriel sera étudiée (A4F-ICP-MS, cryo MET/EDX) et son impact sur le comportement en suspension ou l'apparition d'une activité photocatalytique sera mesuré (3). Dans la colonne d'eau, la flottation, dispersion, hétéroaggrégation ou sédimentation des FUV seront mesurées (Turbiscan). Un bilan de répartition des FUV sera établi à travers les compartiments de surface, benthique et planctonique afin d'estimer l'exposition différenciée.

#### **Tâche 2 :** Détection, quantification et devenir des FUV sur le terrain

Postulat: Les concentrations en FUV dans les eaux de baignade reflètent les mécanismes définis en tâche 1.

Des sites de baignade répondant à trois contextes environnementaux contrastés seront sélectionnés en France et en région tropicale. Des campagnes d'échantillonnage d'eau et de sédiments spatialisées seront réalisées pendant et en dehors du pic de baignade. La concentration en FUV minéral et organique dans les différents compartiments (dissous, pellicule de surface, colloïdal, sédiment) sera mesurée et confrontée aux résultats de la tâche 1. Le mode opératoire (prélèvement de surface, filtration tangentielle...) a été validé lors de campagnes de terrain précédentes (1). Il sera complété notamment par des analyses sp-ICPMS et MET pour la recherche des nanoparticules.

#### **Tâche 3 :** Effets biologiques des FUV en milieu marin (années 2,3)

Postulat : Les FUV induisent des effets précoces chez les poissons via des perturbations endocriniennes.

En région tropicale, les récifs coralliens constituent des habitats où la faible profondeur d'eau peut induire une forte concentration en polluants et une température élevée. En milieu tempéré, les environnements marins côtiers se caractérisent par une colonne d'eau plus haute et une température plus basse. La toxicité des FUV (tâche 1) sera évaluée sur le développement embryonnaire et larvaire de 2 espèces de poisson téléostéen caractéristiques de ces milieux, respectivement le poisson-clown *Amphiprion ocellaris* et le turbot *Scophthalmus maximus*, dont les cycles de vie sont maîtrisés en aquarium. Des lots de larves de poisson des 2 espèces seront soumis à des conditions d'exposition déterminées à partir de la tâche 2. Outre la mortalité et l'apparition de malformations chez les larves, les effets biologiques recherchés porteront sur la métamorphose (i.e. la transformation de la larve, pélagique, en poisson juvénile benthique) bien décrite chez ces deux espèces (4, 5). Ce processus développemental, contrôlé par les hormones thyroïdiennes, sera suivi, via des critères anatomiques, moléculaires (gènes liés à l'axe hormonal thyroïdien), et locomoteurs) permettant d'évaluer l'éventuelle perturbation endocrinienne induite par l'exposition aux FUV (6).



## **Partenariat**

### **CEREGE – Aix en Provence**

Responsable de l'équipe : M. Jerome Labille

### **Université d'Aix-Marseille, Laboratoire Chimie de l'Environnement – Marseille**

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

### **CEA/DRT/LITEN/DTNM/LMSE - Grenoble**

Responsable de l'équipe : Mme Sylvie Motellier

### **Observatoire Océanologique de Banyuls, UMR BIOM – Banyuls sur mer**

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Besseau

### **LIENSs, La Rochelle Université**

Responsable de l'équipe : Mme Christel Lefrancois

# Résumé MAM-HOPES - 2021\_1\_201

## **Perturbation de la hiérarchie mammaire et tumorigénèse, un nouvel effet cocktail associé aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et aux esters organophosphorés (OPEs)**

M. Arnaud Vigneron

Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard - Lyon

**Projet complet - 36 mois**

**Budget : 199 992 € TTC**

### Objectif détaillé

L'incidence des cancers a fortement augmenté dans nos sociétés. Les perturbateurs endocriniens font partie des causes supposées. Parmi ces molécules, les HAPs, et les OPEs possèdent des effets respectivement avérés et suspectés mais sont encore très présents dans l'environnement. Nous avons montré le caractère disruptif à très faible dose d'un OPE, le diphenylphosphate (DPhP), sur les fonctions endocriniennes au niveau hépatique et mammaire, une partie de ces résultats ayant été publiés dans le journal «Environmental Health Perspectives». Trois faits majeurs sont à noter. Le DPhP représente un marqueur d'exposition sans doute globale aux OPEs, étant lui-même un produit de leur dégradation. Il perturbe une régulation complexe se situant à l'interface des récepteurs AHR et PPARα. Il présente des effets synergiques avec les HAPs. Ces résultats soulèvent un grand nombre de questions sur les mécanismes de perturbation endocrinienne impliqués. Les récepteurs AHRs pourraient ainsi être la cible d'un panel de molécules beaucoup plus larges que les simples HAPs à grand nombre de cycle de carbone. Les effets de ces interactions entre AHR et ces nouvelles classes de molécules pourraient être assez différents des mécanismes génotoxiques jusqu'à maintenant le plus souvent étudiés. Ces nouveaux mécanismes sont susceptibles d'être impliqués, en coopération avec des facteurs génétiques, dans le développement des tumeurs mammaires. L'objectif de notre projet est donc d'apporter un éclairage sur ces trois aspects afin de comprendre et évaluer les risques associés à un cocktail de molécules associant des HAPs avec des OPEs comme le DPhP.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Chez la souris, le DPhP à des doses relevantes (en terme environnemental et sanitaire), modifie le métabolisme lipidique hépatique par des perturbations des récepteurs AHR et PPARα. Des approches multi-omiques et intégratives ont validé ces résultats. L'analyse des glandes mammaires des souris exposées a révélé la capacité du DPhP à augmenter l'expression d'AHR dans le stroma et l'épithélium de cet organe. L'architecture tissulaire était aussi perturbée, présentant des contingents épithéliaux à l'identité moins marquée et des glandes déstructurées. D'autre part, le traitement de ces souris par un HAP expérimental comme le 3-méthylcholanthrène (3-MC) induisait le développement spontané de tumeurs mammaires métaplasiques de façon synergique avec le DPhP. Les programmes de différenciation mammaire étaient donc très probablement perturbés. In vitro, les réponses génétiques contrôlées par AHR étaient altérées par ces mécanismes synergiques.

Sur cette base nous proposons un projet innovant visant à caractériser (1) les mécanismes d'interaction fonctionnelles entre les OPEs comme le DPhP, différentes classes d'HAPs en terme de nombre de cycles de carbone, et les récepteurs AHRs, (2) les mécanismes génétiques et physiologiques perturbés dans la glande mammaire des souris exposées à ces classes de molécule, (3) le processus de développement tumoral induit de façon spontanée ou en coopération avec une lésion génétique pertinente en terme épidémiologique.

## Questions de recherche

*CANC 3 - Identification de facteurs de risques environnementaux ou professionnels des cancers.*

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

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

Notre projet vise à caractériser les mécanismes synergiques associant des HAPs à de nouveaux perturbateurs endocriniens, les OPEs, utilisés à faible doses et actifs par effet dit « cocktail ». Ces effets constituent sans doute un nouveau facteur de risque pour le développement des tumeurs mammaires pouvant conduire à une réévaluation des doses maximales tolérées pour ces composés.

### Description des méthodes mises en œuvre

Polluants/Modèles utilisés pour ce projet :

- 3 OPEs, deux aromatiques (le DPhP et le 2-Ethylhexyl diphenyl phosphate (EDPhP)) représentant les produits majoritaires de dégradation spontanée des OPEs, plus un aliphatique, le tris(2-chloroethyl) phosphate très présent dans l'environnement.

- 3 HAPs (2, 4 et 6 cycles) (phénanthrène, pyrène, benzo[a]pyrene) très présent dans l'environnement ou reconnu pour leur activité sur AHR

- un modèle in vitro de plasticité et de différenciation mammaire contrôlé (contrôle génétique, nutritif et hormonal) (+ une version où AHR a été éliminé par la méthode CRISPR)

- deux modèles in vivo murin (fond FVB), à développement contrôlé de tumeurs mammaires spontanées sous l'effet d'une combinaison DPhP/3-MC ou sous l'effet d'une activation exogène d'un transgène CMYC.

Méthodes :

Analyse des effets des 6 molécules isolées ou paires sur AHR et PPARa:

Interaction fonctionnelle directe : liaison coopérative? (Dynamique moléculaire in silico, Résonance plasmonique de surface, analyse transcriptomique selon une cinétique brève).

Interaction fonctionnelle indirecte (Analyse transcriptomique après un traitement chronique, expression des protéines associées au complexe formé par AHR (ARNT, NCOA1 etc...), co-recrutement des facteurs AHR et PPARa à proximité des séquences XRE.

- Analyse in vitro des effets des mêmes molécules sur les processus de plasticité et de différenciation mammaire (dynamique des contingents cellulaires (perturbation/promotion des identité mammaires)). Mesure de la dépendance à AHR par le modèle où AHR est délété.

- Analyse in vitro dans ce même modèle des effets des combinaisons les plus perturbatrices par des approches multi-omique validées dans notre étude précédente (transcriptomique (« whole » exome, métabolomique (composés hydrophile (IC-MS/MS)/hydrophobe (GC-MS/MS)). Analyse ciblée (type de modification et régions impliquées) du paysage épigénétique (définis par les approches précédentes).

- Analyse in vivo avec la combinaison DPhP-Benzo[a]pyrene puis une seconde combinaison à définir par les analyses précédentes (en présence ou en absence de la lésion oncogénique CMYC). Analyse histologique et génétique des glandes mammaires avant/après le développement des tumeurs : focus sur les processus de développement/contrôle de la hiérarchie mammaire (mesure de marqueurs in situ et après tri des populations). Analyse des tumeurs dans ce sens également.

## **Partenariat**

**Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard – Lyon**

Responsable de l'équipe : M. Arnaud Vigneron

**Institut des Sciences Analytiques – Villeurbanne**

Responsable de l'équipe : Mme Emmanuelle Vulliet

**HCL Hospices civils de Lyon - Pierre Bénites**

Responsable de l'équipe : Mme Lea Payen

## Résumé MANGA - 2021\_1\_239

### **Perturbations endocriniennes et altérations métaboliques dans le foie et le tissu hématopoïétique induites par l'exposition chronique à de faibles doses de pesticide contenant du manganèse**

M. Pascal Loyer  
Inserm U1241, Institut NuMeCan - Rennes

**Projet complet - 36 mois**  
**Budget : 199 992 € TTC**

#### Objectif détaillé

Humans are life-long exposed to multiple pesticides with health adverse effects. We have studied the in vitro cell effects of a cocktail of pesticides often detected in food samples (EFSA 2012). Although doses for each pesticide were in the range of the acceptable daily intake dose (ADI), adverse effects were observed. They included senescence and differentiation of mesenchymal stromal cells (MSC) in adipocytes, the deterioration of MSC's immunosuppressive properties (PMIDs 27860054, 30977188) and a strong cytotoxicity in adult human hepatocytes together with enhanced proliferation and alteration of the differentiation in progenitor hepatic human HepaRG cells (our unpublished data). We further demonstrated that the manganese (Mn)-containing fungicides maneb and mancozeb present in the cocktail of pesticides were causing the same adverse effects in hepatocytes and progenitor HepaRG cells.

Consistently, reports demonstrated that exposure of agricultural workers to maneb and mancozeb induces alterations in lymphocyte and monocyte blood counts and cholesterol metabolism (PMID 15893782, 17852083). In the same line, mancozeb exacerbated steatosis (lipid accumulation) in HepG2 hepatoma cells overloaded with fatty acids (PMID 27016407). Together, these data suggest that liver and hematopoietic tissue are targets of these Mn-containing fungicides. Mechanisms could originate from ethylene thiourea (ETU), the main metabolite of maneb and mancozeb and/or from Mn-mediated toxicity. Indeed, on the one hand, ETU can reduce triiodothyronine (T3) and thyroxin (T4) syntheses and induces thyroid hypertrophy (INRS, report n°277). On the other hand, we showed that maneb/mancozeb toxicity in hepatocytes could result from Mn overload and oxidative stress (our unpublished data). Mn is an essential metal because of its role as co-factor of enzyme-mediated catalytic activities in biochemical reactions. However, excess in Mn is toxic especially during pregnancy with negative impacts on birth outcomes (PMID 25575372 & 31844832).

Collectively, these results led us to postulate that exposure to Mn-containing fungicides may affect the proper expansion and differentiation of hepatoblasts and hematopoietic stem cells (HSC) especially during fetal development with possible long-term effects in adulthood. Indeed, during fetal life around 16 days post-coïtum (dpc) in mice, the liver switches from an hematopoietic function to a metabolic function as the liver is the major orchestrator of glucose and lipid metabolism and the site of detoxification in adults. In addition, it has strong sex dimorphic traits (PMID 33359838). Therefore, our objective is to identify the endocrine/metabolic alterations induced by maneb as a Mn-containing fungicide (over mancozeb chelating both Mn and zinc), in the liver and hematopoietic tissue in adult mice of both sexes, throughout development.

The tasks are to: 1) determine if the current ADI and NOAEL (No observable Adverse Effect Level) values have detrimental effects on embryos by exposing pregnant mice; 2) identify metabolic and genomic alterations in liver and hematopoietic tissue of the progeny life-long exposed (gestation/lactation ± post-weaning period) to maneb to unveil a metabolic imprinting; 3) determine if maneb exposure enhances susceptibility to diet-induced steatosis; 4) Determine the effects of the pesticide on proliferation and differentiation of HSC/MSC and hepatic cells and clarify the endocrine disrupting modes of action.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

- Low doses of maneb to identify in both sexes the molecular imprinting resulting from chronic exposure in the tightly connected hepatic and hematopoietic cell compartments.
- Relevant in vitro models to clarify the impact of maneb on proliferation and differentiation of hepatic and hematopoietic cells and to analyze mechanisms of action including the endocrine disrupting effects and alteration of Mn homeostasis.

### Questions de recherche

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

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

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

Axis endocrine disruptors: identification of metabolic alterations and biomarkers of low-dosed maneb exposure in liver and hematopoietic tissue resulting from exposure to a compound known/suspected to be endocrine disruptors and releasing Mn.

### Description des méthodes mises en œuvre

A) Determination of the period of vulnerability to maneb exposure in C57bl6 mice

1) Maneb exposure at the current ADI and NOAEL values (5 to 0.05 mg/kg/day) vs untreated. Dams exposed during gestation and embryos sacrificed at 16 dpc to collect blood, livers and hematopoietic cells, (year 1, months 2-3)

2) Impact of chronic exposure to maneb (most efficient dose of Task1) on the F1 development. Exposure during gestation and lactation. At weaning, one group no longer exposed. A second group still exposed until euthanasia at adulthood (+non-exposed group), (year 2, months 1-3)

3) Determination if maneb (dose as in Task2) aggravates steatosis in adult mice of both sexes exposed in gestation/lactation and fed a high-fat high-sucrose diet from weaning, (year 2, months 10-11)

4) Samples (n=8/sex/group) from tasks 1-3 will be analyzed (years 1-3): a/ blood cell counts, biochemical parameters (ETU, Mn, glucose, lipids, hormones, cytokines), b/ RNAseq in adult/fetal livers, isolated MSC and HSC from bone marrow/fetal liver to identify hepatic biomarkers, differentiation and redox status, c/ quantification of LTC-IC/CFU-GM/BFU-E in HSC compartment, d/ metal contents measured by ICP/MS

B) In vitro experiments (year 1, months 6-12, years 2-3) using a 6 week-exposure of hepatoblast-like HepaRG cells during differentiation into hepatocytes. Dose-responses planned. RNAseq/biochemical analyses including Mn content by ICP/MS to evidence metabolic alterations and compare to those found in mice. Mechanisms of action of the maneb and inorganic (i)Mn investigated using enforced/knocking-down expression of identified key players using gene transfer.

## **Partenariat**

**Inserm U1241, Institut NuMeCan – Rennes**

Responsable de l'équipe : M. Pascal Loyer

**CarMeN, Inserm U1060 Inrae 1397, Hôpital Lyon-sud secteur 2 – Pierre-Bénite**

Responsable de l'équipe : Mme Brigitte Le Magueresse Battistoni

**Université de Tours, CNRS ERL 7001 LNOX – Tours**

Responsable de l'équipe : M. Olivier Hérault

# Résumé MOLDASTH - 2021\_1\_202

## Moisissures dans les habitations, inflammation et réponse immunitaire, et endotypes d'asthme dans la cohorte **CONSTANCES**

Mme Rachel Nadif

U1018, CESP Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations - Villejuif

Projet complet - 36 mois

Budget : 204 585 € TTC

### Objectif détaillé

Le projet vise à mieux comprendre les liens entre exposition aux moisissures de l'air intérieur et l'asthme de l'adulte en population générale.

Les objectifs sont :

- 1) Décrire la contamination par les moisissures dans un grand nombre de logements français et identifier ses déterminants,
- 2) Étudier les associations entre l'exposition aux moisissures et des endotypes d'asthme,
- 3) Étudier le rôle de voies biologiques d'intérêt dans ces associations.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'asthme est la maladie respiratoire chronique la plus répandue dans le monde [GBD Lancet 2018]. Malgré l'amélioration de sa prise en charge, de nombreux patients ont encore un mauvais contrôle de leur asthme, en partie dû à l'existence d'endotypes qui peuvent être associés à des facteurs de risque spécifiques [Bush, Front Pediatr. 2019]. L'asthme éosinophilique (E, inflammation T2) et l'asthme non éosinophilique (NE, inflammation non-T2) sont les principaux endotypes cibles de la recherche thérapeutique [Carr AJRCCM 2018] ; ils sont associés à des voies biologiques spécifiques mais leurs facteurs de risque sont encore mal connus.

L'exposition aux moisissures de l'air intérieur est un facteur de risque évitable de l'asthme [Caillaud ERR 2018]. Nous passons la plupart de notre temps au domicile, et dans l'étude internationale sur la santé respiratoire ECRHS, la prévalence rapportée des moisissures visibles dans les logements était de 16% [Norbäck, Thorax 2011]. En France, les études épidémiologiques sont rares : il n'existe à ce jour aucune étude basée sur l'étendue des surfaces moisies cumulées au niveau des pièces d'habitation comme recommandé dans le rapport Anses [<https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2014SA0016Ra.pdf>], ni d'étude sur des voies biologiques d'intérêt (réponses T2/non-T2) par lesquelles l'exposition aux moisissures pourrait affecter l'asthme, et notamment les asthmes E ou NE.

### Questions de recherche

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

- dans des environnements spécifiques (commerces, bureaux, moyens de transport),
- à proximité de sources d'émissions (routes, ports, aéroports, activités agricoles...).



*ABIO 2 - Exposition de la population générale et/ou des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes). Comportement des agents pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.*

*ABIO 3 - Liens entre les agents biologiques et pathologies (comme cancers, sensibilisations respiratoire ou cutanée...).*

Ce projet multidisciplinaire s'intéresse aux associations entre l'exposition aux moisissures et des endotypes d'asthme, ainsi qu'aux mécanismes physiopathologiques qui les sous-tendent [Questions ABIO 2 et 3 ; AIRR 1]. Il permettra d'améliorer les connaissances sur la contamination par les moisissures dans les habitations françaises. Il propose une approche innovante et originale basée sur une analyse combinant simultanément une analyse factorielle multiple et un co-clustering approprié [Affeldt et al. 2020] qui permettra d'identifier des profils de logements et de nouveaux endotypes d'asthme. Les résultats obtenus permettront d'améliorer les stratégies de prévention de l'asthme.

### Description des méthodes mises en œuvre

Le projet est basé sur CONSTANCES, cohorte de plus de 200 000 adultes âgés de 18 à 69 ans sélectionnés au hasard parmi les affiliés de la sécurité sociale. A l'inclusion (2012-2019), le participant a rempli des questionnaires standardisés dont un sur la santé respiratoire, et a eu un examen médical complet dont une prise de sang. Le suivi comprend un questionnaire annuel, celui de 2019 portant sur les caractéristiques du logement et l'exposition aux moisissures. De 2020 à 2023, les participants ayant rempli le questionnaire de 2019 auront un examen de santé à 4 ans incluant le questionnaire respiratoire et une prise de sang.

Objectif 1. Parmi les 114 200 participants ayant rempli le questionnaire de 2019, identifier 1) les déterminants (dont ventilation, densité d'occupation, statut socio-économique des occupants) associés à la contamination par les moisissures (dont surface moisie : aucune, 3 m<sup>2</sup>) et 2) des profils de logements par analyse en clusters.

Objectif 2. Etudier les associations entre exposition aux moisissures en 2019 (humidité, odeur de moisi, moisissures visibles et surface, profils de logements) et asthme en 2020 (n~15,000 revus dont 9% asthmatiques, 37%E et 63%NE). D'autres facteurs de risque de l'asthme et des facteurs de confusion seront pris en compte.

Objectif 3. Etudier des voies biologiques d'intérêt : parmi 2000 asthmatiques ayant rempli le questionnaire 2019, qui n'auront pas déménagé et qui auront eu l'examen de santé à 4 ans entre 2021 et 2023, sélectionner 1000 avec moisissures visibles et 1000 sans moisissures visibles dont 500 avec facteurs associés à la contamination par les moisissures et 500 sans. Il s'agira de 1) doser des cytokines T2/non-T2/Th17 dans le sérum (Biobanque Constances) : IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, IFN, sCD40L, TNFa ; 2) identifier des endotypes d'asthme sur la base de ~30 caractéristiques d'asthme (symptômes, traitement, fonction ventilatoire) et biologiques (éosinophile, neutrophile, cytokines) ; 3) étudier leurs associations avec l'exposition aux moisissures en 2019 (humidité, odeur de moisi, moisissures visibles et surface, profils de logements). Ces associations pourront également être étudiées à partir de données actualisées sur l'exposition et d'une caractérisation objective de l'exposition aux moisissures (espèce, abondance, profils de moisissures) à l'aide de poussières collectées par capteur électrostatique [Dauchy, Indoor Air 2018]) : demande ANR en cours.

Réalisation. Objectifs 1 et 2 en partie réalisés par une thèse d'Université (12/2020-11/2023, financement FRM). Objectif 3 : doser les cytokines (2022-2023), identifier les endotypes d'asthme (2023) et étudier leurs associations avec l'exposition aux moisissures (2024).

### **Partenariat**

#### **U1018, Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations - Villejuif**

Responsable de l'équipe : Mme Rachel Nadif

#### **CHRU de Lille, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie**

Responsable de l'équipe : Mme Emilie Frealle

#### **Inserm, Hôpital Paul Brousse - Villejuif**

Responsable de l'équipe : Mme Marie Zins

#### **Université de Paris, Laboratoire LIPADE**

Responsable de l'équipe : M. Mohamed Nadif

# Résumé NanoMuc - 2021\_1\_016

## Etude de l'interaction entre les nanoparticules et le mucus dans le poumon

Mme Françoise Pons

UMR 7199, CNRS/Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie - Illkirch

Projet complet - 36 mois

Budget : 195 312 € TTC

### Objectif détaillé

L'objectif du projet NanoMuc est d'étudier l'interaction entre les nanoparticules (NP) et le mucus dans les voies respiratoires au moyen d'approches expérimentales in vitro et in vivo, et en s'intéressant, d'une part, au rôle protecteur du mucus vis-à-vis de la toxicité pulmonaire des NP et, d'autre part, à l'impact des NP sur les fonctions protectrices du mucus. Pour ce qui est de l'impact du mucus sur les NP, il s'agira d'étudier si le mucus modifie les caractéristiques physicochimiques des NP, leur stabilité en milieu aqueux, leur internalisation par des cellules pulmonaires cibles, et leur toxicité vis-à-vis de ces cellules et du poumon. Pour ce qui est de l'impact des NP sur le mucus, il s'agira de déterminer si les NP modifient les propriétés de viscoélasticité du mucus, son niveau de production et sa composition en mucines, et/ou ses propriétés de barrière. Enfin, le projet cherchera à définir l'influence des caractéristiques physicochimiques des NP sur leurs interactions avec le mucus, par la synthèse et l'évaluation de NP de caractéristiques variées.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les NP, de plus en plus présentes dans notre environnement naturel, professionnel et domestique, peuvent induire, selon leurs caractéristiques physicochimiques, des effets délétères sur le poumon. Dans les voies respiratoires, le mucus joue un rôle important de défense vis-à-vis des agressions environnementales, en se comportant comme une barrière physique entre les particules inhalées et l'épithélium, et en permettant leur élimination grâce à la clairance mucociliaire. Ce rôle protecteur peut être perturbé en cas de surproduction de mucus ou de changement de sa composition en mucines, altérant sa viscoélasticité et donc le fonctionnement de la clairance mucociliaire. Or, la dysfonction du mucus contribue à la pathogénèse de maladies pulmonaires communes comme les infections respiratoires, l'asthme ou la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). Si l'on possède aujourd'hui de nombreuses données sur les effets délétères potentiels des NP sur le poumon (stress oxydant, inflammation), les connaissances sur les interactions entre les NP et le mucus pulmonaire et leurs conséquences toxicologiques restent limitées. Une recherche sur la base de données PubMed avec les mots clés «nanoparticule», «mucus» et «voie respiratoire» illustre bien ce manque de connaissances, puisqu'elle ne fait ressortir que 90 articles, dont moins d'un tiers concerne les interactions entre les NP et le mucus.

### Questions de recherche

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

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

- dans des environnements spécifiques (commerces, bureaux, moyens de transport),
- à proximité de sources d'émissions (routes, ports, aéroports, activités agricoles...).

Le projet NanoMuc apportera des connaissances fondamentales pour l'évaluation et la compréhension des dangers respiratoires liés aux NP, en s'intéressant à une cible potentielle des NP encore peu étudiée dans le poumon, le mucus. Ces connaissances concerneront le sujet sain, mais également les sujets présentant des pathologies caractérisées par une dysfonction du mucus (asthmatiques ou patients BPCO) qui sont les sujets les plus vulnérables face à la pollution de l'air, et notamment la pollution particulaire, qu'elle soit environnementale ou liée à une activité professionnelle.

### Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1 (0-12 mois) : Des NP carbonées modèles de chimie de surface, de charge, de densité de charge, d'état d'agrégation et d'hydrophobie/hydrophilie variés, et présentant des propriétés intrinsèques de fluorescence, seront synthétisées selon des protocoles mis au point, pour certains, au cours du projet ICP-Nano financé par l'ANSES (EST-2015/1/005). Les protocoles de synthèse restant à développer ne laissent pas entrevoir de difficulté majeure. Toutes les NPs produites feront l'objet d'une caractérisation détaillée.

Tâche 2 (6-24 mois): L'impact du mucus sur les NP sera étudié en analysant : 1-l'effet de solutions de mucines, d'un mucus modèle produit par des cellules épithéliales pulmonaires humaines cultivées à l'interface air-liquide ou d'expectorations induites de patients atteints d'asthme ou de BPCO, sur la taille, la charge et l'état d'agrégation/la sédimentation des NP, et 2- l'internalisation et la toxicité des NP in vitro, dans des cellules épithéliales pulmonaires humaines après induction ou non d'une surproduction de mucus, et in vivo, chez des souris exposées, ou non (contrôles), à des extraits d'acariens, afin de recréer un asthme et une surproduction de mucus.

Tâche 3 (12-36 mois): L'impact des NP sur le mucus sera étudié en analysant : 1-les changements de viscoélasticité de solutions de mucines ou d'échantillons de mucus cellulaire induits par les NP, 2- les changements de production et de composition du mucus dans des cellules épithéliales pulmonaires humaines et dans le poumon de souris exposées aux NP, et 3-les changements de perméabilité de solutions de mucines, d'échantillons de mucus cellulaire ou d'expectorations de patients atteints d'asthme ou de BPCO sous l'effet des NP.

### Partenariat

**Université de Strasbourg, CAMB - VSAT UMR 7199**

Responsable de l'équipe : M. Luc Lebeau

**Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Service de Pneumologie**

Responsable de l'équipe : M. Frédéric De Blay

# Résumé NEMESIS - 2021\_1\_149

## Écologie du pathobiome et du résistome marins pour la gestion de la santé et de l'alimentation

M. Jean-Christophe Auguet

Marine biodiversity, Exploitation and Conservation Université de Montpellier

Projet complet - 36 mois

Budget : 196 959 € TTC

### Objectif détaillé

Addressing one-health key questions, the NEMESIS project aims to better understand the health risks related to marine pathogens and antimicrobial resistances (AMRs) in contrasted areas of the Vietnamese coast through an interdisciplinary framework integrating ecological, epidemiological, microbiological and social knowledges. We will address three main challenges:

- 1) The inventory of potential pathogenic bacteria (PPB) and ARGs that occur in marine habitats and their reservoirs are poorly documented
- 2) The effectiveness to which PPB and ARGs are transferred between the marine habitats and human or marine livestock is not well understood
- 3) The health risk for human and marine livestock related to the marine pathobiome and resistome has never been estimated

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

The originality of the NEMESIS project lies in the habitat studied and the approaches used. Indeed, most research on infectious diseases (IDs) and AMRs has focused on inland systems with comparatively little efforts directed towards marine habitats. Moreover, disease surveillance is often performed post hoc, driven by the availability and sustainability of detection technologies. The use of NGS represents an exhaustive, non-expensive, fast and easy-to-implement approach for the detection of pathogens and ARGs and predict which and where novel diseases may be more likely to emerge and what are the populations at risk.

### 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, émergentes ou ré-émergentes : liens entre dégradation des habitats naturels (déforestation, exploitation minière, agriculture...), augmentation des contacts entre hommes ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce ;*

*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, 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 2 - Exposition de la population générale et/ou des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes). Comportement des agents*

*pathogènes dans divers compartiments de l'environnement, notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.*

Marine environments can function as transmission foci for PPB or AMRs. Health risk increases in developing regions where treatment of hospital and household sewages, important sources of pathogens and ARGs into the coastal environment, is limited (often inexistent) and where intensive aquaculture has developed. Although likely significant, the risk of IDs for human and marine livestock related to the marine pathobiome and resistome has not been fully investigated, mainly because i) the inventory of potential pathogens that occur in marine habitats is astonishingly incomplete (ABIO 2 & ABIO 1.3) and ii) the frequency to which both pathogens and ARGs are transferred between the marine habitats and human or marine livestock is unknown (ABIO 1.1).

Besides filling gaps on fundamental ecological (inventory of the marine pathobiome and resistome, effectiveness of their transfer to human and/or livestock) or socio-cultural (better knowledge on farming practice and farmer's risk perception) questions, the main expected result of this project is the development of an integrated microbial risk index (MRI) for human and aquaculture animals. Risk assessment can be a useful tool in managing environmental health risks and could be implemented by policy makers and coastal area managers in their monitoring program. This objective represents a valuable effort towards more focused and efficient surveillance and control programs, and limiting the socioeconomic impact of pathogen contaminations and AMRs.

### Description des méthodes mises en œuvre

The project is planned to take place in the Nha Trang Bay (Vietnam). To tackle the 1st challenge, samples will be collected during a two years dry/rainy season along three coast-offshore transects (12 stations) representing local differences in anthropogenic inputs. Samples will be taken to study in each of the sites: (1) the bacterial diversity (barcoding/isolation) and AMR genes (metagenomics) circulating in water, sediments, as well as in wild animals (2) natural and pollutant chemical composition of the water. For the 2nd challenge, effective transfer of PPB and ARGs between the environment and humans and marine livestock will be performed by characterization of the pathobiome and resistome of high-risk cohorts and comparison of sequence similarity with environmental pathobiomes and resistomes. For this purpose, fecal and skin samples will be collected from 20 fish farm worker volunteers and from 20 groupers in parallel to environmental sampling. In parallel, surveys will be carried out to explore the practices and perceptions of fish farm workers with regard to antibiotic use and their knowledge of AMR. This social data will be combined to the microbiological data and integrated into a microbial risk index (MRI) using the quantitative microbial risk assessment (QMRA) framework to tackle our 3rd challenge.

The NEMESIS agenda is organized in two phases: a two-year phase of sampling, analysis and valorization of the first 2 challenges and a one-year phase corresponding to the development of the MRI and its valorization.

## **Partenariat**

### **Marine biodiversity, Exploitation and Conservation. Université de Montpellier**

Responsable de l'équipe : M. Jean-Christophe Auguet

### **IRD, Laboratoire MIVEGEC – Montpellier**

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Laure Bañuls

### **CHU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Laboratoire de bactériologie**

Responsable de l'équipe : M. Sylvain Godreuil

### **CNRS, ART-Dev – Montpellier**

Responsable de l'équipe : Mme Gwenn Pulliat

### **University of Science and Technology of Hanoi - Cau Giay, Hanoi**

Responsable de l'équipe : M. Nguyen Quang Huy

### **Institute of Oceanography Nha Trang city, Vietnam**

Responsable de l'équipe : Mme Hanh Kim Nguyen

## Résumé OMICS4TOOL - 2021\_1\_072

### Quelle est la place des omiques en tant qu'outil d'évaluation des risques et de surveillance environnementale ?

Mme Frédérique Courant

Université Montpellier 1, UMR 5569 HydroSciences - Montpellier

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 889 € TTC

#### Objectif détaillé

L'objectif de ce projet est d'apporter des éléments de réponse quant à l'applicabilité des approches omiques (transcriptomique, protéomique et métabolomique) en évaluation du risque et en surveillance environnementale :

- dans le cadre de l'évaluation du risque des substances où la réponse biologique précoce peut ne pas être permanente, en particulier si la réponse est compensatoire ou adaptative [Simmons D et al. 2015. Environ Toxicol Chem. 34(8):1693–1704] : à quel temps d'exposition doit-on étudier les modifications moléculaires "critiques" annonçant des effets néfastes pertinents au niveau de l'individu ?

- dans le cadre d'une surveillance environnementale: quelles sont ces modulations moléculaires stables dans le temps qui pourraient être des biomarqueurs ?

Pour répondre à ces questions, nous étudierons la réponse de la moule méditerranéenne à une exposition chronique à faible dose d'un antidépresseur, la fluoxétine (inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine) en croisant les 3 approches omiques afin:

- de déterminer le temps d'exposition optimum à considérer pour obtenir des modulations moléculaires pertinentes (réponse non adaptative) i.e. celles qui sont susceptibles par la suite d'engendrer des effets néfastes à l'échelle de l'organisme.

- d'évaluer la pertinence des modulations mises en évidence par les omiques, i.e. évaluer quantitativement et qualitativement les modulations qui sont les plus persistantes sur le temps de l'exposition.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'équipe ContEM s'intéresse aux contaminants émergents dans les milieux aquatiques. Elle développe avec succès depuis quelques années l'approche métabolomique (projet ANSES AMeCE et projet ANR IMAP). Au-delà des travaux portant sur la caractérisation moléculaire des effets des substances, il nous apparaît aujourd'hui indispensable de déterminer i) quelles sont les modifications moléculaires qui génèrent à moyen ou long terme des effets néfastes pour l'organisme pertinents sur le plan écologique et ii) à quel moment de l'exposition elles interviennent. En démontrant le lien entre modifications moléculaires et effets néfastes, cela supporterait l'utilisation des résultats omiques en tant que biomarqueurs dans des études menées sur le terrain. En termes de connaissances fondamentales, ce projet permettra également d'améliorer les connaissances sur les régulations biologiques de *Mytilus* sp. (organisme sauvage) en tant qu'espèce sentinelle de l'environnement afin de rendre ce bioindicateur plus performant pour renseigner les effets. En effet, bien que l'application



d'une approche omique puisse conduire à l'identification de biomarqueurs pour certaines expositions, elle ne peut pas fournir seule une compréhension systémique des voies de toxicité. La fluoxétine a été choisie car c'est l'antidépresseur le plus prescrit dans le monde et une étude récente a montré la présence de ce composé et de son métabolite dans plus de 70 % des moules marines prélevées en zone côtière [Silva L et al. 2017. *Sci Total Environ.* 603–604:118–125], milieu fragile et moins étudié que les eaux continentales.

### 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.*

Ce projet est rattaché à la question de recherche liée aux agents chimiques et aux effets sur les écosystèmes et la santé humaine. Il se place en appui à l'optimisation des protocoles d'évaluation des substances chimiques. L'utilisation d'indicateurs d'alerte précoce appelés biomarqueurs, représentatifs des effets biologiques des contaminants sur les organismes, s'est considérablement développée au cours des dernières décennies. En effet, des modifications à des niveaux hiérarchiques élevés sont toujours précédées par des changements moléculaires précoces. C'est ainsi que le concept d'Adverse Outcome Pathway (AOP) a émergé [Ankley GT et al. 2010. *Environ Toxicol Chem.* 29(3):730–741]. Un AOP assemble les connaissances sur le lien entre un évènement moléculaire initiateur et une série d'évènements clés menant vers un effet néfaste à un niveau biologique pertinent (organisme ou population). Mieux connaître les mécanismes moléculaires et leurs étapes successives vers la survenue d'un effet néfaste permettrait d'anticiper les éventuelles perturbations liées à des expositions aux substances chimiques, que ce soit en termes d'évaluation du risque ou de surveillance environnementale. La caractérisation du danger pourrait se baser non plus sur l'identification d'un effet néfaste au niveau de l'individu ou de la population mais à partir de l'étude de modulations des voies biologiques sur des modèles expérimentaux ou sur des organismes prélevés in situ.

### Description des méthodes mises en œuvre

Nous exposerons en milieu contrôlé pendant 28 jours des moules méditerranéennes à une concentration environnementale (autour de 10 nM) de fluoxétine (M1 à M3) et réaliserons 4 à 5 prélèvements à différents temps d'exposition. Les 3 niveaux omiques seront investigués à ces temps de prélèvements afin de caractériser de façon complète la réponse biochimique à ce polluant (M4 à M24). La bonne connaissance des effets au niveau individuel de cette substance [Fong PP & Ford AT. 2014. *Aquat Toxicol.* 151:4–13] permettra de valider quelles sont les modulations biochimiques observées (et à quel temps d'exposition elles apparaissent) qui sont responsables des effets néfastes connus et quelles sont celles qui correspondent à une réponse adaptative de l'organisme (M24 à M33). Une réflexion critique sera par la suite engagée sur la base des résultats du projet pour définir les marqueurs les plus prédictifs et pertinents en surveillance environnementale et en évaluation du risque (M34 à M36).

## **Partenariat**

**Université Montpellier, UMR 5569 HydroSciences – Montpellier**

Responsable de l'équipe : Mme Frédérique Courant

**CEA-Marcoule DRF-Li2D - Bagnols-sur-Cèze**

Responsable de l'équipe : M. Jean Armengaud

**University of The Basque Country, Department of Zoology and Animal Cell Biology –  
Leioa, Espagne**

Responsable de l'équipe : Mme Eider Bilbao Castellanos

**Université de Genève, Sciences analytiques – Genève**

Responsable de l'équipe : M. Julien Boccard

# Résumé PAH-ProMetGen - 2021\_1\_107

## Signatures biologiques (protéomique, métabolomique et génotoxique) associées à l'exposition professionnelle à des mélanges d'HAP et liens avec les biomarqueurs d'exposition: aide à l'élaboration de valeurs limites biologiques

Mme Christine Demeilliers

Université Grenoble Alpes, Laboratoire TIMC-IMAG, CNRS 5525, Equipe "Environnement et Prévention en Santé des Populations" - La Tronche

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 845 € TTC

### Objectif détaillé

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des mélanges de polluants ubiquitaires pouvant entraîner diverses pathologies, dont des cancers broncho-pulmonaires, vésicaux et cutanés. Ils sont responsables d'effets génotoxiques mais nécessitent au préalable une activation métabolique. De ce fait, la connaissance des voies métaboliques impliquées est indispensable afin de comprendre les mécanismes d'action et prévenir les risques cancérigènes. D'autres effets sont également rapportés tels le diabète, l'inflammation, l'infertilité, des pathologies cardio-vasculaires. Malheureusement, les marqueurs d'effet biologique précoce restent majoritairement inconnus et notre compréhension des mécanismes sous-tendant la toxicité des HAP est limitée. Les rares valeurs limites biologiques (VLB) existantes se rapportent soit à des HAP non cancérigènes (pyrène), soit aux voies de détoxification du Benzo(a)Pyrène (3-OHBaP), alors que de nouveaux biomarqueurs reflétant la voie de génotoxicité du BaP (TétraolBaP) sont désormais disponibles. Les objectifs du projet sont donc de :

1. Caractériser les réponses biologiques (protéomiques, métabolomiques et génotoxiques) d'une exposition en fonction des niveaux de divers métabolites urinaires des HAP, et améliorer la compréhension des impacts résultant de l'exposition à des mélanges d'HAP,
2. Etudier l'influence des voies de métabolisation du BaP (TétraolBaP versus 3-OHBaP) sur l'expression du protéome / métabolome et sur les effets génotoxiques afin de disposer des données permettant de dériver de nouvelles VLB,
3. Identifier des liens entre les dérégulations (protéiques, métabolomiques) dues aux HAP et les protéines/métabolites précurseurs de pathologies (notamment cancers) afin de disposer de marqueurs d'effets biologiques précoces.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Etude humaine réalisée chez des travailleurs exposés à des mélanges réalistes complexes d'HAP, Approche multidisciplinaire combinant des technologies « omiques », du biomonitoring d'exposition et des tests de génotoxicité.

Analyses conjointes des métabolites issus des deux voies de métabolisation du BaP permettant de comparer les effets biologiques des HAP en fonction de ses voies métaboliques,

Mesures non invasives de génotoxicité (cassures et pertes chromosomiques) induite par l'exposition aux HAP par l'analyse des micronoyaux sur des cellules buccales,

Représentation globale des réactions métaboliques et des profils protéiques impactés par l'exposition aux HAP et identification des processus biologiques impliqués,

Utilisation de méthodes d'intelligence artificielle pour identifier les marqueurs dérégulés impliqués dans la survenue de pathologies (cancers).

### Questions de recherche

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

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

Le projet PAH-ProMetGen permettra par son approche multidisciplinaire sur des travailleurs exposés à des mélanges complexes d'HAP d'identifier des biomarqueurs d'effets, dont cancérigènes (CANC6). Il contribuera aussi à étudier les impacts biologiques de ces multi-expositions complexes en milieu du travail (ACHIM3). Ces différentes approches contribueront à générer des données utilisables pour la détermination de VLB.

### Description des méthodes mises en œuvre

Recrutement de 80-100 travailleurs exposés à des mélanges d'HAP et de 80-100 témoins,

Recueil des échantillons biologiques (sang, urines, cellules buccales) après plusieurs mois d'exposition (travailleurs) ou à un moment indifférent (témoins),

Analyses par HPLC-Fluorescence et GC-MS-MS de 21 métabolites urinaires des HAP jugés prioritaires par l'Agence américaine US-EPA,

Analyses protéomiques plasmatiques par une approche bottom-up différentielle quantitative de spectrométrie de masse à haute résolution (HR-MS); identification des protéines différentiellement exprimées (DEP) et de la signature protéique associée; analyse de gene ontology permettant de définir les processus biologiques impactés; utilisation d'algorithmes de reconstruction et d'analyses de réseaux multimodaux basés sur l'Intelligence Artificielle pour identifier les pathologies associées aux perturbations du réseau de signalisation ciblé et suggérer des mécanismes d'action,

Identification des signatures métabolomiques et des métabolites pertinents par des analyses non ciblées sur échantillons plasmatiques en UHPLC HR-MS, comparaison à la base de données Human Metabolome ainsi qu'à des réseaux moléculaires / librairies de spectres de masse en LC-MSMS.

Analyses de génotoxicité par la mesure de la fréquence des micronoyaux sur cellules buccales (lecture microscopique sous lumière fluorescente).

Calendrier:

- Année 1 : comités d'éthique, recrutement des sujets, mises au point analytiques, collection des échantillons, début des analyses
- Année 2 : fin de la collection des échantillons et des analyses biologiques, statistiques, rapport intermédiaire
- Année 3 : statistiques, publications scientifiques, rapport final

## **Partenariat**

**Université Grenoble Alpes, Laboratoire TIMC-IMAG, CNRS 5525, Equipe "Environnement et Prévention en Santé des Populations" - La Tronche**

Responsable de l'équipe : Mme Christine Demeilliers

**Université Grenoble Alpes, Faculté de Médecine EPSP-TIMC Domaine de la Merci – La Tronche**

Responsable de l'équipe : Mme Anne Maitre

**Institute romand Santé au Travail (IST) - Epalinges-Lausanne**

Responsable de l'équipe : Mme Nancy Hopf

# Résumé PHARE - 2021\_1\_089

## Production des Acides HALoacétiques non réglementés lors de situations à Risque liées à un contexte de changement climatique

Mme Marie-Florence Thomas

Ecole des hautes études en santé publique, Leres - Rennes

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 909 € TTC

### Objectif détaillé

La toxicité des sous-produits de désinfection (SPD) telle que celle des iodés et bromés supérieure à celle des chlorés est aujourd'hui avérée (Richardson et Plewa, 2020). Pourtant les conditions de leur formation sont encore mal connues. Si les concentrations en bromures et iodures dans les ressources sont des facteurs explicatifs, peu de données sur leurs concentrations dans la ressource ou la nature de la matière organique permettent aujourd'hui d'expliquer leur condition d'incorporation. De même, l'absence de réactivité des fluorures reste à démontrer. Parmi les SPD, les acides haloacétiques (AHA) iodés, certains bromés, et mixtes (et, le cas échéant, fluorés) non réglementés font partie des composés modèles pour comprendre les mécanismes de formation de l'ensemble des SPD (THM, AHA, HAN, ...). L'objectif du projet PHARE est de comprendre les conditions de formation de sous-produits de désinfection émergents (acides haloacétiques monohalogénés et mixtes) de la ressource en eau jusqu'aux points d'usage (robinet et piscine), en s'appuyant sur des situations à risque, liées à un contexte de changement climatique. Les travaux seront menés dans deux territoires littoraux (breton et méditerranéen) qui diffèrent notamment par leurs conditions hydro-climatiques actuelles et les projections des modèles climatiques.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet réside à la fois dans le choix de SPD émergents (bromés, iodés, mixtes), dans l'approche globale intégrée « de la ressource à la piscine » (seule l'étude de Daiber et al 2019 est basée sur cette approche) et en prenant en compte les problématiques de territoire liées aux changements climatiques. En effet, les événements extrêmes (longues périodes pluvieuses, inondations, étiages sévères, ...) peuvent entraîner une évolution de ces composés (organo)halogénés dans les ressources (absence de dilution, augmentation des dépôts atmosphériques, débordements répétés d'eaux usées urbaines ou industrielles, intrusions marines...). Le caractère novateur réside également dans la méthodologie retenue, à savoir prendre en compte toutes les formes minérales et organiques des composés halogénés permettant de mieux comprendre les conditions de production des acides halogénés (bilan matière basé sur des analyses ciblées et non ciblées).

### Questions de recherche

*ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesurage de l'imprégnation biologique des populations exposées aux produits chimiques, développement de biomarqueurs d'exposition et d'effets, détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.*

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

*CCLIM 1.3 - Impacts du changement climatique sur la santé : Impacts indirects via la qualité des milieux et de l'alimentation.*

Contamination émergente, Agents chimiques & Climat et mesure de gestion : Une campagne en cours en Bretagne a montré que certains AHA-i ont été quantifiés dans 20 % des échantillons (103 points d'EDCH) (étude EHESP-LHN- ARS35, publication en cours), à comparer aux 20 % des échantillons qui contenaient des THM-i (Campagne nat. 2016-17, Anses, 2020), montrant l'importance de mieux comprendre l'origine de leur présence dans les eaux. L'émergence de ces composés est liée à la présence d'ions halogénés dans la ressource, substances actuellement non réglementées et peu investiguées au niveau européen et international. Pourtant des travaux récents montrent qu'elles sont susceptibles d'évoluer dans les ressources superficielles ou souterraines notamment sur les littoraux (Sharma et al, 2019) et ainsi d'impacter la formation des sous-produits de désinfection (Kolb et al, 2017). Ce projet permettra d'approfondir les connaissances sur la variabilité spatio-temporelle des composés organo- et minéraux-halogénés dans les ressources et de comprendre les conditions de formation des sous-produits de désinfection émergents (AHA monohalogénés et mixtes), permettant aux traitiers d'eau d'éviter les productions de ces SPD par des traitements adéquats. Le développement d'une stratégie analytique permettant de faire des bilans-matière (analyses ciblées et globales « target and non-target analysis ») et l'étude de situations émergentes variées, représentatives de situations rencontrées sur chaque territoire et qui seront aggravées par les changements climatiques, permettront de mieux caractériser les situations à risque sanitaires.

### Description des méthodes mises en œuvre

Le projet se déroulera en 4 phases sur 36 mois : 1-Validation des terrains expérimentaux (M 1 à 6) (3 à 5 sites par région Bretagne/Paca) (EHESP /Univ Marseille avec les ARS) Chaque site comprend une ressource superficielle ou mixte (souterraine/superficielle), une usine de potabilisation (avec ou sans ozonation), le réseau de distribution et une piscine (comprenant au moins 3 types de bassins tels que bassin de loisirs/sportifs, spas et pataugeoires). Le choix des terrains se fera par le recueil et l'exploitation de données issues de Sise-eau (données physico-chimiques dont COT, THM, conductivité...), de données géographiques et hydro-climatiques. 2- Développement et validation, de la méthode de mesure des composés halogénés émergents (organiques ou minéraux) (M 3 à 9) (EHESP /LHN/Univ Marseille) (analyses ciblées et non ciblées par IC-MS/MS, GC-MS/MS et GC-ECD, analyse globale par TOX/EOX) 3- Campagnes de mesure (M 10 à 29) à partir d'échantillons prélevés selon différentes conditions hydroclimatiques et lors d'évènements extrêmes (4 campagnes/an) 4- Exploitation des données (M 25 à 36) par région, comparaison des résultats et valorisation des résultats.

### Partenariat

**Leres, Ecole des hautes études en santé publique – Rennes**

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Florence Thomas

**Anses, LHN – Nancy**

Responsable de l'équipe : M. Xavier Dauchy

**Université d'Aix-Marseille Laboratoire Chimie de l'Environnement - Marseille**

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

## Résumé PLASTICIDE - 2021\_1\_176

### La face cachée des impacts biologiques des nano-plastiques, de leurs co-contaminants et des changements climatiques sur les espèces animales

M. David Renault

Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 - Rennes

**Projet complet - 36 mois**

**Budget : 211 840 € TTC**

#### Objectif détaillé

Le dépôt des matières plastiques en décharge, leur rejet dans les eaux usées, l'utilisation de plastiques en agriculture et l'épandage de boues d'épuration fertilisantes constituent des sources très importantes de pollution environnementale. La biodiversité se trouve menacée, la présence de fragments de plastiques (micro-plastiques, MPs, nano-plastiques, NPs) ayant été rapportée dans les légumes, les plantes, et les animaux. Les espèces terrestres, telles que les arthropodes herbivores (Ex. : lépidoptères), saprophages et prédateurs sont fortement exposées à ces pollutions plastiques. De surcroît, les additifs de ces plastiques, tels que les phtalates et bisphénols, constituent des agents de perturbations endocriniennes (PEs). Bien que la toxicité et les PEs induites par ces polluants commencent à être démontrées, il n'existe pas de normes environnementales pour les MPs et NPs, en raison de données trop parcellaires (rapport INERIS). L'évaluation des impacts des MPs et des NPs est également cruciale au regard des nouvelles stratégies de bio-remédiation basée sur l'utilisation de ces plastiques.

Les effets toxiques et PEs des plastiques sur le milieu naturel sont encore mal estimés. Outre les effets endocrines attendus, les MPs et NPs induiraient de la cytotoxicité, des nécroses micro-localisées, voire des effets carcinogènes. A ce jour, la majeure partie des études ont été menées avec des MPs aux propriétés physico-chimiques, et donc toxicodynamiques, différentes de celles observées dans l'environnement, alors que les NPs diffusent probablement plus facilement et rapidement dans les différents compartiments biologiques et organes, induisant une toxicité plus forte. Les NPs peuvent également adsorber des polluants organiques persistants (POPs), exposant alors les animaux à des cocktails de produits. Toutes ces connaissances à acquérir de façon urgente doivent aussi intégrer le réchauffement climatique qui accroît les activités nutritionnelles des arthropodes, accentuant ainsi le risque de toxicité des NPs. Quels sont les effets des NPs, de leurs additifs (PEs), des cocktails (association avec les POPs), de la hausse de la température, et des interactions croisées entre ces facteurs à court (fitness, physiologie) et long (effets transgénérationnels) terme sur les arthropodes ? Notre projet apportera un éclairage nouveau et important à cette question d'actualité brûlante.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet aborde pour la première fois les effets des NPs, des additifs, et des effets cocktails (avec les POPs), et des interactions croisées entre ces facteurs, sur des espèces animales sentinelles. Le projet est extrêmement complet, en proposant une base solide d'évaluation multifactorielle de la toxicité croisée de ces polluants. Nous nous concentrerons sur les NPs issus du polystyrène, exempts



de phtalates et de bisphénols, mais aux effets carcinogènes attendus, et du polychlorure de vinyle (PVC, qui contient les additifs bisphénols et phtalates); notre projet étudiera les effets de la 1) concentration des NPs 2) concentration des additifs pour le PVC (PEs : bisphénols, phtalates), 3) présence de POPs, 4) durée de l'exposition à la contamination (par ingestion), et 5) hausse de la température moyenne, sur la santé de l'environnement, en employant des arthropodes terrestres sentinelles de ces pollutions. Nous pouvons synthétiser des NPs aux caractéristiques physico-chimiques environnementalement réalistes (forme, taille, poly-dispersivité). L'assemblage de nos compétences donne naissance à une étude pionnière, qui servira de référence en termes d'évaluation du risque environnemental pour le vivant.

### Questions de recherche

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

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

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

Nos objectifs s'intègrent dans les grands enjeux de l'axe perturbateurs endocriniens (PEs), afin de développer des méthodes et collecter des connaissances des mécanismes d'action des PEs (Enjeu 1) en prenant en compte les relations doses-réponses (Enjeu 3) et les effets cocktails (Enjeu 4). L'équipe pluridisciplinaire créée, qui dispose d'expertises reconnues internationalement pour traiter les objectifs du projet, va permettre de coupler les questions environnementales (Axe Milieux et contaminations, Enjeu 1) aux effets sur le vivant (Axe Perturbateurs Endocriniens).

### Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1 Quels sont les effets des NPs sur le cycle biologique des arthropodes ? [mars - décembre 2022] Nous établirons des courbes dose-réponse pour des NPs de polystyrène et de PVC sur la fitness (longévité et fécondité des générations parentales, vitesse de croissance et tailles des stades larvaires) de trois espèces d'arthropodes terrestres sentinelles de ces pollutions environnementales (un lépidoptère, un diptère, un arachnide)

Tâche 2 Quels sont les effets des NPs sur la santé des arthropodes ? [janvier 2023 - décembre 2023]. Sur la base des résultats obtenus en tâche 1, nous sélectionnerons des concentrations de NPs (aussi employées en tâches 3 et 4) pour étudier la toxicité de l'ingestion de NPs par les animaux sur (a) le métabolisme énergétique (approches par GC-MS), (b) le stress oxydant (approches colorimétriques, mesure des capacités de détoxification), (c) le degré d'inflammation (cytotoxicité des NPs, activités des enzymes de type caspase), (d) les effets sur la régulation endocrine (dosage des ecdystéroïdes, des hormones juvéniles; expression des récepteurs hormonaux) et (e) les effets sur le système immunitaire. Les NPs dans les animaux seront quantifiés par  $\mu$ GC-MS

Tâche 3 Quels sont les effets croisés NPs x POPs sur la biologie et la santé des arthropodes ? [janvier à mars 2024]. Les mesures seront identiques à celles de la tâche 2

Tâche 4 Quels sont les effets croisés NPs x POPs x réchauffement climatique sur la biologie et la santé des arthropodes ? [janvier 2024 à mars 2025]. Les mesures seront identiques à celles de la tâche 2

## **Partenariat**

**Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 – Rennes**

Responsable de l'équipe : M. David Renault

**Université de Rennes 1, Geosciences Rennes**

Responsable de l'équipe : Mme Melanie Davranche

**Université Pierre et Marie Curie, Institut d'écologie et des Sciences environnementales de Paris**

Responsable de l'équipe : M. David Siauxsat

**Center for Infection & Immunity of Lille, Institut Pasteur Lille, Inserm U1019, CNRS UMR9017**

Responsable de l'équipe : Mme Aurélie Tasiemski

## Résumé PlasToxPreg - 2021\_1\_121

### Impact des micro/nanoplastiques sur la barrière placentaire humaine : conséquences physiopathologiques sur l'issue de grossesse.

M. Thierry Fournier

Inserm UMR-S 1139 Inserm/Université de Paris - Paris

**Projet complet - 36 mois**

**Budget : 199 982 € TTC**

#### Objectif détaillé

L'assimilation des microplastiques (MP<5 mm) dans l'organisme est désormais une évidence et l'alimentation représente la voie d'entrée principale. Du fait des processus de fragmentation intervenant de façon continue dans les milieux où les plastiques sont présents, il est nécessaire de considérer non seulement les MP mais également les nanoplastiques (NP<100 nm) issus de ces processus. Une fois ingérés, les MP et les NP sont capables de franchir des barrières biologiques tel que la barrière intestinale. Les plus retrouvées dans les fèces humaines sont constituées de polypropylène (PP), polyéthylène-téréphtalate (PET), polystyrène (PS) et polyéthylène (PE). A ce jour, leurs effets sur la santé humaine sont peu connus ou controversés. Ils sont attribués aux propriétés physiques (taille, forme et charge de surface) et chimiques (composition, présence de phtalates : perturbateurs endocriniens...) des MP/NP, à leur concentration ou à la présence de biofilm microbien à leur surface. Les MP/NP sont à la fois mobiles et difficiles à détecter dans l'organisme. Très récemment des MP de 5 à 10µm ont été retrouvées dans des placentas humains et des membranes chorioamniotiques, mais leurs effets sur le développement et les fonctions placentaires restent inexplorés à ce jour.

Notre objectif vise à apporter des connaissances sur les risques sanitaires liés à l'exposition maternelle à ces polluants (MP/NP), aujourd'hui ubiquitaires dans l'environnement. Pour cela, nous proposons de déterminer l'impact des MP/NP sur le développement et l'intégrité de la barrière placentaire, et d'identifier des biomarqueurs d'exposition de la femme enceinte et du fœtus aux MP/NP.

Notre projet s'articule selon les trois axes suivants :

- 1- Synthèse et caractérisation de différents types de MP/NP (PS, PP, PE, PET) ;
- 2- Etude de la cytotoxicité de ces différents MP/NP sur les cellules placentaires (trophoblastes) humaines en culture, et de leurs effets sur l'intégrité de la barrière placentaire humaine in vitro et leur passage transplacentaire ex vivo ;
- 3- Quantification des niveaux des différents MP/NP trouvés dans le placenta et le sang de cordon issus de grossesses normales et pathologiques, et identification de biomarqueurs d'exposition maternelle et fœtale.

## Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet présente deux points forts qui associent les expertises des deux partenaires : 1/ la caractérisation des MP/NP et l'étude de leur comportement physicochimique dans un milieu biologique, qui peuvent influencer grandement leur distribution tissulaire, leur internalisation cellulaire et leurs effets biologiques y compris leur toxicité ; 2/ la maîtrise de modèles humains de la barrière placentaire, ex vivo de cotylédon perfusé, et in vitro de cytotrophoblastes différenciés en syncytiotrophoblastes, siège des fonctions endocrines placentaires et des échanges materno-fœtaux.

## Questions de recherche

*ACHIM 2 - Quantification des niveaux d'exposition en population générale et pour les populations vulnérables ou sensibles. Développement de méthodes et outils de mesure 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.*

*CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des micro-plastiques ; risques induits pour l'homme et l'environnement.*

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

Notre projet vise à répondre aux questions de recherche liées aux CoEM-microplastiques et ACHIM 2. Les effets des MP/NP sur la santé humaine sont controversés et peu connus. Leur passage à travers la barrière placentaire humaine a été rapporté uniquement pour les MP/NP de PS. En revanche, leurs effets sur le trophoblaste humain et ses fonctions endocrines demeurent inconnus. Notre étude permettra une analyse approfondie de différents types de MP/NP et leurs effets sur le placenta humain, aux niveaux tissulaire, cellulaire et subcellulaire.

L'étude des niveaux d'accumulation des MP/NP dans les placentas et le sang de cordon issus de grossesses normales ou pathologiques permettra d'évaluer l'exposition de la femme enceinte à ces polluants environnementaux et de rechercher des biomarqueurs d'exposition maternelle et fœtale (ACHIM 2).

## Description des méthodes mises en œuvre

1/ Synthèse et caractérisation des MP/NP : les MP/NP calibrés de différentes tailles seront synthétisés avec une coquille deutérée et un noyau en or traçables. Les différents types de MP/NP seront caractérisés de manière exhaustive par une analyse multicritère (AF4-UV-MALS-ICPMS / GCMS; STEM / EDS) corrélée à leur empreintes spectrales (spectroscopie UV-Vis) (mois 1-12, 12 mois, partenaire 2).

2/ La toxicité induite par MP/NP et leurs effets sur les fonctions endocrines du trophoblaste seront déterminés in vitro en présence de MP/NP à différentes tailles, concentrations et temps d'exposition (mois 6-18, 12 mois, partenaire 1).

3/ Le passage materno-fœtal sera étudié ex-vivo grâce au modèle de cotylédon placentaire perfusé (mois 18-30, 12 mois, partenaire 1).

4/ La localisation des MP/NP et de leurs composantes au niveau cellulaire, subcellulaire, leur état physico-chimique seront déterminés par (bio)-imagerie (SEM, SEM / TEM / NanoSIMS) et par empreinte spectrale (UV-Vis-PIR spectroscopie) (12-24 mois, 12 mois, partenaires 1&2).

5/ La contamination des échantillons biologiques issus de grossesses saines et pathologiques par les MP/NP (PS, PP, PE, PET... et leurs composés de dégradation) sera déterminée dans les placentas du premier trimestre, les placentas à terme, les trophoblastes purifiés et dans le sang de cordon, grâce à notre propre collection de villosités placentaires du premier trimestre (n = 40) et à l'accès à la cohorte EDEN et FHU PREMA. La quantification sera réalisée après extraction douce, enzymatique ou acide (AF4-DADUV-MALS / ICPMS, GC-MS) (24-36 mois, 12 mois, partenaires 1&2).

### **Partenariat**

**Inserm UMR-S 1139 Inserm/Université de Paris**

Responsable de l'équipe : M. Thierry Fournier

**Université de Pau et des Pays de l'Adour, LCABIE/ IPREM - Pau**

Responsable de l'équipe : Mme Gaëtane Lespes

# Résumé POLLUSPORT - 2021\_1\_142

## Pollution de l'air, santé et sport

M. Gilles Foret

UPEC Laboratoire Inter-Universitaire des Systèmes Atmosphériques - Créteil

Projet complet - 36 mois

Budget : 208 825 € TTC

### Objectif détaillé

Ce projet vise à mieux comprendre les liens entre exposition à la pollution de l'air, pratique d'une activité sportive et santé. Les objectifs sont 1/d'estimer l'exposition aux aérocontaminants présents dans l'air intérieur et extérieur des lieux de pratique d'une cohorte de sportifs, 2/d'étudier les liens entre exposition, activité physique et impacts sanitaires.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

La pollution atmosphérique est l'une des premières causes de mortalité prématurée en Europe. Ses impacts ne sont pas encore bien caractérisés dans des populations pratiquant une activité sportive régulière, pourtant recommandée comme vecteur de bonne santé. Lors d'efforts physiques intenses et prolongés, la ventilation pulmonaire est augmentée, facilitant la pénétration des polluants atmosphériques dans l'organisme (Rundell et al. 2018). Les sportifs de l'INSEP représentent une opportunité unique d'étudier les effets de la pollution sur la santé en tenant compte de l'activité physique. L'étude des effets de l'exposition à la pollution de l'air intérieur n'a jamais été réalisée (Andrade et Dominski 2018).

L'originalité du projet repose sur une analyse exhaustive de l'exposition à la pollution d'une cohorte de sportifs sur leurs lieux d'entraînement et de résidence. Un suivi pluriannuel permettra de mesurer les variations saisonnières des paramètres environnementaux (température, humidité...) et les diverses sources de polluants (chauffage domestique, transports automobiles, COV émis par les matériaux...), qu'ils soient particuliers, gazeux ou biologiques et leurs liens avec la santé en tenant compte de l'activité physique. Enfin, ce projet propose par une approche innovante de co-clustering (Affeldt et al. 2020) d'identifier des profils d'exposition et d'activité physique.

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

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

- dans des environnements spécifiques (commerces, bureaux, moyens de transport),
- à proximité de sources d'émissions (routes, ports, aéroports, activités agricoles...).

Ce projet s'inscrit dans les axes AIRR1 car il caractérise l'exposition aux aérocontaminants dans des environnements intérieurs spécifiques mal caractérisés et ACHIM1 et 3 car il étudie les effets d'agents chimiques (effet cocktail) en milieu de travail sur la santé humaine.

Un suivi longitudinal sur une période aussi longue n'a jamais été réalisé et permettra de mieux comprendre les liens entre exposition à la pollution, santé et activité physique, et les mécanismes physiopathologiques qui les sous-tendent. Les enseignements tirés de ce projet seront transposables à la population générale, et notamment aux citoyens qui pratiquent une activité physique modérée ou intense, épisodique ou régulière en milieu extérieur ou intérieur.

### Description des méthodes mises en œuvre

Le projet s'appuie sur une cohorte de sportifs de l'INSEP (n~400) qui seront suivis sur une période de 24 mois (2022-2024). A l'inclusion, les sportifs répondront à des questionnaires validés et standardisés sur la santé en général et la santé respiratoire et cardiovasculaire en particulier, et les habitudes de vie. Une prise de sang, un recueil du condensat de l'air expiré et un examen fonctionnel respiratoire seront réalisés. Le même examen sera réalisé lors de deux suivis annuels. Une station de surveillance de la qualité de l'air extérieur (QAE) : O3, NOx, PM10/2.5/1, suies et pollens sera installée à l'INSEP. Des campagnes de mesures seront réalisées dans les environnements intérieurs (gymnases, dojo ...) pour estimer la qualité de l'air intérieur (QAI) : NOx, COV, spéciation particules (suies, métaux ...) et bio-effluents. Les charges d'entraînement (intensité [mesurée de façon subjective via la perception de l'effort perçu] x volume [durée]) et des indicateurs de performance (tests physiques et physiologiques et résultats de compétition [chronomètre, note, classement en fonction du sport] ; centralisés via l'utilisation d'une plateforme de saisie Athlete 360) complétés par la surveillance médicale réglementaire (examen urinaire et biologique, électrocardiogramme et échographie transthoracique de repos, test d'effort avec mesure des échanges gazeux, bilan diététique, bilan psychologique) seront collectés.

**Obj. 1** (2022-2023-2024). A partir des données de QAE et QAI, il s'agira d'identifier des profils d'exposition (cocktail) par analyse en clusters à l'inclusion et à chaque suivi qui seront utilisés pour évaluer les impacts sur la santé et la performance. L'analyse des concentrations de polluants dans les différents environnements, et notamment intérieurs, sera réalisée.

**Obj. 2** (2023-2024). 1) Etudier les associations entre exposition (polluant, profils d'exposition), activité physique (volume, intensité, types d'entraînement) et santé en général, respiratoire (asthme) et cardiovasculaire en particulier en prenant en compte les facteurs de confusion potentiels ; 2) Etudier le rôle modificateur de l'activité physique dans l'association exposition-effets sur la santé.

**Obj. 3** (2023-2024). 1) Doser des biomarqueurs liés au stress nitrosant et oxydant, deux voies biologiques d'intérêt pour expliquer les effets de la pollution de l'air, et de l'activité physique sur la santé respiratoire et cardiovasculaire : dans le condensat de l'air expiré (Nitrate/Nitrite, 3-NT) et dans le sang (produits d'oxydation fluorescents); 2) identifier des endotypes respiratoires et cardiovasculaires (symptômes, biomarqueurs) et 3) étudier leur associations avec l'exposition et l'effet modificateur de l'activité physique. Chaque sportif sera considéré comme son propre témoin.

### Partenariat

#### UPEC Laboratoire Inter-Universitaire des Systèmes Atmosphériques – Créteil

Responsable de l'équipe : M. Gilles Foret

#### U1018, CESP Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations – Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Rachel Nadif

#### Insep – Paris

Responsable de l'équipe : M. Franck Brocherie

#### Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Service de Pathologies professionnelles

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

## Résumé PolyExpoTMS - 2021\_1\_030

### Etude de l'impact de la co-exposition professionnelle aux agents chimiques neurotoxiques et aux facteurs de risque biomécaniques de troubles musculo-squelettiques au cours de la carrière professionnelle sur le syndrome du canal carpien (cas symptomatiques et cas chirurgicaux) – Approche par matrices emplois-expositions

M. Yves Roquelaure  
CHU Angers, Service Pathologie professionnelle

Projet complet - 36 mois  
Budget : 200 000 € TTC

#### Objectif détaillé

Le syndrome du canal carpien (SCC) correspond à la compression du nerf médian au poignet. Nous avons rapporté dans un précédent projet l'existence d'une association entre la co-exposition aux agents chimiques neurotoxiques et aux contraintes biomécaniques au poste de travail actuel et la présence de SCC auto-déclaré au cours de l'année suivante.

L'objectif du présent projet est d'étudier plus précisément cette association chez les volontaires de la cohorte Constances, en prenant en compte :

(i) d'une part, la durée et l'intensité des expositions et co-exposition aux agents chimiques neurotoxiques et/ou aux contraintes biomécaniques sur l'ensemble de la carrière professionnelle (à l'aide de matrices emplois-expositions (MEE) appliquées aux calendriers professionnels),

(ii) et d'autre part le SCC au suivi.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

La compression externe et l'augmentation de la pression intra-canalaires secondaires aux mouvements du poignet (composantes biomécaniques) de la compression nerveuse sont les principaux mécanismes physiopathologiques périphériques du SCC. Des mécanismes sensori-moteurs centraux secondaires aux anomalies du retour sensoriel et de la commande motrice de la main ont été plus récemment mis en évidence.

En raison de la poly-exposition des travailleurs, il peut exister une composante chimique rendant le nerf médian plus sensible à la compression au niveau du canal carpien en cas d'atteinte métabolique (ou toxique) (mécanisme du « double crush syndrome revisité »). La plupart des agents chimiques neurotoxiques entraînent des atteintes non spécifiques du système nerveux central (SNC), associées ou non à des atteintes du système nerveux périphérique, pouvant altérer la coordination sensori-motrice et réduire la dextérité.

Le projet vise à tester deux hypothèses de recherche :

1) L'exposition répétée à des agents chimiques neurotoxiques pourrait favoriser le SCC en rendant le nerf médian plus sensible aux effets des compressions mécaniques professionnelles.



2) Les perturbations d'origine neurotoxique centrale pourraient majorer les perturbations sensori-motrices observées au cours du SCC secondairement aux anomalies du retour sensoriel haptique et/ou de la commande motrice du poignet et de la main, et augmenter par-là les contraintes biomécaniques.

### Questions de recherche

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

Nous avons montré dans un précédent projet que la co-exposition auto-rapportée, au poste de travail actuel, aux agents chimiques neurotoxiques et aux contraintes biomécaniques est relativement fréquente chez les travailleurs français (hommes : 5 à 11% ; femmes : 1 à 4%). Très peu de données sont disponibles sur la co-exposition des travailleurs à des agents chimiques neurotoxiques et à des contraintes biomécaniques au cours de la vie professionnelle entière.

Compte tenu de la forte incidence du SCC dans la population active et de la poly-exposition des travailleurs, il est nécessaire d'améliorer les connaissances sur les effets conjoints des expositions professionnelles biomécaniques et chimiques afin d'améliorer les stratégies de dépistage et de prévention.

### Description des méthodes mises en œuvre

Les données de la cohorte Constances (n>150 000) seront analysées. L'analyse statistique sera réalisée sur des données existantes et déjà disponibles par l'équipe porteuse du projet. Seuls les sujets ayant une activité professionnelle seront inclus. Un focus sera fait chez les travailleurs de plus de 45 ans ayant bénéficié d'une batterie de tests cognitifs et fonctionnels (force musculaire, vitesse de marche, Finger Tapping Test,...) au centre d'examen de santé, afin de prendre en compte l'existence d'altérations d'origine neurologique centrale et/ou de troubles de la dextérité.

Deux indicateurs du SCC au suivi de sévérité différente seront étudiés : l'opération du SCC, récupérée à partir des données du Système National des Données de Santé (SNDS) et l'auto-déclaration d'un SCC au cours des 12 derniers mois.

Les MEE Matgéné (Santé publique France) et JEM Constances (Inserm/USA) seront respectivement utilisées pour estimer les expositions professionnelles au cours de la carrière professionnelle des travailleurs à des agents chimiques neurotoxiques (trichloréthylène, benzène, etc.) et à des contraintes biomécaniques (répétitivité des actions, torsion du poignet, etc.). Les emplois sont disponibles dans les calendriers professionnels et codés selon les nomenclatures PCS 2003 et NAF 2008. Un travail de transcodage des nomenclatures PCS et NAF dans les nomenclatures utilisées par les MEE Matgéné (PCS 1994 et NAF 2000) sera effectué. Un score cumulé d'exposition aux agents chimiques et aux contraintes biomécaniques sera calculé pour l'ensemble de la carrière professionnelle. Ces scores seront étudiés de manière continue et dichotomique.

L'association entre la co-exposition aux agents chimiques neurotoxiques et aux contraintes biomécaniques et le SCC (opération et déclaration) sera étudiée par des modèles de Poisson avec estimation robuste de la variance. Les facteurs reconnus dans la littérature comme étant associés au SCC seront pris en compte, notamment l'âge, la consommation d'alcool, et le diabète. Les modèles seront stratifiés sur le genre afin de tenir compte des différences de prévalence d'exposition professionnelle et de l'incidence du SCC entre les hommes et les femmes.

## **Partenariat**

### **CHU Angers, Service Pathologie professionnelle**

Responsable de l'équipe : M. Yves Roquelaure

### **CHU de Rennes, Service de Santé publique et épidémiologie**

Responsable de l'équipe : M. Ronan Garlantezec

### **Université de Montpellier, Hôpital de la Colombière, Unité Inserm 1061**

Responsable de l'équipe : Mme Claudine Berr

### **Washington University - St. Louis, Missouri, USA**

Responsable de l'équipe : M. Bradley Evanoff

# Résumé PopsDim - 2021\_1\_020

## Exposition alimentaire aux perturbateurs endocriniens, individuellement et en mélanges, et le risque d'obésité, diabète de type 2, cancer du sein et la mortalité: primer étude Européen

Mme Francesca Romana Mancini

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

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 772 € TTC

### Objectif détaillé

Objective 1) to estimate and validate dietary exposure to endocrine disruptors chemicals (EDCs), classified as persistent organic pollutants, in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study and to identify profiles of dietary exposure to chemical mixtures; ("cocktails");

Objective 2) to investigate the relationship between dietary exposure to EDCs, individually and as mixtures, and the risks of obesity, type 2 diabetes (T2D), breast cancer (BC), and overall mortality.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

A unique aspect of our study is the access to the multi-centric EPIC cohort: a very large prospective cohort including over 500K individuals from 10 European countries for which high quality dietary information and long follow-up are available. In order to estimate dietary exposure to EDCs (namely dioxins, polychlorinated biphenyls (PCB), perfluoroalkyl substances (PFAS), flame retardants (BFR), organochlorine pesticides (OCP), and polycyclic aromatic hydrocarbons(PAH)) we will use food contamination data provided by the European food safety authority (EFSA) with which an agreement has already been approved. By using and consolidating existing data, the present project will allow exploiting the full potential of the EPIC database by interconnecting it with the EFSA database. The sharing and re-use of these data will thus reduce the cost of research and promote development of new interdisciplinary results.

This study will be the first large-scale cohort study investigating EDCs dietary exposure across Europe and will contribute to better understand the relation between the exposure to EDCs, individually and as mixtures, and some of the major health issues affecting modern society; namely obesity, T2D, and BC.

### Questions de recherche

*PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une même 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...).*

PE 6: We will focus on EDCs which are persistent and magnify along the food chain and for which diet represents the main source of exposure for the general population. The developed database will represent an extremely useful tool that will have long-lasting utility beyond the objectives of the current project; the resulting database for EDCs dietary exposure should be considered as a gold mine for investigating further research questions related to chemical exposures in relation with other diseases (e.g. cardio-vascular diseases, other cancers, neurodegenerative diseases).

PE 4: Cutting edge statistical approaches, such as Cluster Analysis, Principal Component Analysis, Non-Negative Matrix Factorization, Sparse non-negative matrix under-approximation (SNMU), will be implemented and adapted to an epidemiological setting in order to identify the chemical mixtures to which the population is realistically exposed through the diet and investigate the impact on health.

### Description des méthodes mises en œuvre

Study population: EPIC is a multi-centre prospective cohort investigating the role of lifestyle and environment on health. Briefly, 521,448 adult volunteers were recruited (1992-2000) in 10 European countries. Detailed baseline information, including dietary records and several biological samples, was obtained from each participant at enrolment. The usual dietary intake at baseline was recorded using country-specific validated food frequency questionnaires (FFQ).

EDCs occurrence database: a close collaboration has been established with EFSA, which has already provided food contamination data for dioxins, PCB, OCP, and PAH, and has agreed for sharing data on PFAS and BFR.

EDCs dietary exposures: food items in the EPIC consumption database have already been entirely re-coded following the FoodEx system developed by EFSA, in order to allow the merge with the EFSA EDCs databases. Dietary exposure to dioxins and PCB has already been estimated for the entire EPIC cohort demonstrating the feasibility of this approach. Dietary exposures to the remaining EDC included in the study will be estimated for the entire EPIC cohort and profiles of dietary co-exposure to mixtures will be identified implementing different advanced statistical approaches. (Year 1-2)

The validity of the dietary exposure estimates will be validated by investigating the association between dietary exposure estimates and EDC internal biomarkers of exposures, already available for a subgroup of EPIC cohort (regression analyses adjusting for confounding factors). (Year 2)

Epidemiological analyses: the relationship between dietary exposures to EDCs, individually and as mixtures, with obesity (n~ 70000), T2D (n~15000), BC (n~19000), and overall mortality (n~ 42000) risk will be estimated with adjusted Cox multivariable regression models. (Year 2-3)

### Partenariat

**Inserm, Gustave Roussy, U1018 "Health across Generations" – Villejuif**

Responsable de l'équipe : Mme Francesca Romana Mancini

**Centre International de Recherche sur le Cancer – Lyon**

Responsable de l'équipe : Mme Inge Huybrechts

# Résumé ReMéta5G - 2021\_2 RF\_014

## Recherche de signatures Métabolomiques d'Exposition à la 5G

M. Yves Le Dréan

Université de Rennes 1, IRSET Inserm U1085 - Rennes

**Projet complet - 36 mois**

**Budget : 199 992 € TTC**

### Objectif détaillé

Prochainement la 5G millimétrique – enjeu de souveraineté nationale et filière prioritaire dans le cadre des stratégies d'accélération prévues dans le PIA-4 – utilisera des fréquences autour de 26 GHz (bande couvrant typiquement le spectre 24-30 GHz, selon les pays). Ces fréquences sont caractérisées par un pouvoir de pénétration très limité dans l'organisme et la grande inconnue les concernant est leur possible effet systémique. Autrement dit, ce type d'exposition peut-il engendrer une réponse physiologique globale ? Cette hypothèse part du principe qu'une exposition restreinte à la peau peut quand même transmettre un signal au reste du corps via l'excitation du système nerveux périphérique, ou via la libération de molécules dans la circulation sanguine. Le projet ReMéta5G a donc pour objectif de vérifier si un tel mécanisme est possible. Premièrement nous modifierons notre système d'exposition in vivo en millimétrique, de façon à pouvoir exposer des souris autour de 26 GHz. Ensuite la réponse physiologique à l'exposition sera analysée via l'apparition éventuelle de marqueurs métaboliques dans les urines, le sang et le cerveau des animaux. Le criblage se fera sans a priori, grâce à une approche métabolomique haut-débit. Ce projet inédit permettra d'évaluer si une réponse physiologique est envisageable, ou non, suite à des expositions aiguës ou semi-chroniques à des fréquences 5G dont l'innocuité n'a pas encore été étudiée.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

ReMéta5G associe les méthodes d'exposition in vivo aux ondes millimétriques avec des méthodologies récentes de criblage métabolomique. C'est la première fois que des expositions d'animaux entiers aux hautes millimétriques de la 5G pourront être corrélées à la recherche de signatures physiologiques moléculaires. Ce projet novateur apportera des connaissances scientifiques sur un thème très peu étudié jusqu'à présent. Le rapport préliminaire de l'ANSES sur la 5G souligne le manque criant de données à 26 GHz. De même, peu d'études se sont intéressées aux possibles effets systémiques des ondes utilisées en télécommunication, pourtant la littérature consacrée aux effets thérapeutiques des ondes millimétriques laisse penser qu'un tel mécanisme est plausible. Cet ambitieux projet sera rendu possible car notre consortium regroupe de nombreuses compétences scientifiques complémentaires (physique, électronique, chimie, biochimie, biologie cellulaire et neurophysiologie).

### Questions de recherche

*RFES 2.1.3 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur le métabolisme (dosages métabolomiques) ;*

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

La 5G modifiera les situations d'exposition (objets connectés, tablettes, réseaux privés 5G, ...) ce qui pose question quant à l'effet sur les utilisateurs. ReMéta5G s'articule autour d'études in vivo sur les réponses physiologiques aux radiofréquences en ciblant le métabolisme d'organismes soumis à des situations d'expositions 5G. Nous proposons la mise en œuvre d'analyses métabolomiques sur des échantillons biologiques caractéristiques d'un milieu circulant (le sang), d'une sécrétion (l'urine), mais également d'un organe (le cerveau). Nos travaux contribueront au développement d'un axe de recherche innovant sur les effets physiologiques des radiofréquences. En cas de succès, l'élaboration d'une méthode de dosage de métabolites cibles chez l'animal devrait permettre d'établir les bases d'un protocole de diagnostic chez l'humain.

### Description des méthodes mises en œuvre

Notre groupe possède une chambre réverbérante spécifique compatible avec l'expérimentation animale et fonctionnant en bande V (aux alentours de 60 GHz). Le système d'exposition sera modifié et requalifié pour le rendre opérationnel dans les bandes de fréquences qui seront utilisées par la 5G. Cette chambre est unique puisqu'elle permet aux animaux de s'y mouvoir librement. De plus, elle intègre notamment des interfaces spécifiques permettant d'acheminer l'énergie en minimisant les pertes, des ouvertures transparentes optiquement, un système de renouvellement d'air permettant de s'affranchir des effets thermiques et une caméra infra-rouge permettant le contrôle de la dosimétrie. La recherche d'une signature moléculaire de l'exposition s'effectuera par criblage haut-débit en métabolomique sur les fractions hydrosolubles et lipophiles dans les fluides biologiques (sang et urine) et au sein de l'organe sélectionné (cerveau), par couplage de la Chromatographie Liquide (UPLC) avec la Spectrométrie de Masse de Haute Résolution (HRMS). Après caractérisation structurale des marqueurs moléculaires d'exposition mis en évidence, un dosage spécifique de leur présence dans ces milieux biologiques sera réalisé par UPLC-MS-MS (spectrométrie de masse en tandem). Les résultats seront complétés par la localisation in situ des métabolites sur des coupes de cerveau par imageries MALDI-FTICR et DESI.

Tâche 1 (mois 1 à 12) : Modification de la chambre réverbérante existante. Méthodes d'exposition et dosimétrie associée

Tâche 2 (mois 12 à 18) : Exposition in vivo des souris. Récupération des échantillons pour analyses.

Tâche 3 (mois 18 à 36) : Analyses métabolomiques non ciblées des fluides biologiques (sang et urines) et des extraits de régions cérébrales. Localisation in situ sans a priori sur le cerveau par imagerie par spectrométrie de masse.

### Partenariat

#### Université de Rennes 1, IRSET Inserm U1085 – Rennes

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

#### Université de Rennes 1, IETR (UMR 6164 CNRS) – Rennes

Responsable de l'équipe : M. David Rondeau

#### Irset Protim, IRSET Inserm U1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Charles Pineau

# Résumé RFM Expo - 2021\_2 RF\_025

## Radiofréquences et femmes enceintes : spécificité et modulation de l'exposition

M. Frédéric Mauny

CHU - Hôpital Saint-Jacques, Centre de méthodologie clinique - Besançon

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 994 € TTC

### Objectif détaillé

1. Évaluer l'exposition des femmes enceintes aux radiofréquences (RF) y compris pour les bandes de fréquences de la 5ème génération (5G) récemment déployée en France ;
2. Quantifier l'évolution de cette exposition au cours de la grossesse ;
3. Évaluer la contribution des différentes bandes de fréquences dans le cadre d'éventuel cumul d'exposition (tablettes, téléphone, nouvelles technologies de communication, objets connectés...).

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le niveau d'exposition aux RF a fait l'objet d'études internationales en population générale, auprès d'adolescents, de jeunes adultes et de leurs parents (étude GERoNiMo, HERMES, SCAMP...), mais peu chez la femme enceinte. Le déploiement en France de la technologie de communication 5G, va modifier les habitudes de consommation de données et les modalités d'exposition de la population. Il est donc nécessaire d'adapter les méthodes de mesure et d'évaluation de l'exposition de la population aux RF. De plus, les modalités d'utilisation alternatives (kit mains libre, haut parleur, mini écouteur...) ont déplacé l'exposition initialement centrée sur la tête vers d'autres zones dont l'abdomen, en particulier pour les gros utilisateurs de téléphone mobile. Les femmes enceintes font partie d'une population vulnérable, la grossesse constitue une période particulière avec des changements physiologiques, comportementaux, sociétaux et professionnels majeurs. Par ailleurs, la plupart des études d'exposition aux RF repose sur une période de mesure unique. Cette étude permettra de quantifier l'éventuelle fluctuation de l'exposition au cours de la grossesse.

### Questions de recherche

*RFES 4.1 - Recherche sur les protocoles de mesure possibles pour les bandes 3,5 GHz et 26 GHz et pour les technologies associées (antennes actives, petites cellules, etc...).*

*RFES 4.2 - Recherche 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 - Recherche sur la caractérisation de l'exposition des personnes dans le cadre du cumul d'expositions : CPL, nouvelles technologies de communication, objets connectés, transports autonomes et connectés...).*

L'étude porte sur les spécificités de l'exposition aux RF chez les femmes enceintes, son évolution durant la grossesse et la quantification de la contribution des différentes sources d'émission de RF auxquelles elles sont exposées (RFES 4.2).

La grossesse présente des périodes critiques en lien avec les différents stades d'évolution du fœtus (embryogenèse, croissance...). En fonction du stade de la grossesse, les potentiels effets biologiques

de l'exposition aux RF peuvent varier, supposant une sensibilité différente aux RF. Il est donc essentiel de connaître les possibles fluctuations d'exposition au cours de la grossesse.

Des dosimètres capables de mesurer les bandes de fréquences relatives à la 5G actuellement en cours de déploiement en France seront employés (RFES 4.1). L'utilisation de dosimètres combinée au remplissage d'un journal d'activité permet une prise en compte des multiples sources d'exposition aux RF (DECT, WiFi, micro-ondes...), pour une évaluation globale de l'exposition quotidienne (RFES 4.1, 4.3). Les consultations prénatales, le suivi et l'accouchement assurés au CHU simplifient le recrutement et l'accès aux données sanitaires.

### Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet s'inscrit dans la suite des programmes PrémaBqua (PNREST 2012 Anses) et SPUTNIC (PR 2017RF). Un échantillon sera recruté parmi les 1500 femmes enceintes effectuant leur première consultation prénatale à la maternité du CHU de Besançon chaque année.

Trois campagnes de mesures seront réalisées (une par trimestre de grossesse) à l'aide de dosimètres (ExpoM-RF4, Fields at Work GmbH), portés pendant au moins 72 h. Les fréquences mesurées, entre 50 MHz et 6 GHz, permettent de détecter la plupart des services de communication et diffusion sans fil, aussi bien en intérieur qu'en extérieur. Les sujets rempliront un journal d'activité décrivant le mode d'utilisation des appareils radioélectriques. La collecte sera conduite à l'aide d'auto questionnaires remplis au cours des consultations prénatales programmées au CHU et via une Web plateforme. La mobilité et l'activité physique seront évaluées à l'aide d'un bracelet d'activité porté sur la même période, permettant ainsi d'évaluer un éventuel impact des changements de la mobilité aux cours de la grossesse (en particulier le dernier trimestre) sur l'exposition aux RF. L'adresse des mères ainsi qu'une géolocalisation via le GPS intégré au dosimètre permettront d'évaluer leur position par rapport au réseau d'antennes relais.

Un échantillon témoin (femmes non enceintes) sera suivi dans les mêmes conditions.

Mois 1–2 : Demande des autorisations réglementaires, signature des conventions.

Mois 12–24 : Recrutement des participantes, campagnes de mesure, recueil des informations personnelles, gestion des données

Mois 24–36 : Analyse statistique, communication et diffusion des résultats

### Partenariat

#### **CHU - Hôpital Saint-Jacques, Centre de méthodologie clinique – Besançon**

Responsable de l'équipe : M. Frédéric Mauny

#### **Swiss TPH, Epidemiology and Public Health – Bâle, Suisse**

Responsable de l'équipe : M. Martin Rössli

#### **CHU Jean Minjoz, Service Gynécologie obstétrique – Besançon**

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Mottet



# Résumé SPICE - 2021\_1\_199

## Développement d'approches Spectroscopiques pour la Caractérisation qualitative et quantitative des microplastiques dans l'Environnement

M. Emmanuel Joussein

Université de Limoges, PEIRENE-EAU E2Lim - Limoges

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 695 € TTC

### Objectif détaillé

Il existe un grand nombre d'études sur les  $\mu$ plastiques dans les océans et les fleuves. Cependant, selon l'agence européenne des produits chimiques, les  $\mu$ plastiques risquent davantage de s'accumuler dans les sols (4 à 20 fois plus) que dans les océans. Par conséquent, le sol représente un milieu accumulateur mais également un terme source important qui contribue fortement à la présence de  $\mu$ plastiques dans les océans, surtout avec l'augmentation des pluies flash violentes (lessivage, érosion des sols vers les milieux aqueux) liée aux changements climatiques. Dans les sols, ces  $\mu$ particules peuvent persister, s'accumuler et affecter le fonctionnement et la biodiversité du sol et donc des écosystèmes (Rillig & Lehmann, 2020). De plus, leurs fragmentation et dégradation évoluent avec le temps, tant sur le plan physique que chimique, devenant ainsi le siège d'interactions avec d'autres éléments du sols (de Souza Machado, 2017), e.g. nutriments, contaminants métalliques ou organiques (pesticides, résidus médicamenteux). Par conséquent, ce thème de haute importance, mais encore mal connu, mérite une attention accrue de la part des décideurs politiques et des autorités réglementaires. La raison de cette méconnaissance réside dans la difficulté à déterminer la quantité de matériaux très divers et à base carbonée dans un milieu solide, complexe et composé d'un mélange de matières organiques et minérales. A partir de cette problématique et fort du consortium impliqué, l'objectif de cette étude de faisabilité est de caractériser les différents types de  $\mu$ plastiques tant qualitativement que quantitativement par des approches spectroscopiques, en particulier par  $\mu$ scopie CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) ou  $\mu$ CARS. Cette technique d'imagerie disruptive, dont le consortium dispose, n'a pas encore été développée pour cette application (bien que souvent mentionnée dans les articles sur les  $\mu$ plastiques comme prometteuse, Lee & Chae, 2021) alors qu'elle permet de s'affranchir de la fluorescence (phénomène parasite majeur en Raman) et donc de caractériser aisément et rapidement tout échantillon polymère quel que soit son état, sa nature ou sa couleur.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le principal caractère novateur/original réside dans l'utilisation et le développement de la technologie  $\mu$ CARS, qui sera une première dans le domaine des  $\mu$ plastiques. Nouvelle génération de microscopie Raman, le  $\mu$ CARS permet de s'affranchir de la fluorescence tout en accélérant la prise de mesure grâce à une double excitation de l'échantillon par laser infrarouge. Cela donnera accès à des résultats précis, qualitatifs et quantitatifs, et très rapides, tout en permettant de discriminer la matière organique des sols (traitement du signal) voir d'évaluer l'effet de la (photo)dégradation. Il sera possible d'estimer l'efficacité de la technique  $\mu$ CARS au travers de (i) la quantification et qualification de la signature des composés et (ii) la comparaison à d'autres techniques :  $\mu$ FTIR (MCT multi pixel/4000 à

700 cm<sup>-1</sup>) dont un logiciel de cartographie et de quantification a été développé, ATD-TG, Py GC-MS et microscopie électronique. Il est aussi envisagé, en raison de la sensibilité du  $\mu$ CARS, de suivre la dégradation (bord vs cœur) de la particule plastique et donc ses modifications structurales (i.e. réactivité) dans les sols. Sous réserve d'acceptation d'un proposal, nous comparerons aussi avec les données FTIR sur synchrotron (ligne SMIS sur Soleil).

In fine, en fonction des résultats et de la qualité spectrale obtenue, cette méthode spécifique pourrait permettre d'évaluer la dynamique des  $\mu$ plastiques dans le sol, très peu étudié actuellement.

### Questions de recherche

*CoEM 1 - Cas des micro-plastiques : métrologie des micro-plastiques dans les différents compartiments environnementaux (sol, air, milieux aquatiques, biotope...) ; caractérisation des dynamiques des micro-plastiques et des substances chimiques associées entre ces différents compartiments ; persistance des agents pathogènes à la surface des micro-plastiques ; risques induits pour l'homme et l'environnement.*

La question mentionnée est relative à la caractérisation des  $\mu$ plastiques, leurs dynamique et interactions avec les substances chimiques dans les sols : la méthode vibrationnelle développée sera in fine également applicable aux autres compartiments eau, air. Les résultats permettront une avancée notable dans la détermination tant qualitative que quantitative de la nature de ces particules, la mise en évidence de signature spécifique, hors contribution des matières organiques des sols, et leur devenir temporel dans le sol (processus d'altération et redistribution). Cette technique est novatrice puisque nous sommes le seul consortium français à proposer le  $\mu$ CARS pour répondre à cette problématique. Les résultats obtenus seront inédits et rapidement acquis (spécificité de la méthode) permettant une avancée importante en termes de connaissances.

### Description des méthodes mises en œuvre

Echantillonnage: (i) séparation des  $\mu$ plastiques de sols par trie granulométrique, densimétrique, flottation, filtration, ou concentration (Lee & Chae, 2021); (ii) support pour analyse

Caractérisation:  $\mu$ CARS,  $\mu$ FTIR, ATD-TG, Py-GC-MS, microscopie électronique à balayage environnementale (MEB-EDS-env)

Il est proposé de recruter 1 post-doc tournant de 6 mois et 3 Masters.

Découpage en Tâches (avec superposition) sur 24 mois

**Tâche 1:** prélèvement de sols agricoles et viticoles connus pour la présence de  $\mu$ plastiques du fait de leur gestion/traitement et caractérisation physicochimique; 1 mois

**Tâche 2:** développement d'une méthode d'extraction spécifique des  $\mu$ plastiques; 9 mois

**Tâche 3:** caractérisation qualitative et quantitative des  $\mu$ plastiques; 14 mois

Développement  $\mu$ CARS pour les  $\mu$ plastiques

Analyse et traitement du signal

Comparaison avec d'autres techniques:  $\mu$ FTIR, ATD-TG, Py-GC-MS, MEB

**Tâche 4:** comparaison avec la littérature et publications

### Partenariat

**Université de Limoges, PEIRENE-EAU E2Lim – Limoges**

Responsable de l'équipe : M. Emmanuel Joussein

**Université de Limoges, Laboratoire XLIM**

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leproux

**Université Paris Saclay, UMR 8148 GEOPS – Orsay**

Responsable de l'équipe : Mme Alexandra Courtin

# Résumé TIQoJARDIN - 2021\_1\_050

## Risque lié à la présence de TIQues dans les JARDINs privés en zone urbaine et péri-urbaine

Mme Laure Bournez  
ANSES, Laboratoire de Nancy - Malzeville

Projet complet - 36 mois  
Budget : 126 298 € TTC

### Objectif détaillé

Les tiques, premier vecteur de maladies infectieuses en Europe, sont présentes dans la plupart des espaces de nature, y compris en ville, mais le risque sanitaire qu'elles représentent autour des habitations est peu connu. Ce projet vise à (1) évaluer le risque lié aux tiques pour l'être humain dans les jardins privés en zones urbaines et péri-urbaines selon deux de ses composantes, le danger (abondance des tiques infectées) et l'exposition humaine (fréquence de piqûres de tiques) ; (2) déterminer les variables écologiques et anthropologiques qui influencent ces deux composantes. Il s'agira notamment de quantifier l'influence respective des conditions écologiques extrinsèques liées à l'environnement autour des jardins (fragmentation et connectivité des milieux favorables aux tiques et à leurs hôtes, degré d'urbanisation,...), des conditions écologiques intrinsèques propres à chaque jardin (végétation, pratiques d'aménagement...). Les résultats permettront d'élaborer un outil de prédiction des jardins favorables aux tiques et d'adapter des stratégies de prévention.

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité du projet porte sur :

- i. l'étude du risque lié aux tiques dans les jardins privés et de ses déterminants, très peu analysé jusqu'à maintenant en Europe. Il n'existe en effet qu'une étude en Europe incluant seulement 20 jardins et aucune étude en France, alors que 30% des piqûres sont déclarées dans ces milieux (France, Suisse, Pays-Bas, Belgique);
- ii. l'approche participative qui va mobiliser les usagers aux côtés de chercheurs spécialistes en écologie et en épidémiologie, en s'appuyant sur l'aide d'un partenaire facilitateur médiateur scientifique, chargé d'animer le réseau des acteurs du projet. Les usagers seront impliqués à différentes étapes du projet en s'appuyant sur la plateforme Tous Chercheurs de Nancy ;
- iii. la proposition in fine de pistes pour améliorer la prévention et l'aménagement des jardins à risque, s'appuyant sur les résultats du projet et co-construites avec les usagers, donc a priori plus acceptables et faciles à mettre en œuvre par ces derniers.

### Questions de recherche

*SHS 1 - Contributions citoyennes (savoirs profanes, lancements d'alerte, veille scientifique, dispositifs de vigilance, exploitation de l'open-data, recherches participatives) :*

- aux processus d'expertise et à la production de connaissances, y compris dispositifs de surveillance, en santé-environnement,
- aux processus de gestion des crises sanitaires et environnementales, dont les épidémies de maladies infectieuses.

*LAVE 1 - Vecteurs et santé animale ou végétale, vecteurs et santé humaine : biologie, écologie, distribution des vecteurs, relation hôte-pathogène, surveillance des vecteurs, détection (relations agent*

*pathogène - pathogénicité ; vecteur sentinelle...), exposition différenciée, résistance, dynamique des maladies vectorielles (dont zoonotiques) et changements climatiques. Rôle de la faune et de la flore sauvage dans la diffusion de ces maladies.*

Face à l'augmentation du nombre de cas de maladies vectorielles à tiques, dont la maladie de Lyme, les citoyens de tous pays s'inquiètent et interpellent leurs gouvernements pour une mise en œuvre de politiques de prévention plus efficaces. Pour ce faire, il est primordial d'améliorer la caractérisation du risque lié aux tiques dans une démarche intégrative One Health, en particulier dans les jardins privés des zones urbanisées, très fréquentées, qui contrairement aux idées reçues ne sont pas indemnes de tiques. Il est aussi indispensable de mieux comprendre les facteurs écologiques et anthropologiques qui influencent ce risque. L'approche participative proposée dans ce projet vise à réaliser la première enquête dans une métropole européenne sur un grand échantillon de jardins permettant d'évaluer le risque lié aux tiques dans ces milieux et de proposer des pistes d'amélioration de la prévention.

### Description des méthodes mises en œuvre

L'étude sera réalisée au sein de la métropole du Grand Nancy et des communes environnantes. La densité de tiques infectées sera mesurée dans 200 à 300 jardins aux printemps 2021 et 2022 (période du pic d'activité des tiques), via une collecte réalisée par les citoyens. Le réseau de participants sera constitué par prospection, en s'appuyant sur les contacts déjà établis par P4, P3, P5 via le programme de recherche participative CiTIQUE et son réseau d'associations et de municipalités. Le taux d'infection des tiques (600 tiques) sera mesuré en 2022 par une approche de PCR en temps réel microfluidique développée par P2, qui permet de rechercher simultanément 48 agents pathogènes. La fréquence de piqûres de tiques chez l'humain dans ces mêmes jardins sera mesurée par des enquêtes individuelles .

Les variables intrinsèques liées aux caractéristiques paysagères du jardin, à la présence d'hôtes animaux des tiques, aux pratiques d'aménagement et à la fréquentation humaine seront collectées via des questionnaires individuels. Les variables extrinsèques liées à l'environnement autour du jardin (proximité de bois, degré d'urbanisation) seront mesurées à l'aide de bases de données paysagères existantes. Leurs effets sur la présence et la densité de tiques, dont les tiques infectées, et sur la présence/nombre de piqûres chez l'humain seront testés par des analyses multivariées (modèles de régression type GLM) par P1 en 2022-2023.

L'analyse des résultats et la proposition de recommandations en termes de prévention vis-à-vis du risque dans les jardins feront l'objet d'ateliers de co-construction avec les chercheurs et les usagers qui seront organisés par P3 et P4 en 2023.

### Partenariat

#### **ANSES, Laboratoire de Nancy – Malzeville**

Responsable de l'équipe : Mme Laure Bournez

#### **Anses, LSAN – BIPAR – Maisons-Alfort**

Responsable de l'équipe : Mme Sara Moutailler

#### **Inra, UMR 1136 IAM, INRAE – Université Lorraine – Champenoux**

Responsable de l'équipe : M. Jonas Durand

#### **CiTIQUE – Champenoux**

Responsable de l'équipe : Mme Irene Carravieri

#### **Inrae, UMR 0346 EPIA – Ceyrat**

Responsable de l'équipe : Mme Gwenaël Vourc'h

# Résumé ToxiPulFraCAm - 2021\_1\_137

## Etude comparative de la toxicité pulmonaire de fragments de clivage d'actinolite et de fibres d'amiante

M. Didier Jean

Centre de Recherche des Cordeliers - INSERM UMRS - Paris

Projet complet - 24 mois

Budget : 199 925 € TTC

### Objectif détaillé

Les minéraux silicatés asbestiformes (amiante) se différencient des non asbestiformes (non-amiante) par leur mode de croissance. Les asbestiformes sont des fibres ayant l'apparence de cheveux, de largeur relativement constante, alors que les non-asbestiformes

sont généralement plus courtes et plus épaisses. Les effets sanitaires induits par les formes asbestiformes sont bien connus (fibrose et cancers), et sont classés cancérigènes avérés pour l'homme. Lorsqu'une contrainte mécanique est appliquée aux non asbestiformes, la fracturation engendre des particules plus ou moins allongées appelées «fragments de clivage». Des fragments de clivage (FC) d'actinolite ont été identifiés dans des granulats d'enrobés routiers. L'absence de données épidémiologiques et toxicologiques sur les FC seuls a conduit l'ANSES à recommander de «conduire des études de toxicologie, en utilisant des échantillons de particules allongées rigoureusement caractérisés (1).»

L'objectif de la présente étude est d'évaluer la toxicité pulmonaire de FC d'actinolite comparativement à l'actinolite-asbestiforme in vivo chez le rat. Cette étude toxicologique devrait permettre de répondre à la question: les FC ayant les dimensions d'une fibre OMS ( $L > 5\mu\text{m}$ ,  $d < 3\mu\text{m}$ ,  $L/d > 3$ ) ont-ils des effets biologiques différents de leurs homologues asbestiformes ?

### Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité réside:

1. sur la question posée car très peu de données toxicologiques existent sur les effets comparatifs des FC à des fibres d'amiante

2. sur l'association d'équipes complémentaires pluridisciplinaires : toxicologie expérimentale spécialisée dans la toxicité des particules, et génomique spécialisée sur les pathologies de l'amiante (ex : mésothéliome).

Un autre aspect novateur de ce projet est qu'il associe l'analyse de biomarqueurs existants, sélectionnés sur les AOP (Adverse Outcome Pathways) fibrose et cancer, à une analyse haut débit de l'expression des gènes ainsi que de leur régulation épigénétique. Cela permettra d'alimenter les données de toxicité sur des particules d'actinolite-amiante et non amiante, encore très rares à ce jour.

### Questions de recherche

*FMIN 1 - Protocoles de mesurage, évaluation des expositions et effets sanitaires de particules minérales allongées d'intérêt (PMAi au sens de l'ANSES).*

Les FC étant des PMAi (Particules Minérales Allongées d'intérêt), ce projet déterminera les relations entre les caractéristiques des PMAi et leurs effets biologiques pour évaluer les risques sanitaires d'exposition environnementale et professionnelle aux PMAi.

Un échantillon de FC d'actinolite exempt de fibres d'amiante, avec un pourcentage le plus élevé possible de particules aux dimensions des fibres OMS, fourni par le Bureau de Recherches Géologiques et Minières, et de l'actinolite-amiante fournie par l'Union des Laboratoires de Santé du Bâtiment, ont été administrés dans des poumons de rats (6 rats par groupe), euthanasiés 24h et 3 mois après exposition. Pour chaque temps, les animaux ont été répartis en 4 groupes: (i) contrôle; (ii) actinolite-amiante (600µg/rat/instillation x 5 instillations); (iii) FC à poids égal par rapport à l'amiante et (iv) FC à nombre équivalent de fibres, pour un total de 48 rats. Des biomarqueurs d'effets pulmonaires toxiques choisis sur la base des AOP fibrose et cancer (stress oxydant, inflammation, apoptose, lésions ADN, collagène), sont en cours d'analyse actuellement.

Dans le présent projet, nous poursuivrons ces investigations par des analyses histopathologiques et de biopersistance des FC en comparaison à celles des fibres d'amiante. De plus, nous étudierons l'effet de l'exposition au niveau transcriptomique et épigénétique par des techniques de séquençage de nouvelles générations (NGS) sur le poumon afin d'identifier les effets moléculaires et cellulaires de l'exposition.

### Description des méthodes mises en œuvre

Tâche T1: Analyses histopathologiques (Partenaire [Part.] 2; mois 1)

T2: Analyse de la biopersistance (Part. 2; mois 2-7)

T3: Préparation des acides nucléiques à partir des lobes pulmonaires congelés (Part. 1; mois 8)

T4: Analyse du transcriptome par RNA-Seq. Cette analyse permettra de déterminer les gènes différentiellement exprimés (DE) entre les poumons de rats exposés aux FC et ceux des contrôles en comparant à ceux exposés à l'amiante. Une analyse des voies de signalisation sera réalisée sur les gènes DE pour identifier les voies impactées en fonction de l'exposition. L'infiltration des poumons par des cellules immunes sera également estimée en utilisant l'outil mMCP transposé au rat (Petitprez et al., PMID: 33023656) (Part. 1; mois 8-12).

T5: Analyse du Méthylome et du miRNome par Methyl-Seq et miRNA-Seq permettant de déterminer l'effet de l'exposition sur le profil de méthylation global et l'expression des miRNA. La contribution des mécanismes épigénétiques sur les gènes DE sera évaluée (Part. 1; mois 13-17).

T6: Validation par analyse des expressions protéiques des membres clés des voies de signalisation dérégulées et des populations immunes les plus impactées par l'exposition en utilisant d'autres lobes pulmonaires congelés (Western Blot, Elisa...) ou inclus en paraffine (immunohistochimie) des mêmes rats (Part. 2; mois 17-21).

T7: Valorisation des résultats (Part. 1 et 2; mois 21-24).

### Partenariat

**Centre de Recherche des Cordeliers - INSERM UMRS – Paris**

Responsable de l'équipe : M. Didier Jean

**Ineris – Verneuil-en-Halatte**

Responsable de l'équipe : Mme Benedicte Trouiller

## Résumé UTILE - 2021\_1\_018

### Exploration et utilisation des levures environnementales comme moyen de lutte anti-vectorielle contre le moustique tigre

Mme Patricia Luis

Université Claude Bernard Lyon1 UMR CNRS 5557/INRAE 1418 Ecologie Microbienne - Villeurbanne

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 45 682 € TTC

#### Objectif détaillé

Le moustique tigre *Aedes albopictus* a rapidement étendu son aire de répartition mondiale et est considéré aujourd'hui comme l'une des espèces les plus invasives. Ce fort pouvoir invasif associé à sa capacité à transmettre de nombreux pathogènes (virus, filaires) à l'Homme et aux animaux en font un problème majeur de santé publique. L'implication de ce moustique dans plusieurs épidémies de dengue et de chikungunya à travers le monde et dans des cas autochtones d'arboviroses dans des pays jusque-là épargnés a poussé l'Assemblée Nationale à promouvoir en juillet 2020 la mise en place d'une politique forte de prévention et de sensibilisation des français à ce risque. L'absence de vaccins contre la plupart des virus transmis et de moyens de contrôle efficaces pour enrayer la prolifération du moustique impose de développer de nouvelles stratégies de lutte anti-vectorielle. Plusieurs études ont démontré que la supplémentation du CO<sub>2</sub> par certains composés organiques volatils (COVs) d'origine levurienne permet d'accroître l'attractivité des pièges vis-à-vis des moustiques anthropophiles. Cependant, les connaissances relatives au potentiel attractif/répulsif des levures environnementales restent limitées. Dans ce contexte, nous proposons (i) d'estimer la diversité des levures présentes dans l'environnement du moustique tigre (ii) de caractériser le pouvoir attractif ou répulsif d'isolats de levures et (iii) d'identifier les COVs (kairomones) à l'origine de ces modifications du comportement chez l'insecte.

#### Originalité et/ou caractère novateur du projet

La destruction des gîtes larvaires parfois inaccessibles et l'utilisation répétée d'insecticides qui engendre l'apparition de résistances chez le moustique tigre n'ont pas permis d'enrayer son expansion. Il apparaît aujourd'hui indispensable d'approfondir nos connaissances sur l'écologie de ce moustique et plus particulièrement sur l'influence qu'ont certains microorganismes de l'environnement sur son comportement au travers de médiateurs chimiques émis. Dans ce projet sera caractérisée pour la 1<sup>ère</sup> fois la composition des communautés de levures associées aux fleurs (source de nourriture commune aux mâles et femelles) et aux eaux stagnantes (gîtes de ponte potentiels) qui sont systématiquement visités ou évités par le moustique tigre. Ceci permettra de sélectionner des levures à fort pouvoir attractif ou répulsif et de caractériser les kairomones impliquées dans les modifications comportementales du moustique afin de les utiliser comme attractants dans des pièges ou répulsifs chimiques.

## Questions de recherche

*LAVE 2 - Lutte anti-vectorielle : nouvelles substances actives et produits biocides, développement de technologies innovantes (lutte biologique, lutte génétique...) sans exclure l'optimisation des méthodes de piégeage et large spectre ; efficacité de la lutte anti vectorielle (indicateurs de type coût efficacité ou bénéfices-risques) ; prise en compte des facteurs de pratiques culturelles, d'élevage, de la proximité entre les espèces sauvages, les espèces domestiques et les humains et de l'acceptabilité des populations lors de l'utilisation des nouvelles substances et/ou produits sur le terrain.*

Ce projet contribue à approfondir nos connaissances sur l'écologie du moustique tigre en améliorant notre compréhension des signaux chimiques émis par les levures présentes dans l'environnement du moustique et leur influence sur son comportement en termes de choix (source de nourriture et gîte de ponte). Cette étude offre des perspectives concrètes de lutte anti-vectorielle en apportant des informations permettant (i) de mieux gérer les sources de nourriture favorables au développement du moustique (favoriser la culture de plantes répulsives) et (ii) de développer des pièges visant à capturer spécifiquement et efficacement le moustique tigre tout en préservant la biodiversité et l'environnement.

### Description des méthodes mises en œuvre

#### **Objectif 1** : 12 mois (équipes EID, DMTV)

1) Sur un ensemble de 280 échantillons ?20 parcelles x (10 fleurs + 4 gîtes avec ou sans larves)? seront identifiés par PCR les fleurs et gîtes larvaires systématiquement visités ou évités par le moustique tigre (amplification spécifique du gène COI du moustique à partir de l'ADN extrait de fleur ou d'eau). Sur ces mêmes échantillons, les communautés de levures seront caractérisées par des approches culturelles (nécessaire à l'obtention des isolats utilisés lors des expériences de choix) et de métabarcoding (séquençage haut-débit des régions ITS/28S de l'ARNr fongique amplifiées à partir des ADNg).

2) Analyse des séquences grâce au 'pipeline' FROGS et identification des levures associées à la présence ou l'absence de visite des échantillons par les moustiques par 'machine learning' (random forest). Si les levures identifiées comme attractives ou répulsives par ces analyses ne figurent pas dans les isolats, un achat auprès de souchothèques sera effectué.

#### **Objectif 2** : 6 mois (équipe DMTV)

1) Expériences de choix où (i) chaque femelle *Ae. albopictus* devra choisir entre un gîte vierge et un gîte inoculé avec une levure isolée des gîtes larvaires naturels et où (ii) chaque mâle & femelle devra choisir entre un coton imbibé de sucre (15%) et un coton imbibé de sucre et d'une levure isolée des fleurs. Chaque expérience comprendra 20 répliques (femelles moustiques ou mâles & femelles) x 2 origines (fleur ou gîte) x 6 levures (3 attractives et 3 répulsives) à 3 concentrations cellulaires soit 720 essais. Les 3 concentrations serviront à évaluer si ces réponses sont doses dépendantes.

2) Analyses des données à l'aide de modèles linéaires généralisés.

#### **Objectif 3** : 6 mois (équipes CESN, DMTV)

Identification des COVs produits par les levures attractives ou répulsives.

1) Micro-extraction en phase solide des composés à partir de 180 cultures pures de levures (12 levures x 3 concentrations cellulaires x 5 répliques) et analyse des extraits produits par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

2) Identification des biomarqueurs associés au caractère attractif ou répulsif des levures par des analyses multivariées et random forest.



## **Partenariat**

**Université Claude Bernard Lyon1 UMR CNRS 5557/INRAE 1418 Ecologie Microbienne – Villeurbanne**

Responsable de l'équipe : Mme Patricia Luis

**Université Claude Bernard Lyon 1 UMR CNRS 5557 / UMR INRA 1418 - Villeurbanne**

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Emmanuelle Hay

**EIRAD – Chindrieux**

Responsable de l'équipe : M. Yves Rozier