

Appel à projets de recherche 2022 du PNR EST

Contenu du document

Ce document contient l'ensemble des résumés des 42 dossiers soumis aux appels à projets 2022 et retenus pour financement par le comité d'orientation à l'issue du processus de sélection

SOMMAIRE

Résumé 5G-Sens-SKIN - 22-RF-011	4
Résumé 5G-SKINUV - 22-RF-008	7
Résumé AlterED - 22-EST-172	10
Résumé ASMAPUF - 22-EST-170	13
Résumé BECOME –22-EST-033	16
Résumé BeeMed – 22-EST-063	19
Résumé BEERISK – 22-EST-088.....	22
Résumé BetterSupport – 22-EST-209	25
Résumé Bluetox – 22-EST-134.....	28
Résumé CHARLINE – 22-RF-006	31
Résumé CIRE-RF – 22-RF-002.....	34
Résumé CLEOPART – 22-EST-195.....	37
Résumé EVER-CAN - 22-EST-123	40
Résumé EWSens - 22-RF-010	43
Résumé EXEMA-Scléro - 22-EST-010	46
Résumé EXPODOM-PID - 22-EST-093.....	49
Résumé EXPOL - 22-EST-210	52
Résumé FIPOLL - 22-EST-089	55
Résumé GENIFER - 22-EST-182	58
Résumé GEOCAP-AIR - 22-EST-186.....	61
Résumé HANTARIS - 22-EST-090.....	64
Résumé HOME-HP - 22-EST-155	67
Résumé HOSP_ATB - 22-EST-073.....	70
Résumé ILDEX-CT - 22-EST-171	73
Résumé MAPEMONDE - 22-EST-201	76
Résumé MARDI - 22-EST-077	79
Résumé MetaCold-RF - 22-RF-013	82
Résumé OptoFish - 22-EST-053	85
Résumé PENDALIRE - 22-EST-169	88
Résumé PharmOneHealth - 22-EST-066.....	91
Résumé PLASTICENE - 22-EST-098.....	94
Résumé PremaBacEnv - 22-EST-203.....	97

Résumé PROTOXOMICS - 22-EST-207	100
Résumé RENAAME - 22-EST-023	103
Résumé ReprObesED - 22-EST-024	106
Résumé SAPROPHITE - 22-EST-141	109
Résumé SUSPECT - 22-EST-050	112
Résumé TECHSAN - 22-EST-028	115
Résumé TICOV - 22-EST-074	118
Résumé TOPENSUZ - 22-EST-087	121
Résumé ToxModel - 22-EST-111	124
Résumé XALUD - 22-EST-138	127

Résumé 5G-Sens-SKIN - 22-RF-011

Evaluation des effets des radiofréquences 5G sur la fonction barrière et sur les communautés bactériennes de la peau sensible

M. Jérôme Lamartine

CNRS, Equipe Fonctionnalité et Dynamique du Tissu Cutané - Lyon

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 749 € TTC

Objectif détaillé

La peau est un organe cible majeur des ondes électromagnétiques (OEM) peu pénétrantes de type 5G. La fonction barrière cutanée est assurée par l'épiderme qui joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité de l'organisme grâce à ses propriétés d'étanchéité et de résistance mécanique, mais également grâce à la présence en surface de communautés bactériennes symbiotiques impliquées dans la défense contre les infections. La fonctionnalité cutanée peut être fragilisée par des maladies inflammatoires qui touchent 20 à 50% de la population. L'objectif du projet est de préciser les effets d'une exposition chronique aux OEM 5G de 3.5 GHz, associée à une exposition ponctuelle aux OEM de 26 GHz, sur la fonction barrière de la peau saine ou fragilisée par une pathologie inflammatoire. Nous étudierons si ces OEM peuvent impacter la fonction barrière cutanée, soit de façon directe en modifiant les propriétés des cellules épidermiques, soit de façon indirecte en modulant l'abondance et la composition du microbiote cutané.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Notre projet présente plusieurs aspects très novateurs : l'étude de l'exposition chronique aux combinaisons d'OEM de 3.5 et 26 GHz, l'utilisation de modèles animaux et tissulaires plutôt que de cultures cellulaires en 2D, l'étude de la peau fragile comme éventuel terrain d'hypersensibilité aux OEM et enfin l'analyse exhaustive de l'impact de ces OEM sur le microbiote de la peau saine ou fragilisée.

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 s'intéressant aux bandes de fréquences nouvellement identifiées (pour la 5G par exemple) et encore peu étudiées (3,5 GHz et 26 GHz et au-delà, notamment) sont prioritaires.

RFES 2.1.8 - Études in vivo ou cliniques sur les effets éventuels de l'exposition aux radiofréquences, notamment : sur la flore cutanée, pour les fréquences au-delà de 10 GHz.

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

Notre projet vise donc à évaluer les effets in vivo et in vitro des OEMs 5G, sur des bandes de fréquence de 3.5 et 26 GHz encore peu étudiées (RFES 2.4), en explorant les mécanismes d'action sur la peau au niveau cellulaire et tissulaire (RFES 1.1). De plus, il évaluera les conséquences d'une exposition à 26 GHz sur les communautés microbiennes de la peau saine ou fragilisée (RFES 2.1.8). Nos travaux permettront d'évaluer l'impact sanitaire de l'exposition aux RF 5G dans la population générale et chez des patients atteints par des pathologies inflammatoires chroniques fréquentes.

Description des méthodes mises en œuvre

Tache 1 : mise au point et calibration d'un dispositif d'exposition

L'objectif est de développer un dispositif générant des ondes de type 5G qui permettra de reproduire fidèlement les expositions de la population dans le contexte de la téléphonie mobile dans la bande de 3.5 GHz (utilisation d'un téléphone et exposition à une antenne relais) et l'utilisation d'objets connectés dans la bande de 26 GHz.

La modulation basse fréquence de l'onde porteuse ainsi que les différentes modulations permettant de transférer l'information seront reproduites dans le dispositif expérimental afin d'évaluer leurs effets potentiels. Le système envisagé s'appuiera sur un générateur arbitraire de signal associé à un amplificateur alimentant une antenne qui générera le champ dans une cavité métallique. Un brasseur mécanique de mode viendra homogénéiser le champ électrique dans cette cavité afin d'exposer les échantillons de manière homogène en amplitude et en polarisation.

Tache 2 : Analyse in vitro des effets cellulaires lors d'une exposition aiguë aux OEM 3.5 GHz +/- 26 GHz sur des modèles de peau reconstruite saine ou fragilisée par une inflammation. Nous utiliserons des peaux humaines reconstruites (fibroblastes dans une matrice dermique et kératinocytes pluristratifiés), traitées ou pas avec un cocktail de cytokines pro-inflammatoires. L'analyse fonctionnelle et histologique de ces tissus nous permettra d'évaluer des modifications de la fonction barrière (tests de perméabilité et de la perte insensible en eau), du programme de différenciation épidermique (analyse de marqueurs), du stress oxydant (marquage des ROS) et de la réponse inflammatoire (dosage de cytokines).

Tache 3 : Analyses in vivo des effets chroniques des OEM 5G sur la fonction barrière cutanée de souris saines ou souffrant d'une pathologie inflammatoire (modèle de psoriasis induit par l'imiquimod). Les animaux seront exposés pendant 15 semaines à un champ mimant le réseau 5G urbain et ponctuellement aux OEM de 26 GHz. Grâce à ce modèle animal, nous pourrons évaluer les conséquences de ces expositions à court (3 sem.), moyen (7 sem.) et long terme (15 sem.) sur la fonction barrière en mesurant in vivo la perte insensible en eau et en évaluant ex vivo l'expression des protéines des jonctions serrées et desmosomes dans des biopsies de peau .

Tache 4 : Analyse ex vivo des effets chroniques des OEM 5G sur le microbiote cutané par une approche métagénomique. Pour cela, des prélèvements non invasifs du microbiote de la peau seront effectués tout au long de l'exposition sur les souris utilisées dans la tâche 3. Le séquençage NGS des amplicons de gènes ARNr du métagénome de ces prélèvements permettra de comparer les populations présentes et leur abondance relative dans et entre

les échantillons et ainsi d'évaluer l' effet des OEM 5G sur la composition et la diversité du microbiote de peau saine et de peau à profil inflammatoire.

Partenariat

CNRS, Equipe Fonctionnalité et Dynamique du Tissu Cutané - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Jérôme Lamartine

Ecole Centrale de Lyon, Laboratoire Ampère - Ecully

Responsable de l'équipe : M. Christian Vollaire

Résumé 5G-SKINUV - 22-RF-008

L'exposition aux radiofréquences 5G potentialise-t-elle l'effet carcinogène des UV-B ?

Mme Muriel Cario

Université de Bordeaux, Unité 1312-BRIC, Equipe TRIO2

Projet complet - 36 mois

Budget : 298 563 € TTC

Objectif détaillé

The objective of the 5G-SKINUV project is to investigate the in-vivo and in-vitro possible effects on skin cells of the co-exposure between 5G radiofrequency fields (RF) at 26 GHz (at various SAR levels up to 4 W/Kg) and UVB.

(i) To assess the combined effects of UV-B radiation and RFR on the development of skin tumours on mice.

(ii) To assess the short term effects of UV-B radiation and RF on human pigmented reconstructed epidermis

(iii) To assess the RF on the invasion of human UV-induced cutaneous tumors cells using in vitro 3D model

We will systematically compare the effect of exposure to either 5G-modulated signals or UVB emitted alone with the effect of the co-exposure. Cross-sensitization of UV exposure on the RF-induced thermal effect and cross-sensitization of low-level RF exposure on UV-induced effect will be addressed.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Within the fast deployment of mobile telephony over the last decades, the fifth generation (5G) started to be deployed in 2020. While the initial frequency chosen for 5G being introduced in Europe is between 3.4 and 3.8 GHz, the 26 GHz band, for which almost no studies have been published, will be deployed in the next five years. As frequency increases, the penetration depth into the human tissue decreases, which means that most of the RF power (SAR) is absorbed in the skin of the body. The rise in frequency of the 5G carrier waves towards the millimeter waves makes it therefore necessary to consider skin tissues that will maximally absorb the RF energy at such frequencies.

While the only known deleterious effects of RF exposure are known to be caused by tissue heating (ICNIRP 1998), the combined, consecutive, or simultaneous exposure to RF and solar (UV) radiation of the human skin happens during the everyday life of a human being. Since the RF exposure is classified as a possible human carcinogen (Class. 2B) and the UV and solar exposure as a human carcinogen (Class. 1) by IARC, the combination and consecutive exposure of these two physical agents are ubiquitous in our daily-life environment and might have an important role among the environmental stressors.

Direct DNA damage by RF is not likely but combined (co- carcinogenic) effects with genotoxic agents are under study. Contradictory results were published on the production of reactive oxygen species (ROS), potentially leading to cellular or systemic oxidative stress, under RF exposure in vitro and in vivo. Since UV-induced ROS lead to DNA, lipid and protein oxidations, combination of UV and RF may amplify and sustain their production and thus increase the risk of skin cancer.

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 s'intéressant aux bandes de fréquences nouvellement identifiées (pour la 5G par exemple) et encore peu étudiées (3,5 GHz et 26 GHz et au-delà, notamment) sont prioritaires.

Using a 3D model of epidermis, we will follow the short-term effects of RF, UV-B and RF+UV-B to address the capacity of RF to participate in the precancerous step. The 3D model made with UV-induced cutaneous tumor cells will provide data on the capacity of RF to potentiate the migratory capacity of tumor cells. These experiments address the capacity of RF to participate in the progression of skin cancer.

Finally, the in vivo study will address the ability of RF to potentiate both the initiation and progression of UV-B-induced skin cancer.

Description des méthodes mises en œuvre

3D epidermal skin model is made with normal keratinocytes and melanocytes from unexposed skin seeded on dead deepidermized dermis. This model will be exposed to RF and UV-B irradiation. The effects on epidermal architecture, sunburn cell formation (apoptosis), DNA damage repair (CPD, 8oxodG), production and distribution of melanin (photoprotective nuclear cap), antioxidant levels, protein oxidation and inflammatory cytokines secretion will be followed at different time points post-irradiation.

Epidermal skin model prepared with human cutaneous tumor cells harboring mutational signature of UV-B will be exposed to RF. This model will be stopped at different time points after continuous RF exposure up to 3 weeks. Dermal invasion into dermis, degradation of dermo-epidermal junctions, and production of MMP will be measured to assess migration of tumor cells.

For in vivo experiments, mice will be continuously exposed to RF and chronically to UV-B (3 times a week). Development of tumors will be followed and tumors will be measured each week up to 26 weeks. At necropsy, metastasis will be sought. Tumors will be resected and histology, transcriptomic, and proteomic analyses will be performed.

The first 12 months of the project will be devoted to the development of the 5G exposure systems. The in vitro part will take 18 months. The in vivo part will take 24 months.

Partenariat

Université de Bordeaux, Unité 1312-BRIC, Equipe TRIO2

Responsable de l'équipe : Mme Muriel Cario

Université Bordeaux, Laboratoire IMS - UMR 5218 - Talence

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Lagroye

Université de Limoges, XLIM UMR CNRS 7252 - Limoges

Responsable de l'équipe : M. Philippe Leveque

Résumé AlterED - 22-EST-172

Conséquences métaboliques et neuroinflammatoires d'une exposition périnatale au TBBPA associée à une alimentation occidentale à l'âge adulte

Mme Marie-Stéphanie Clerget-Froidevaux
Museum National d'Histoire Naturelle, MNHN/CNRS UMR 7221 - Paris

Projet complet - 36 mois
Budget : 156 158 € TTC

Objectif détaillé

Our working hypothesis is that exposure during perinatal period (gestation until weaning) to an endocrine disrupting chemical (EDC) known to affect thyroid signaling, the flame retardant tetra-bromo-bisphenol A (TBBPA), could interfere with the setpoint adjustment of the HPT axis or other hormonal pathways, altering the adult's ability to cope with a metabolic challenge, like the over-nutrition observed in Western societies.

We will have two aims:

- 1) To study whether perinatal TBBPA exposure promotes/increases metabolic disorders and neuroinflammation induced by Western diet during adulthood.
- 2) To investigate which regulatory pathways are affected and unravel the molecular mechanisms involved in the adverse health effects.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

TBBPA is suspected to target metabolism, but it could also be involved in other pathologies as metabolic deregulations can lead to neurodegeneration through central inflammation. This emergent project is challenging, as it combines an environmental aspect through TBBPA exposure with three areas of research (HPT axis disruption, metabolic deregulation and cognitive function alterations) which have not yet been investigated in the same studies despite their obvious interactions. Our holistic concept, linking EDC early-life exposure and Western diet will examine how it affects health later in life, interfering with homeostasis regulatory pathways. AlterED will provide knowledge on the origins of metabolic and neurodegenerative diseases, unravelling the molecular mechanisms underlying EDCs as a potential causal link between these two highly prevalent diseases. It will have wide-reaching societal impact, supporting the theory of the "Developmental Origins of Health And Disease", and partly explaining the inter-individual differences in susceptibility to develop metabolic disorders and / or neurodegenerative diseases.

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.

Despite the low environmental TBBPA exposure, the threat is real during developmental processes, as exposure of newborns via breastfeeding is significant (up to 80x environmental levels, Cariou et al 2008). TBBPA has been shown to interfere with several endocrine pathways, thus exposure when the endocrine axes set in raises concerns. Our study will focus on the perinatal period as being particularly vulnerable to hormonal deregulation and during which exposure to endocrine disruptors can have health effects later in life. This problematic converges to the Anses PE2 question. Using cutting-edge methodologies (spatial RNAseq, mitochondrial activity on tissue), our innovative project will increase the understanding of these physio-pathological mechanisms. Finally, AlterED, measuring at the organism, tissue and cellular levels the consequences in adulthood of perinatal TBBPA exposure will be crucial to develop the OECD promoted Adverse Outcome Pathways (AOP).

Description des méthodes mises en œuvre

Pregnant female mice will be exposed (last week of gestation to weaning) to vehicle or TBBPA 10 mg/kg/d via a cookie eaten within 5 min (our data). It is 10X the EFSA tolerable daily intake, and leads to internal exposure in mice equivalent to that found in women (0.4 ng/mL; doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124859). Serum TBBPA levels will be checked in dams at weaning. High Fat-High Sucrose diet (HFHS) mimicking Western diet or control diet will be given to the offspring from 2 to 6 months (mo) of age and analyses described below will be run on four groups: control group (no perinatal TBBPA nor HFHS for the progeny), TBBPA group (perinatal TBBPA but no HFHS), HFHS group (no perinatal TBBPA, but HFHS in adulthood), and TBBPA/HFHS group (both perinatal TBBPA and HFHS).

Three work packages (WP) will be implemented:

WP1: Effect of perinatal TBBPA exposure on metabolism and neuroinflammation of adult offspring \pm HFHS:

-Task 1.1: Metabolic phenotyping at 2, 4 and 6 mo of age (Months (M)4-10; M9-15): body composition (whole-body densitometry), leptin and insulin levels (ELISA assays), glucose tolerance test, thermogenesis (infrared thermal camera).

-Task 1.2: Spatial memory (M8-10; M13-15) will be tested with Barnes maze at 6 mo to analyze neurobehavioral changes linked with hippocampal defects.

-Task 1.3: Neuroinflammatory and neurodegenerative status (M16-22) will be assessed in the hypothalamus and the hippocampus by immunohistochemistry (microglia and astrocyte activation markers), ELISA (cytokines levels) and Western-blot (early markers of neurodegeneration: phosphorylated Tau, amyloid-beta levels).

WP2: Molecular pathways affected by perinatal TBBPA exposure and \pm HFHS in adulthood:

-Task 2.1: Pathways regulation in metabolic tissues (M8-12; M13-17): Changes in metabolic and thyroid hormone signaling pathways assessed by microfluidic qRTPCR in liver and adipose tissues; Cytokines, adipokines and lipid circulating levels (multiplex ELISA,

biochemical analyses); Thyroid status (ELISA); Lipid accumulation (Oil Red O staining); Mitochondrial activity in liver and adipose tissue (Agilent Seahorse XF technology).

-Task 2.2: Central pathways affected by TBBPA exposure (M22-30): Hypothalamus is the central integrator of energy and thyroid homeostasis, and the hippocampus is a major actor in memory processes. Using Spatial Transcriptomics technology (10X Genomics), we will measure the whole transcriptome and map mRNA expressions to the relevant hypothalamic and hippocampal regions, identifying the specific pathways regulated in each specific region to unravel the molecular mechanisms impacted.

WP3: Integrative analyses and dissemination of the results (M30-36)

Partenariat

Museum National d'Histoire Naturelle, MNHN/CNRS UMR 7221 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Stéphanie Clerget-Froidevaux

Impact de l'exposition de souris gestantes aux particules atmosphériques ultrafines sur la susceptibilité à l'asthme de la descendance

M. Jean-Marc Lo Guidice
Université de Lille, Faculté de médecine - Lille

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 994 € TTC

Objectif détaillé

L'exposition à la pollution pendant la grossesse peut affecter le développement fœtal et/ou néonatal et donc altérer la santé de la descendance. Des études épidémiologiques ont mis en évidence une association entre la pollution particulaire et le développement et/ou l'exacerbation d'un asthme chez l'enfant. Il n'est cependant pas encore clairement établi si la pollution augmente le taux de sensibilisation allergique à un stade très précoce de la vie, et si cet effet et ses conséquences cliniques sont durables.

Notre objectif principal est d'évaluer l'effet de l'exposition de souris gestantes à des particules ultrafines (PUF) sur la susceptibilité de la descendance à l'asthme. Nous étudierons les mécanismes impliqués dans les effets délétères de ces particules dans les poumons des mères exposées aux PUF et ceux de la descendance exposée à un allergène ou co-exposée à un allergène et aux PUF, en intégrant les différences de sensibilités liées au genre. Plus particulièrement, nous nous focaliserons sur les réponses immunes, le remodelage tissulaire et les modifications épigénétiques qui peuvent expliquer les conséquences cliniques de la pollution persistant dans le temps et les générations. En complément, nous étudierons, à l'aide de modèles *in vitro* maîtrisés par le consortium, les mécanismes impliqués dans la perméabilité de la barrière alvéolo-capillaire (BAC) et le passage systémique des particules.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Alors que les effets directs de la pollution particulaire sur le développement ou l'exacerbation de l'asthme sont bien étudiés, les effets transmis de la mère exposée à l'enfant le sont peu. Chez la mère gestante, les PUF inhalées peuvent traverser les alvéoles et entrer dans la circulation sanguine. Même si les circulations maternelles et fœtales ne se mélangent jamais, les échanges sont constants, permettant le passage de polluants. Les particules peuvent induire des modifications épigénétiques chez les individus exposés et contribuer ainsi au développement de maladies respiratoires chroniques. L'inflammation, les interactions cellulaires et la différenciation lymphocytaire font partie des mécanismes dérégulés dans l'asthme, notamment par des altérations épigénétiques. L'exposition *in utero* à la pollution atmosphérique pourrait entraîner des modifications épigénétiques chez le

fœtus qui auraient un retentissement sur la santé du nouveau-né, notamment sa susceptibilité à l'asthme. Nous proposons d'étudier dans un modèle murin d'asthme allergique les mécanismes épigénétiques et immunopathologiques, en particulier l'implication de l'interleukine-33, à l'origine des effets des PUF sur la descendance de souris gestantes exposées.

Enfin, la prévalence et la gravité de l'asthme étant différentes chez les hommes et les femmes selon l'âge, nous évaluerons si les effets délétères des PUF sur la descendance dépendent du genre.

Questions de recherche

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

ACHIM 3.2 - Prise en compte des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome : modèles in vitro et in vivo chez l'animal : développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de substances en vue de l'évaluation d'une exposition chronique. Identification d'espèces sentinelles des impacts de la pollution chimique.

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

Ce projet répond aux questions à la recherche ACHIM 1, ACHIM 3.2, ABIO 5. Les PUF collectées pour ce projet sont un mélange complexe de nombreuses substances chimiques toxiques. Les effets sanitaires à long terme sur la descendance d'une exposition maternelle à ce « cocktail » sont actuellement peu étudiés. Ce projet in vivo devrait apporter de nouvelles connaissances fondamentales pour évaluer la susceptibilité à l'asthme, et les mécanismes épigénétiques sous-jacents, de souris exposées in utero aux PUF puis sensibilisées avec l'allergène d'acarien *Dermatophagoïdes farinae* (Df) à l'âge de 6 semaines; les effets potentiellement synergiques d'une co-exposition à un mélange PUF/DF à ce stade de vie seront également évalués. Ce projet devrait ainsi permettre d'identifier de nouveaux biomarqueurs d'exposition in utero aux PUF, de même que des facteurs de susceptibilité à l'asthme.

Description des méthodes mises en œuvre

ANNÉE 1

1- Caractérisation physico-chimique des PUF atmosphériques prélevées en zone urbano-industrielle dans le cadre d'un autre projet.

2- Exposition de souris C57BL/6 gravides (n=6 par groupes) par voie intranasale à 30µg de PUF, 2 fois par semaine pendant toute leur gestation. Des souris contrôles recevront une solution saline.

3- Sensibilisation de la descendance avec l'allergène d'acarien Df par instillations intranasales 6 semaines après la naissance, suivie, 10 jours après, de provocations quotidiennes avec l'allergène pendant 5 jours. Des souris contrôles recevront une solution saline pendant cette phase de sensibilisation/provocation, tandis que d'autres lots de souris seront soumises à une co-exposition PUF (30µg)/Df.

4- Evaluation de la fonction respiratoire et de l'asthme de la descendance 24h après la dernière instillation par mesure invasive au flexivent ; puis euthanasie de toutes les souris.

5- Prélèvement du LBA, des poumons et du sang des souris après euthanasie pour évaluer l'inflammation pulmonaire et systémique (comptage des cellules immunes, dosage des cytokines).

ANNÉE 2

6- Analyses histopathologiques (étude du remodelage tissulaire), transcriptomiques et épigénétiques (méthylation globale et spécifique de l'ADN, modifications d'histones, expression des miARN) des poumons de souris.

ANNÉE 3

7- Validation fonctionnelle des voies dérégulées par immunodosages à partir des échantillons biologiques collectés mais également à partir de cultures primaires de cellules endothéliales et épithéliales murines exposées aux PUF et/ou au Df. Des co-cultures sur inserts de ces cellules permettront d'étudier les mécanismes impliqués dans la perméabilité de la BAC vis à vis des PUF.

Partenariat

Université de Lille, Faculté de médecine - Lille

Responsable de l'équipe : M. Jean-Marc Lo Guidice

Inserm U1019/CIIL, équipe Immunité Pulmonaire Institut Pasteur de Lille

Responsable de l'équipe : Mme Patricia De Nadaï

Résumé BECOME –22-EST-033

Analyse du risque de décès par tumeur cérébrale chez des professionnels médicaux exposés professionnellement aux rayonnements ionisants à faible dose

Mme Marie-Odile Bernier
IRSN, LEPID/SESANE/PRP-SANTE - Fontenay-aux-Roses

Projet complet - 24 mois
Budget : 155 985 € TTC

Objectif détaillé

The objective is to perform an international nested case-control study to estimate the risk of ionizing radiation (IR)-induced central nervous system (CNS) cancer death in relation to occupational dose of IR received in three cohorts of medical professionals exposed in France, Korea and the United States.

The study is based on 3 national cohorts built to study the risk of IR-induced diseases in medical professionals, the cohort O'RICAMs (Occupational Radiation-Induced Cancer in Medical Staff), set up in 2011 by the French Institute of Radioprotection and Nuclear Safety (IRSN), following 227 000 individuals since 2002, the Korean cohort, set up in 2017 by the Korea University and the Korea Center for Disease Control and Prevention, following 94 000 individuals since 1996 and the U.S. radiologic technologists (USRT), set up in 1983 by the National Cancer Institute (NCI), including 110 000 individuals. The project is a joint analysis of the 3 cohorts, which have different characteristics in terms of age structure, job titles and medical specialties, and start of follow-up, allowing the capture of a wide range of cumulative radiation exposure.

Among the 3 cohorts, about 300 CNS tumor deaths and 1500 non-deceased controls will be randomly selected. Additional information (including other co-morbidities, occupation, specialty, position (s), and alcohol-smoking status) will be obtained from the cohorts or from occupational health records. A dosimetric reconstruction will be performed for the French and Korean cohorts to estimate cumulative organ doses to the brain, considering uncertainties related to the collection methods and badge types in each cohort.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

In France, annually, nearly 130,000 medical workers are monitored for dosimetry, representing 54% of the total professionals exposed to IR, but only 18% of the collective occupational dose. However, this low average exposure conceals a significant discrepancy between the majority of medical radiation workers receiving very low doses and a small proportion receiving higher doses, including interventional cardiologists and nuclear medicine workers.

Cancer is one of the main IR-induced diseases that can occur at low dose levels, as shown in many epidemiological studies. For medical professionals, the risk of cancer has been observed for prolonged exposures over a long period. Some sparse publications have reported an excess of CNS tumor in interventional cardiologists, but the link with the profession has never been demonstrated in a large, well-controlled epidemiologic study. Moreover, these studies included limited (or no) dosimetric assessment.

Questions de recherche

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

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

We will focus on CNS tumor risks linked to occupational exposure to IR, an established carcinogen.

A common assessment of organ absorbed dose, based on badge monitoring and work history, will allow for a precise estimate of the occupational radiation dose-response relationship. Furthermore, the pooling of original, individual-level data from 3 large cohorts will ensure strong statistical power of our analyses. The mandatory data for analyses are already available for the Korean and U.S. cohorts. The French data collection is in progress.

Description des méthodes mises en œuvre

A nested case control study will be performed.

Inclusion of cases and controls

Cases of death by CNS tumor will be assessed by linkage with cancer registry in Korea, certificate of death in the U.S. and in France. For each case, 5 controls individually matched by year of birth and sex will be selected among those in the corresponding cohort who will **not have died by the time of CNS death case's occurrence.**

Dosimetric reconstruction

Organ dose estimation will be based on information provided respectively by the SISERI (Ionizing Radiation Exposure Monitoring Information System) database in France and by the national dose registry (NDR) in Korea, which prospectively collect the results of the dosimetric monitoring of professionals. The reconstruction of exposure based on results of passive dosimeters worn by professionals will follow previously implemented strategy to account for uncertainty on the estimated doses. For the USRT, organ dose assessment based on badge monitoring and work history has been already performed and published.

Statistical analysis

The odds ratio of brain cancer death associated with the cumulative occupational dose **will be estimated by comparing the case's exposure with those of his matched controls, using conditional regression methods, considering potential confounding factors (comorbidities, alcohol-smoking status) and modifying factors (age at exposure).** The heterogeneity of the studied population will be taken into account as the cases will be compared to their own controls in each cohort.

Calendar

T0-T3 months: draw of controls, contact of occupational health services of cases and controls in France.

T3-T15 months: collection of information in the medical files, reconstruction of the received dose, data management for French data.

T15-T24 months: Establishment of the joint database, data analysis and writing of the article.

Partenariat

IRSN, LEPID/SESANE/PRP-SANTE - Fontenay-aux-Roses

Responsable de l'équipe : Mme Marie-Odile Bernier

IRSN - Fontenay-aux-Roses

Responsable de l'équipe : M. Hervé Roy

Korea University, College of Medicine, Dept Preventi Med. - Seoul, Korea

Responsable de l'équipe : M. Lee Won Jin

National Cancer Institute, Division of cancer epidemiology & genetic - Bethesda, Maryland

Responsable de l'équipe : Mlle Cari Kitahara

Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal) – Barcelona, Espagne

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Thierry Chef

Résumé BeeMed – 22-EST-063

Résilience des abeilles aux changements planétaires au travers du prisme de l'auto-médication

Mlle Maryse Vanderplanck

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive - Montpellier

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 990 € TTC

Objectif détaillé

Les abeilles sauvages fournissent des services écosystémiques essentiels grâce à leur activité de pollinisation. Cependant, de nombreuses populations d'abeilles sont en déclin à travers le monde suite à divers facteurs de stress environnementaux tels que la pollution de l'air et les changements climatiques. Ces facteurs sont susceptibles d'avoir un impact sur la physiologie des abeilles sauvages, notamment en affectant leur homéostasie rédox suite à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène. Les défenses antioxydantes des abeilles peuvent alors être saturées, entraînant un état de stress oxydatif et des dommages structurels et fonctionnels pouvant être mortels. L'ingestion d'antioxydants alimentaires pourrait toutefois rétablir un équilibre optimal entre antioxydants et pro-oxydants, atténuant ces effets néfastes. Une telle régulation du **stress oxydatif par l'ingestion d'antioxydants** pourrait être l'une des adaptations clefs déterminant la capacité des abeilles **à faire face aux changements globaux. Ce projet vise à définir la capacité d'adaptation des abeilles face à la pollution de l'air et aux changements climatiques.** Plus précisément, nous testerons les possibilités de résilience nutritionnelle et d'automédication des abeilles en considérant l'hétérogénéité spatiotemporelle des facteurs de stress environnementaux et en caractérisant les ressources antioxydantes au sein du pollen des plantes à fleurs.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet s'intéresse au déclin des pollinisateurs, sujet de recherche en plein essor, en abordant la problématique non pas sous l'angle traditionnel des facteurs de déclin mais sous celui, plus original, de l'impact potentiel de la nutrition. Le projet pose des questions fondamentales sur les effets des changements globaux sur les abeilles sauvages (différentes espèces aux traits écologiques variés en sortant du cadre des modèles de laboratoire traditionnels) et les possibilités de résilience nutritionnelle et d'automédication, en considérant la valeur sélective des abeilles au travers de la mesure de leur développement, leurs réponses comportementales et physiologiques. Cette approche repose sur un socle méthodologique riche en techniques modernes et complémentaires. Elle fait appel à des méthodes innovantes et complémentaires en écologie, physiologie, chimie analytique, métagénomique et protéomique.

Questions de recherche

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

CCLIM 1.5 - Impacts du changement climatique sur la santé : développement d'outils de mesure et développement d'indicateurs.

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

Les résultats de ce projet permettront d'accroître notre compréhension des causes sous-jacentes des effets de facteurs de stress environnementaux sur les écosystèmes (pollution atmosphérique ACHIM1&AIR4 et températures élevées CLIM1.5) en tenant compte de leur hétérogénéité spatiotemporelle, et d'estimer avec précision la résilience des espèces aux futurs développements anthropiques notamment via le développement de biomarqueurs (AIR4&CLIM1.5). Ce projet répond à l'urgence de définir les risques d'exposition des abeilles sauvages face aux prédictions d'augmentation (intensité et fréquence) des événements extrêmes (épisodes d'O₃ et vagues de chaleur). Il sera ainsi possible de proposer des solutions basées sur la nature pour sauvegarder les abeilles sauvages et leurs interactions avec les plantes à fleurs.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet est subdivisé en quatre tâches principales:

WP1. Exposition des abeilles à des agents de stress oxydatif (Eq.1&2, 2022& 2023)

Le premier objectif du WP1 sera de caractériser l'hétérogénéité spatiotemporelle de l'exposition des abeilles sauvages à des températures élevées et à la pollution atmosphérique le long de gradients d'urbanisation grâce aux informations fournies par des systèmes de **surveillance et de mesure dédiés (réseaux de surveillance de la qualité de l'air, météo France)**. Le deuxième objectif du WP1 sera de développer des outils analytiques destinés à mesurer l'impact des facteurs de stress environnementaux sur le statut oxydatif des abeilles (dommages oxydatifs, capacités antioxydantes, phénotypage métabolomique en GC-MS) **afin d'identifier des biomarqueurs d'exposition.**

WP2. Caractérisation de potentielles ressources médicinales (Eq.1&3, 2022&2023)

Le premier objectif du WP2 sera de caractériser la teneur en antioxydants de différentes ressources polliniques échantillonnées aux endroits sélectionnés dans le WP1 (quantification via des mesures spectrophotométriques, caractérisation via des analyses UHPLC-UV et UHPLC-HRMS, réseaux moléculaires). Le second objectif du WP2 sera d'étudier les modifications de la teneur en antioxydants du pollen qui pourraient découler de l'exposition à des facteurs de stress environnementaux (cultures en conditions contrôlées et analyses susmentionnées).

WP3. Atténuation du coût des défenses endogènes et de la perte de valeur sélective causés par les facteurs de stress par la consommation d'antioxydants (Eq.1,2&3, 2024)

Nous effectuerons des essais biologiques de supplémentation du pollen en antioxydants **en utilisant une approche multimodèle (différents modèles d'abeilles sauvages)** en conditions contrôlées, en présence de facteurs de stress environnementaux (températures élevées et pollution atmosphérique). Nous évaluerons l'effet des antioxydants sur la

réduction du coût des défenses endogènes et la perte de valeur sélective causée par ces facteurs de stress à travers des mesures de paramètres liés aux dommages oxydatifs et au statut oxydatif, aux défenses antioxydantes endogènes, à la valeur sélective et à l'immunité des abeilles (des bio-essais sans supplémentation serviront de témoins).

WP4. Capacité des abeilles à reconnaître et à utiliser les ressources médicinales (Eq.1&3, 2024)

La détection (GC-EAD) et l'attractivité (test Y-olfactomètre) de ressources riches en antioxydants et de COVs potentiellement indicatifs seront évaluées chez des abeilles exposées ou non (groupe témoin) à des facteurs de stress environnementaux. Des tests de choix alimentaires seront effectués afin de déterminer l'existence d'un comportement d'automédication.

Partenariat

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive - Montpellier

Responsable de l'équipe : Mme Maryse Vanderplanck

Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 Campus de Beaulieu - Rennes

Responsable de l'équipe : M. David Renault

Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale, UMR, CNRS 7263, IRD 237 – Station marine d'Endoume

Responsable de l'équipe : M.Stéphane Greff

La surveillance des taux de mortalité quotidiens chez l'abeille domestique pour améliorer l'évaluation des risques liés aux pesticides

M. Cédric Alaux
INRAE, UR406 Abeilles et Environnement - Avignon

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 992 € TTC

Objectif détaillé

To protect honeybee colonies, regulatory authorities provide an assessment of the risk presented by pesticides. Within the context of setting protection goals for honeybee colonies (ex. colony strength), bee background mortality has emerged as a benchmark for evaluating the magnitude of effects due to pesticide exposure. Information on bee mortality rates under natural conditions are consequently crucial for calculating appropriate trigger values (i.e. fold change in bee mortality here) which should ensure that the protection goals are met in marketing authorization (MA) tests and post-MA studies monitoring adverse effects linked to the use of pesticides.

Thanks to a recently developed bee counter that allows to monitor in real-time daily mortality rates at the colony level, our main goals are therefore to i) characterize the honeybee background mortality and its evolution across seasons, ii) identify abnormal mortality rates, and then iii) translate increased mortality rates into risk for colonies.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Current data on honeybee background mortality are time-limited and based on single cohort analysis (RFID or visual records). However, the emergence of bee counter technology allows now to monitor on a continuous basis honeybee mortality rates at the colony level. We will use the bee counter recently developed by Beeguard and Apinov, and that we contributed to test and optimize within the H2020 project B-GOOD, to build for the first time a large dataset of daily mortality rates over 3 years and in environments with low or high risks of exposure to pesticides. This data, in the form of time series, will be used to extract the range of background mortality and identify abnormal mortality rates.

Recently, trigger values for protecting bee colonies have been determined via *in silico* approaches, but it remains unknown whether they correctly estimate effects on colonies. Real-time data on bee mortality rates will allow to empirically link such mortality rates to effects on colonies, and therefore determine true mortality rates that are at risk for colonies.

Questions de recherche

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

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

ACHIM 4. By developing a model analysis that discriminates in real-time abnormal from normal mortality rates, we will be able to detect with bee counter any acute and lethal effects of exposure to pesticides. Such signal of increased bee mortality will be important for monitoring adverse pesticide effects within the framework of phytopharmacovigilance.

ACHIM 6. The use of bee counters recording in real-time bee mortality, combined with threshold values indicating which fold changes in mortality rates start to be at risk for colonies on the short-term, will contribute to improve the robustness and precision of measurements and decrease the uncertainty of data interpretation in Tiers 2 and 3 risk assessment tests.

Description des méthodes mises en œuvre

To develop a dataset on bee background mortality, colonies equipped with bee counters will be installed in environments with either low or high risks of exposure to pesticides (orchards with conventional pest control). Data will be recorded over 3 years. Time series analysis will be performed to discriminate abnormal from normal mortality rates.

Since we cannot exclude scenarios of low exposure to pesticides (even in environments at high risk), we will mimic an acute exposure to pesticide (year 1). Colonies will be exposed in semi-field conditions (Tier 2 test) to a crop sprayed with an insecticide known to cause lethal effects (ex. γ -cyhalothrin), which will give an estimate of the delay and duration of changes in mortality rate upon acute exposure to pesticide. Crops will be sprayed either during or after bee foraging activity, which will also allow us to determine the efficiency of treatments intended to minimize bee exposure and therefore the risk of non-target effects (i.e. spray when bees are not foraging).

Finally, to determine the fold changes in bee mortality that are at risk for colonies on the short-term, we will measure with bee counters daily mortality rates and artificially increased them by capturing different amounts of forager bees (years 2 and 3). We will focus on effects on colony that do not exceed negligible effects, i.e. not exceed 7% reduction in colony size (EFSA 2013). Accordingly, foragers mortality should not be increased compared with controls by a factor of 1.5 for 6 days or a factor of 2 for 3 days or a factor of 3 for 2 days. We will reproduce these in silico scenarios and then measure effects on colony size to test these trigger values. We will also investigate similar mortality rate scenarios that might cause a 10% colony size reduction (future EFSA protection goal).

Partenariat

INRAE, UR406 Abeilles et Environnement - Avignon

Responsable de l'équipe : M. Cédric Alaux

Inrae - Avignon

Responsable de l'équipe : Mme Julie Fourier

Inria, Lirmm, Equipe Zenith - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Reza Akbarinia

Résumé BetterSupport – 22-EST-209

Evaluation socioéconomique des effets sur la santé des salariés et **bénéficiaires d'une organisation du travail innovante dans l'aide à domicile**

M. Thomas Breda
Paris School of Economics - Paris

Projet complet - 30 mois
Budget : 179 427 € TTC

Objectif détaillé

Ce projet propose une évaluation par tirage aléatoire de la mise en place du modèle d'organisation du travail dit « Buurtzorg » dans le secteur des services d'aide à la personne. Il vise à orienter les politiques publiques dans ce secteur sensible tant du point de vue de la santé publique que de la santé au travail.

Le modèle Buurtzorg, développé aux Pays Bas dans le secteur des soins infirmiers, s'inspire du modèle de l'entreprise libérée. Il fonctionne selon un principe d'organisation horizontale qui laisse aux soignants une grande latitude d'autogestion. L'unité de fonctionnement est un groupe d'une douzaine de professionnels, gérant de manière autonome le planning, la logistique, les congés, la formation et les recrutements en son sein.

Le projet vise à évaluer les effets de cette nouvelle organisation du travail sur le personnel (absentéisme, turnover, risques psychosociaux, satisfaction au travail), ainsi que sur les personnes accompagnées (hospitalisations, décès, consommation de soins, passage en EHPAD).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le modèle d'organisation "Buurtzorg" est né en 2006 et a connu depuis un développement important. En donnant davantage d'autonomie aux travailleurs et en limitant le poids des hiérarchies, ce modèle permettrait aux salariés de se réappropriier leur travail, et toute l'économie y gagnerait : les salariés seraient davantage motivés, et la qualité de leur travail s'en trouverait accrue au bénéfice des patients.

Ces effets supposés résultent cependant de témoignages des parties prenantes, qui promeuvent avec succès son développement rapide et à grande échelle. A notre connaissance, il n'existe aucune évaluation d'impact rigoureuse et indépendante de ce nouveau mode d'organisation.

Nous proposons de réaliser une telle évaluation, qui apparaît essentielle. Elle est rendue possible grâce à une collaboration étroite avec des conseil départementaux et des structures d'aide à domicile.

Questions de recherche

SHS 7 - Nouvelles organisations du travail, technologies numériques et santé : enjeux et impacts sur la prévention et la protection de santé au travail (y compris santé mentale).

Le projet de recherche apporterait une contribution à **l'étude de nouvelles conditions de travail** et de leur impact sur la santé, dans un secteur qui concerne 400 000 personnes en France, dont 97 % de femmes, et pour les 3/4 à temps partiel.

Les conditions de travail y sont difficiles tandis que les rémunérations et perspectives de carrière sont faibles. Il en résulte des niveaux élevés d'absentéisme et de turnover. Alors que l'organisation du travail s'est intensifiée et génère insatisfaction et perte de sens au travail, expérimenter des modes d'organisation innovants, et évaluer précisément leur impact paraît urgent.

Le projet porte également un enjeu fort de santé publique. Le modèle permettrait un meilleur suivi de la santé des bénéficiaires, en étant davantage axé sur la prévention.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous proposons de réaliser cette évaluation par un tirage aléatoire. Cette procédure, désormais classique dans le domaine de l'expérimentation sociale, permet de garantir que les effets mesurés sont bien la conséquence du programme évalué. Elle a été popularisée par la Prix Nobel d'Economie Esther Duflo, proche de l'équipe de recherche. Elle soulève un certain nombre de questions éthiques qui seront prises en compte de façon attentive par l'équipe, qui dispose déjà pour cette expérimentation d'une accréditation par un comité éthique dédié. Ce comité, l'Internal Review Board, a considéré le projet comme sans risque pour les sujets humains, et que la connaissance produite justifiait le protocole expérimental proposé.

L'évaluation consisterait à tirer au sort, au sein de structures d'aide à domicile recrutées pour participer à l'expérimentation, l'ordre de passage des salariés au nouveau modèle organisationnel. Le délai de passage entre les premiers et derniers « traités » permettra une évaluation causale de la nouvelle organisation. Avec l'aide de départements partenaires pionniers (l'Eure et le Nord), nous avons déjà recruté cinq structures prêtes à participer à l'expérimentation si celle-ci est financée. Ces structures ont d'ores et déjà accepté le principe du tirage au sort, qui leur permet de mettre en place un pilote composé de quelques équipes avant une éventuelle généralisation. L'objectif est d'intégrer à terme une vingtaine de structures.

Pour mesurer ces effets, nous mobiliserons des sources de données administratives permettant d'observer le turnover et l'absentéisme des salariés, et les consommations de

soin des personnes accompagnées. La faisabilité de l'accès aux données a été vérifiée. Des informations qualitatives seront aussi collectées au moyen de questionnaires auprès des salariés et des proches aidants ainsi que des monographies.

La mise en place du modèle se fera au cours de l'année 2022-2023. De premiers résultats pourront être présentés en 2023. Du fait du délai de mise à disposition de certaines données, l'effet du modèle sur certains indicateurs tels que le turnover ne pourra être évalué qu'en 2024.

Partenariat

Paris School of Economics - Paris

Responsable de l'équipe : M. Thomas Breda

Résumé Bluetox – 22-EST-134

Questions émergentes en matière de phototoxicité rétinienne pour l'évaluation des risques liés à la lumière bleue et son utilisation dans l'éclairage et d'affichage numérique.

Mme Alicia Torriglia

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

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 992 € TTC

Objectif détaillé

Light exposure is a factor of risk in the development of age related macular degeneration (AMD), the leading cause of blindness in industrialized countries. Natural light exposure is increased, by artificial light, with the extensive use of LED (light emitting diode) for general lighting, computer screens, telephones or virtual reality devices. This project addresses the question of the retinal effects of long term exposure to blue light and the influence of simultaneous exposure to other visible wavelength. It also makes an approach to the important question of the transposition of animal data to Human.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Retinal phototoxicity data from animal models are used to establish safety exposure limits for humans. They are obtained from a single exposure to monochromatic non flickering light. **These exposure conditions are very different from human's which involve polychromatic light, exposure throughout life, and, frequently, exposure to a flickering light.** Importantly, the validity of transposition of animal data to Human is unexplored. We will be investigate these points that will give valuable information for the evaluation of retinal toxicity of lighting technologies.

Questions de recherche

RNIO 3 - Caractérisation des expositions des travailleurs aux rayonnements optiques artificiels (longueur d'onde comprise entre 100 nanomètres et 1 millimètre). Etude des effets de la lumière bleue sur la rétine à long terme et pour les LED. Effet combinée de la lumière bleue avec d'autres longueurs d'ondes.

The project treats the question 3 of non ionizing radiations in 3 points:

1) The Blue Light Hazard (BLH) and the evaluation of Limit exposures values (LEV): By using **data obtained in the 80's from different animals, the ICNIRP defined the BLH as the retinal damage induced by the blue region of the spectrum and, based on these values, the LEV.**

Our previous results, using more sensitive technology, suggest that LEV are overestimated and that BLH weighting is unsuitable to new generation of LED (Jaadane et al 2020). New phototoxicity curves and LEV will be proposed.

2) Phototoxicity data are obtained in a very limited set of conditions, far from the real exposure of humans. Therefore, other conditions will be evaluated:

a) Long time exposure in a light-safe condition (defined for a single exposure).

b) The spectral imbalance: white LEDs are based on a blue chip covered by a yellow luminophore, leading to a low emission in the red part of the spectrum, with protective properties. The retinal toxicity of LED might not be only due to their high content of blue light, but also to their low emission in the red wavelengths.

c) The temporal modulation of light (TLM): The rate at which light sources change their output may cause flicker and non visual effects. Half of the currently used LED lamps have higher levels of TLM than traditional lamps (ANSES report 2019). Moreover, due of the rapid development of TLM based technologies in lighting and 3D display in virtual reality head sets, this parameter becomes extremely important. The role of TLM on phototoxicity is completely unknown.

d) Circadian rhythm. To adapt to the environment, many hormones and biological processes have a daily oscillation: the circadian rhythm. The retinal clock turns this tissue more sensitive to photodamage at night, but the magnitude of this increase is unknown. We intend to compare the photosensitivity of retinas exposed at night or during daytime. The use of LED displays, mostly by children and adolescents, at night, underlines the importance of this point.

3) Phototoxicity data are obtained mostly in rodents but the transposition of these data to humans is unknown. For the first time in phototoxicity studies we will compare experimentally the light reactivity of rats and monkey retinas to give some experimental support to this question. Moreover, by using surgical samples from aged patients we will investigate if similar changes are seen in these retinas.

Description des méthodes mises en œuvre

Work package (WP) 1: BLH and LEV (year 1). We will investigate the toxic retinal dose by exposing Wistar rats (10 animals/dose), to blue light to a retinal dose of 0.01J/cm² to 1J/cm². This will enable comparisons between new and former data (the blue light toxicity for rat retina was defined by the same investigations used to fix LEV). Cell death, cell stress responses, blood-retinal barrier will be quantified in the retina, using cell biology methods as in previous studies (Partner 1).

WP2: (year 2 and 3): To evaluate other lighting conditions. The non acute lighting condition described above (other factors affecting phototoxicity) will be investigated as in WP1. For chronic exposures the non toxic dose defined in WP1 will be used.

WP 3: To evaluate the relevance to human of data obtained on rodent models (year 2 and 3). Two approaches will be used: a) Posterior segments of rat and monkey (Salpêtrière Hospital, Paris). eyes will be flat-mounted, kept in organotypic cultures and exposed to identical lighting conditions (Partner 1). Differential proteomics and lipidomics will be analyzed and compared (Partner 2). The levels of specific proteins and lipids known to be systematically increased during light exposure will be used to validate the analyses. The combination of these data will allow us to compare rat and monkey models in order to

establish differences and concordances. b) Ocular liquids obtained as surgical garbage from patients suffering from age-related diseases (Pr. Behar-Cohen, Cochin Hospital and CRC Paris, Partner 1) and from light-exposed rats will be analyzed as in point "a". Taken together, these analyses will give insights on the dissimilarities between species to refine the evaluation of phototoxicity data.

Partenariat

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

Responsable de l'équipe : Mme Alicia Torriglia

Université Paris Descartes, Chimie-Toxicologie Analytique et Cellulaire - Paris

Responsable de l'équipe : M. Olivier Laprevote

Résumé CHARLINE – 22-RF-006

CHAmps Radiofréquences en néonatoLogie : exposition et Impact sur le système Nerveux

M. Erwan Stéphan-Blanchard
CHU Amiens Picardie, Laboratoire PériTox - Amiens

Projet complet - 36 mois
Budget : 219 644 € TTC

Objectif détaillé

Lors d'un précédent projet de recherche réalisé au CHU d'Amiens (projet ANSES NEUROPREM-RF, 2018-2021), nous avons montré pour la première fois que, lors de leur séjour en unité de néonatalogie, les nouveau-nés prématurés étaient exposés aux RF de manière chronique, à de très faibles intensités en moyenne mais ponctuées de valeurs transitoires supérieures à 1 V/m. Les niveaux RF les plus élevés étaient dus à l'activité humaine (téléphonie sans fil et mobile) (Besset et al. 2020 ; 2021).

Nous avons également montré que l'augmentation de l'exposition RF pouvait impacter certaines fonctions neurophysiologiques essentielles chez le nouveau-né prématuré : fragmentation du sommeil, baisse des ondes lentes (d) de l'activité cérébrale au profit d'ondes plus rapides (a), déséquilibre de la balance sympatho-vagale.

Les faibles niveaux RF observés dans notre précédente étude et les impacts neurophysiologiques discrets qui en résultent sont le fruit d'un contexte (nombre de patients, de personnels, équipements, complexité de prise en charge...), d'un territoire (aucune antenne de télécommunications à proximité, pas de 5G à l'époque) spécifiques au CHU d'Amiens et seront donc différents dans d'autres centres hospitaliers.

Les objectifs du projet seront de :

- Mesurer les niveaux RF environnementaux et quantifier l'exposition individuelle des nouveau-nés dans différents services de néonatalogie français afin d'améliorer les connaissances sur les modalités d'exposition de cette population et en évaluer les disparités à une échelle nationale ;
- Rechercher des altérations du système nerveux au niveau central (activité cérébrale) et périphérique (système nerveux autonome) qui seront corrélées aux niveaux réels d'exposition aux RF afin de vérifier et préciser nos résultats antérieurs.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Après une étude réalisée à une échelle locale, l'originalité principale de ce projet sera d'approfondir les connaissances sur les modalités d'exposition aux RF et leur impact sur le système nerveux des nouveau-nés par le biais d'une étude multicentrique, impliquant plusieurs services de néonatalogie répartis sur le territoire français. Aucune étude d'une telle ampleur n'a jamais été menée dans cette population particulièrement vulnérable.

Une autre originalité reposera sur l'évaluation quantifiée, individualisée et précise (analyse spectrale) de l'exposition des nouveau-nés et son association avec une analyse multiparamétrique centrée sur des critères neurophysiologiques. Un accent particulier sera mis sur l'évaluation des niveaux et des effets spécifiques à la 5G qui n'était pas déployée lors du projet précédent.

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

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

Concernant l'évaluation des modalités d'exposition aux RF des nouveau-nés prématurés proposée dans notre projet (point 4 des questions à la recherche), l'ANSES, dans son rapport d'expertise collective paru en juin 2016, a recommandé la réalisation d'études visant à améliorer la caractérisation des expositions, notamment à d'autres signaux que ceux de la téléphonie mobile, ce qui correspond parfaitement à la situation rencontrée dans les services de néonatalogie.

Concernant la recherche d'effets physiologiques ou sanitaires des radiofréquences (point 2 des questions à la recherche), l'ANSES, dans ce même rapport, a préconisé de réaliser des études sur les effets des radiofréquences en lien avec les fonctions cérébrales [...] par l'enregistrement de l'activité électrique cérébrale (EEG) [...], chez l'enfant ou l'animal, à divers âges du développement. Notre projet, qui propose d'évaluer d'éventuelles atteintes au niveau cérébral et du système nerveux autonome chez des nouveau-nés, répond aux attentes actuelles.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet proposé consistera en une étude multicentrique impliquant plusieurs services de néonatalogie répartis sur le territoire français qui ont donné leur accord (cf. « partenaires »).

Les 6 premiers mois seront consacrés à la mesure des niveaux RF dans l'environnement des différents services afin d'en dresser une cartographie et évaluer les disparités territoriales.

A l'issue de cette période, l'inclusion des sujets sera réalisée durant 24 mois, à raison de 20-30 enfants par an et par centre. Nous réaliserons, pour chaque enfant, une mesure continue des RF au niveau de l'incubateur et un relevé des données cliniques. Les données électrophysiologiques seront obtenues de manière simplifiée en récupérant l'EEG réalisé systématiquement à 1 semaine de vie chez les nouveau-nés prématurés et l'ECG par dérivation des enregistrements des moniteurs de surveillance. Les analyses porteront principalement sur une évaluation de l'activité cérébrale (analyse spectrale de l'EEG) et du système nerveux autonome (variabilité du rythme cardiaque).

L'analyse des données et la valorisation des résultats auront lieu à partir du 18^{ème} mois.

Partenariat

CHU Amiens Picardie, Laboratoire PériTox - Amiens

Responsable de l'équipe : M. Erwan Stéphan-Blanchard

Ineris, Direction des Risques Chroniques - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. Brahim Selmaoui

CHU Amiens Picardie, Service réanimation et soins continus pédiatriques

Responsable de l'équipe : M. Pierre Tourneux

CHU de Brest, Service de Néonatalogie et Réanimation Pédiatrique

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

HCL HFME - Réanimation néonatale - Bron

Responsable de l'équipe : Mme Marine Butin

Université de Strasbourg - Médecine Institut des neurosciences cellulaires et intégrées
UPR 3212

Responsable de l'équipe : M. Pierre Kuhn

CHU de Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Géraldine Gascoin

Résumé CIRE-RF – 22-RF-002

Cancers infantiles en relation avec les radiofréquences émises par les stations de télévision et de radio

M. Joachim Schüz

Centre International de Recherche sur le Cancer, Section Environnement et Radiation
- Lyon

Projet complet - 30 mois

Budget : 198 952 € TTC

Objectif détaillé

The aim is to investigate potential risks of childhood cancer main subtypes in relation to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) from television (TV) and radio broadcast stations among children already recruited in case-control studies in France. These RF-EMF sources have been demonstrated to be among the strongest and show substantial exposure gradients in the childhood population. This large-scale epidemiological study will therefore be most informative for future risk assessment on RF-EMF and childhood cancer overall.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Residing in the vicinity of TV/radio towers contributes the most to the environmental exposure to RF-EMF where field strengths exceed those produced by outdoor mobile base stations and indoor wireless computer networks (AM and FM broadcast towers of several hundreds of kW or several MW may produce RF-EMF above background levels even in distances of 10-30 km from the source). Some studies of individual broadcast towers have reported childhood cancer clusters, notably leukaemia cases in the vicinity of the high-power installations of Radio Vatican in Rome, Italy. Systematic epidemiological studies have only been conducted in Germany and South Korea, showing overall no association but inconsistent results for some of the highest exposure categories. CIRE-RF uses the most efficient study design by 1) applying an exposure assessment protocol already validated in Germany; 2) using already conducted French case-control studies with geocoded residential information; 3) including other childhood cancers than leukemia; 4) other exposure information availability allowing exploring potential confounding and co-exposure effects.

Questions de recherche

RFES 2.2 - Études épidémiologiques sur les effets éventuels des radiofréquences sur la santé, notamment : les cancers, les troubles de la fertilité, les maladies neurodégénératives, les troubles du rythme circadien et les effets à long terme des modifications physiologiques du sommeil. On s'intéressera particulièrement aux populations potentiellement les plus vulnérables aux radiofréquences (sujets épileptiques, enfants, etc.) ou moins bien documentées (femmes enceintes, sujets âgés) ou particulièrement exposés (travailleurs).

Children are exposed to a mix of RF-EMF from an early age. New technologies emerge in addition to those existing for a long time. Before the very recent change to digital broadcasting serving smaller areas, TV/radio broadcast emitters were the most influential outdoor sources of environmental RF-EMF exposure in the range 10 kHz-800 MHz, i.e. higher than outdoor mobile phone base stations and indoor wireless technology, highlighting their **importance for people's total exposure to RF-EMF**.

RF-EMF are hypothesized to be a cancer risk factor, including in children. Although population concerns focus on 5G, the proposed study will be informative for the wide range of RF-EMF exposures. This is because among the studies investigating RF-EMF and cancer, mainly those on mobile phone use and brain tumors, studies seeing positive associations did not report any frequency-specific associations but rather with exposure levels irrespective of frequency. Thus, focusing on the highest RF-EMF exposure in young children is a strength of our study and will be informative for RF-EMF overall.

Description des méthodes mises en œuvre

A study design with established scientific validity will be used, adapted from a previously conducted case-control study in Germany and made possible due to similarities between the French and German telecommunications systems. But the current proposal goes beyond the German study by including all types of cancer and by having additional exposures of the children due to being embedded in already conducted studies, allowing for investigation of confounding and co-exposures. For RF-EMF, all amplitude-modulated (AM) and frequency-modulated (FM) high output broadcast towers in the vicinity of subject's addresses will be identified. Residence distance to the most influential broadcast towers will be determined using geocoded addresses of residence and RF-EMF emitters. A matrix will further be developed to calculate cumulative local average field strength (V/m). Monthly average exposure levels will be calculated separately for AM and FM transmitters. Information needed for calculation of the average field strength will be obtained from ANFR.

The study population includes children from 4 case-control studies (ESCALE, ESTELLE, GEOCAP, GEOCAP-birth) conducted in mainland France between 2003 and 2015, with geolocalization of their residential address in France (a) at birth in GEOCAP-Birth (3,020 cases, 12,000 controls), (b) at diagnosis in ESCALE (1,459 cases, 1,681 controls), ESTELLE (1,727 cases, 1,421 controls), and GEOCAP (22,594 cases, 60,000 controls). GEOCAP studies were designed to avoid selection bias, a common shortcoming of case-control studies on environmental factors. ESCALE and ESTELLE studies have more detailed data on potential confounders. Thus CIRE-RF will benefit from the different study design advantages.

Calendar

M1-M6 Identify TV/radio broadcast emitters and calculate distance between broadcast emitters **and study subject's residence**

M7-M18 Develop exposure assessment matrix to calculate RF-EMF field strength from the towers and estimate cumulative field strength assignment to each study subject

M19-M24 Analyse the association between childhood cancers and the different RF-EMF exposure indicators

M25-M30 prepare and submit manuscript

Partenariat

Centre International de Recherche sur le Cancer, Section Environnement
et Radiation - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Joachim Schüz

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

Responsable de l'équipe : Mme Jacqueline Clavel

Résumé CLEOPART – 22-EST-195

Exposition chronique à long terme aux composés des particules en suspension et le risque de cancer du sein dans une étude cas-témoin nichée dans la cohorte E3N

Mme Delphine Praud

Centre Léon Bérard, Département Cancer-Environnement - Lyon

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 971 € TTC

Objectif détaillé

L'objectif de ce projet est de **caractériser les effets de l'exposition aux différents polluants particuliers (PM) sur le risque de cancer du sein**, en prenant en compte leur taille, leurs spécificités physico-chimiques, spatiales et temporelles dans une étude cas-témoin nichée dans la cohorte française E3N. Nous chercherons à déterminer le risque de cancer du sein associé à différents profils d'expositions aux PM ainsi qu'à différents profils de trajectoires d'exposition dans une étude cas-témoin nichée dans la cohorte française E3N.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le cancer du sein est le cancer féminin le plus fréquent en France et son incidence a augmenté au cours des dernières décennies. Les facteurs environnementaux sont suspectés de jouer un rôle dans cette augmentation, **notamment les polluants de l'air comme les PM**. La taille des PM est un paramètre important souvent utilisé pour les caractériser, cependant **certaines études ont mis en évidence d'autres paramètres physico-chimiques** (composition, surface spécifique, teneur en oxygène, etc.) influençant leurs effets toxiques. De même, la variation des compositions chimiques des PM induit des différences de toxicités. Ce mélange complexe hétérogène (incluant carbone suie, poussière, sulfate, chlorure, nitrate, sodium, etc.) **qui constitue l'ensemble des PM, est issu de diverses sources anthropiques et naturelles** (gaz d'échappement des véhicules, combustion de la biomasse, etc.). Ceci implique de grandes variations spatiales (répartition des sources) et temporelles (saisonnalité) des concentrations.

Notre étude permettra d'identifier les composés pouvant avoir un effet sur le cancer du sein, de mieux cibler leurs sources d'émissions et ainsi d'ajuster au mieux les mesures environnementales pour améliorer la santé des populations.

Questions de recherche

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

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

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

Ce projet vise à analyser l'association entre l'exposition chronique à la pollution atmosphérique et le risque de cancer du sein sur une durée longue (22 ans : 1990-2011) à une échelle temporelle et spatiale fine (CANCERS 1) et « l'identification de facteurs de risques environnementaux ou professionnels des cancers » (CANCERS 2). Il propose d'étudier les données de 13 composés individuels des PM notamment Ammonium, Carbonate de calcium, Carbone suie, Chlorure, Nitrate, Nitrate de calcium, Poussières, Sodium et Sulfate (AIR 3). Quatre polluants sous forme particulaire (Benzo[a]pyrene, Cadmium, PCB et Dioxines) seront également considérés. De plus, l'exposition à des groupes de polluants représentatifs de certains types d'émissions seront considérés (e.g. chauffage au bois).

Description des méthodes mises en œuvre

Nous nous appuyerons sur une étude cas-témoins nichée dans la cohorte E3N (5 222 cas et 5 222 témoins appariés), mise en place dans le cadre du projet XENAIR en estimant l'exposition à 13 composés particulaires aux adresses résidentielles et des lieux de travail des femmes, de 1990 à 2011.

1) Les données du modèle CHIMERE (résolution de 7x7km) seront décrites et analysées en détail via une étude des tendances et des corrélations spatio-temporelles entre les composés sur 22 ans (M1-M12). Des modèles à une résolution spatiale très fine (50x50m – modèles Land Use Regression) seront développés en extension des modèles CHIMERE (M5-M16).

2) Les expositions journalières, annuelles et cumulées aux adresses résidentielles et professionnelles seront estimées permettront de tenir compte de la variation temporelle des expositions (M5-M6).

3) Des profils d'exposition aux 13 composés particulaires, des sujets seront identifiés (M7-M16).

4) Après création et description de la base de données (M7-M9), l'association entre les expositions aux 13 composés et le risque de cancer du sein sera analysée en tenant compte des connaissances mécanistiques des polluants, individuellement (M10-M28) et par profils d'expositions aux différents composés en tant que mélange (M17-M34). Les analyses seront ajustées sur les potentiels facteurs de confusion incluant l'histoire résidentielle en milieu urbain avant 1990 comme surrogate d'une exposition antérieure à la pollution.

5) Un modèle conjoint à classes latentes sera développé afin de tenir compte de la distribution statistique de chaque composé (incluant les très faibles doses et les doses extrêmes), de la forme complexe des trajectoires individuelles d'exposition à ces composés après 1990, et de l'histoire résidentielle en milieu urbain avant 1990 (M24-M29).

6) Une étude des valeurs de concentration mesurées sur la période 2011-2022 sera réalisée pour identifier les leviers d'actions pour diminuer les expositions dans la période actuelle. Le nombre de cancers attribuables et évitables seront calculés dans notre population (M27-M36).

7) Les résultats seront valorisés par des publications scientifiques et lors de congrès nationaux et internationaux (M24-M36).

Partenariat

Centre Léon Bérard, Département Cancer-Environnement - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Delphine Praud

Gustave Roussy - CESP Inserm U1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Elodie Faure

Université de Bordeaux, ISPED

Responsable de l'équipe : Mme Karen Leffondre

Résumé EVER-CAN - 22-EST-123

Caractérisation des Espaces VErts urbains et risque de cancer dans la cohorte E3N entre 1990-2014)

Mme Elodie Faure
Gustave Roussy - CESP Inserm U1018 - Villejuif

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 905 € TTC

Objectif détaillé

Il a été suggéré que la présence d'espaces verts (EV) dans l'environnement résidentiel aurait un effet sur la santé et pourrait contribuer à réduire l'impact de plusieurs cancers (sein, peau autre que mélanome, colorectal) en favorisant par exemple l'activité physique, ou en diminuant le niveau de pollution de l'air. Cependant, les résultats des études ne sont pas tous concordants, les recherches dans ce domaine sont limitées, et le moyen de définir géographiquement un EV en milieu urbain manque de précision. A ce jour, le niveau de végétalisation résidentiel est plus utilisé que la présence d'EV.

L'objectif principal de ce projet est d'étudier le rôle lié à la présence d'EV sur le risque de cancer. Il sera décliné en deux challenges scientifiques:

- Utiliser l'indicateur NDVI ((Normalized Difference Vegetation Index) existant et développer de nouveaux indicateurs géographiques caractérisant la présence et l'accessibilité à des EV.

- Étudier les liens entre ces indicateurs géographiques d'EV et le risque de cancer entre 1990 et 2014 quelle que soit la localisation, et selon les cancers du sein (KS), colorectaux invasifs (KCR), de la peau autre que mélanome (KPE) et du poumon (KPO) dans la cohorte E3N.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de ce projet repose sur

- Un domaine de recherche peu exploré permettant d'apporter un éclairage sur l'intérêt des aménagements urbains en EV pour la prévention du cancer.

- Le développement d'indicateurs originaux visant à caractériser la proximité d'EV de façon fiable et précise

- Une évaluation des modifications engendrées par la présence d'EV dans les comportements bénéfiques pour la santé (activité physique) ou la réduction de facteurs de risque environnementaux (pollution de l'air).

- Une approche pluridisciplinaire : épidémiologie, géographie, et informatique (traitement automatique des images).

- Une application à grande échelle avec le traitement automatisé des images et application à l'étude des maladies cardio-métaboliques par exemple.

Questions de recherche

*CANC 3 - Identification de facteurs de risques environnementaux ou professionnels des cancers.
CCLIM 4 - Impact de la biodiversité et des espaces verts et bleus sur la santé humaine, physique et mentale.*

Ce projet permettra de développer des indicateurs géographiques pour caractériser finement la présence d'EV autour des résidences. Il permettra d'étudier les effets bénéfiques éventuels des EV sur la santé humaine (cancer), et d'identifier les facteurs de risque associés susceptibles d'expliquer ce lien.

Description des méthodes mises en œuvre

Lot 1 : développement d'Indicateurs EV basés sur un traitement automatique des images

Les données géographiques sur la localisation des EV en France sont très hétérogènes dans le temps et dans l'espace. Les données existantes (Corine Land Cover / Urban Atlas) ne sont pas adaptées à la construction d'indicateurs d'accessibilité au niveau individuel. Le NDVI obtenu par traitement d'images satellites utilisé dans plusieurs études détermine un niveau de végétalisation et ne permet pas d'identifier la localisation précise des parcs et jardins en milieu urbain. À partir de l'état de l'art de l'Intelligence Artificielle, l'équipe 2 proposera une architecture innovante de réseaux des neurones profonds (deep learning) prenant en compte des données multimodales (image satellite originale, image NDVI, réseau routier). Les prédictions de ce réseau permettront d'identifier les EV qui serviront de base au calcul des scores géographiques utilisables au niveau national pour caractériser la proximité, la superficie et le nombre d'EV dans un rayon de 500 à 1000 m de l'adresse des sujets.

Lot 2 : Population

L'étude sera réalisée dans la cohorte E3N (Etude Epidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle générale de l'Education Nationale). C'est une cohorte prospective de 98 995 femmes affiliées à la MGEN et recrutées en 1990. Des questionnaires permettant de recueillir des données sur l'état de santé, les lieux de résidence, le mode de vie, les mesures anthropométriques, et des données socio-économiques sont envoyés tous les deux à trois ans. L'histoire résidentielle des sujets sera géocodée.

Entre 1990 et 2014, 16540 cancers ont été validés, dont 7897 KS, 993 KC, 603 KPE et 311 KPO. L'ensemble des cas de cancer et une sous-cohorte de 20000 femmes sera constituée dans la cohorte E3N selon le principe d'une étude cas-cohorte. Avec ces effectifs, un HR significativement détectable avec une puissance de 80% pour une exposition de 33% (i.e. découpage des expositions selon le tertile le plus haut) est de 1.07 pour les KS, 1.19 pour les KC, 1.25 pour les KPE et 1.36 pour les KPO. L'avantage de ce design est d'utiliser les mêmes non-cas pour tous les événements de santé d'intérêt.

Lot 3 : Attribution des expositions

Les scores développés dans le lot 1 seront attribués à chaque sujet pour chaque année. Les facteurs de confusion seront sélectionnés pour chaque pathologie.

Lot 4 : Analyses statistiques et valorisation

De modèles de Cox adaptés aux études cas-cohorte prenant en compte les variables contextuelles de désavantage social seront utilisées pour étudier l'association entre score d'EV et risque de cancer (toute localisation) et selon les KS, KCR, KPE et KPO. Pour étudier

le rôle de l'activité physique et de la pollution atmosphérique dans ces associations, des analyses de médiation seront effectuées.

Année 1 - Lot 1 et lot 2

Année 2 - Lot 3 et lot 4

Année 3 - Lot 4

Partenariat

Gustave Roussy - CESP Inserm U1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Elodie Faure

Université Lyon 2 - Bron

Responsable de l'équipe : Mme Laure Tougne Rodet

Résumé EWSens - 22-RF-010

Impact des ondes électromagnétiques sur le développement d'un organe sensoriel chez la drosophile

M. Jean-Michel Gibert

CNRS Laboratoire de Biologie du Développement, UMR7622 - Paris

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 920 € TTC

Objectif détaillé

The second phase of 5G deployment exploits electromagnetic waves (EW) at high frequency, the so-called millimetre-waves (Frequency Range 2 (FR2) from 24.25 GHz to 52.6 GHz). Whether and how these wavelengths could impact developing organisms is poorly known.

In this project, we propose to test the impact of 5G FR2 EW on the formation of a sensory organ (SO) in the model insect *Drosophila melanogaster* and more specifically to analyse their effect on genome stability. The development of *Drosophila* SO is particularly appropriate for this study as it is very simple, starting from one cell that, after three rounds of cell division, gives 4 terminal cells including a neuron, the whole taking only a few hours. Hence, it is possible to film and analyse at the cellular level the whole development of these organs. The genome is organized in two main domains defined as euchromatin and constitutive heterochromatin (chet). Chet, which is very compact, plays a major role in maintaining genome structure and stability. Chet is highly dynamic during development and is affected by environmental factors such as heavy metal and temperature. The formation of the *Drosophila* SO was also shown to be sensitive to environmental factors (temperature) and controlled partly by chet. Indeed, genetic perturbation of chet induces the formation of ectopic SO.

We thus plan to follow and compare genome organization through visualization of chet during the development of a SO in control conditions and under exposure to FR2 range EW. In addition, we will analyse whether the effect observed could result from EW induced temperature rise. Depending on the results, we will test whether the effect of EW on the formation of these organs is enhanced or reduced by chet perturbation.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

The novelty of our project is to test and analyse the impact of 5G EW on the formation of a SO by following the dynamics of chet which is fundamental to genome stability. This will be possible thanks to the construction of devices allowing us to image the developing organ while submitting flies to EW. Genome organisation and chet will be visualized and disturbed using state of the art genetic tools of *Drosophila*.

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 s'intéressant aux bandes de fréquences nouvellement identifiées (pour la 5G par exemple) et encore peu étudiées (3,5 GHz et 26 GHz et au-delà, notamment) sont prioritaires.

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

RFES 2.6 - Étude des effets des radiofréquences sur l'environnement (la faune) et notamment le comportement animal.

The project aims at testing in a small animal, at the cellular level, EW effects at different frequencies corresponding to the high band millimetre waves used for 5G. The impact of exposition on genome integrity will be analysed by following in vivo the dynamics of chet. This will give informative results on the potential biological and sanitary effects of second generation 5G EW.

Description des méthodes mises en œuvre

During the first 6 months of the project, devices will be designed and constructed to expose flies to 5G EW (28GHz, 40GHz, 60GHz). The device consists in a resonating cavity where the flies will be placed and exhibits a gap for an optical path between the microscope and the fly to expose and film flies at specific developmental stage.

In parallel, transgenic *Drosophila* will be generated to visualise chet. We will develop two kinds of lines: the first ones will express heterochromatic proteins tagged with a fluorochrome, the second ones will express Tale-lights which are fluorescent proteins engineered to bind specific DNA sequences of chet (satellites).

During the following 18 months, the impact of EW on the development of the sensory organ and on genome organization will be tested. We will expose flies to 5G EW during SO formation at the pupal stage, follow genome organisation and analyse the resulting SO phenotype. Then, we will test whether some mutations might render the genome more sensitive to exposition by disturbing chet using the numerous genetic tools available in *Drosophila*.

As EW might have thermal and non-thermal effects, we will also monitor body temperature of flies exposed to EW with a thermal camera. To distinguish the thermal and non-thermal effects, we will reproduce the temperature rise in the absence of EW waves and follow the development of the SO and the dynamics of chet. These experiments will also be performed using genetically disturbed chet flies.

Partenariat

CNRS Laboratoire de Biologie du Développement, UMR7622 - Paris

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

Sorbonne Université, LBD- UMR7622 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Agnes Audibert

Sorbonne Université, Laboratoire GeePs - Paris

Responsable de l'équipe : M. Julien Sarrazin

Résumé EXEMA-Scléro - 22-EST-010

Expositions professionnelles évaluées par matrice emploi exposition et sévérité de la sclérodémie systémique.

M. Alain Lescoat

CHU Rennes, Université Rennes 1 Hôpital Sud Rennes

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 45 696 € TTC

Objectif détaillé

La sclérodémie systémique (Systemic sclerosis (SSc)) est une maladie auto-immune systémique caractérisée par des phénomènes de fibrose cutanée et pulmonaire, touchant préférentiellement les femmes et dont la sévérité est hétérogène. **Il s'agit de la maladie systémique avec la mortalité individuelle la plus importante, imputée principalement à la fibrose pulmonaire associée à la SSc (FP-SSc).** Plusieurs facteurs prédisposent à la FP-SSc, dont le sexe masculin. Par ailleurs, **les facteurs prédictifs de la sévérité de l'atteinte pulmonaire restent mal connus.** Plusieurs travaux indépendants issus de notre consortium ont démontré que les expositions professionnelles, telles que les solvants ou la silice cristalline pourraient participer à la sévérité de l'atteinte pulmonaire sclérodermique (Ballerie et al. 2020, Thoreau et al. 2021). **Ces résultats ont été obtenus à l'aide de questionnaires en passation directe avec les patients.** Plus récemment, de nouveaux outils **d'évaluation indirecte** des expositions selon les postes de travail occupés, appelés matrices emplois-expositions (Job-Exposure Matrix (JEM)), ont été développés.

Cette étude de faisabilité vise à appliquer plusieurs JEM à deux populations de patients sclérodermiques dont le curriculum laboris a déjà été recueilli (cohorte SSc CHU de Rennes (n=120 patients) et CHU de Tours (n=120)), **afin d'évaluer leur performance de description des expositions professionnelles et leur performance pronostique de la sévérité de la SSc.** **L'impact** du sexe (homme/femme) étant important sur les expositions et dans la SSc, une attention particulière lui sera portée.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La part des expositions professionnelles comme facteurs déterminants de la sévérité de la SSc a été peu explorée, **alors qu'il s'agit de la maladie auto-immune systémique avec la mortalité individuelle la plus importante.** Les JEM ont été récemment utilisées en population générale pour caractériser le rôle de la silice cristalline dans la survenue de la maladie (étude Danoise, Boudigaard et al. 2021), mais leur application simultanée à plusieurs toxiques dans **une logique d'exposome, et les liens entre ces expositions évaluées par les JEM et la sévérité de la SSc n'ont pas été étudiés.** De plus, cette approche de JEM pourrait être évaluée secondairement sur d'autres cohortes de validation et intégrée à l'évaluation pronostique

initiale de la SSc, se substituant ainsi à des questionnaires avec de long temps de passation et un risque de biais de mémorisation.

Questions de recherche

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

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

Nous abordons deux questions au sein des agents chimiques (incluant les solvants) :

1/Caractérisation des expositions et étude par voie épidémiologique (...) des impacts sur la santé (...) de populations sensibles peu étudiées :

Nous explorerons la pertinence des JEM pour déterminer les expositions des patients atteints de SSc, répondant ainsi à la définition d'une population de patients sensible et peu étudiée. Les deux cohortes ont déjà bénéficié d'une évaluation par questionnaire de leurs expositions, nous pourrons ainsi comparer la performance des données déclaratives de ces questionnaires (Thoreau et al. 2021) et celles issues des JEM afin de valider la pertinence des JEM dans cette population. L'association entre la sévérité de patients atteints de SSc et les expositions professionnelles par la silice par les deux techniques seront étudiées.

2/ Prise en compte des multi-expositions et co-expositions en lien avec l'exposome (...) :

Nous appliquerons des JEM françaises et internationales (Matgéné, CANJEM) de manière simultanée à cette population pour laquelle il est admis que plusieurs toxiques sont susceptibles de favoriser la survenue et la sévérité de maladie, au premier rang desquels silice cristalline et solvants. L'utilisation concomitante de matrices d'exposition d'une autre nature (biomécanique, JEM Constances) sera utilisée comme témoin d'absence de lien, permettant ou non de valider la pertinence des JEM comme outils d'approche exposomique. En effet, du fait des limites des matrices (évaluation globale), il n'est pas certain que les matrices soient valides pour des cohortes de patients, justifiant l'étude de faisabilité proposée dans ce projet.

Description des méthodes mises en œuvre

Workpackage (WP) 1. Performance des matrices Silices comparées aux auto-questionnaires.

Après une étape de codage en aveugle des professions (M0-M3), les JEM silices seront appliquées et comparées (statistiques de performance) avec les résultats par questionnaires, considérés ici comme la référence (malgré les biais de mémorisation) (M3-M9).

M9-M15 : étude de l'association entre la sévérité de patients atteints de SSc et les expositions professionnelles à la silice par les deux techniques. La sévérité sera définie par

les marqueurs attendus dans la SSc (forme diffuse, atteinte pulmonaire, fonction respiratoire, mortalité)

WP2. Comparaison de la mesure de l'association entre sévérité et exposome

En plus des JEM Silice, les matrices solvants (autres toxiques impliqués dans la SSc) et biomécaniques (contrôle) seront étudiées (M15-M21). Les mêmes paramètres de sévérité de la SSc seront explorés.

Dans les deux WP, les deux cohortes seront traitées séparément puis regroupées. Cette même stratégie sera utilisée pour explorer le sexe et l'impact de l'origine Française ou Canadienne des JEM.

Des travaux de publications et valorisation se feront entre (M12-M24). Les données sont déjà recueillies et les matrices accessibles (aucun verrou).

Partenariat

CHU Rennes, Université Rennes 1 Hopital Sud Rennes

Responsable de l'équipe : M. Alain Lescoat

CHU Bretonneau, médecine interne - Tours

Responsable de l'équipe : Mme Elisabeth Diot

Résumé EXPODOM-PID - 22-EST-093

Exposition Environnementale Domestique et progression des Pneumopathies Interstitielles Diffuses fibrosantes - une étude cas témoin exploratoire

Mme Valérie Bex

Service parisien de santé environnementales - Paris

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 49 843 € TTC

Objectif détaillé

Cette étude exploratoire a pour objectif principal d'étudier les liens entre les polluants et facteurs de risques de l'environnement domestique identifiés par des conseillers médicaux en environnement intérieur (CMEI) et la progression des pneumopathies interstitielles diffuses (PID) fibrosantes.

Les objectifs secondaires sont d'évaluer l'impact :

- des conseils CMEI sur la santé respiratoire des patients
- de l'audit CMEI sur le diagnostic de la PID.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les PID sont des maladies pulmonaires rares. Contrairement à l'asthme qui est une maladie des voies aériennes, les PID sont des maladies du parenchyme (poumon profond). Elles sont donc un modèle distinct qui pourrait permettre de mettre en évidence des expositions délétères selon une physiopathologie différente.

Si certaines PID dont les pneumopathies d'hypersensibilités (PHS) et les pneumoconioses sont secondaires à des expositions environnementales [Sesé, Rev Mal Resp 2020], l'impact de l'environnement domestique sur la progression des PID fibrosantes dans leur ensemble n'a jamais été étudié.

Les PID fibrosantes sont classées en formes stables et formes progressives selon des critères standardisés établis récemment [George PM, Lancet Respir Med 2020]. La progression des PID, potentiellement liées à un environnement domestique nuisible, peut conduire à des hospitalisations répétées, une insuffisance respiratoire chronique et in fine à une greffe pulmonaire.

L'efficacité des audits CMEI pour réduire les symptômes respiratoires a été démontrée pour l'asthme [Morgan, N Engl J Med 2004] mais aucune étude n'a été réalisée chez des patients atteints de PID.

Questions de recherche

ACHIM 2 - Caractérisation des expositions et étude, par voie expérimentale et épidémiologique, des impacts sur la santé en population générale et de populations sensibles peu étudiées (asthmatiques,

insuffisants respiratoires chroniques, personnes en surpoids ou obésité, souffrant de troubles psychiques, en situation de vulnérabilité sociale ...).

ABIO 4 - Liens entre les agents biologiques et pathologies (comme cancers, sensibilisations respiratoire ou cutanée...). Effets à long terme sur la santé en lien avec l'exposition aux moisissures. Relations dose-réponse en lien avec l'exposition à des agents biologiques (moisissures, pollens...).

Les associations entre la présence de polluants de l'air intérieur (moisissures, dioxyde d'azote, composés organiques volatiles, aldéhydes, particules) ou de facteurs de risque dans le logement (ventilation défectueuse, défauts du bâti, mode de vie augmentant les expositions, surpeuplement...) et la progression des PID fibrosantes seront étudiées [questions : ACHIM 2 ; ABIO 4].

Les résultats permettront de mieux comprendre le rôle d'un environnement domestique défavorable [Habitat favorable à la santé, HCSP 2019] sur la progression des PID fibrosantes et d'évaluer l'impact des conseils CMEI sur la santé respiratoire et sur le diagnostic médical. Les actions de prévention constituées par ces audits CMEI pourront contribuer à l'éducation thérapeutique des patients.

Description des méthodes mises en œuvre

Schéma de l'étude

Étude exploratoire cas / témoin avec un suivi à 6 mois

- Groupe cas : patients PID fibrosante avec critères de progression de la fibrose dans les 12 derniers mois
- Groupe témoin : patients PID fibrosante ne remplissant pas ces critères (PID stable)

Ce protocole de catégorie 3 sur la personne humaine a obtenu l'avis favorable du comité de protection des personnes le 14/12/2021.

Principaux critères d'inclusion

- PID fibrosantes : fibrose pulmonaire idiopathique, pneumopathie interstitielle non spécifique, pneumoconioses, PID avec caractéristiques d'auto-immunité, fibroélastose pleuroparenchymateuse, PHS chronique a priori non liée à l'environnement domestique, sarcoïdose fibrosante stade 4
- Pas de changement de traitement de la PID durant les 12 derniers mois

Principaux critères d'exclusion

- Conseils CMEI au cours des 12 derniers mois
- Patient n'habitant pas à Paris

Effectif

Pour l'étape de faisabilité 15 patients par groupe seront inclus pendant 18 mois.

Le recrutement se déroulera dans 2 services hospitaliers parisiens.

Méthodologie

Les polluants analysés seront ceux reconnus pour leurs effets irritants, inflammatoires et/ou allergisants sur les voies respiratoires [WHO guidelines for indoor air quality 2010] :

- Moisissures
- Polluants chimiques : dioxyde d'azote, composés organiques volatiles, aldéhydes
- Particules : teneurs massiques des fractions PM_{2,5} et PM₁₀, nombre de particules ultrafines

Objectif principal : les associations entre les concentrations de polluants / facteurs de risque domestiques et le caractère progressif ou non des PID fibrosantes seront étudiées. Des modèles de régression logistique conditionnelle avec ajustement sur le sexe, l'âge et le tabagisme seront utilisés. L'exposition professionnelle, les modifications majeures de l'environnement domestique dans les 12 mois avant l'audit seront prises en compte dans les analyses.

Objectif secondaire 1 : une analyse comparative des données cliniques et des réponses du patient au questionnaire de santé perçue Saint Georges [Bouchet, Rev Mal Resp 1996] administré lors de la consultation d'inclusion et 6 mois après l'audit CMEI sera réalisée. La compliance des patients aux conseils CMEI sera évaluée 6 mois après l'audit.

Objectif secondaire 2 : le nombre de diagnostics reconsidérés en PHS liée à l'environnement domestique sera déterminé.

Partenariat

Service parisien de santé environnementales - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Valérie Bex

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

Responsable de l'équipe : Mme Rachel Nadif

Hôpital Tenon - Paris

Responsable de l'équipe : M. Jacques Cadranel

Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph, Service de Pneumologie-allergologie et oncologie thoracique - Paris

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

Résumé EXPOL - 22-EST-210

Approche Exposome pour l'identification de causes environnementales du Cancer du Poumon chez les femmes non-fumeuses

Mme Loredana Radoi
CESP - INSERM U1018 - Villejuif

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 884 € TTC

Objectif détaillé

Our objective is to comprehensively characterize the Lung cancer Exposome, which includes biological responses and molecular biomarkers associated to environmental exposures. For this purpose, we will:

- 1) Acquire new OMICs data (metabolomics and epigenetics) within the E3N cohort and the WELCA case-control study to characterize the Internal Exposome associated to Lung Cancer.
- 2) Integrate the OMICs data with exposure data (lifestyle, air pollution, passive smoke) to understand the link between External and Internal exposome in lung carcinogenesis in non-smoking women.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Active and passive smoking are known risk factors for lung cancer (LC). However, the increase in the incidence of LC cases despite decreases in tobacco consumption (and particularly in women) suggests the implication of risk factors other than smoking in the etiology of LC. Today, a very limited amount of information is available on environmental risk factors of lung carcinogenesis. The main strengths of EXPOL are:

- 1) The study is carried on non-smoking women only to enhance the chance of detecting additional causes of LC
- 2) The use of OMICs measurement and multi-omics to characterize the internal exposome related to lung carcinogenesis
- 3) The integration of exposure data including detailed information on air pollution and lifestyle.
- 4) The integration of internal and external exposome data with appropriate statistical tools.

Questions de recherche

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

CANC 4 - Interactions gènes/environnement/comportement, mécanismes épigénétiques.

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

The outcome of this project will allow to identify potential causes of Lung carcinogenesis that are not only associated to tobacco smoke (CANC1) as well as the metabolic and epigenetic markers associated to these exposures (CANC4). We will integrate the effects of multiple exposures by applying an exposome approach (ACHIM 3.1).

Description des méthodes mises en œuvre

Phase 1: Sample selection and internal exposome (month 1-12)

Two OMICs analysis will be acquired as part of EXPOL, untargeted metabolomics and epigenetics. These Omics have been chosen on the basis that 1) ultra-high resolution mass spectrometry (UHRMS) metabolomics has the unique potential to provide both measurement of signatures of exogenous exposures (external exposome) as well as the biological response to these components (internal exposome) 2) Epigenetics alterations have been widely reported in the literature to play a major role in the genesis of lung cancer.

Analysis will be carried on a subset of the E3N cohort (Etude Epidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle générale de l'Education Nationale) and a subset of the WELCA (Women Epidemiology Lung Cancer) case-control study.

E3N is a prospective cohort of 98 995 French women recruited in 1990 with a longitudinal follow-up. A sub cohort of 420 cases of LC was identified (with 39% of never smokers), of which 120 have available blood samples. For the controls, we have already selected a random "sub-cohort" of 500 women, for which we dispose of metabolomic measurements acquired as part of a project carried by Team 3 and 1 (Persistent organic pollutants and endometriosis, funded by FRM 2021) and epigenetic measurement acquired as part of the XENAIR project (Fondation ARC) carried by Team 1.

WELCA is a case-control study that recruited 747 cases of newly diagnosed LC female patients and 762 controls (frequency-matched to the cases by age and area of residence) for whom blood samples are available. Of these 20% of cases were never smokers.

In this phase, we propose to acquire new OMICs measurements for the 120 cases of the E3N cohort and 300 cases-controls for the WELCA study (total of n=420 samples). Metabolomics will be carried by Team 3 in positive and negative ionization mode to allow the analysis of a large array compounds. Methylation profiles will be analyzed at the Centre National de Recherche en Génomique Humaine using an EPIC Illumina chip.

Phase 2: External exposome (month 6-18)

Detailed information on lifestyle, socio-economic status, smoking habits etc. is available for the E3N cohort and WELCA study. The geolocation of the participants will be used to estimate exposure to air pollution (PM10, PM2.5, NO2, O3) using land-use regression models already developed by Team 1 as part of the XENAIR project.

Phase 3 Statistical analysis (month 12-36)

In the third phase, we will apply in depth statistical analysis to establish potential links between measured exposures, pathway perturbation and LC. Building on the experience of Team 2 acquired in large Exposome projects (Exposomics FP-7, Horizon 2020 EXPANSE) we will dispose of analytical tools to

i) characterize physiological responses to external stressors by combining exposure measures and estimates with OMIC profiles

ii) explore molecular pathways and mechanisms involved in the physiological response to external exposures using multi-OMICs integration approaches

iii) evaluate how exposures together with their physiological imprints contribute (over the life course), to individual risk of LC.

Analytical tools will include univariate and multivariate models, logistic regression models, and differential network models

Partenariat

CESP - INSERM U1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Loredana Radoi

Imperial College London, School of Public Health Epidemiology and Biostatistics

Responsable de l'équipe : Mme Sonia Dagnino

INRAE Oniris Laberca PF-MELISA - Nantes

Responsable de l'équipe : M. Yann Guitton

Pollution atmosphérique et fibrose pulmonaire

Mme Carole Planès

Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Service d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital

Avicenne - Bobigny

Projet complet - 36 mois

Budget : 164 840 € TTC

Objectif détaillé

L'objectif général est d'évaluer l'impact de la pollution atmosphérique urbaine sur la fibrose pulmonaire (FP) dans un modèle préclinique. Des souris, après induction ou non d'une FP, seront exposées à 2 atmosphères polluées complexes (AtmPC), l'une simulant celle d'un pic de pollution à Paris en hiver (P3H) et l'autre en été (P3E), avec pour objectifs spécifiques: 1) d'évaluer si l'exposition aux AtmPC exacerbe le processus de FP, 2) de disséquer les mécanismes cellulaires/moléculaires induits par les AtmPC dans le poumon sain ou fibrotique.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est la plus fréquente et la plus grave des FP dont elle est le prototype. Son pronostic est sombre (médiane survie: 3-5 ans) en l'absence de traitement médical curatif. Son profil évolutif est variable: progression rapide ou lente, ou encore évolution émaillée d'exacerbations aiguës (EA) souvent fatales, survenant surtout l'hiver. La FPI serait la conséquence de micro-agressions répétées (notamment environnementales) de l'épithélium alvéolaire sénescant induisant un stress oxydant et une apoptose, suivies d'une réparation aberrante avec remodelage progressif du tissu fibreux pulmonaire du fait d'un dialogue intercellulaire aberrant entre pneumocytes et fibroblastes.

Il a été montré que la pollution de l'air est associée à un risque accru de FPI, dont l'incidence augmente. De plus, des études de cohortes de patients (dont une de notre groupe en France: réf Sesé et al 2018) suggèrent le rôle délétère de certains polluants dans la FPI, sur la survenue d'EA (ozone O₃, dioxyde d'azote NO₂), le déclin de la fonction respiratoire (PM₁₀) et la mortalité (PM_{2,5}, PM₁₀). Les mécanismes cellulaires et moléculaires potentiellement impliqués restent encore mal compris. Des études expérimentales cellulaires/animales ont certes identifié certains effets des polluants (O₃, particules diesel, PM₁₀) pouvant participer au processus fibrosant: stress oxydant, inflammation, activation de la voie du TGF- β , raccourcissement des télomères Cependant, ces études ne suffisent pas à affirmer que la pollution de l'air aggrave l'évolution de la FP du fait de leur caractère réductionniste: elles n'intègrent pas la complexité du processus de FP et n'étudient qu'un polluant à la fois négligeant un possible «effet cocktail» de synergie entre polluants. Enfin, l'effet des variations saisonnières de la pollution atmosphérique urbaine (plus riche en NO₂

l'hiver, en O3 l'été) n'a pas été étudié, alors même que les EA de FPI sont en France bien plus fréquentes l'hiver.

(2009)

L'originalité et le caractère novateur du projet est de proposer pour la première fois une étude intégrée des effets de la pollution sur la FP combinant:

- un modèle murin de FP par instillations intratrachéale (it) répétées de faibles doses de bléomycine (Bléo) mis au point à l'UMR1272, induisant une FP modérée, peu inflammatoire, ayant de fortes similitudes histopathologiques avec la FPI.
- l'exposition à des AtmPC reproduisant de façon réaliste les pics de pollution de l'air de Paris en été ou en hiver, grâce au couplage d'une chambre de simulation atmosphérique dédiée à l'étude des processus atmosphériques multiphasiques (CESAM, www.lisa.u-pec.fr, instrument national CNRS) avec une enceinte d'exposition de souris (Plateforme Pollurisk, www.pollurisk.cnrs.fr, outil unique en Europe issu d'une collaboration entre le LISA et l'équipe GEIC2O, réf Benjdir et al 2021)
- une analyse transcriptomique par single cell (sc)RNAseq pour caractériser les mécanismes cellulaires/moléculaires impliqués dans chacun des types cellulaires du poumon (IPMC CNRS UMR 7275)

Questions de recherche

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

- *dans des secteurs d'activité (bâtiments et travaux publics (BTP)),*
- *dans les départements et régions d'Outre-Mer,*
- *dans des environnements spécifiques (commerces, bureaux, moyens de transport),*
- *liés aux niveaux d'empoussièrment et quantités et taux de poussière ingérée adaptés au contexte français.*

CCLIM 1.1 - Impacts du changement climatique sur la santé : impacts directs (conséquences sanitaires immédiates et à long terme de la chaleur et des événements climatiques exceptionnels, en particulier sur les populations vulnérables et les travailleurs).

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

Ce projet s'inscrit pleinement dans la Question AIR1. Il évaluera l'effet potentiellement fibrosant de la pollution atmosphérique urbaine sur poumon sain ou pathologique (souris rendues «vulnérables» par l'induction préalable d'une FP). L'impact saisonnier (hiver vs été) sera de plus étudié car nous anticipons que le réchauffement climatique augmentera probablement le temps d'exposition à la pollution de type «été» dans un futur proche (Question CCLIM1.1). Suivant les résultats, il pourra ensuite être utile de soustraire de l'atmosphère polluée un polluant individuel particulièrement suspecté d'être délétère, qui pourrait servir d'indicateur pertinent (AIR4).

Description des méthodes mises en œuvre

Protocole: des souris C57Bl6 ayant reçu 3 instillations it de Bléo (0.8 UI/g) ou de sérum physiologique à 2 semaines d'intervalle seront exposées une semaine dans la plateforme

Pollurisk à une AtmPC (de type P3H ou P3E), ou à de l'air non pollué (15 souris/groupe). Une semaine après, les variables ventilatoires et la compliance pulmonaire seront mesurés avant sacrifice des souris et seront réalisés un lavage bronchoalvéolaire (LBA), le prélèvement des poumons et du sang.

Analyses histologiques/biochimiques: la sévérité de la FP sera quantifiée (histopathologie, analyses moléculaires/biochimiques des collagènes), ainsi que le stress oxydant, **l'inflammation et l'apoptose (immunohistochimie, analyses protéiques/moléculaires des homogénats pulmonaires et du liquide de LBA).**

Analyses transcriptomiques: une analyse globale par «bulk RNAseq» des cellules du poumon total et du LBA sera effectuée (n=5/groupe). Dans un second temps, sur une autre série expérimentale, une analyse plus précise par scRNAseq (n=3/groupe) sera faite après dissociation des différents types de cellules pulmonaires, pour les conditions jugées pertinentes au vu des données du bulk RNAseq. Les principaux résultats seront validés par qRT-PCR, immunomarquages et Western blot.

4 séries expérimentales (2 pour P3H, 2 pour P3E) seront faites séquentiellement, la plateforme Pollurisk ne générant qu'un type d'AtmPC à la fois. Durée du projet: 3 ans

Partenariat

Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Service d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Avicenne - Bobigny

Responsable de l'équipe : Mme Carole Planès

Inserm - Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Audrey Der Vartanian

Université Paris 7, Faculté des Sciences et Technologie - Créteil

Responsable de l'équipe : M. Patrice Coll

CNRS - CNRS UMR7275 - Valbonne

Responsable de l'équipe : M. Georges Vassaux

Résumé GENIFER - 22-EST-182

Améliorer la connaissance sur les facteurs acoustiques de la gêne due au bruit ferroviaire

Mme Fanny Mietlicki
Bruitparif - Saint-Denis

Etude de faisabilité - 24 mois
Budget : 49 997 € TTC

Objectif détaillé

L'objectif est d'évaluer la faisabilité d'une étude cherchant à mieux comprendre les facteurs acoustiques impliqués dans la gêne exprimée par les riverains vis-à-vis du bruit généré par le trafic ferroviaire. Il s'agira de construire une méthodologie de recueil des données, de déterminer le nombre de participants et de secteurs à inclure, de tester le recrutement de participants sur trois sites pilotes en Île-de-France, de construire le questionnaire et le carnet de bord, de les tester sur le terrain et d'analyser les résultats.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

En France, la Loi d'Orientation des Mobilités (LOM) a introduit, en son article 90, des dispositions pour mieux tenir compte des critères d'intensité et de répétitivité dans l'évaluation de la gêne due au bruit ferroviaire, en visant notamment l'introduction à terme dans la réglementation d'indicateurs de bruit dits événementiels.

Suite à une saisine du Ministère de la Transition Ecologique, le Conseil National du Bruit (CNB) a rendu en juin 2021 un avis relatif à ce sujet, dans lequel il recommande notamment de mettre en place un processus d'évaluation continue avec la réalisation d'enquêtes de gêne auprès des riverains et d'études scientifiques visant à confirmer ou infirmer la pertinence des indicateurs qui seront proposés par arrêté ministériel pour être expérimentés. Le projet proposé ici par Bruitparif, SNCF Réseau et l'Université Gustave Eiffel, s'inscrit dans ce cadre.

Il s'agit de développer un protocole d'étude afin de préciser et hiérarchiser les facteurs acoustiques impliqués dans la survenue de la gêne due au bruit ferroviaire et de le tester ensuite auprès d'une soixantaine de riverains de voies ferroviaires, recrutés sur trois sites pilotes en Île-de-France. Le recueil d'information reposera d'une part sur la passation d'un questionnaire permettant de caractériser la gêne de long terme ressentie par les participants en lien avec leur exposition au bruit ferroviaire et d'autre part, sur le remplissage par les participants d'un carnet de bord leur permettant de procéder, selon un protocole restant à préciser, à la consignation de niveaux de gêne instantanée ressentie lors de différents passages de trains de différentes catégories.

L'originalité de GENIFER repose sur trois aspects :

- L'évaluation à différents moments de la journée, et sur deux semaines, des différents facteurs acoustiques intervenant dans la survenue de la gêne, par la caractérisation et la

notation de passages isolés de trains et leur mise en relation avec les mesures de caractérisation du bruit au passage des trains réalisées dans le voisinage des répondants, **cette méthodologie n'ayant jamais été réalisée en France, in-situ, pour évaluer la gêne instantanée du bruit ferroviaire.**

- Le couplage des résultats des questionnaires et carnets de bord avec les mesures de bruit permettra de confronter les ressentis des riverains avec différents indicateurs de bruit mesurés (a minima ceux proposés au travers des avis du CNB) afin d'identifier les facteurs acoustiques qui apparaissent les plus pertinents pour expliquer la gêne exprimée.
- Cette enquête pilote permettra enfin de tester et d'élaborer des outils innovants de recueil d'information, par exemple une application sur smartphone pour la notation de la gêne instantanée due au bruit des passages de trains et des facteurs acoustiques intervenant dans celle-ci.

Questions de recherche

N5ON 1 - Évaluation des effets extra-auditifs pour la population générale et/ou les travailleurs (par exemple pathologies respiratoires, apprentissage scolaire).

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

La réalisation de ce projet pilote à l'échelle de trois sites en Île-de-France visera à vérifier l'acceptabilité et la pertinence du protocole proposé, verrou essentiel à lever avant une potentielle mise en œuvre à une échelle plus large au niveau national.

Ce projet permettra de disposer pour la première fois d'éléments factuels d'appréciation des facteurs acoustiques explicatifs de la gêne, recueillis directement auprès de riverains exposés de manière chronique au bruit ferroviaire. Il se distinguera ainsi des études de psycho-acoustique portant sur la gêne de court terme qui sont réalisées en laboratoire auprès d'un panel de participants volontaires qui doivent juger le bruit dans différentes situations dans lesquelles ils se trouvent plongés de manière artificielle.

Description des méthodes mises en œuvre

Cette étude de faisabilité comportera différentes étapes :

1. Mettre au point la **méthodologie d'enquête, les questionnaires et les carnets de bord** comportant les grilles de notation pour le recueil des données.
2. Sélectionner trois sites pilotes en Île-de-France répondant à des typologies variées en termes d'exposition au bruit ferroviaire (types de matériels roulants, volume de trafic diurne et nocturne...) et de contexte urbain (pavillonnaire, collectif...).
3. Instrumenter les sites pilotes avec des stations de mesure classe 1 du bruit en situation riverains, identifier et évaluer le bruit à chaque passage de trains et calculer les différents indicateurs acoustiques.
4. Soumettre le questionnaire et la grille de notation des trains à une vingtaine de participants recrutés sur chacun des sites.

5. Analyser les réponses au questionnaire et aux grilles de notation et mettre en regard ces résultats avec les résultats des mesures acoustiques, afin d'initier une liste hiérarchisée des facteurs acoustiques intervenant dans la gêne liée au bruit ferroviaire.

6. Disposer d'éléments d'aide à la décision pour la sélection d'indicateurs événementiels pertinents.

7. Établir le bilan de l'étude de faisabilité et proposer, en cas de bilan positif, un cahier des charges pour la réalisation d'une étude nationale en précisant le nombre de participants, de secteurs et de typologies de sites qu'il conviendrait d'inclure afin d'avoir suffisamment de puissance statistique.

Partenariat

Bruitparif - Saint-Denis

Responsable de l'équipe : Mme Fanny Mietlicki

Université Gustave Eiffel - Bron

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Sophie Evrard

Réseau SNCF – La Plaine Saint-Denis

Responsable de l'équipe : M. Jean-Philippe Regairaz

Résumé GEOCAP-AIR - 22-EST-186

Pollution de l'air et cancers de l'enfant en France

Mme Stéphanie Goujon

Inserm U1153, EQ7 épidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent - Villejuif

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 493 € TTC

Objectif détaillé

Le projet GEOCAP-AIR a pour objectif principal d'étudier à grande échelle le rôle de la pollution liée au trafic routier dans le risque de cancer chez l'enfant.

Les objectifs spécifiques sont :

- d'étudier le risque de cancer en fonction de la densité de routes et des expositions aux polluants estimées par modélisation à proximité des adresses résidentielles
- d'étudier ces relations sur deux fenêtres d'exposition importantes pour les cancers pédiatriques, la période prénatale et celle proche du diagnostic
- d'étudier l'influence de co-expositions environnementales (proximité de cultures et expositions aux pesticides agricoles, sites industriels, lignes HT, UV, radiations ionisantes naturelles RIN) et de l'environnement socio-économique (SE) sur le lien pollution et cancer.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le projet GEOCAP-AIR n'a pas d'équivalent. Il s'appuie sur les outils uniques développés par l'équipe EPICEA que sont le registre national des cancers de l'enfant (RNCE) et les programmes GEOCAP et GEOCAP-BIRTH basés sur des systèmes d'information géographiques (SIG).

Les principaux atouts du projet sont sa taille et sa couverture nationale; l'absence de biais de participation ou de mémoire; le caractère précis et objectif des indicateurs d'exposition; la disponibilité de plusieurs co-expositions; l'investigation de 2 périodes d'exposition importantes pour la cancérogénèse.

Questions de recherche

CANC 3 - Identification de facteurs de risques environnementaux ou professionnels des cancers.
SHS 4 - Approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux...) des inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux.
AIR 3 - Évaluation des effets sur la santé de l'exposition aux particules de l'air ambiant extérieur incluant des « métriques » d'exposition autres que la masse des PM10 et PM2,5, en particulier pour les particules ultrafines (PUF), le noir de carbone (black carbon) et le carbone organique.

La pollution de l'air extérieur et les particules fines en particulier sont des cancérogènes certains pour l'homme (CIRC). Le benzène, leucémogène certain aux fortes expositions rencontrées dans le passé en milieu professionnel, est un polluant lié au trafic routier. Chez l'enfant, une association entre l'exposition aux polluants liés au trafic routier et le risque de leucémie est suggérée par plusieurs études, et ce lien doit être confirmé et précisé. Les études sont plus limitées et hétérogènes sur les tumeurs cérébrales et encore très insuffisantes sur les autres cancers pédiatriques.

Avec environ 30 000 cas et 85 000 témoins, avec des indicateurs d'exposition SIG objectifs et précis et sans biais de sélection, le projet GEOCAP-AIR apportera des informations majeures sur le rôle de la pollution liée au trafic routier, notamment du noir de carbone composant majoritaire des PM_{2,5}, dans différents types de cancers chez l'enfant, en tenant compte des fenêtres d'exposition, de plusieurs co-expositions et de l'environnement SE.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet inclut tous les cas du RNCE < 15 ans et des témoins échantillonnés à partir de données fiscales et de l'Etat civil, soit environ 30 000 cas et 85 000 témoins pour l'étude au diagnostic (2002-2018), 7 000 cas et 18 000 témoins nés en 2010-2018 pour l'étude à la naissance.

Les adresses de résidence des enfants sont géolocalisées précisément à partir des données de l'IGN, du cadastre et de photos aériennes (réalisé pour 80% des sujets).

Les expositions seront estimées par la densité de routes majeures à moins de 500 m des résidences (Houot et al, 2015); et par les concentrations en NO₂, PM_{2,5} et noir de carbone estimées à une échelle de 100x100 m à l'aide de modèles de régression de type LUR existants basés sur une cartographie du trafic routier, des données satellitaires, des données d'occupation du sol et prenant en compte les caractéristiques physico chimiques des polluants (De Hoogh et al. 2018).

Les associations entre indicateurs de pollution (à la naissance et au diagnostic) et risques de cancers seront évaluées à l'aide de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge.

Plusieurs co-expositions environnementales étudiées par l'équipe EPICEA seront prises en compte par ajustement et stratification : la présence de parcelles agricoles, de sites pollués et de lignes à haute tension à proximité des adresses géolocalisées, et le niveau moyen d'UV et de RIN. L'environnement SE sera décrit à l'aide d'indicateurs contextuels définis à l'échelle des IRIS : indices de défaveur (FDep, EDI), indicateurs d'accessibilité spatiale aux soins, densité de population, taille de l'unité urbaine.

Les analyses seront effectuées pour tous cancers, pour les principaux groupes diagnostiques et pour certains sous-groupes histologiques ou moléculaires.

En supposant une prévalence d'exposition de 10%, les analyses au diagnostic et à la naissance permettront respectivement de détecter des OR de l'ordre de 1.1 et 1.2-1.3 avec une puissance de 80%, pour les principaux groupes diagnostiques (OR de 1.3 rapporté dans une méta analyse récente sur les leucémies).

Calendrier :

Année 1 : géolocalisation des adresses, contrôles de qualité; évaluation des expositions, indicateurs SE

Année 2 : analyses sur indicateurs de pollution et cancers de l'enfant au diagnostic

Année 3 : analyses sur indicateurs de pollution et cancers de l'enfant à la naissance

Partenariat

Inserm U1153, EQ7 épidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent - Villejuif

Responsable de l'équipe : Mme Stéphanie Goujon

Inserm IRSET UMRS1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Bénédicte Jacquemin

Résumé HANTARIS - 22-EST-090

Risque associé à l'hantavirus Seoul à Cotonou, Bénin

M. Guillaume Castel

Centre de Biologie pour la Gestion des Populations, Unité CBGP - Montferrier-sur-Lez

Projet complet - 36 mois

Budget : 126 296 € TTC

Objectif détaillé

L'orthohantavirus Séoul (SEOV) peut provoquer chez l'homme une fièvre hémorragique à syndrome rénal après exposition à des aérosols contaminés (urine, excréments) par des rats infectés.

Ce virus a une circulation mondiale, en lien avec celle de son réservoir principal, le rat brun (*Rattus norvegicus*) mais on sait peu de choses sur sa circulation actuelle en Afrique. Notre étude préliminaire menée au port de Cotonou, Bénin, suggère la circulation active **parmi les rats bruns d'un variant appartenant** à un clade phylogénétique comprenant des **variants d'Asie du sud-est** (1), ce qui invite à spéculer sur de probables événements récents d'introduction du tandem virus-hôte par le biais du commerce maritime. Compte tenu de **l'expansion rapide des rongeurs envahissants** dans la région (2), ces résultats appellent une étude à plus grande échelle spatio-temporelle **afin de caractériser la circulation et l'évolution** du SEOV, ainsi que le risque associé pour les travailleurs portuaires et pour les habitants de Cotonou.

Ce projet a quatre objectifs:

I) Évaluer le degré de circulation du SEOV au sein des populations de rats à Cotonou (i.e., zone portuaire uniquement, ou présence dans le tissu urbain environnant) sur une période de plusieurs années.

II) Étudier la variabilité génétique des virus détectés et identifier des variants spécifiques pouvant servir de marqueurs spatiotemporels des introductions de SEOV au Bénin.

III) **Détecter le passage éventuel du SEOV à l'homme, notamment chez les travailleurs portuaires** en contact régulier avec les rongeurs réservoirs et leurs déjections.

IV) Identifier les facteurs (socio-environnement urbain et/ou professionnel) affectant la circulation du SEOV chez les animaux réservoirs et le risque zoonotique potentiel associé.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet s'inscrit dans le contexte actuel des émergences virales et de leur dissémination via les échanges internationaux. Il porte sur un virus zoonotique émergent considéré à fort risque épidémique (Grange et al, 2021) mais encore très peu documenté et vraisemblablement **sous-diagnostiqué en Afrique alors même qu'il est susceptible d'y**

provoquer de nombreuses fièvres inexplicables, voire des décès, notamment parmi les travailleurs des zones portuaires.

A notre connaissance, ce projet constituera la 1^{ère} exploration de l'évolution et la circulation de SEOV au sein d'un site portuaire africain, ainsi que des risques sanitaires associés pour les travailleurs portuaires et les habitants de la ville environnante.

Il permettra d'investiguer les éventuels réassortiments génétiques entre différents variants SEOV importés via des réservoirs animaux envahissants et provenant d'origines géographiques diverses.

Questions de recherche

ABIO 1.3 - Liens entre dégradation des écosystèmes, atteintes à la biodiversité et augmentation de la fréquence d'épidémies de maladies infectieuses zoonotiques et/ou vectorielles, 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, moisissures, pollens, virus et bactéries pathogènes).

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

HANTARIS éclairera le niveau d'exposition des travailleurs portuaires à un pathogène zoonotique émergent majeur dont l'introduction est maintenant avérée mais totalement ignorée par les dispositifs de surveillance sanitaires locaux (ABIO.2 & LAVE.1). Cette étude, menée en partenariat avec une plateforme de surveillance sanitaire intégrée au dispositif portuaire (i.e. Plateforme Portuaire de Surveillance Environnementale, PPSE), nous permettra de lier directement activités de détections de pathogènes et de sensibilisation aux enjeux sanitaires en lien avec le trafic maritime (ABIO.1.3).

Description des méthodes mises en œuvre

Le site choisi bénéficiera de deux dispositifs expérimentaux déjà opérationnels : (i) la PPSE chargée de la surveillance des espèces envahissantes dans le port de Cotonou ; (ii) un site observatoire (Ladji) dans la ville de Cotonou, considéré comme à risque et faisant déjà l'objet d'un projet de mitigation des risques socio-économiques et sanitaires liés aux rongeurs (SCARIA, coord. G. Dobigny, CBGP). Nous nous appuierons donc sur des protocoles de terrain et de laboratoire éprouvés et maîtrisés par nos équipes. Les échantillons collectés au cours du projet (objectif de 300 rats par an les années 1 et 2) s'ajouteront à ceux déjà disponibles, obtenus lors de précédents échantillonnages dans le port (2018-2020) et en ville (2016-2020), et permettront de traquer la présence du SEOV (année 2) (Objectif 1).

L'extraction et le séquençage des génomes viraux seront effectués à partir des animaux séropositifs (année 2) par le Laboratoire National des Fièvres Hémorragiques (LNFH) au Bénin, équipé d'installations de sécurité niveau L3 (Objectif 2). Les analyses phylogénomiques seront réalisées au CBGP (année 3).

La détection d'infections par SEOV chez l'homme sera réalisée par le Centre National Hospitalo-Universitaire et le service de la médecine du travail du PAC par sérologie avec un

objectif de 100 travailleurs portuaires et de 50 habitants du quartier Ladji (année 1) (Objectif 3).

Des enquêtes de terrains dites « KAP » (connaissances, attitudes, perception) seront menées (années 1 et 2) afin d'identifier les facteurs socio-environnementaux et les usages domestiques ou professionnels associés à une plus forte exposition aux rongeurs et au virus (objectif 4).

Partenariat

Centre de Biologie pour la Gestion des Populations, Unité CBGP - Montferrier-sur-Lez

Responsable de l'équipe : M. Guillaume Castel

IRD - Montferrier-sur-Lez

Responsable de l'équipe : M. Gauthier Dobigny

Abomey-Calavi, Bénin

Responsable de l'équipe : Mme O. F. Arlette Tchabi

Cotonou, Bénin

Responsable de l'équipe : M. Jacques Vigan

Cotonou, Bénin

Responsable de l'équipe : M. Anges Yadouleton

Résumé HOME-HP - 22-EST-155

Pneumopathies d'hypersensibilité d'origine domestique: investigation des microorganismes en cause et amélioration du diagnostic sérologique

Mme Anne-Pauline Bellanger
CHU Jean Minjot, Parasitologie-Mycologie - Besançon

Projet complet - 36 mois
Budget : 121 649 € TTC

Objectif détaillé

La pandémie de la Covid-19 a provoqué une crise sanitaire majeure et mis en quarantaine la moitié de la population planétaire. Les mesures adoptées pour endiguer l'épidémie (confinement et télétravail) ont augmenté le temps passé à notre domicile. Les logements français sont concernés à hauteur de 14 à 20% par la présence de moisissures apparentes au sein de leur logement (ANSES). La précarité énergétique est un facteur favorisant ce phénomène. Par conséquent, des pathologies liées à l'environnement domestique, jusqu'alors considérées comme peu fréquentes, pourraient rapidement émerger.

Les effets sur la santé étant liée à une exposition fongique par inhalation concernent principalement l'asthme, la rhinite et les pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) d'origine domestique (PHDO). Les PHDO sont des pneumopathies immuno-allergiques à médiation humorale et cellulaire dues à l'exposition chronique d'antigènes principalement d'origine fongique et bactérienne. Cette forme de PHS est sous-estimée. Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie, labélisé Laboratoire de biologie médicale de référence pour le diagnostic sérologique des PHS (LBMR-PHS), réalise chaque année plus de 1000 examens sérologiques (recherche de précipitines) pour contribuer au diagnostic des PHDO. Pour être pertinent, les tests sérologiques doivent être réalisés avec un panel antigénique représentatif de l'exposition du patient. Le capteur électrostatique à poussière (EDC) est un outil performant pour capturer les spores fongiques présentes dans l'air. L'expertise du laboratoire dans l'analyse microbiologique des logements (1,2) ainsi qu'une revue de la littérature nous a conduits à sélectionner 30 cibles (moisissures, bactéries) analysées par PCR quantitative (qPCR) en raison de leurs caractéristiques morphologiques et de la taille des spores compatibles avec la survenue des PHS.

L'objectif est d'établir une caractérisation microbiologique des logements associée aux demandes de sérologies PHDO afin d'adapter le panel antigénique pour le diagnostic sérologique des patients et de développer un test de dépistage de type ELISA automatisé.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Il s'agit de la première étude nationale (12 régions) permettant d'évaluer la corrélation entre une exposition aux micro-organismes du logement et le développement d'une PHDO.

Les données obtenues auront une implication directe dans la prise en charge des patients par le développement d'un test sérologique automatisé basé sur l'utilisation d'un panel antigénique adapté. Ce projet allie deux compétences reconnues du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHRU de Besançon : d'une part la recherche d'ADN de micro-organismes retrouvé dans la poussière des logements et d'autre part, l'amélioration du diagnostic sérologique des PHS (3,4,5).

Questions de recherche

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

ABIO 4 - Liens entre les agents biologiques et pathologies (comme cancers, sensibilisations respiratoire ou cutanée...). Effets à long terme sur la santé en lien avec l'exposition aux moisissures. Relations dose-réponse en lien avec l'exposition à des agents biologiques (moisissures, pollens...).

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

ABIO2, ABIO4, AIR4 :

L'analyse des données environnementales recueillies par dépôt d'un EDC chez une cohorte élargie de patients permettra d'identifier et de quantifier (qPCR) les principaux agents étiologiques impliqués dans la PHDO. Une enquête interne a montré que le diagnostic clinique de PHDO était confirmé pour 10% des patients pour lesquels une demande de sérologie avait été effectuée. Compte-tenu de la variété des micro-organismes colonisant les logements, une cohorte minimale d'environ 500 patients est retenue comme objectif afin d'atteindre un groupe de 50 malades.

Les profils de logements ainsi établis pourront devenir des indicateurs de l'exposition chroniques aux micro-organismes associés à une PHDO et caractériser les environnements « à risque » vis-à-vis du développement de cette pathologie. Selon les résultats obtenus, le panel d'antigène utilisé pour les tests sérologiques sera adapté aux micro-organismes caractéristiques des logements et de la localisation géographique des patients améliorant ainsi les performances des tests diagnostiques.

Description des méthodes mises en œuvre

- Sept 2022- avril 2024 : Recrutement prospectif par les pneumologues de 500 patients pour lesquels le diagnostic de PHDO est suspecté. Constitution d'un groupe malade (n= 50) et d'un groupe témoins exposés asymptomatiques.

Présentation de l'étude au patient, Recueil du consentement éclairé

Distribution EDC, questionnaires de renseignements cliniques et environnementaux

Critères d'inclusion : symptômes compatibles avec une PHS, prélèvement sanguin (1 tube supplémentaire de 5 ml pour analyse de recherche)

Critères d'exclusion : propriétaires d'oiseaux, exposition professionnelle en lien potentiel avec une PHS (mécanicien, agriculteur...)

Conservation des échantillons sanguins à -80°C

-Avril 2024- Juin 2024 : réalisation des PCR sur les 30 cibles

-Juin 2024 -Déc 2024 : bilan des étiologies impliquées dans la PHDO, analyse statistique, publication.

- Janv 2025-Sept 2025 : Sélection des micro-organismes associés aux logements des patients PHDO et production des antigènes protéiques purifiés ; développement et validation d'un test ELISA automatisé.

Partenariat

CHRU Jean Minjoz, Parasitologie-Mycologie - Besançon

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Pauline Bellanger

Etude de l'impact d'eaux usées hospitalières sur la dissémination de résistance aux antibiotiques dans les eaux usées

Mme Delphine Bibbal

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, INTHERES UMR 1436 INRAE/ENVIT

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 435 € TTC

Objectif détaillé

Les eaux usées hospitalières sont collectées via la système de collecte des eaux usées où elles sont mélangées avec les eaux usées domestiques. L'objectif de notre projet est de documenter l'impact des eaux usées hospitalières sur la dissémination de l'antibiorésistance dans les eaux usées. Pour ce faire, nous utiliserons une approche in situ et une approche expérimentale en microcosmes. L'approche in situ nous permettra de caractériser un effluent hospitalier ainsi que les eaux usées en amont et en aval de la zone de mélange : quantification des antibiotiques, quantification du résistome (ensemble des gènes capables de conférer une résistance à des antibiotiques), composition du microbiote, identification des communautés bactériennes portant les gènes de résistance aux antibiotiques. L'approche expérimentale nous permettra de documenter l'impact de l'exposome des eaux usées hospitalières sur l'enrichissement du résistome des eaux usées domestiques. Nous précisons la contribution du cocktail d'agents chimiques (dont les antibiotiques) d'une part, et du microbiote des eaux usées hospitalières d'autre part, à l'enrichissement du résistome des eaux usées domestiques. Enfin, des études seront dédiées au mobilome (ensemble des éléments génétiques mobiles par transfert horizontal de gènes) des eaux usées domestiques soumises ou non à l'exposome d'eaux usées hospitalières.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Un aspect novateur du projet est de documenter la contribution microbiologique et chimique de l'exposome des eaux usées hospitalières sur l'enrichissement du résistome des eaux usées. Nous voulons également préciser l'impact de cet exposome sur le transfert horizontal de gènes de résistance, grâce à une approche innovante basée sur l'utilisation d'une souche d'E. coli réceptrice capable d'incorporer l'ADN exogène, en complément de l'analyse des assemblages des données de métagénomiques.

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

ACHIM 1 -

En conditions expérimentales, nous étudierons les effets du mélange d'agents chimiques présents à faibles doses dans les eaux usées hospitalières sur la sélection de résistance aux antibiotiques dans le microbiote des eaux usées.

ACHIM 3.3 -

(i) Nous préciserons la contribution du cocktail d'agents chimiques d'une part, et du microbiote des eaux usées hospitalières d'autre part, à l'enrichissement du résistome des eaux usées.

(ii) Les eaux usées domestiques seront soumises à l'exposome d'effluents hospitaliers afin d'évaluer l'impact sur le mobilome.

Description des méthodes mises en œuvre

Etude in situ de l'impact des eaux usées hospitalières sur les eaux usées domestiques (0-32 mois) :

Des prélèvements d'eaux usées en amont et en aval d'une zone de mélange avec des eaux usées hospitalières, ainsi que les eaux usées hospitalières seront caractérisés en termes de (i) microbiote (séquençage de l'ARNr 16S et métagénomique shotgun), (ii) antibiorésistance, (iii) analyse du contexte génomique des gènes de résistance via l'assemblage et l'annotation, (iv) concentrations en antibiotiques. Plusieurs campagnes de prélèvement seront réalisées au cours d'une même année afin de prendre en compte la fluctuation saisonnière de la consommation d'antibiotiques.

Etude in vitro de l'impact des eaux usées hospitalières sur l'enrichissement du résistome des eaux usées (6-18 mois) :

Les eaux usées hospitalières seront filtrées afin de séparer le microbiote et les agents chimiques. Nous exposerons des microcosmes d'eaux usées domestiques (i) aux eaux usées hospitalières filtrées (donc dépourvues de leur microbiote), (ii) au microbiote de ces mêmes eaux usées hospitalières. L'impact sera évalué grâce à (i) la détermination du pourcentage de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques, (ii) la quantification des gènes de résistance aux antibiotiques, (iii) l'analyse des changements taxonomiques.

Etude in vitro du transfert horizontal de gènes dans les eaux usées domestiques exposées ou non à des eaux usées hospitalières (20-32 mois) :

Cette étude sera menée dans des bioréacteursensemencés avec des eaux usées domestiques qui seront exposées ou non à un effluent hospitalier. Nous utiliserons une approche innovante basée sur l'utilisation d'une souche d'E. coli réceptrice qui possède une plateforme d'acquisition, basée sur le système CRISPR-Cas9, capable d'incorporer l'ADN exogène et ainsi d'enregistrer les événements de transferts horizontaux de gènes subis par celle-ci. Après séquençage des séquences «enregistrées», ce système permettra d'apprécier la mobilité génétique, en particulier celle des gènes de résistance, dans les eaux usées domestiques exposées ou non à l'effluent hospitalier.

Partenariat

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, INTHERES UMR 1436 INRAE/ENVT

Responsable de l'équipe : Mme Delphine Bibbal

INRAE, Centre Occitanie Toulouse UR MIAT - Castanet Tolosan

Responsable de l'équipe : Mme Claire Hoede

INPT-ENSAT - Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie ECOLAB UMR5245 – Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement - Castanet Tolosan

Responsable de l'équipe : Mme Maialen Barret

Résumé ILDEX-CT - 22-EST-171

Pneumopathies Interstitielles Diffuses et Expositions professionnelles et environnementales, une étude cas-témoins

M. Christophe Paris

CHU Rennes, Centre de Consultations de Pathologie Professionnelle et

Environnementales

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 971 € TTC

Objectif détaillé

- To identify environmental and occupational risk factors associated with the presence of Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF), alone or in combination in the case of multiple exposures
- To describe the IPF characteristics (clinical, radiological, functional, etc) and associations with risk factors
- To develop specific questionnaires in order to assess occupational and environmental exposures possibly associated with IPF

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Recently, interest in interstitial lung diseases (ILDs) has been growing with increased visibility in terms of public health. Indeed, increased incidence of IPF was reported in most developed countries (Richeldi Lancet 2017), although available data remain controversial (Hutchinson ERJ 2015, Maher Resp Res 2021). Since the complete redesign of the ILDs classification in 2002 (ATS/ERS 2002), rapid evolution in the diagnosis of the different phenotypes of ILDs has been observed (Lynch Lancet Resp Med 2018). The introduction of new anti-fibrotic therapies of IPF has significantly strengthen the management and diagnostic procedures for ILDs (Cottin Eur Resp Rev 2014). Routine review of IPF cases in Multi-Disciplinary Discussions (MDD) is now highly recommended (Salisbury AJRCCM 2017). While occupational origin of some ILD has been known for a long time, such as asbestos and silica (Walters COACI 2020), the role of most occupational exposures only remains suspected. Several case-control studies were conducted in the last 2 decades (Mullen JOEM 1998; Baumgartner AJE 2000; Miyake AOH 2005; Taskar 2006; Koo IJTL 2017; Paolucci BMC Public Med 2018; Abramson Thorax 2020), but these studies are all characterized either by a small sample size, or by simplified approaches to assess occupational exposures (i.e occupations or sectors of activity as a proxy of occupational exposure). As a result, several risk factors were reported as associated with IPF (agricultural sector, exposure to wood dust, welding, etc.) without any definite arguments. Some environmental exposures were also associated with ILDs, particularly Hypersensitivity Pneumonitis (HP). In addition,

atmospheric pollution was associated with acute exacerbations (Sese Thorax 2018). Consequently, in the absence of specific standardized approaches, the role of occupational and environmental exposures in ILDs remains largely under-investigated as precise diagnoses are needed to improve management of IPF patients, including most appropriate treatment.

Questions de recherche

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

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

The project proposes to set up a consortium associating recognized clinical experts in the management of IPF and teams specialized in the assessment of occupational and environmental exposures, and epidemiology. The experience of these teams will provide a reliable and accurate exposure assessment, necessary to efficiently meet with the objectives of this study. The determination of these exposures will also contribute to the improvement in the management of these patients, in particular with regard to primary and secondary prevention (avoidance of the aerocontaminant) and the prescription of anti-fibrosis treatments. Our project also aims to propose validated questionnaire for identification of risk factors in centers specialized in the management of ILDs. This project answers directly to the question ACHIM 2 and to a lesser extent ACHIM 3.1.

Description des méthodes mises en œuvre

This project will be based on a large multi-centric case-control study. After their consent, confirmed cases of IPF, after MDD, seen in one of the ORPHALung Network centers participating to our project on a voluntary basis, will be included in the present study. **Occupational diseases departments, belonging to the National Network "RNV3P" (National Network of Vigilance and Prevention of Occupational Diseases)** of preceding ORPHALung centers, will also be associated to the present study. Clinical and routine biological data, pulmonary function tests, and radiological data (CT-Scan) will be recorded systematically using current classifications (Raghu AJRCCM 2018, Lynch Lancet Respir Med, 2018). Controls, matched on age (+/-2.5 years), and gender will be recruited by a poll society using randomly chosen mobile phone numbers, as used in a previous study protocol of our team (Wild BJC 2012). Occupational and environmental exposures will be assessed as follows : i) all jobs / activity sectors held at least 6 months during the whole career, ii) specific job-tasks questionnaires such as welding, cutting or polishing of concrete or wood, etc, according to the expertise of our team (Bourgkard OEM 2013) iii) systematic research of known etiology of hypersensitivity pneumonitis adapted from recent literature (Raghu AJRCCM 2020, Petnak ERJ 2020), and iv) geolocalisation of personal addresses. Occupational exposures will be then standardized and analyzed by the "RNV3P" centers.

According to preliminary data recorded in our department (136 cases of IPF systematically interviewed on exposures), prevalence of occupational exposures varied between 5 and 50% yielding a necessary subject number of 1000 cases (expected OR between 1.4 and 1.6 for prevalence exposure of 20%, and 10% respectively for a power of 80%).

The schedule plans 6 months to organize the study (institutional authorizations, control recruitment protocol and design of specific questionnaires), followed by two years for subjects enrollment and 6 months for first publications.

Partenariat

CHU Rennes, Centre de Consultations de Pathologie Professionnelle et Environnementales

Responsable de l'équipe : M. Christophe Paris

CHU de Bordeaux, Hôpital du Haut-Lévêque - Pessac

Responsable de l'équipe : M. François Laurent

Hôpital Louis Pradel, Centre national de référence des maladies pulmonaires rares - Bron

Responsable de l'équipe : M. Vincent Cottin

CHRU de Nancy, Centre de Consultation de Pathologie Professionnelle – Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Thaon

AP-HP - Paris

Responsable de l'équipe : Mlle Lucile Sese

CHU de Rennes, Service de Santé publique et épidémiologie - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Ronan Garlantezec

Résumé MAPEMONDE - 22-EST-201

Mise au point de méthodes de quantification fiables des produits de transformation de la chlordécone

M. Pierre-Loïc Saaidi

Université d'Evry CEA/DRF/IBFJ/Genoscope/UMR8030 - Evry

Projet complet - 30 mois

Budget : 199 994 € TTC

Objectif détaillé

L'objectif du projet est de fournir à la communauté scientifique des protocoles fiables pour doser simultanément la chlordécone (CD) et ses principaux produits de transformation (PT) afin d'obtenir une vision complète du devenir de ce pesticide de l'environnement jusqu'à l'alimentation. Les 6 familles de PT sont les hydrochlordécones (hydro-CD), les polychloroindènes (PCI), les acides polychloroindènegarboxyliques (PCIA), les esters de ces acides (PCIE), le chlordécol (CDOH) & conjugués, ainsi que le chlordecthiol (CDSH) & dérivés. Voici les sous-objectifs: 1. développer un protocole d'analyse unique (même instrument) pour détecter tous les types de PT simultanément; 2. Synthétiser pour chaque famille de PT un standard analytique adapté; 3. développer des protocoles d'extraction pour extraire tous les PT d'une même matrice; 4. appliquer ces protocoles: (i) déterminer les teneurs environnementales en PT et caractériser les niveaux d'exposition à cette pollution émergente, (ii) faire un bilan de matière pour comprendre le devenir de la CD chez un animal d'élevage exposé et dans un procédé de bioremédiation (méthanisation), (iii) rechercher les PT dans des aliments contaminés à la CD; 5. Organiser un essai inter-labo pour définir des recommandations.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les connaissances récentes sur la pollution à la CD montrent que la CD peut être transformée dans l'environnement, chez certains animaux, et en conditions de laboratoire avec formation de 6 familles de PT (congénères plus ou moins chlorés) présentant des structures et des polarités diverses. Seuls la 5b-mono-hydro-CD et le CDOH peuvent être quantifiés en routine par les labos d'analyse. Ces lacunes analytiques empêchent aujourd'hui de faire des bilans de matière complets nécessaires dans plusieurs domaines (processus de remédiation, exposition environnementale, transfert de pollution, devenir de la CD chez les animaux et exposition humaine). Actuellement, la limite maximale de résidu se base uniquement sur la CD, alors que les rares études de toxicité montrent que les monoH-CD et le CDOH présentent une toxicité similaire à la CD (perturbateur endocrinien). Aucune étude d'exposition aux PT chez l'homme n'a été menée faute de méthodes et de standards. Le projet réunit une équipe experte dans les PT (Génomique Métabolique, GM), une équipe antillaise spécialisée en chimie analytique, aguerrie au dosage de la CD dans différentes

matrices (Institut Pasteur Guadeloupe, IPG) et une équipe reconnue pour ses travaux sur la métabolisation de la CD chez les animaux et la réduction de l'exposition (URAFPA).

Questions de recherche

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

ACHIM 9 - Amélioration des connaissances sur les métabolites de substances chimiques, en particulier de produits phytopharmaceutiques (identification par analyse non ciblée, mobilité et persistance dans les sols et les eaux, efficacité des dispositifs de traitements de potabilisation, ...).

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

Le projet s'inscrit dans la question ACHIM9 puisqu'il permet d'acquérir de nouvelles connaissances sur les PT de la CD. Le développement de nouveaux outils analytiques, fiables et rapides, permettra de compléter nos connaissances, d'abord sur les niveaux d'exposition environnementaux (analyse de sols et d'eaux), pleinement en lien avec ACHIM11. Les analyses réalisées sur les animaux d'élevage et des matrices alimentaires connues pour être contaminées à la CD permettront pour la première fois d'apporter des éléments factuels sur la possible exposition de la population antillaise aux PT. Cette action participe donc à répondre à la question ACHIM2. L'ensemble des résultats du projet aideront les politiques publiques à faire évoluer certaines mesures de suivi ou de futures actions ciblées.

Description des méthodes mises en œuvre

0-6 mois: synthèses (2 monohydroCD, 1PCI, 1 PCIA, 1 PCI, CDOH, 2 CDOH-conjugués, CDSH) pour les mises au point analytique (GM)

0-9 mois: synthèse des PT deutérés comme standards internes (GM)

3-9 mois: choix de la méthode analytique capable de détecter tous les PT (plusieurs modes d'ionisation et phases stationnaires pour méthode LC-MS avec collaborateurs UnivParis-Saclay; test de dérivation pour détecter les PT polaires en GC-MS) (GM & IPG)

6-18 mois: adaptation des protocoles d'extraction déjà utilisés par GM & IPG aux matrices choisies (eau, sol, digestat, urine, fèces, sérum, foie, viande, oeuf, poisson...); mise au point des méthodes analytiques pour chaque matrice; analyses réalisées par GM & IPG; échantillons fournis par URAFPA (expériences agronomiques et bioremédiation déjà réalisées) + partenaires antillais

15-26 mois: campagne d'analyses environnementales + matrices alimentaires (IPG)

15-26 mois: campagne d'analyses pour bilans de matières (expériences agronomiques + méthanisation) + autres matrices alimentaires (URAFPA)

24-30 mois: traitement des données, valorisation (congrès, publication); organisation d'un essai inter-laboratoires, rapport incluant les recommandations

Partenariat

Université d'Evry CEA/DRF/IBFJ/Genoscope/UMR8030 - Evry

Responsable de l'équipe : M. Pierre-Loïc Saaidi

Institut Pasteur de Guadeloupe - Les Abymes

Responsable de l'équipe : Mme Mailie Saint-Hilaire

Université de Lorraine, ENSAIA - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Cyril Feidt

Résumé MARDI - 22-EST-077

Analyse en flux des MicroplAstiques par Raman et Diélectrophorèse

Mme Enora Prado

IFREMER, Laboratoire Détection, Capteurs et Mesures, Unité de Recherches et
Développements Technologiques - Plouzané

Projet complet - 24 mois

Budget : 199 995 € TTC

Objectif détaillé

La pollution de l'environnement par des microparticules de plastiques (MPs) est devenue une problématique scientifique et sociétale de grande ampleur. Les besoins de caractérisation et de suivi de cette pollution nécessitent des méthodes permettant de comptabiliser et d'identifier les MPs dans les différentes matrices afin de pouvoir in fine mieux en comprendre son étendue. Actuellement, ces études restent laborieuses et longues à mettre en place dues à l'absence de processus d'analyse automatisé. De plus, la multiplication des manipulations des échantillons sont potentiellement sources de contamination. Grâce au savoir-faire en caractérisation des MPs et aux compétences développées par notre consortium en microfabrication, diélectrophorèse, micro-Raman et Raman comprimé, le projet MARDI a pour ambition de développer une méthode innovante permettant de manipuler, trier et analyser en flux les MPs de taille inférieure à 100 μm . L'objectif du projet est la conception d'une cellule fluide permettant le tri et l'immobilisation dans des zones spécifiques de MPs par diélectrophorèse. Le couplage avec la micro-spectroscopie Raman (déjà existant) servira de référence pour l'identification de 6 polymères principaux (PE, PET, PA, PP, PS, PVC) ; celui avec le Raman comprimé (à réaliser) permettra une haute cadence d'analyse. Les prototypes seront validés dans un premier temps sur des échantillons d'eau minérale en bouteille (PE, PET) avant d'être appliqués à l'analyse d'échantillons plus complexe (eau de mer).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de notre projet est de proposer une méthode en flux de caractérisation et d'identification des MPs. Les particules seront mises en suspension afin d'être injectées dans des cellules de diélectrophorèse. Ces cellules sont constituées d'un canal microfluidique, dans lequel sont disposées des microélectrodes. L'application d'une tension alternative fait apparaître un champ électrique inhomogène pouvant agir comme un filtre : c'est l'effet de diélectrophorèse. Ce phénomène permet la manipulation sélective de particules en solution, en fonction de leur taille, de leur forme, de leur composition et du champ électrique appliqué (tension et fréquence). Dans le projet MARDI, l'utilisation de la diélectrophorèse a

pour but d'agir sur le transport des particules en les immobilisant localement, menant à leur accumulation. La concentration des MPs en des endroits précis de la cellule permettra un ciblage des aires à analyser par micro-spectrométrie Raman et donc un gain de temps substantiel. La deuxième solution, adaptée à l'analyse à très haut débit, est le couplage avec la spectroscopie Raman comprimée. Cette technique novatrice consiste à filtrer puis recombinaison judicieusement certaines longueurs d'ondes pertinentes dans le spectre Raman à l'aide d'un dispositif optique programmable (DMD pour Digital Micromirror Device). Ceci permet d'utiliser une unique cellule photosensible au lieu d'un capteur CCD linéaire permettant de limiter le bruit au seul bruit de photon. Ainsi, en transposant les résultats obtenus actuellement à l'Institut Fresnel, la spectroscopie Raman comprimée laisse espérer une diminution d'un facteur 10 à 100 des temps d'acquisition (de la dizaine de millisecondes à quelques centaines de μs par pixel). Ceci permettrait d'atteindre le très haut débit

Questions de recherche

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

Notre projet répond aux attentes de la question de recherche sur les « Milieux et contaminations », plus particulièrement sur l'axe prioritaire des plastiques concernant la composition et métrologie des microplastiques dans les différents compartiments environnementaux. La méthodologie développée dans le projet MARDI, basée sur un couplage innovant de technologies de pointe (diélectrophorèse, Raman comprimé), amènera une avancée significative dans la mise en place de capteurs automatisés dédiés à l'analyse des MPs donnant accès aux informations morphologiques et chimiques. En plus d'être applicable à l'identification de MPs issus de matrices complexes variées (eau en bouteille, marines), la cellule MARDI ouvre la voie au développement d'un capteur autonome d'analyse des MPs in situ.

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet sera découpé en tâches superposées sur une période de 24 mois. Les premiers 15 mois consisteront à l'optimisation et au couplage des cellules de diélectrophorèse en flux avec un microscope confocal Raman et Raman comprimé. Les deux montages seront validés par l'injection de microbilles de PS calibrées (entre 10 et 100 μm) puis de particules de MPs de compositions et couleurs variables. L'efficacité des prototypes sera testée et comparée avec des échantillons de MPs standardisés préparés à partir de macroplastiques broyés et tamisés selon un protocole développé par un des laboratoires du consortium ((PE, PET, PA, PP, PS, PVC). L'ensemble de cette méthodologie sera également appliqué les 9 mois restant pour analyser des échantillons d'eau minérale, puis prélevés dans le milieu marin avec une attention particulière portée sur l'effet de la digestion chimique et du vieillissement des polymères sur le comportement diélectrophorétique des MPs. Une vigilance sera observée sur la limitation de la contamination des analyses par des plastiques de l'environnement de

travail. Une méthodologie d'analyse d'images pour la caractérisation morphologique automatique des MPs, ainsi que d'analyses spectrales basées sur des procédures disponibles au sein du consortium sera développée sur la durée du projet.

Partenariat

IFREMER, Laboratoire Détection, Capteurs et Mesures, Unité de Recherches et
Développements Technologiques - Plouzané

Responsable de l'équipe : Mme Enora Prado

Institut Fresnel - Marseille

Responsable de l'équipe : M. Hervé Rigneault

Résumé MetaCold-RF - 22-RF-013

Radiofréquences 5G sur le récepteur au froid: induction thermogénique et adaptation métabolique.

M. Gabriel Bidaux

INSERM Equipe IRIS, Laboratoire CarMeN U1060 - Bron

Projet complet - 32 mois

Budget : 250 432 € TTC

Objectif détaillé

After 900MHz radiofrequency (RF) exposure, rodents progressively developed fever-like episodes of thermogenesis which reached a maximal activation within 6 days [1,2]. Under cold stimulation, the activation of β 3-adrenergic receptors in brown adipocytes tissue (BAT) induces lipolysis-mediated thermogenesis and is accompanied by the release of free fatty acids (FFA) into the blood circulation. Blood FFA serve as mediators for metabolic activation such as release of fibroblast growth factor 21 (FGF21) by liver. FGF21 will, in turn, induce genes associated with thermogenesis in BAT and white adipocyte tissue (WAT) which will undergo beiging. Noteworthy, we preliminarily identified increased noradrenaline, free fatty acids (FFAs) and FGF21 in blood and induction of the uncoupler UCP1 in beige adipocytes. These results supported the hypothesis that 900MHz RFs trigger metabolic changes supporting the increased basal thermogenic activity.

In nature, cold sensing is achieved by the cold & menthol receptor: TRPM8 (Transient Potential Receptor Melastatin 8) in afferent fibers. Its activation initiates a central response leading to thermogenesis. Strikingly, we have previously reported that the hypothermic effect of the AMG2850 antagonist of TRPM8 was inhibited in 900 MHz exposed animals [2]. Besides its role of trigger in thermosensation, TRPM8 has been investigated lately in liver, pancreas, adipocytes [4] and its suppression has been shown to revert diabetes type 2. This regulation of metabolism by TRPM8 which can be activated by 900MHz RFs must be investigated carefully to prevent any public health issue. Surprisingly, nothing is known about the effect of 3.5GHz RFs on TRPM8.

MetaCold-RF aims at characterizing these deregulations in lipid metabolism in animals exposed to 900MHz and 3.5GHz RFs. MetaCold-RF objectives are:

- 1) Check if 3.5GHz RFs are potent activators of TRPM8.
- 2) Transcriptomics and lipidomics phenotyping of WAT, liver, pancreas and blood in both control and TRPM8-KO mice exposed to RFs for 6 days.
- 3) Confirm metabolism deregulation by functional assays and the possible reversibility after stopping the RF exposure.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

The originality of MetaCold-RF lies in the study of TRPM8-dependent metabolic functions induced by 900 MHz and 3,5 GHz RFs. Our research strategy is focused towards medical questions since we will assess the reversibility of RFs-induced metabolic deregulation. Besides, the expected results of MetaCold-RF could help designing future clinical studies via the identification of a molecular signature of RF-exposition. MetaCold-RF is a pre-requisite to the study of a chronic RF exposure on metabolic syndromes like diabetes type 2.

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 s'intéressant aux bandes de fréquences nouvellement identifiées (pour la 5G par exemple) et encore peu étudiées (3,5 GHz et 26 GHz et au-delà, notamment) sont prioritaires.

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 encore peu étudiées, notamment au-dessus de 2,5 GHz, associées notamment aux déploiements de la technologie 5G et aux usages émergents concernant les objets communicants.

Our anterior results on 900MHz RFs ensure the good realization of the project and support the idea that 3.5GHz RFs would also trigger similar responses. The use of our TRPM8-KO model ensures the selectivity of thermo-metabolic response to RF exposure. OMICS methods coupled to datamining and multivariate statistics will enable an extensive phenotyping and thus strong prediction of metabolic changes. Functional assays will validate the thermo-metabolic adaptations and deregulation induced by RFs.

Description des méthodes mises en œuvre

MetaCold-RF project is divided in 4 work packages (WP), each with different sub-tasks (ST) over given months (M-).

WP1 Management (M1-32).

WP2 (M1-6) 3.5GHz RFs effect on thermogenesis. During scaling-up of mice breeding, the ethical committee agreement will be obtained and we will assess to which extent 6-day 3.5GHz RFs could trigger the thermogenic effect observed with 900MHz.

WP3 (M7-20) Deep phenotyping of WAT, Pancreas and Liver. ST1 8 males and 8 females wt or TRPM8-KO mice will be exposed to RFs (the most potent between 900MHz and 3.5GHz, (< 0.4 W/kg, 2 x 1h/dy); as determined in WP1) for 6 days. Body and cutaneous temperatures will be measured by wireless temperature loggers and infra-red cameras, respectively. Blood, BAT, inguinal WAT, Pancreas, Liver will be collected and sampled. Heart and brain will be collected and stored for ancillary studies (3Rs rule). Lipidomics and transcriptomics will be done on tissue samples. Glucagon, insuline and FGF21 will be measured on blood. ST2 Datamining and multivariate statistics will be carried out by the engineer paid on the project. Modification in gene regulation networks (GRNs) will be figured out and lipid metabolism GNRs will be correlated with the lipidomic dataset to identify key pathways and markers of

the RF-induced thermo-metabolic shift. Expression level of these protein markers will be confirmed by western-blot.

WP4 (21-30) Functionality and reversibility of RF-induced phenotype. In a second phase, in line with the results obtained in WP2&3, we will expose a second set of animals for 6 days and half of the cohort will be maintained for 15 days in absence of stimulation to assess the reversibility of the thermo-metabolic phenotype. Animals will be sacrificed and primary cells hepatocytes and pancreatic islets will be cultured. Functional tests will be carried out in cells of both RF-treated and RF-reversal groups: secretion of pancreas islets, hepatic VLDL secretion assay and insulin-mediated glucose secretion by hepatocytes; mitochondria will be extracted from BAT and WAT and we will quantify uncoupling between respiration and electron transport chain activity as a reporter of thermogenesis activity.

Partenariat

Inserm Equipe IRIS, Laboratoire CarMeN U1060 - Bron

Responsable de l'équipe : M. Gabriel Bidaux

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

Responsable de l'équipe : Mme Amandine Pelletier

Résumé OptoFish - 22-EST-053

Approches basées sur l'imagerie chez le poisson zèbre pour l'évaluation de la neurotoxicité et de la cardiotoxicité induites par les analogues de bisphénols environnementaux

M. Nicola Marchi

Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), UMR 5203 CNRS - U 661 INSERM -

Montpellier

Projet complet - 36 mois

Budget : **199 672 € TTC**

Objectif détaillé

Last year our project Optofish was positively reviewed and selected for funding by the Comité Scientifique du Programme de Recherche. However, our proposal was, in the end, not awarded due to budget limitations (COPR). Here, we resubmit Optofish, taking into account the (few) reviewers' suggestions: i) screening of potential pathways of endocrine disruption; ii) reinforce personnel to avoid risks.

OBJECTIVE. To date, the impact of varying levels of bisphenol analogues, and their cocktails, on brain and cardiac functions remains poorly understood. Here, we will use a high-sensitivity toolkit based on non-invasive imaging of zebrafish larvae to screen and examine systematically: a) the impact of specific bisphenol analogues on the brain and cardiac physiology in vivo; b) the concentration range at which these compounds represent a cellular danger while also examining low and environmental levels; c) environmentally relevant cocktail effects; d) the molecular pathways involved, including the identification of endocrine disruption biomarkers.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Bisphenol analogues are environmentally persistent contaminants detected in natural and drinking water, with relatively unstructured information on their potential pathophysiological impacts. Disruption of endocrine functions and experimental multi-organ toxicity, including brain and heart, have been linked to Bisphenol A (BPA), now banned. Currently, bisphenol analogues are used despite raising concerns. For these reasons, we will study the relevant analogues BPF, BPS, and BPAF (<https://www.hbm4eu.eu/hbm4eu-substances/bisphenols/>). We will screen broad concentration ranges based on existing and varying international reports (e.g., 0.1 to 1,000 ng/L). We will compare the effects of these analogues to the banned BPA and test for cocktail effects.

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.

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.

We will use sensitive and high-throughput optical mapping to screen the concentration-dependent effects of bisphenols (environmental low-to-high levels, cocktails) on neuro and cardiac physiological actives in vivo.

We will integrate optical mapping into a multimodal workflow based on rapid behavioral motor-tracking of large groups of zebrafish.

Furthermore, we will examine in-depth cellular-level modifications using in vivo two-photon microscopy and cell-specific (cardiac or brain) transgenic zebrafish reporter lines. Finally, we will examine transcriptomic changes associated with exposure to bisphenol analogues, unveiling candidate mechanisms coherent with physiological and cellular modifications for the selected exposure conditions.

Description des méthodes mises en œuvre

Our optic approach allows efficient analyses in the intact living zebrafish from the physiological to the cellular level. 0-12 months: we will expose (acute or prolonged; e.g., up to 5 days post-fertilization; low-to-high concentrations) zebrafish to bisphenol analogues. Next, to perform brain-cardio optical map screening, groups of zebrafish will be incubated with fluorescent voltage or Ca²⁺ sensitive dyes. Feasibility: using optical mapping, we already recorded the generation of cardiac activity in zebrafish larvae, obtaining heart rate and impulse conduction. We have analyzed the frequency, localization, and amplitude of neuronal activity in larval brains in vivo. 12-28 months: we will integrate our optical map screening method into a multimodal-imaging framework. Motor behavior video-tracking will be performed at specific exposure conditions (e.g., provoking clear-cut physiological changes) to rapidly identify phenotypes associated with the neuro/cardio physiological defects observed with optical mapping. From screening modalities to mechanism exploration: in vivo 2-photon microscopy will deliver detailed 3D reconstructions and quantifiable renderings of the brain and cardiac cell structures (using ad hoc transgenic lines with cell-specific fluorescence) in response to the selected bisphenol exposures. 28-36 months: finally, we will perform a transcriptomic analysis at targeted exposure conditions, providing molecular pathological signatures, e.g., inflammation and aberrant neuronal connectivity, extending to endocrine and metabolic disruption biomarkers. The latter analyses will be performed at the Toxalim GenoToul transcriptomic facility. Our recently published data (Chemosphere, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128986>

and Environmental Pollution 2021
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749121003353> support
feasibility for all techniques.

Partenariat

Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF) UMR 5203 CNRS – U 661 INSERM - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Nicola Marchi

Inrae, UMR 1331 Toxalim - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Payraastre

Résumé PENDALIRE - 22-EST-169

Exposition précoce aux Perturbateurs ENDOcriniens via **l'Alimentation et santé RESpiratoire des enfants**

Mme Annabelle Bédard
CESP Inserm | UMRS 1018 - Villejuif

Projet complet - 36 mois
Budget : 222 398 € TTC

Objectif détaillé

Etudier l'impact de l'exposition précoce à certains perturbateurs endocriniens (PE) via l'alimentation sur la santé respiratoire de l'enfant :

1) Caractériser les sources alimentaires d'exposition aux PE chez : a) les femmes enceintes et b) les jeunes enfants.

2) Etudier les associations entre les habitudes alimentaires sources d'exposition aux PE, a) durant la grossesse et b) durant la petite enfance, et la santé respiratoire des enfants.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'exposition aux PE, à laquelle les femmes enceintes et les enfants seraient des populations particulièrement vulnérables, pourrait avoir un impact délétère sur la santé respiratoire des enfants (Vernet 2017). L'alimentation est une source majeure et modifiable d'exposition à certains PE, notamment le bisphénol A, le DEHP et les composés perfluorés (PFAS) qui s'accumulent de façon directe (par exemple dans les poissons gras ou les fruits/légumes issus de l'agriculture conventionnelle), ou indirecte (via les emballages plastiques, le mode de cuisson, etc.) (Rashid 2020). Les habitudes alimentaires durant la grossesse ainsi que durant la petite enfance sont suspectées d'influencer la santé respiratoire de l'enfant mais ces liens restent mal compris, notamment du fait de la complexité de l'alimentation, qui est une combinaison complexe d'aliments et nutriments dont les effets protecteurs et délétères peuvent interagir (Bédard 2021). Il est donc crucial d'explorer dans quelle mesure les habitudes alimentaires sources d'exposition précoce aux PE impactent la santé respiratoire de l'enfant. Les précédentes études épidémiologiques ont seulement partiellement exploré ces questions, en portant spécifiquement soit sur les associations PE-santé respiratoire, soit sur les associations alimentation-santé respiratoire, et présentaient des limites sur l'estimation de l'exposition aux PE (reposant généralement sur un unique prélèvement urinaire, entraînant des erreurs de mesure (Perrier 2016)), sur la caractérisation de la santé respiratoire (souvent uniquement évaluée par questionnaires), ou la caractérisation de l'alimentation (souvent limitée à un questionnaire de fréquence alimentaire - FFQ). L'originalité du projet repose sur : 1) l'exploration d'une question de recherche nouvelle - l'identification de sources alimentaires d'exposition précoce aux PE et la clarification de leur impact sur la santé respiratoire de l'enfant - qui aidera à définir des

nouvelles recommandations en santé publique visant à diminuer l'exposition précoce aux PE et à déterminer des fenêtres d'exposition critiques, 2) la caractérisation de l'exposition aux PE par des prélèvements urinaires répétés (42 pendant la grossesse et 14 pendant la première année de vie de l'enfant), 3) l'évaluation de la santé respiratoire par des mesures objectives dans les premières années de vie et 4) l'évaluation répétée de l'alimentation de la mère et de l'enfant, par deux approches complémentaires (FFQ et enregistrements alimentaires).

Questions de recherche

*PE 4 - Étude des effets cocktails (en particulier des mélanges d'une famille de substances chimiques).
PE 6 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les travailleurs (expositions directes) et pour la population générale (expositions directes et indirectes par exemple via l'alimentation), et en particulier pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...). Détermination d'éventuelles fenêtres d'exposition critique.*

Le projet inclut l'étude de niveaux d'exposition et l'évaluation des risques de l'exposition aux PE via l'alimentation, et en particulier pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes). Le projet permettra de déterminer d'éventuelles fenêtres d'exposition critique (période prénatale et/ou postnatale) (PE 6) et des effets cocktails via l'étude de profils d'exposition aux PE (PE 4).

Description des méthodes mises en œuvre

- Population : SEPAGES (cohorte couple-enfant, inclusion 2014-17, n=484)
- Mesure des expositions à 45 composés des familles de phénols, phtalates - à partir d'échantillons urinaires répétées et poolés pendant la grossesse (T2 et T3) et la première année de l'enfant (2 et 12 mois), et PFAS à partir d'échantillons de sérum de la mère pendant la grossesse (T2).
- Fonction ventilatoire : mesures non invasives de la fonction pulmonaire à 6 semaines (index de clearance pulmonaire, capacité résiduelle fonctionnelle), à 3 ans (résistance et réactance du système respiratoire par la technique des oscillations forcées) et dans le cadre du nouveau suivi à 8 ans, 2023-25 (spirométrie).
- Habitudes alimentaires : consommation d(e groupes d)aliments renseignée par FFQ à chaque trimestre pour la mère, par FFQ et enregistrements alimentaires répétés pour l'enfant (données saisies), habitudes alimentaires (produits bio, emballages plastique...)
- Mois 1-12 : Caractérisation des habitudes alimentaires à partir des FFQ et enregistrements alimentaires (grossesse et enfance) par une diététicienne. Début du suivi à 8 ans (spirométrie).
- Mois 12-24 : Analyses statistiques objectif 1 : association entre habitudes alimentaires et dosages urinaires de PE (considérés de façon isolée puis en synergie au travers de profils d'exposition identifiés par des méthodes de clustering), chez les mères et les enfants.
- Mois 24-36 : Analyses statistiques objectif 2 : association entre les habitudes alimentaires sources d'exposition précoce aux PE (identifiées en 1 chez les mères et les enfants) et la santé respiratoire de l'enfant, et analyses de médiation pour explorer le rôle médiateur de l'exposition précoce aux PE.

Partenariat

CESP Inserm | UMRS 1018 - Villejuif

Responsable **de l'équipe** : Mme Annabelle Bédard

Institut pour l'Avancée des Biosciences, Centre de Recherche UGA/Inserm U 1209/CNRS
UMR 5309 - La Tronche

Responsable **de l'équipe** : Mme Valérie Siroux

CHU Grenoble Alpes, Laboratoire d'EFCE - Grenoble

Responsable **de l'équipe** : M. Sam Sbayat

Résumé PharmOneHealth - 22-EST-066

Exposition et adaptation des communautés microbiennes aux substances pharmaceutiques et agents microbiologiques dans les milieux aquatiques : Conséquences sur le développement et la dissémination des pathogènes et des structures génétiques **impliquées dans l'antibiorésistance**

M. Stéphane Pesce
Inrae, UR RiverLy - Villeurbanne

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 959 € TTC

Objectif détaillé

Les écosystèmes aquatiques subissent des contaminations d'origine agricole et/ou urbaine incluant des substances pharmaceutiques et des microorganismes pouvant également impacter la santé humaine et animale (concept 'One Health').

Notre hypothèse est que la co-occurrence de ces contaminants peut induire de fortes modifications au sein des communautés microbiennes aquatiques et favoriser des bactéries opportunistes dont des pathogènes versatiles (e.g. groupe ESKAPE tel que *Pseudomonas aeruginosa* ; *Achromobacter xylosoxidans*). Ceci pourraient contribuer aux transferts génétiques (plasmides, intégrons, îlots de pathogénie) inter-espèces et favoriser la dissémination de gènes de virulence et d'ARG (antibiotic-resistant genes) [1,2].

Ce projet combinera des approches expérimentales (canaux de laboratoire) à des suivis in situ (une rivière en zone rurale et une en zone urbaine) en étudiant des biofilms périphytiques et des sédiments de surface pour :

O1_Étudier l'accumulation de substances pharmaceutiques utilisés en santé humaine et animale dans ces compartiments afin de mieux caractériser la contamination chimique et les niveaux d'exposition des communautés microbiennes

O2_Déterminer la co-occurrence entre ces substances et les abondances/l'expression des gènes de virulence et ARG

O3_Exposer en système contrôlé ces compartiments à des cocktails de médicaments (2 antibiotiques - sulfonamide & quinolone - et 1 anti-inflammatoire non stéroïdien) pour déterminer les cinétiques de réassortiment d'espèces et les gains et pertes de gènes de virulence et ARG

O4_Tester la pertinence des approches développées en tant qu'outils de biosurveillance des milieux aquatiques

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le projet interdisciplinaire s'appuie sur des suivis in situ (2 sites de la zone atelier bassin du Rhône, LTER ZABR: rivière Mercier, zone agricole/pollution diffuse et rivière Tillet, zone urbaine/pollution localisée issue d'usages domestiques et de bains thermaux) et des études en conditions contrôlées.

Il considère 2 compartiments (biofilms et sédiments) et mobilise des approches de :

- CHIMIE ANALYTIQUE ET ENVIRONNEMENTALE pour caractériser finement la contamination par les substances pharmaceutiques et l'exposition des communautés microbiennes en couplant l'utilisation d'échantillonneurs passifs à des mesures de bioaccumulation [3]

- ÉCOTOXICOLOGIE MICROBIENNE FONCTIONNELLE (PICT- Pollution Induced Community Tolerance) pour appréhender l'adaptation de ces communautés

- ÉCOLOGIE MOLÉCULAIRE (dont méta-transcriptomique) pour explorer la diversité microbienne incluant des agents pathogènes ESKAPE (DNA array ddPCR/qPCR pour les gènes vir, PAI (îlot de pathogénie) ARG, intégrons et RNAseq) [4,5]

- BACTÉRIOLOGIE (culturelle et moléculaire) pour étudier certaines espèces dont *Achromobacter*, pathogène opportuniste émergent résistant à de nombreux antibiotiques

Questions de recherche

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

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

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

Nous étudierons l'impact des co-occurrences de contaminants chimiques et biologiques sur la santé des écosystèmes aquatiques et les dangers sanitaires associés (ABIO5). Sera questionné notamment le rôle de l'exposition aux substances pharmaceutiques sur la coalescence des communautés microbiennes dans les biofilms aquatiques et l'occurrence / l'enrichissement en formes pathogènes versatiles comme celles du groupe ESKAPE (ABIO3.1). L'ensemble des approches chimiques (mesure de bioaccumulation), écotoxicologiques (PICT) et moléculaires (array ADN et méta-transcriptomique) développées visent à devenir à moyen-terme des outils opérationnels de biosurveillance des milieux aquatiques (ACHIM11).

Description des méthodes mises en œuvre

Les méthodes, qui concernent les biofilms et les sédiments, sont décrites dans la section 'argumentaire de l'originalité'.

DES APPROCHES DE LABORATOIRE (années 1&2) seront réalisées avec 3 substances modèles (voir O3), fréquemment détectées en milieu aquatique pour :

- optimiser et appliquer des méthodes analytiques pour caractériser, en conditions d'exposition contrôlée, les cinétiques d'accumulation

- tester différents scénarii d'exposition chimiques pour déterminer des seuils d'exposition pouvant induire une tolérance, favoriser l'enrichissement de pathogènes versatiles, et augmenter les occurrences de gènes de virulence et ARG.

QUATRE SUIVIS DE TERRAIN (2 par site d'études, années 2&3) seront menés pour:

- explorer in situ les cinétiques d'accumulation dans un contexte de mélanges complexes
- évaluer le rôle de la contamination chimique et microbiologique sur les caractéristiques des communautés microbiennes (dont gènes de virulence, ARG et de formes pathogènes)
- tester le caractère opérationnel des outils développés pour des applications futures en biosurveillance

Partenariat

Inrae, UR RiverLy - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Stéphane Pesce

CNRS UMR5557 Ecologie Microbienne, Univ. Lyon 1 - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Benoit Cournoyer

Université de Savoie, UMR 42 CARTELE INRA - Le Bourget-du-Lac

Responsable de l'équipe : Mme Emilie Lyautey

INRA UMR 1347 Agroécologie, - Dijon

Responsable de l'équipe : M. Alain Hartmann

CHU de Dijon, Laboratoire de Bactériologie - Dijon

Responsable de l'équipe : Mme Lucie Amoureux

Résumé PLASTICENE - 22-EST-098

La pollution plastique dans les milieux terrestres : dynamiques environnementales et impacts sur le vivant

M. David Renault

Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 - Rennes

Projet complet - 36 mois

Budget : 211 657 € TTC

Objectif détaillé

Les plastiques, de par leurs propriétés uniques, sont omniprésents dans notre vie quotidienne. Leur production a été multipliée par 20 depuis les années 60s, et des débris de différentes tailles, les macroplastiques (MNPs > 5 mm), les microplastiques (MPs < 5 mm) et les nanoplastiques (NPs < 1000 nm) (1), sont aujourd'hui largement retrouvés dans l'environnement. Cette présence a été démontrée récemment en milieu continental, dans des décharges, sols agricoles (2) et rivières. La dégradation des plastiques dans l'environnement peut relarguer des additifs utilisés dans leur formulation, comme les perturbateurs endocriniens (phtalates et bisphénols) (3) ou les éléments traces métalliques (ETMs), ensuite mobilisés dans différents compartiments environnementaux (sols, réseau hydrographique, organismes). Les NPs peuvent s'hétéro-agrégier avec les constituants du sol et adsorber ou relarguer d'autres contaminants tels que les ETMs (4,5). De nombreuses questions demeurent quant au devenir, à l'impact et l'interaction des fragments de plastiques avec les matrices biotiques et abiotiques dans des milieux continentaux, les données actuelles ayant de surcroît été obtenues dans des conditions non représentatives ou non réalistes. Le manque de représentativité et la monodisciplinarité des études imposent une exploration plus intégrée des dynamiques et impacts de la pollution plastique dans les sols. Fort d'une équipe pluridisciplinaire, notre projet étudiera le risque chimique lié aux plastiques en tenant compte de la complexité du cycle de vie et de la dynamique environnementale des plastiques, des polluants associés, et des impacts sur les organismes, produisant des données aux frontières des connaissances.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Des études très récentes du partenaire 2 attestent de la présence de MPs dans des sols amendés par du compost issu d'ordures ménagères et enrichi en débris plastiques. Ces sols, qui se distinguent également par la présence d'ETMs, seront utilisés afin d'étudier pour la première fois via une approche intégrée : (i) la dynamique (dégradation, transfert/mobilité) des plastiques et polluants associés au sein d'un profil de sol et dans le sol (ii) l'évolution des interactions entre les MNPs, leurs additifs et les ETMs, en fonction de facteurs environnementaux, (iii) in situ, la plastisphère, et (iv) l'écotoxicité sur des organismes clés (impact sur la diversité floristique et faunistique, biodisponibilité des MNPs, perturbations

physiologiques). Le couplage de nos compétences permettra une étude pionnière, sans équivalent, qui fera référence en termes d'évaluation du risque environnemental et du risque pour le vivant de la contamination plastique.

Questions de recherche

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

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

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

CoEM1&2 : Relations entre les caractéristiques pédologiques et la métrologie des différents polymères (nature, taille, forme). Suivis de variables environnementales (hydrologie, météorologie, physico-chimie du sol) qui révéleront les facteurs de contrôle de la mobilité des MNPs et des polluants associés, de leur source (les sols contaminés) vers leurs cibles (le réseau hydrographique, via la solution de sol, et les organismes vivants). CoEM1&2, PE4 : La contamination en MNPs dans trois matrices (sols, solution de sols, organismes) sera étudiée, sachant qu'il n'existe pas de suivi d'accumulation sur des transects ou continuums terrestres, et très peu de données sur les impacts des NPs sur le vivant en milieu naturel continental contaminé ; le partenaire 2 vient de prouver que des NPs sont produits dans les sols. Cette découverte majeure, alors que l'importance de la fragmentation des déchets plastiques en NPs dans les sols vient d'être démontrée, fait de ce projet intégratif un prérequis indispensable à une meilleure appréhension de la contamination plastique et de son impact sur les surfaces continentales.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1 Quelles sont les dynamiques des MNPs et polluants associés dans des sols contaminés en déchets plastiques ? [terrain, mars 23-mars 24] Distribution des MNPs en fonction (i) de la nature des polymères et polluants associés par spectrométrie de masse haute résolution et (ii) de la taille des fragments de plastique par des outils de spéciation physique (outils microfluidiques et diffusion de lumière) dans les profils de sol, dans la solution de sols jusqu'au réseau hydrographique de surface

Tâche 2 Quels sont les facteurs de contrôle de la dégradation et de la réactivité des déchets plastiques ? [terrain, mars 23-mars 24] Caractérisation (i) des facteurs physico-chimiques (pratiques agricoles, caractéristiques physico-chimiques), et (ii) météorologie et hydrologie (température, humidité, flux d'eau) des sols contaminés ; mise en relation avec les données de distribution des MNPs.

Tâche 3 Quelles sont les conséquences de la pollution plastique pour le vivant ? Diagnostic écologique dans et à proximité des parcelles [terrain, avril-oct 24]. Biodisponibilité : dosages des MNPs et des ETMs dans les organismes invertébrés (lombriciens, insectes) et plantes [laboratoire, oct 24-mai 25], distribution tissulaire des MNPs et leurs dosages dans

des fèces animaux [laboratoire, janv-mai 25]. Analyse des effets sur la physiologie (lombriciens, insectes, plantes); caractérisation du microbiome (insectes, lombrics) et des micro-organismes du sol, des fragments de plastique (plastisphere) [laboratoire, oct 24-mars 26].

Partenariat

Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 - Rennes

Responsable de l'équipe : M. David Renault

Université de Rennes 1, UMR CNRS 6118 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Melanie Davranche

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

Responsable de l'équipe : M. David Siauxsat

Institut Agro Rennes-Angers, UMR SAS INRAE - Rennes

Responsable de l'équipe : Mlle Guénola Peres

CNRS/Université de Rennes 1, Laboratoire Géosciences Rennes (UMR6118)

Responsable de l'équipe : M. Julien Gigault

Source environnementale et virulence des souches de *Bacillus cereus* responsables d'infections sévères chez les nouveau-nés prématurés

M. Raymond Ruimy

Université de Nice, Hôpital l'Archet II, Laboratoire de Bactériologie

Projet complet - 36 mois

Budget : 200 000 € TTC

Objectif détaillé

Les bactéries sporulantes à Gram positif du groupe *Bacillus cereus* (Bc) sont très répandues dans l'environnement et peuvent être responsables de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Par ailleurs, certaines souches (*Bacillus thuringiensis*, Bt) sont largement utilisées comme bioinsecticides (Ehling-Schulz et al., 2018). Les bactéries du groupe Bc peuvent également être à l'origine d'infections invasives potentiellement fatales chez les sujets au système immunitaire immature comme les nouveau-nés prématurés (NNP), exposés au risque de choc septique (Lotte et al. 2022). Au CHU de Nice, comme dans d'autres hôpitaux français, nous avons observé une augmentation de l'incidence des infections à Bc mortelles chez les NNP. En 2013, deux NNP sont décédés (Lotte et al. 2017). Le caractère sporulant (donc résistant) de ces bactéries favorise leur persistance dans l'environnement hospitalier, malgré la mise en place de mesures préventives. Cette émergence de cas groupés en fait donc un réel problème de santé publique, dont les origines environnementales sont à explorer.

Les objectifs de notre projet sont :

1- Etudier l'émergence de souches virulentes du groupe Bc pour les nouveau-nés

Nous allons réaliser un large échantillonnage de souches de Bc impliquées dans la survenue de septicémies néonatales, issues (i) de l'environnement proche de nouveau-nés prématurés (prélèvements hospitalier de surfaces; n=30), (ii) de laits maternels (lactariums ; n=30), et (iii) d'aliments (incriminés ou non dans la survenue de TIAC ; n=30), (iv) de NNP (n=50). Les souches de Bc ainsi collectées seront caractérisées (typage, séquençage génomique complet), comparées entre elles et classées, afin de rechercher l'origine de la contamination, et d'étudier les marqueurs de virulence associés. L'identification d'une signature génétique de la virulence des souches et de leur origine permettra d'orienter efficacement les actions à mettre en œuvre pour diminuer le risque lié à ces pathogènes environnementaux auxquels les NNP sont exposés.

2- Utiliser des modèles animaux pour l'étude in vivo de la virulence des souches Bc.

Nous avons mis en place un modèle d'infection chez la drosophile (Lotte et al. 2017 ; Benguettat et al., 2018). La virulence de l'ensemble des souches isolées de NNP sera étudiée

in vivo grâce à ce modèle et reliée à la signature génétique définie précédemment, afin de classer les souches selon leur potentiel de virulence et de rechercher une corrélation avec l'évolution clinique des NNP infectés. Un panel restreint aux 10 souches les plus virulentes sera ensuite testé sur modèle murin d'infection néo-natale. Ce modèle nous permettra également d'étudier la réponse immunitaire innée à Bc chez les nouveau-nés qui est encore très mal connue.

A terme, ce travail nous permettra de justifier l'adéquation et la pertinence des mesures de maîtrise du risque mises en place vis-à-vis du danger environnemental des espèces du groupe Bc dans les hôpitaux, le cas échéant de les réexaminer, d'établir de nouveaux marqueurs précoces des infections aux souches virulentes de Bc et d'améliorer la prise en charge des nouveau-nés prématurés infectés.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

La santé des NNP est un enjeu sociétal majeur. Cette étude, sans précédent, permettra ainsi d'initier la compréhension de la pathogénicité des souches du groupe Bc à l'origine de septicémies chez les prématurés, en les caractérisant dans un premier temps, puis en recherchant les déterminants génétiques ou biomarqueurs impliqués à la fois chez la bactérie et chez l'hôte, afin d'envisager un diagnostic précoce. De plus, ce travail repose sur le recrutement national multicentrique de 50 souches cliniques, donnant lieu à une vision large et représentative de la survenue de tels épisodes infectieux. Une approche complémentaire de recherche d'attribution de sources permettra d'enquêter sur l'origine des souches impliquées, en vue de limiter leur présence et leur propagation.

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 humains ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce

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

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

Notre projet permettra de faire avancer la connaissance sur 3 questions de cet appel : "Agents biologiques" point 1 et 2 ; "Milieux et contaminations" Contaminations émergentes, point 2 ; "Milieux et contaminations", Air point 1.

Les bactéries sporulantes du groupe Bc constituent un problème émergent en pédiatrie. Ces bactéries sont naturellement présentes dans l'environnement mais, dans le cas des Bt bioinsecticides, elles sont épanchées sous formes d'aérosols sur les cultures, les forêts et les zones humides pour lutter contre les lépidoptères ravageurs et les moustiques. Les sources de contamination par Bc sont donc variées (sol, eau, air, nourriture...)

Description des méthodes mises en œuvre

Analyse génétique des souches et analyse des dossiers patients : 8 mois

Typage et identification des facteurs de virulence des souches : 4 mois

Test de la virulence des souches sur un modèle d'infection drosophile : 6 mois et sur un modèle d'infection de souris par ingestion, inhalation ou systémique: 9 mois, Analyse de la réponse cytokinique et immunophénotypage : 10 mois, Analyse des résultats : 4 mois, Écriture des publications et du rapport : 2 mois

Partenariat

Université de Nice, Hôpital l'Archet II, Laboratoire de Bactériologie

Responsable de l'équipe : M. Raymond Ruimy

Hôpital de l'Archet, INSERM U1065 - Nice

Responsable de l'équipe : M. Laurent Boyer

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments, USBCL – Maisons-Alfort

Responsable de l'équipe : M. Olivier Firmesse

Institut Sophia Agrobiotech, UMR INRA 1355/CNRS 7254/UNS - Sophia Antipolis

Responsable de l'équipe : M. Armel Gallet

Résumé PROTOXOMICS - 22-EST-207

Identification d'une signature « omique » d'exposition au protoxyde d'azote dans un modèle in vitro de barrière alvéolo-capillaire

M. Sébastien Anthérieu

Université de Lille, Faculté de Médecine - Pôle Recherche - Lille

Etude de faisabilité - 24 mois

Budget : 50 000 € TTC

Objectif détaillé

Cette étude de faisabilité consiste à identifier des biomarqueurs d'exposition au protoxyde d'azote (N₂O) par des approches « omiques » en développant un modèle de barrière alvéolo-capillaire (BAC).

Les objectifs de ce projet sont de : (i) développer un protocole d'exposition au N₂O sur un modèle de co-culture de pneumocytes I et de cellules endothéliales alvéolaires, (ii) évaluer l'impact du N₂O sur la viabilité cellulaire, l'inflammation et la génération de stress oxydant et nitrosant, et (iii) identifier une empreinte métabolomique et/ou miRNomique signant une exposition au N₂O.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le N₂O, gaz utilisé en médecine pour ses propriétés anesthésiques et analgésiques, et en industrie alimentaire comme gaz propulseur, fait aujourd'hui l'objet d'une utilisation détournée. L'inhalation récréative de N₂O est devenue une pratique courante chez les jeunes, du fait de son effet euphorisant et hilarant. Cet usage prend de l'ampleur depuis 2018 en France où les cas d'intoxication se multiplient. Les effets neurotoxiques et hématologiques, liés à une oxydation de l'ion cobalt de la vitamine B12, sont graves et potentiellement létaux. Les atteintes neurologiques peuvent persister malgré l'arrêt de la consommation. Par ailleurs, des cas d'intoxications accidentelles dans le milieu médical ont également été rapportés.

Les cliniciens alertent sur l'importance de la prise en charge rapide des patients et donc sur la nécessité d'un diagnostic précoce. Actuellement, l'évaluation de l'exposition au N₂O est peu documentée. Compte tenu de sa courte demi-vie, le N₂O n'est pas détecté dans le sang. Son absorption par voie pulmonaire est très rapide. Sa distribution se fait uniquement sous forme dissoute dans le sang. La concentration dans les tissus richement vascularisés, notamment le cerveau, est proche de la concentration inhalée, en moins de 5 min. Ne subissant aucun métabolisme, le N₂O est éliminé sous forme inchangée par voie pulmonaire

et dans une moindre mesure dans les urines. Des analyses toxicologiques de l'air expiré ou des urines sont disponibles dans le cadre de la surveillance biologique de l'exposition chronique en milieu professionnel, mais leur interprétation est délicate en raison de l'absence d'information précise sur la cinétique d'élimination du N₂O dans l'air expiré ainsi que de difficultés techniques du recueil. Des dosages de vitamine B12 ou d'homocystéines sont parfois utilisés mais ne sont pas spécifiques.

A ce jour, il n'existe donc pas de biomarqueur d'exposition fiable pour le diagnostic biologique précoce d'une intoxication au N₂O. Or ce diagnostic est crucial pour la mise en œuvre rapide d'une supplémentation en vitamine B12 afin d'inverser le processus de dégénérescence neurologique.

Dans ce contexte, ce projet vise à identifier des biomarqueurs pertinents d'exposition au N₂O dans un modèle de BAC. La BAC joue en effet un rôle fondamental dans la diffusion des gaz inhalés dans la circulation sanguine. Le caractère novateur du projet réside également dans l'utilisation d'approches métabolomiques et miRNomiques pour identifier des biomarqueurs innovants. Les signatures mises en évidence dans cette étude pourraient être utilisées dans le cadre du diagnostic précoce d'une intoxication au N₂O.

Questions de recherche

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

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

Ce projet s'inscrit en réponse à deux des questions à la recherche : ACHIM 4 et CoEM 2. L'inhalation récréative de N₂O représente aujourd'hui une problématique émergente de santé publique, en particulier pour les jeunes consommateurs persuadés, à tort, de l'innocuité de ce gaz. Le développement de méthodes innovantes (métabolomique, miRNomique) devrait permettre d'identifier de nouveaux biomarqueurs d'exposition au N₂O. Ainsi les métabolites et les miR identifiés pourraient constituer des biomarqueurs non-invasifs pertinents à rechercher au niveau plasmatique afin de détecter précocement une intoxication au N₂O, améliorant ainsi le diagnostic et in fine la prise en charge des patients intoxiqués.

Description des méthodes mises en œuvre

Semestres 1 et 2 : La mise au point des conditions d'expositions au N₂O (durée d'exposition, % de dilution avec l'air stérile) avec le système Vitrocell (3 inserts exposés simultanément) sera réalisée sur la lignée humaine immortalisée de pneumocytes de type 1 (hAELVi).

En parallèle, le modèle de co-culture en interface air-liquide (IAL) sera développé sur un insert avec du côté de la face immergée de l'insert la lignée immortalisée de cellules endothéliales pulmonaires humaines (HPMEC), et du côté apical exposé à l'air la lignée humaine immortalisée de pneumocytes de type 1 (hAELVi). Le modèle sera validé par des

mesures de la résistance trans-épithéliale et des dosages de ZO1, VE-cadhérine, vWF et d'aquaporines.

Semestre 3 : Les co-cultures (n=4 cultures indépendantes/analyse) seront exposées à différentes concentrations de N2O selon le protocole préalablement défini. La viabilité cellulaire sera évaluée (test ATP et LDH) et 2 concentrations subtoxiques seront choisies pour évaluer la réponse inflammatoire (dosage de cytokines), la génération de stress oxydant (dosage de la 8-OHdG, du 4-HNE, statut en glutathion, voie NRF-2) et de stress nitrosant (dosage du NO, des nitrosothiols et de la 3-nitro-tyrosine) sur chaque type cellulaire.

Semestres 3 et 4 :

Des analyses « omiques » seront réalisées sur les co-cultures exposées au N2O afin d'identifier des signatures métabolomiques (par UPLC-IMS-QTOF) et miRNomique (par small-RNA-seq). Les analyses bio-informatiques et statistiques permettront de choisir les biomarqueurs d'intérêt à rechercher ultérieurement en population.

Partenariat

Université de Lille, Faculté de Médecine - Pôle Recherche - Lille

Responsable de l'équipe : M. Sébastien Anthérieu

Résumé RENAAME - 22-EST-023

RElargage de Nano-objets, leurs Agrégats et Agglomérats depuis des MasquEs

M. Francois Xavier Ouf

Laboratoire National de métrologie et d'Essais - Trappes

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 987 € TTC

Objectif détaillé

Le contexte pandémique a mis en avant la nécessité de disposer de masques (chirurgicaux, de protection respiratoire FFPx et à usage non sanitaire) dont les performances de filtration ne portent pas préjudice à leur confort. L'ajout de nanomatériaux représente une voie majeure d'innovation pour répondre à ce besoin mais est aussi source de préoccupation sanitaire en lien avec une possible exposition par inhalation aux nano-objets, leurs agrégats et agglomérats (NOAA). Ainsi, plusieurs produits commerciaux déclarant des propriétés biocides/virucides ont soulevé diverses interrogations au niveau international quant à leur innocuité, aboutissant à leur retrait dès la mise sur le marché. Plus récemment, la présence de NOAA de TiO₂ dans des masques a été démontrée alors qu'aucune mention n'était précisée sur leurs emballages. Ainsi, le projet RENAAME vise à développer une méthodologie d'évaluation du relargage potentiel en phase aérosol des nanomatériaux déclarés ou impliqués sans indication commerciale dans la fabrication de masques afin d'évaluer l'exposition par inhalation dans des conditions réalistes d'utilisation.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Un manque de développement méthodologique est à noter concernant l'évaluation de l'exposition par inhalation aux NOAA lors de l'utilisation de masques. L'originalité du présent projet consiste à développer et valider une approche couplant analyse des matériaux et des aérosols. Des travaux prénormatifs sont en cours sur ce sujet (ISO/TC229 et ISO/NP TS11353) sans qu'aucune étude scientifique n'ait à ce jour été publiée. La méthodologie proposée vise à quantifier la fraction mobilisable (FM) de NOAA dans les masques puis à caractériser la fraction relarguée (FR) en phase aérosol pour des conditions représentatives d'utilisation. Cette évaluation sera menée sur les nanomatériaux présentant un potentiel risque sanitaire (tels que TiO₂, Ag, CuO, MgO), mais également sur des masques ne mentionnant aucune utilisation explicite de NOAA. Cela permettra d'aboutir à un classement des différents types de masques en fonction de leur pouvoir émissif (PE=FR/FM).

Questions de recherche

NANO 2 - Potentiel émissif de produits contenant des nanomatériaux en conditions normales ou prévisibles d'utilisation.

NANO 3 - Évaluation de l'exposition humaine (y compris par voie orale) aux nanomatériaux manufacturés (mesures, modélisation) tout au long du cycle de vie. Développement de méthodologies par approche globale (grouping / readcross) : regroupement de substances en fonction de leurs caractéristiques et comportements.

Les développements du projet RENAME permettront de disposer d'une méthodologie d'essais validée pour évaluer le pouvoir émissif de NOAA depuis des masques ayant, ou non, une indication commerciale de leur utilisation afin de répondre aux questions NANO2 et NANO3. L'utilisation de méthodes d'analyse des matériaux composant les masques et des aérosols émis permettra d'évaluer l'exposition par inhalation aux NOAA des porteurs dans des conditions réelles de port (durée, frottements, température, fluctuations de débit respiratoire et d'humidité relative).

Description des méthodes mises en œuvre

Le projet RENAME est constitué de 3 lots :

- Lot 1 (M0->M6): Identification et sélection de masques nano-additivés

Deux jeux de masques seront associés à ce projet, à savoir (1) - un premier jeu de 10 références pour lequel la présence de NOAA est d'ores et déjà identifiée, (2) - un second jeu de masques (10 références de chaque type: chirurgicaux, FFPx et à usage non sanitaire) n'ayant aucune déclaration commerciale sur leur présence. Pour ces 2 jeux, une **méthodologie d'identification des éléments constitutifs des NOAA sera proposée par spectroscopie RAMAN (LNE) puis validée par analyse ICP-MS (LNE)**. Une analyse morphologique/dimensionnelle (MEB, LNE) permettra de confirmer la présence de ces éléments sous forme de NOAA au sein de ces masques.

- Lot 2 (M6->M18): Quantification de la fraction mobilisable de NOAA au sein des masques

Pour les 2 jeux de masques sélectionnés dans le lot 1, **un protocole d'ultrasonication sera développé et harmonisé entre les partenaires (LNE, SCIENSANO) pour permettre d'extraire de façon reproductible les NOAA intégrés à ces masques sous forme de suspensions colloïdales**. Des analyses par ICP-MS (LNE) complétées par des analyses MEB (LNE) et TEM (SCIENSANO) seront réalisées sur ces suspensions afin de quantifier la fraction mobilisable de NOAA (FM).

- Lot 3 (M18->M36): Quantification du pouvoir émissif de NOAA des masques

Pour ce lot dédié à l'étude du relargage de NOAA par les masques, deux dispositifs expérimentaux seront utilisés, à savoir (1) – un banc aéraulique (LNE) utilisant des portions de masques et visant à classer leur pouvoir émissif, et (2) – le banc PRORESPI (INRS) simulant l'usage des masques dans leur intégralité dans des conditions réalistes.

Pour le banc du LNE, des essais seront menés à température fixe, sous air sec et pour un **débit respiratoire réaliste afin d'identifier les masques les plus émissifs en quantifiant la fraction de NOAA relarguée en phase aérosol (FR)**. Ce relargage sera caractérisé en termes de distribution granulométrique (SMPS, APS), de concentration en nombre (CPC) ainsi qu'en masse d'éléments constitutifs (ICP-MS) et en morphologie (MEB). Une étude paramétrique en termes de **température, humidité relative, débit respiratoire et durée d'utilisation sera ensuite réalisée sur ce lot de masques afin d'identifier les conditions les plus propices au relargage de NOAA.**

Le banc de l'INRS sera alors utilisé afin de caractériser dans des conditions réelles d'usage le pouvoir émissif PE des masques pour des paramètres d'essais identifiés comme les plus propices au relargage. Ce banc intègre une tête anthropomorphique pouvant effectuer des mouvements afin de reproduire les frottements induits par le port de masques tout en étant connectée à une machine à respirer simulant des cycles respiratoires représentatifs de différents niveaux d'efforts.

Les résultats de ces lots permettront de valider et de disposer d'une méthodologie permettant d'identifier la présence de NOAA dans des masques et d'évaluer la potentielle exposition des porteurs par inhalation.

Partenariat

Laboratoire National de métrologie et d'Essais - Trappes

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

Institut National de Recherche et de Sécurité – Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Sandrine Chazelet

Sciensano – Bruxelles, Belgique

Responsable de l'équipe : M. Jan Mast

Résumé ReprObesED - 22-EST-024

Malbouffe, contaminants environnementaux et santé reproductive : **effets de l'exposition combinée à un régime obésogène et aux phtalates sur le contrôle central de la reproduction chez les souris adultes mâles et femelles**

Mme Hélène Hardin-Pouzet

Sorbonne Université, Neurosciences Paris Seine (NPS lab) - Paris

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 742 € TTC

Objectif détaillé

Les révolutions agricole et industrielle du 20^e siècle ont modifié les habitudes nutritionnelles des pays occidentaux (étude INCA, Anses, 2017), avec pour conséquence, notamment, une augmentation du poids, des maladies métaboliques et une altération de la santé reproductive. Les perturbateurs endocriniens (PE) interfèrent avec la fonctionnalité des hormones endogènes, et ainsi dérèglent les systèmes physiologiques (Mhaouty-Kodja et al., 2018). Parmi les PE, les phtalates sont présents dans de nombreux produits en matière **plastique. N'étant pas liés de manière covalente à la matrice polymère, ils sont continuellement libérés dans l'environnement. Ainsi, bien qu'ils aient une demi-vie biologique courte et ne soient pas bioaccumulables, l'exposition humaine aux phtalates est continue, principalement par ingestion, inhalation et contact cutané (Kahn et al., 2020).**

Le métabolisme et la reproduction sont étroitement liés, et les PE pourraient agir conjointement sur les deux fonctions, en un cercle vicieux qui les aggrave. Les phtalates contribuent à la prise de poids et au diabète, ils sont reprotoxiques, entraînant des malformations des organes reproducteurs et une altération de la fertilité, avec des effets transgénérationnels. Nos travaux ont montré que l'exposition orale à des doses environnementales au di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP), seul ou en mélange, altère le comportement reproducteur de souris adultes mâles et femelles (Dombret et al., 2017, Adam et al., 2021). Ils entraînent, dans les régions cérébrales contrôlant les fonctions reproductrices, une baisse de l'expression des récepteurs des hormones sexuelles, une altération de la barrière hémato-encéphalique (BHE), une neuroinflammation et une dégénérescence neuronale (Ahmadpour et al., 2021a, b, c).

De nombreuses études ont analysé séparément les effets de l'alimentation et des PE sur la santé reproductive, mais très peu ont analysé leurs effets combinés, bien que ce soit une des caractéristiques du mode de vie occidentale. Afin de progresser dans la notion d'exposome, notre étude vise à :

1) décrire les effets de la co-exposition à une alimentation déséquilibrée associée à des doses environnementales de phtalates, sur la fonction reproductive de souris mâles et femelles adultes,

2) en étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires, avec un focus sur la plasticité hypothalamique, la BHE et la neuroinflammation.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le projet se place dans le contexte de la transition alimentaire, des changements des comportements de consommation et de l'exposition environnementale aux perturbateurs endocriniens.

Son originalité réside dans :

- L'étude des effets combinés d'une alimentation obésogène et d'une exposition aux phtalates sur le contrôle central de la reproduction mâle et femelle : les quelques études menées sur la reproduction ont abordé les paramètres périphériques, notre étude porte sur les aspects neuroendocrines et comportementaux et sur les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués.

- L'utilisation de doses de phtalates de l'ordre de l'exposition environnementale, établie par les études françaises et européennes (EFSA, 2019), et pertinentes pour l'évaluation du risque pour la santé humaine, alors que la plupart des études ont été menées à des doses bien supérieures, relevant plutôt de la toxicité générale.

- L'exposition à l'âge adulte : le cerveau adulte est vulnérable mais aussi capable de plasticité et les effets délétères de facteurs environnementaux, phtalates ou alimentation, restent encore peu évalués.

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

Ce projet pose 2 questions majeures :

- L'exposition combinée de souris adultes en âge de reproduction aux phtalates à des doses proches de l'exposition environnementale et à une alimentation obésogène induit-elle des altérations cérébrales conduisant à des altérations comportementales dans les deux sexes, de nature à interférer avec leur fertilité ?

- Quels en sont les mécanismes sous-jacents dans les régions cérébrales d'intérêt ?

Ce modèle aborde les effets d'un mode de vie occidental sur la fonction physiologique fondamentale qu'est la reproduction. Il permet d'avancer dans la notion d'exposome et de vulnérabilité de populations sensibles, et de suggérer des recommandations de prévention nutritionnelle, en termes de sécurité alimentaire, de toxicité des emballages, mais aussi de changements de comportement des consommateurs.

Description des méthodes mises en œuvre

Protocole d'exposition :

4 groupes de souris adultes C57BL6, mâles ou femelles, nourries avec un régime témoin ou un régime «occidental» (High Fat High Fructose, HFHF), associé ou non au mélange de

phtalates (Mix), et suivies sur le plan métabolique (poids corporel, tolérance au glucose, sensibilité à l'insuline),

- régime HFHF : 60% Kcal de graisse, 30% fructose dans l'eau de boisson, induisant en 12 semaines une obésité et un diabète de type 2 (Panchal et al., 2011),

- mix de phtalates, correspondant à la contamination réelle de l'environnement établie en France et en Europe : DEHP 5 µg/kg/jour, DBP 0,5 µg /kg/jour, BBP 0,5 µg /kg/jour, DiBP 0,5 µg /kg/jour et DEP 0,25 µg /kg/jour (Adam et al., 2021 ; Ahmadpour et al., 2021b, c)

Années 1 et 2 :

- évaluation de la capacité des mâles et des femelles à se reproduire : préférence olfactive pour le sexe opposé, vocalisations des mâles, performances d'accouplement,

- autres paramètres de reproduction : fertilité mâle et femelle, morphologie des tractus urogénitaux, niveaux hormonaux.

Années 2 et 3 :

- mécanismes cellulaires et moléculaires au niveau des principaux centres hypothalamiques contrôlant la reproduction : protéines et ARNm déjà impliqués lors de nos précédents travaux, marqueurs épigénétiques et du dimorphisme sexuel (Adam et al., 2021 ; Jean et al., 2017),

- évaluation de la fonction **cérébrovasculaire** : **intégrité de la BHE et de l'unité neurovasculaire** (Ahmadpour et al., 2021b, c).

Partenariat

Sorbonne Université, Neurosciences Paris Seine (NPS lab) - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Hélène Hardin-Pouzet

Résumé SAPROPHITE - 22-EST-141

Est-ce que la présence de pollution organique exacerbe la virulence des bactéries pathogènes dans les milieux aquatiques ?

M. Jérôme Labanowski

Institut de chimie de Poitiers ENSIP - UMR 7285 - Poitiers

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 709 € TTC

Objectif détaillé

SAPROPHITE propose d'établir « si, et dans quelle mesure » la pollution organique aquatique (PO = cocktails de matières organiques naturelles ou anthropiques et de polluants organiques) peut conduire à exacerber l'**infectiosité des bactéries pathogènes et in fine exacerber un danger sanitaire lors d'activités/loisirs aquatiques**. En effet, la PO - du moins certains de ses composants - peut « agresser » les microorganismes et in extenso stimuler leur réponse/mécanismes de défense, ce qui pourrait les mettre dans un « état exacerbé » plus propice/avantageux pour infecter un sujet.

L'objectif est d'établir la preuve de ce concept à partir de souches modèles (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella typhi*) et d'extraits de «PO» isolés de sites naturels plébiscité pour la baignade/les jeux aquatiques; puis de déterminer des déterminants locaux (saison, localisation, fréquentation, type de pression anthropique environnante) et des marqueurs moléculaires (composés/fragments de masse) **corrélés à cet effet d'exacerbation**.

Le projet s'appuiera sur 14 échantillons d'eau de lacs/plans d'eau (de 10 à 100ha situés dans la Vienne) connus pour leur fréquentation estivale (nb. avec contrôle sanitaire ou non par l'ARS) + 1 mare non fréquentée (5 ha, réserve naturelle nationale du Pinail). 5 campagnes seront réalisées de mai à septembre pour couvrir la période d'attrait + 1 campagne en janvier (hors saison).

Les extraits seront obtenus par filtration/extraction en phase solide (SPE) de l'eau sur une cartouche hydrophobe (C18) puis hydrophile (i-HILIC). Les extraits C18 et HILIC seront ensuite « poolés » pour les expériences d'exposition aux bactéries, mais ils seront caractérisés séparément pour faciliter l'analyse de la PO.

Le programme de recherche visera à déterminer

1/ l'effet (suite à des cultures en présence ou non des extraits) de la PO sur la virulence des bactéries modèles via la mesure de gènes spécifiques à chaque souche

2/ confirmer la preuve d'exacerbation par des tests d'infectiosité sur des cultures cellulaires avec chaque souche en couvrant la plage identifiée d'effet d'exacerbation

3/ établir les caractéristiques de la pollution organique par l'analyse non ciblé (empreintes moléculaires) et ciblé (pesticides + filtres UV) en spectrométrie de masse

4/ constituer un « arbre décisionnel statistique » de l'effet d'exacerbation (pour chaque souche) via l'étude des correspondances entre les caractéristiques de la pollution, les métadonnées du prélèvement, et l'effet sur les bactéries.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

L'originalité de SAPROPHITE est de venir enrichir notre perception sanitaire actuelle de la PO. Elle est en effet « uniquement » prise en compte comme un agent chimique potentiellement toxique/perturbateur pour l'homme ou les microorganismes ou alors propice à un foisonnement bactérien. Or des liens sous-jacents semblent avérés entre certaines infections et la pollution de notre cadre de vie intérieur (DOI: 10.1155/2013/924769 et 10.1289/ehp.1002289). SAPROPHITE veut confronter ce paradigme « émergent » en santé humaine/environnementale au contexte des milieux aquatiques, en raison de leur propension à rassembler la PO, les microorganismes et la présence de l'homme.

L'autre originalité de ce projet est de s'interroger sur/tester l'intérêt de la « virulence » dans l'appréciation de la qualité des eaux de baignade.

Questions de recherche

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

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

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

SAPROPHITE permettra de questionner un des dangers possibles (ie. une plus grande vulnérabilité face aux infections bactériennes) lié à la co-exposition à des bactéries et de la pollution organique lors des activités de baignade en lacs/plans d'eau. En effet les loisirs aquatiques vont être encore plus plébiscités avec le besoin de se rafraichir au cours des épisodes de chaleurs à venir dus au changement climatique.

SAPROPHITE propose d'établir la preuve de concept et étudier son intérêt sur trois souches pathogènes pour l'homme mais aussi utilisés comme indicateurs réglementaires. Elles présentent l'intérêt d'être suivies sur les sites étudiés et leurs gènes de virulence ont été décrits dans la littérature.

L'intérêt des 15 sites est de pouvoir balayer un panel de PO et aussi de réaliser les premières cartes d'un danger « virulence » des eaux de baignade au cours d'une saison touristique et à l'échelle d'un département. Ces cartes seront mises à disposition de l'ARS NA et comparées aux cartes de qualité et d'arrêtés signalant une pollution pour identifier si/quand des sites cumulent ces deux facteurs à risque.

En complément, la recherche de proxy couplée à l'analyse par arbre décisionnel permettra de poser des déterminants pour essayer de graduer ce danger.

Description des méthodes mises en œuvre

A/ Extraction de la PO : filtration eaux à 0,45µm puis sur cartouches C18 puis HILIC, stockage à -20°C, extraction MeOH puis Eau, évaporation sous flux N2 puis sous vide

B/ Préparation des solutions de PO à la leur concentration environnementale initiale : reprise des extraits dans eau+2%DMSO

C/ **Test de l'effet d'exacerbation : culture en solution 24H de chaque souche** avec chaque solution de PO + milieu nutritif, extraction ADN, q-PCR (gènes de virulence algD lasI exoS invA stm ... + oprL rss pour normalisation)

D/ **Preuve d'infectiosité : exposition d'une culture de cellules intestinales à des bactéries pré-exposés** aux extraits (15 tests = 3 souches x 5 PO représentant les cas : max, min, 1er-3ème quartiles, médiane de l'effet d'exacerbation), puis dosage LDH, tests d'adhérence, réplication

E/ Caractérisation PO : analyse des extraits par LC-MS (HRMS : empreintes moléculaires ; TQ : quantification de 50 pesticides et filtres UV)

F/ Recherche de proxy : ACP des analyses LC-MS pour isoler ions m/Z ou composés significatifs (=proxy « masse »), construction d'arbres de décision (pour chaque souche) combinant les proxys « masse » et « métadonnées » pour graduer l'effet de virulence

Thèse 36 mois - année n° 1 (A,B,C), n°2 (B,C,D,E), n°3 (E,F,rédaction)

Partenariat

Institut de chimie de Poitiers ENSIP - UMR 7285 - Poitiers

Responsable de l'équipe : M. Jérôme Labanowski

Université de Poitiers, EBI CNRS UMR7267 - Poitiers

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

Résumé SUSPECT - 22-EST-050

Evaluation des effets potentiels du Fluorure de Sodium, substance perturbatrice endocrinienne suspectée, sur le système thyroïdien, **l'immunité et le microbiote de la truite arc-en-ciel**, *Oncorhynchus mykiss*

Mlle Laure Bellec

Station Marine d'Arcachon - Equipe EA - Arcachon

Projet complet - 36 mois

Budget : 200 000 € TTC

Objectif détaillé

Les pouvoirs publics portent un intérêt particulier aux composés perturbateurs endocriniens (PE) en raison de leur utilisation croissante et de leurs effets nocifs avérés et/ou suspectés sur l'homme et l'environnement. En témoignent les récents travaux menés au niveau Européen (REACH) ou national (SNPE 2) et la publication en 2021 par l'Anses d'une liste de 16 PE suspectés à évaluer. Historiquement, les premiers effets des PE ont été démontrés sur le métabolisme des hormones stéroïdes sexuelles. Plus récemment, il a été mis en évidence qu'ils pouvaient perturber l'équilibre des hormones thyroïdiennes (TH) chez les vertébrés. Ces TH jouent un rôle majeur dans plusieurs processus physiologiques et métaboliques et agissent comme modulateurs des réponses immunitaires (RI), avec des impacts sur plusieurs mécanismes clés comme la phagocytose ou la synthèse/libération de cytokines en conditions d'hypo- ou d'hyperthyroïdie. La RI peut également être influencée par les différents microbiotes (ensemble des micro-organismes vivants dans un environnement donné) associés à l'hôte (concept d'holobionte). Chez les téléostéens, toute perturbation induisant une dysbiose peut affecter la valeur sélective (fitness) des poissons, particulièrement en augmentant leur susceptibilité à des agents pathogènes. Dans un milieu aquatique ouvert véhiculant de nombreux polluants chimiques et biologiques, l'immunité représente un élément de défense clé dont l'efficacité peut donc potentiellement être modulée par le système thyroïdien (ST) et ces différentes populations microbiennes. Notre projet a pour ambition de générer des données scientifiques sur l'impact d'un PE suspecté, le fluorure de sodium (NaF), listé comme substance prioritaire à étudier par l'Anses, sur un poisson d'eau douce modèle, la truite arc en ciel (TAC), en ciblant les effets sur et les interactions entre le ST, les microbiotes branchial et intestinal et la RI.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Le ST et les microbiotes jouent un rôle dans de nombreux processus physiologiques, et notamment la RI. Notre approche vise à examiner les interactions entre TH/microbiotes/immunité dans ce système expérimental. Les données générées avec deux

concentrations représentatives de la réalité environnementale permettront d'évaluer les effets mais également d'identifier des mécanismes d'action, en les comparant avec un fongicide aux effets PE avérés, le tébuconazole. Ces éléments pourront enrichir une démarche d'évaluation des risques. SUSPECT propose une approche méthodologique complémentaire associant techniques classiques et omiques, pour analyser des modifications potentielles à différents niveaux (molécule, cellule, individu, holobionte).

Questions de recherche

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

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

SUSPECT doit permettre des avancées significatives sur les effets et mécanismes d'action du NaF, molécule très utilisée en industrie et retrouvée en concentrations variables dans les eaux et les aliments, chez un modèle biologique majeur en écotoxicologie et ayant une relevance économique. Les quelques données disponibles suggèrent que le NaF aurait un impact sur le ST et le microbiote intestinal chez le zébrafish et réduirait les RI humorales et cellulaires chez la souris. L'utilisation d'approches omiques variées, aussi bien pour l'étude des effets chez la TAC que de la diversité et de la fonctionnalité du microbiote, participera à l'identification de nouveaux biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets pour ce PE suspecté et de voies d'actions potentielles.

Description des méthodes mises en œuvre

Après l'obtention d'une autorisation d'expérimentation, des œufs de TAC seront exposés quotidiennement post-fécondation et durant 6 mois à 4 conditions (NaF à 0.5 et 8 mg/L : doses respectivement moyenne et forte observées dans les eaux de surface et potables au niveau Européen, tébuconazole à 0.5 mg/L, groupe contrôle non-exposé ; 1h de contact en circuit fermé puis débit contrôlé ; tâche (T) 1 ; semestre (S) 1). Des prélèvements d'eau seront faits à différents temps afin d'évaluer la reproductibilité du dispositif et de calculer les concentrations moyennes d'exposition. La mortalité sera suivie tout au long des essais et des échantillons (sang et organes cibles) seront prélevés en cinétique. Avant disparition de la vésicule vitelline, des analyses biométriques (capture d'images avec traitement informatique) et comportementales (mesure de la vitesse et de la distance parcourue lors de stress) seront effectuées afin de déterminer les proportions de malformations et les capacités natatoires pour chaque condition. Après 6 mois de croissance, de nouveaux prélèvements de sang et d'organes permettront d'évaluer les effets sur les systèmes thyroïdien et immunitaire, avant et après une épreuve au virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse (vNHI ; balnéation avec 10E5 TCID50/mL) (T1 ; S1). Des analyses classiques cellulaires (numération, phagocytose, ...) et biochimiques (dosage de TH, complément, lysozyme...) seront couplées à une approche protéomique (rate) qui pourra donner lieu, en fonction des expressions différentielles observées entre conditions, à des

analyses RTqPCR ciblées sur des gènes du ST (T2 ; S2 et 3) et de l'immunité (T3, S2 et 3)). L'examen des tissus avant et post-infection (pi) sera réalisée par histopathologie. Lors des épreuves virales, le taux de survie, la charge virale chez les poissons morts et le dosage des anticorps spécifiques chez les survivants seront déterminés par cultures cellulaires, RT-qPCR et ELISA. De la métagénomique ciblée permettra d'analyser la diversité et d'établir la composition taxonomique de la communauté bactérienne dans la branchie et l'intestin des TAC exposées aux PE (T4 ; S2 et 3). Une approche de méta-transcriptomique dévoilant l'ensemble de la communauté bactérienne active couplée à une approche de méta-protéomique pour identifier les protéines exprimées chez la TAC, donneront une vision globale du fonctionnement et des mécanismes d'interactions mis en œuvre par ce système TAC-microbiote lors d'une exposition aux PE (T5 ; S4 à 6). L'ensemble des résultats obtenus seront valorisés (S6).

Partenariat

Station Marine d'Arcachon - Equipe EA - Arcachon

Responsable de l'équipe : Mlle Laure Bellec

Anses, Laboratoire Ploufragan/Plouzané/Niort - Plouzané

Responsable de l'équipe : Mme Morgane Danion

Universität Heidelberg – Heidelberg, Allemagne

Responsable de l'équipe : Mr Thomas Braunbeck

Résumé TECHSAN - 22-EST-028

Nouvelles Technologies, Télétravail, et Santé au Travail

M. Nicolas Gillet

Université de Tours, Factulté ASH, Département de psychologie - Tours

Projet complet - 36 mois

Budget : 175 656 € TTC

Objectif détaillé

Les transformations numériques des organisations et du travail sont en forte croissance depuis plusieurs années, et d'autant plus depuis près de deux ans, dans le contexte de la pandémie de Covid-19 (Kniffin et al., 2021). Or, les connaissances scientifiques demeurent insuffisantes quant à l'altération de la santé des salariés liée à l'omniprésence des technologies de l'information et de la communication (TIC) dans la vie professionnelle et personnelle des individus. Ce projet s'inscrit dans ce contexte général de transformation du travail et dans la continuité de travaux précédemment menés par notre consortium. Plus précisément, ce projet vise à étudier l'influence de l'utilisation professionnelle des TIC sur la santé des individus (e.g., vigueur au travail, satisfaction envers la vie de famille ; Gillet et al., 2021).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Les recherches étudiant les effets des TIC sur la santé des salariés s'attachent principalement à décrire les liens directs entre ces dimensions, sous-évaluant ainsi les facteurs explicatifs de ces relations. Dans ce projet, nous explorerons donc le rôle des processus de récupération (e.g., détachement psychologique, qualité du sommeil ; Sonnentag et al., 2022) dans l'explication des effets des TIC sur la santé des salariés, à travers le temps. Par ailleurs, les travaux de recherche existants sous-évaluent les facteurs de vulnérabilité pouvant contribuer, dans le temps, à une plus ou moins grande exposition des personnes aux effets des TIC. Dans ce projet, nous prendrons donc en compte ces facteurs de variabilité interindividuels, et considérerons la motivation au travail, la nature de l'organisation du travail (télétravail vs. organisation « traditionnelle » du travail) et le genre comme des facteurs pouvant modérer les effets longitudinaux des TIC sur des manifestations positives (e.g., satisfaction, comportements proactifs liés à la santé) et négatives (e.g., épuisement, troubles musculosquelettiques) de la santé psychologique et physique des individus dans le cadre professionnel et le contexte personnel.

Questions de recherche

SHS 4 - Approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux...) des inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux.

SHS 7 - Nouvelles organisations du travail, technologies numériques et santé : enjeux et impacts sur la prévention et la protection de santé au travail (y compris santé mentale).

SHS 14 - Étude des conséquences sur l'organisation du travail et la santé au travail des situations de crises sanitaires. Impact sur la santé physique et mentale du télétravail imposé. Impact sur la santé physique et mentale des professionnels du soin, notamment des professionnels directement exposés. Impact du Covid long sur la reprise du travail et le maintien dans l'emploi.

Ce projet pourrait permettre de mieux connaître et prévenir les risques liés aux TIC (quatrième Plan Santé au Travail, PST4, 2021-2025, action 1.4), tout en considérant que les travailleurs et travailleuses sont soumis à des expositions différenciées et contribuant ainsi à la lutte contre les inégalités femmes-hommes et la promotion de la conciliation entre les vies personnelle et professionnelle (PST4, action 3.3). Plus précisément, ce projet apportera notamment des éléments de réponse à ces trois questions :

La motivation au travail peut-elle interagir avec l'utilisation professionnelle des TIC pour expliquer des changements au niveau de la santé des individus ?

Ces effets sur la santé au et hors travail (e.g., épuisement) sont-ils de même nature et de même ampleur chez les femmes et chez les hommes ?

Quels sont les profils d'utilisation professionnelle des TIC associés à des problèmes de santé au et hors travail, en particulier chez les personnes en situation de télétravail ?

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet s'appuie sur une stratégie de recherche mixte combinant des méthodes qualitatives et quantitatives. Premièrement, nous mènerons une étude qualitative par cas avec des entretiens individuels et des focus groupes afin d'identifier les TIC fréquemment utilisées par les salariés à des fins professionnelles et les effets de ces technologies sur les manifestations de santé au et hors travail. Deuxièmement, nous mènerons deux études quantitatives à partir de questionnaires validés. Des contacts ont été établis avec des entreprises afin de réaliser des recueils de données au sein d'une même structure et de mieux contrôler l'effet des caractéristiques de l'environnement de travail propre à chaque organisation. D'une part, une étude longitudinale analysant les effets des TIC au cours d'une année s'appuiera sur un échantillon de taille importante lors du premier recueil de données (> 1000) afin de pallier au problème de l'attrition (environ 15 % par temps de mesure est prévisible). D'autre part, puisque l'analyse des effets des TIC sur la santé implique de comprendre les processus de récupération quotidiens, nous mènerons une étude par journal personnel (diary study) auprès de 50 salariés en télétravail avec des questionnaires quotidiens matin et soir pendant 10 jours. Les recueils de données se dérouleront entre début 2023 et fin 2024. La fin de l'année 2024 et l'année 2025 seront consacrées à la valorisation des données (rédaction d'articles, communications dans des congrès, actions de sensibilisation et de formation à destination des employeurs et professionnels des ressources humaines et de la santé au travail).

Partenariat

Université de Tours, Factulté ASH, Département de psychologie - Tours

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Gillet

Université de Reims, Département de psychologie - Reims

Responsable de l'équipe : Mme Tiphaine Huyghebaert-Zouaghi

Concordia University, Department of Psychology – Montréal, Canada

Responsable de l'équipe : M. Alexandre J.S. Morin

Université du Québec, Département de gestion des ressources humaines - Trois-Rivières,
Canada

Responsable de l'équipe : M. Claude Fernet

Transmission des **coronavirus à l'interface entre les chauves-souris** et la population Réunionnaise

M. Camille Lebarbenchon

UMR PIMIT, Université de La Réunion, Inserm, CNRS, IRD - Sainte Clotilde

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 918 € TTC

Objectif détaillé

Les conflits entre hommes et chauves-souris sont anciens et se traduisent aujourd'hui par des situations entraînant un risque pour la conservation des animaux et pour la santé des populations humaines vivant à proximité. En effet, les chauves-souris sont des réservoirs majeurs d'agents infectieux, dont une grande diversité de virus à potentiel d'émergence dans les populations humaines. Dans ce contexte, l'étude des facteurs environnementaux et populationnels est indispensable afin d'évaluer le niveau de menace associé aux virus de chauves-souris, dans une perspective de prévention et de gestion durable des maladies infectieuses.

Une très grande diversité de chauves-souris a été décrite dans la région sud-ouest de l'océan Indien, et certaines espèces colonisent fréquemment des bâtiments publics (ponts, écoles, hôpitaux, etc.). C'est le cas des espèces appartenant à la famille des Molossidae qui sont, de ce fait, en contact rapproché avec les populations humaines. Dans cette région, une grande diversité de coronavirus de chauves-souris a été mise en évidence, avec huit sous-genres viraux appartenant aux alpha et beta coronavirus (Joffrin et al. 2020). Suite à cette phase d'inventaire, il est désormais nécessaire de se focaliser sur les mécanismes régissant la transmission virale chez les chauves-souris et d'identifier les facteurs de risque à l'interface avec les populations humaines.

Nous focaliserons notre recherche sur la transmission d'un coronavirus précédemment mis en évidence sur l'île de La Réunion, chez le Petit Molosse (Joffrin et al. 2020, 2022). Cette espèce endémique de l'île a su s'adapter au développement urbain et s'installe aujourd'hui par milliers à proximité de l'homme. A travers ce modèle d'étude, nous aborderons les quatre questions suivantes :

- Q1: Quelle est la dynamique de transmission de ce coronavirus chez les chauves-souris, à l'échelle de l'île ? Nous nous intéresserons aux variations saisonnières de prévalence d'infection, ainsi qu'aux différences entre des colonies en milieu naturel (grotte) et urbain (habitations, ponts).

- Q2: Y a-t-il de la transmission entre les chauves-souris et les espèces introduites ? Nous rechercherons la présence du coronavirus du Petit Molosse chez des petits mammifères terrestres (e.g. rats, souris, tenrecs) vivant à proximité des colonies.

- Q3: La population humaine est-elle exposée à ce coronavirus ? Nous mesurerons la présence d'anticorps dirigés contre le coronavirus de Petit Molosse dans une cohorte en population générale.

- Q4: Quels sont les enjeux sociétaux autour de la gestion des chauves-souris ? Afin de voir comment optimiser l'articulation entre évitement du risque sanitaire et de protection d'une espèce indigène, nous étudierons l'impact des facteurs écologiques, socio-économiques et culturels sur la diversité des perceptions et des leviers d'action.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Ce projet s'intègre dans le contexte d'émergence des zoonoses virales, dans un écosystème insulaire tropical, à l'interface entre les animaux sauvages, péri-domestiques, et la population humaine. Basé sur une approche transdisciplinaire, l'ensemble des résultats générés apportera une base solide à la mise en place d'actions biosécurité raisonnées et durables, mais aussi de conservation du Petit Molosse, dernière espèce de mammifère endémique de l'île de La Réunion.

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 humains ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce

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

SHS 4 - Approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux...) des inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux.

L'approche transdisciplinaire (éco-épidémiologie, immunologie, sociologie de l'environnement) permettra d'apporter des connaissances sur les thèmes prioritaires suivants :

- augmentation des contacts entre humains ou animaux d'élevage et faune sauvage et phénomène de passage de la barrière d'espèce;
- exposition de la population générale et/ou des travailleurs aux agents biologiques;
- inégalités d'expositions aux risques sanitaires et environnementaux, basés sur des approches multifactorielles (genre, situations socioéconomiques, facteurs géographiques, culturels et comportementaux).

Description des méthodes mises en œuvre

La détection du coronavirus de Petit Molosse sera réalisée par biologie moléculaire (RT-PCR), selon un protocole utilisé en routine au laboratoire. Plus de 4000 prélèvements (fèces) ont déjà été réalisés dans 18 colonies entre 2018 et 2020. Afin d'étudier les échanges de virus entre les chauves-souris et d'autres petits mammifères, des campagnes de captures et de

prélèvements seront réalisées, en particulier aux période de l'année où la prévalence d'infection est la plus élevée chez les chauves-souris.

Nous mettrons en place une méthode de détection d'anticorps spécifiques contre ce coronavirus de chauves-souris par Luminex. Les analyses seront effectuées sur 2000 échantillons de sang humain collectés dans une cohorte réalisée en population générale, dans le cadre d'un programme de recherche sur la santé de la population réunionnaise (FEDER COHORTE Réunion) actuellement en cours.

L'approche de socio-écologie combinera enquêtes qualitative par entretiens semi-directifs et observations participantes, enquêtes quantitatives par entretien (avec modélisation et analyse décisionnelle multicritères), et rencontres multi-acteurs utilisant les outils de la Recherche Action Participative.

Partenariat

UMR PIMIT, Université de La Réunion, Inserm, CNRS, IRD - Sainte Clotilde

Responsable de l'équipe : M. Camille Lebarbenchon

Université de Rennes 2, UMR 6590 ESO

Responsable de l'équipe : Mme Anne Atlan

Résumé TOPENSUZ - 22-EST-087

Transformations des pesticides et du cycle de l'azote dans la zone saturée et non saturée de captages d'eau potable

M. Mathieu Sebilo
Sorbonne Université, UMR 7618 IEES - Paris

Projet complet - 36 mois
Budget : 199 944 € TTC

Objectif détaillé

L'augmentation des teneurs en nitrate et des résidus de pesticides dans les captages d'eau destinés à l'alimentation en eau potable (AEP) représente un enjeu majeur pour la gestion de la ressource en eau. Moins de 1 % des quantités d'intrants appliqués sont généralement transférées directement dans les cours d'eau, soulignant l'incertitude de la fraction atteignant la nappe. Dans un contexte d'évolution permanente de la réglementation sur les usages et les seuils de contamination, il est indispensable de comprendre le comportement des nutriments et des pesticides depuis leur application jusqu'à leur transfert dans les eaux de surface et souterraines, en tenant compte de leur transformation dans le sol, en particulier au niveau de la zone non saturée (ZNS). L'influence des processus physiques et des cycles biogéochimiques sur le stockage et la rétention des pesticides dans la zone critique est peu connue. Une variation des concentrations en azote et/ou de sa spéciation dans les solutions de sol peut impacter les cinétiques de dégradation des pesticides. De même, les pesticides influencent potentiellement les communautés microbiennes, notamment celles associées aux cycles de l'azote. L'utilisation des concentrations seules ne permet cependant pas de distinguer la contribution des processus de dégradation des pesticides par rapport aux autres processus de dissipation (dilution, adsorption) dépendants du forçage hydrologique. TOPENSUZ vise à mieux comprendre les transferts de pesticides et de l'azote des sols à la nappe en se concentrant sur l'interaction entre le cycle de l'azote et la persistance des pesticides. La biogéochimie isotopique permet d'expliquer la composition isotopique des éléments des substances environnementales, en tenant compte de l'origine de ces éléments et des modifications apportées à cette composition lors des processus de transformations biotiques et abiotiques qu'ils subissent. Elle offre donc un outil très puissant et direct de diagnostic permettant d'établir des bilans de circulation et de transformation de la matière. Utilisé depuis des décennies pour déterminer l'origine des nitrates dans les captages AEP, cet outil est depuis peu déployé pour l'analyse isotopique de composés spécifiques (AICS) des pesticides. Elle offre donc un outil unique permettant de mettre à l'épreuve les conclusions issues des méthodes plus conventionnelles de diagnostic basées sur les seules concentrations. Comprendre le

fonctionnement biogéochimique de la ZNS et la ZS vis-à-vis des pesticides pourrait aider à guider les pratiques pour limiter les transferts depuis le sol vers les eaux souterraines.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

TOPENSUZ vise à évaluer de façon directe et sans s'appuyer sur les produits de dégradation, la persistance et la transformation de pesticides (Atrazine, Métolachlore) présents dans des captages AEP en relation avec le cycle de l'azote. TOPENSUZ est défini en deux axes (1) étude comparée in situ de deux zones d'étude ayant un même usage du sol (maïs et vignes) dans un contexte pédo-climatique différent (Pau et Strasbourg) et (2) études en microcosmes afin d'obtenir les variables nécessaires à la modélisation numérique prédictive des transferts. L'hypothèse testée est que le cycle de l'azote peut être relié à la transformation des pesticides dans la ZNS et donc sur leur dynamique à l'échelle des bassins versants. Pour cela, ce projet pluridisciplinaire vise à associer la caractérisation des processus biogéochimiques à l'aide d'outils isotopiques et biomoléculaires.

Questions de recherche

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

TOPENSUZ permettra de mieux comprendre la dynamique des pesticides dans les zones de captage AEP en lien avec le cycle de l'azote depuis leur application jusqu'à leur transfert aux systèmes aquatiques via la ZNS. Les données acquises permettront d'évaluer la rémanence des molécules ciblées dans l'environnement afin de mieux prédire leur devenir.

Description des méthodes mises en œuvre

Tâche 1. Mesures in situ dans les champs captant de deux bassins versant (Pau et Strasbourg) au niveau de la zone non saturée et saturée pour mieux comprendre la diversité des microorganismes (analyses MiSeq ADNr16s), leur implication dans le cycle de l'azote (diversité des gènes nir) et le devenir des molécules (concentration-isotopes azote et pesticides) du sol à la nappe (an 1 et 2).

Tâche 2. Etude de la dégradation des molécules et produits de transformation en microcosmes d'eau et de sol par combinaison d'analyses chimiques, isotopiques et microbiologiques (Expression des gènes impliqués dans le métabolisme) à différentes profondeurs. L'étude de l'impact des paramètres de l'environnement (Température, Concentration en O₂, nitrate) sur la transformation des molécules ciblées (étudiées seules ou combinées) sera priorisée (an 2 et 3).

Tâche 3. Sur la base des données acquises, développement d'une modélisation du transfert réactif des pesticides du sol à la nappe, via la ZNS. Cette démarche vise à étudier (i) le lien entre la transformation de l'azote et des pesticides dans les eaux souterraines, (ii) les voies de biodégradation des pesticides dans différentes conditions biogéochimiques propres aux aquifères et à la ZNS (an 2 et 3).

Partenariat

Sorbonne Université, UMR 7618 IEES - Paris

Responsable de l'équipe : M. Mathieu Sebilo

Université de Strasbourg, **Laboratoire d'HYdrologie et de GEochimie de Strasbourg**

Responsable de l'équipe : M. Gwenaël Imfeld

Université de Pau et des Pays de l'Adour, IBEAS UMR IPREM 5254 - Pau

Responsable de l'équipe : M. Rémy Guyoneaud

Résumé ToxModel - 22-EST-111

Evaluation des effets ecotoxicologiques de cyanotoxines et cyanopeptides émergents sur des organismes modèles

Mme Emilie Lance

Université Reims Champagne Ardennes, Unité Stress Environnementaux et

BIOsurveillance des milieux aquatiques - Reims

Projet complet - 36 mois

Budget : 192 765 € TTC

Objectif détaillé

In the context of increasing global temperatures, the toxic cyanobacteria blooms will amplify in the future, constituting a serious hazard to humans, water supplies, fisheries, and ecosystem functioning. Cyanotoxins such as the microcystins are regulated with sanitary guideline values for drinking and recreational waters. Besides these cyanotoxins, cyanobacteria produce about 600 oligopeptides belonging to different families (e.g. aeruginosins, microginins, microcyclamids) for which bioactivities or toxicity against aquatic organisms have been suggested but not adequately investigated. In this context, two families (aeruginosins and microcyclamids) will be specifically investigated according to our recent research demonstrating their significant impact on the metabolome and on hormonal concentration of two model organisms (the bivalve *Dreissena polymorpha* and the fish *Oryzia latipes*). The main objective will be to evaluate the toxicity and the potential endocrine disrupting (ED) activity of emerging cyanopeptides and microcystins using complementary models. The key information obtained will be aggregated in a multi-endpoint "Weight of Evidence" (WoE) approach for toxicity ranking between the families of emerging cyanopeptides and regulated microcystins.

Originalité et/ou caractère novateur du projet

As underlined by the recent French recreational and drinking water guideline, the effects of emerging cyanopeptides remain poorly investigated, particularly their ED property although suggested. This research proposal is both novel and timely by providing significant (eco)toxicological data and by integrating these data in an original WoE approach for a pluri-specific analysis and a global toxicity ranking. ToxModel will highlight if emerging cyanobacterial compounds are of (eco)toxicological and sanitary concern and should be considered in sanitary regulation in the coming years.

Questions de recherche

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

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

The project falls within the scope of the questions "ABIO2: biological agents (micro-organisms, toxins, ...)" and "CoEM2: Environments and contamination, emerging contaminations", as the selected cyanopeptides often co-occur with cyanotoxin microcystins during cyanobacterial blooms in aquatic ecosystems and therefore threaten biodiversity and human health. Human can be intoxicated via the ingestion of water or contaminated food, via direct contact or via aerosolisation of cyanobacteria. However, few toxicological data usable for risk assessment are available so far concerning this cyanobacterial exposome. The project aims to tackle this issue by characterizing their effects at several environmental concentrations on complementary animal models. This project also answers to the question "PE3: Endocrine disruptors: study of the toxicology of low doses and dose-response" by testing the endocrine potential of two families of emerging cyanopeptides and one family of a regulated cyanotoxin at the cellular and individual levels using regulatory tests.

Description des méthodes mises en œuvre

- WP1, months 0 to 18: exposure of the models *D. polymorpha* and *O. latipes* to different cyanobacterial strains producing microcystins or emerging cyanopeptides. Evaluation of toxicological endpoints selected according to previous results: survival, accumulation kinetics, detoxification/biotransformation metabolites, antioxidant and biotransformation enzymes, immuno-modulation, energy metabolism, and evaluation of toxicological reference values (LC50, NOAEL/LOAEL). In addition, an untargeted metabolomic approach including the lipidome will be applied to highlight up- or down-regulated metabolites and identify disrupted metabolic pathways.

- WP2, months 0 to 18: Extracts of cyanobacteria will be used to assess the ED activity of microcystins and/or emerging cyanopeptides at the cellular level by investigating interaction with steroidal and dioxin signalling pathways (i.e., ER, AR, AhR), as well as at the organism level using zebrafish *eleuthero-embryos* assays to determine the toxicity, developmental effects and endocrine responses using OECD TG 236 (FET assay) and 250 (EASZY assay) respectively.

- WP3, months 18 to 30. After the identification of physiological responses and impacted metabolic pathways for each family of compound, the toxicological data will be gathered in a WoE integration approach to propose a ranking of the overall toxicity of cyanotoxin microcystins and the two cyanopeptide families.

Partenariat

Université Reims Champagne Ardennes, Unité Stress Environnementaux et
BIOsurveillance des milieux aquatiques - Reims

Responsable de l'équipe : Mme Emilie Lance

Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR 7245 MCAM - Paris

Responsable de l'équipe : M. Benjamin Marie

Anses - LSAI - Maisons-Alfort

Responsable de l'équipe : M. Ronel Biré

Ineris, - Verneuil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. François Brion

Impact de l'exposition périnatale aux nanoparticules sur le développement pulmonaire

Mme Yuli Watanabe

IMRB/ INSERM U955 EQ4 INSERM U955 EQ4 - Créteil

Projet complet - 36 mois

Budget : 199 992 € TTC

Objectif détaillé

The emerging concept of “Developmental Origins of Health and Disease” postulates that early life stressors may have long-term impacts on the developing fetus/new-born and could therefore represent risk factors to develop chronic, noncommunicable diseases at adult age (Heindel and Vandenberg, *Curr. Opin. Pediatr.*, 2015). In the particular case of the lungs, there is growing evidence that adverse exposures (cigarette smoke, air pollution, **nanoparticles (NP)**) during foetal and/or early infant life can impair lung development and may finally increase the risk of developing adult lung diseases such as chronic obstructive pulmonary disease (Postma et al., *The Lancet*, 2015).

Humans are increasingly exposed to engineered NP through the cutaneous (cosmetics), oral (food additives) and inhalation routes (occupational exposure, cleaning products). Thus, the question of the potential toxic effects subsequent to such exposures represents a relevant public health issue, particularly considering exposures during the critical timewindow of perinatal life.

We have previously shown in a mouse model that respiratory exposure to NP during the sensitive period of gestation leads to developmental defects in the offspring lungs, characterized by a persistent alveolar airspace enlargement (Paul et al., *Nanotoxicology*, 2017). In keeping with this work, the purpose of our project is to investigate the effect of NP exposure during perinatal life (fetal and/or early post-natal) on lung development and function, after administration of NP through different routes of exposure and at different stages of lung development. To achieve our aim, three main objectives will be pursued:

- 1) Characterize the effects of respiratory NP exposure during the lactation period (postnatal) on lung development and function, and investigate the potential combinatory effects of exposure during both gestation and lactation (WP 1).
- 2) Determine if oral exposure of pregnant/lactating mice to NP is accompanied by lung developmental and functional abnormalities in the progeny (WP2)
- 3) Explore the molecular and cellular mechanisms underlying the lung defects observed using combined approaches (WP3).

Originalité et/ou caractère novateur du projet

Apart from a recent study highlighting the presence of Titanium in meconium (Guillard et al., Part. Fibre Toxicol., 2020), evidences of NP transmission from mother to child in human are lacking. On the other hand, in animal models, numerous studies have shown that, when administered to mouse dams via different routes at different stages, NP can reach the blood circulation and spread through the foetus (crossing the placental barrier) or the pup (translocating into breast milk)(Cai et al., 2019; Morishita et al., 2016). Although it is established that, depending on their nature and size, NP can induce inflammation and oxidative stress directly in the dam lungs, the developmental and functional consequences on the offspring are poorly studied. With this research program, we expect to get a better understanding of the characteristics and the mechanisms of the perinatal toxicity of NP, and the results obtained should contribute to the risk assessment related to exposure to NP of pregnant women, breast-feeding women and their children.

Questions de recherche

NANO 3 - Évaluation de l'exposition humaine (y compris par voie orale) aux nanomatériaux manufacturées (mesures, modélisation) tout au long du cycle de vie. Développement de méthodologies par approche globale (grouping / readcross) : regroupement de substances en fonction de leurs caractéristiques et comportements.

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

Our project directly answers the question of NP toxicology (NANO 4) on lung development, in the context of pregnancy and lactation. We will expose mice to NP in order to evaluate the potential effects of NP exposure occurring at the very beginning of the life cycle (NANO 3), known to be decisive in lung function at adulthood.

Description des méthodes mises en œuvre

In this project, we will focus on two NP previously described as inducing lung defects in the progeny after maternal administration during gestation: Titanium dioxide (widely used in industry and as a food additive) and Silver (antimicrobial sprays and food conservative additive).

WP 1 : (M1-14) C57BL/6 mice will be pulmonary exposed to 100µg NP once a week as in our previous study, except that exposure will encompass the gestational and/or lactation periods. The lung phenotype of the progeny will be analysed at foetal and postnatal stages up to adulthood and the lung function will be assessed. In parallel, Ag and Ti elements will be quantified and localized in the lungs of the progeny (by ICP-MS, LA-ICP-MS and X-Ray microfluorescence) to establish a link between the observed pulmonary effects and the presence of NP in pulmonary samples.

WP2: (M12-26) C57BL/6 mice will be orally exposed to 100µg NP once a week (gavage) during the gestational and/or lactation periods. The lung phenotype of the progeny and the presence of NP in pulmonary samples will be investigated as in WP 1.

WP3: (M19-36) The cellular origins and the timing of the defaults observed in our preclinical models will be investigated using immunohistochemistry and organotypic cultures of embryonic lungs collected during the course of lung morphogenesis (E9.5-18.5).

To explore the molecular mechanisms underlying the alveolar defects observed, a transcriptomic analysis will be performed using single nuclear RNAseq at two different time-points: E17.5 and P14 to investigate lung embryonic development and alveolarization respectively.

Partenariat

IMRB/ INSERM U955 EQ4 INSERM U955 EQ4 - Créteil

Responsable de l'équipe : Mme Yuli Watanabe

CEREGE CNRS - Université Paul Cézanne - Aix en Provence

Responsable de l'équipe : M. Jerome Rose

University of Giessen, Allemagne

Responsable de l'équipe : M. Saverio Bellusci