

Appels à projets de recherche sur la santé environnement et la santé au travail 2014

Résumés des dossiers retenus pour financement¹

¹ La décision finale de financement de ces projets est conditionnée au succès des procédures de conventionnement propres à chaque financeur

SOMMAIRE

Résumé ASTRO-RF.....	3
Résumé ATTRACTIGRE	5
Résumé AUPREMO.....	7
Résumé BEMAM	9
Résumé BRAINAIRPOLL.....	11
Résumé CIRCADIEM	13
Résumé CREOM	15
Résumé DAbrAmOr	17
Résumé DEMETER.....	19
Résumé DEVIN	21
Résumé DiaPOPs	23
Résumé EPIRADIOMEM	25
Résumé ExpoVis	27
Résumé ExproPNano.....	29
Résumé FOS EPSEAL.....	31
Résumé Imitomics.....	33
Résumé INQUASAN.....	35
Résumé MARS	37
Résumé METACHILD	39
Résumé MIXEXPO-HAP	41
Résumé NANATMOPATH	43
Résumé NANOTRANSBRAIN	45
Résumé NeuroBiomecaTMS	47
Résumé PACATox	49
Résumé PAOLA.....	51
Résumé PhthalatPreg.....	53
Résumé PRESENSE	55
Résumé REAGIR.....	57
Résumé REDHÉM	59
Résumé Release_NanoTox.....	61
Résumé THYPEST	63
Résumé TOXLYMIX.....	65
Résumé UV-LED	67
Bilan par thématique	69

Résumé ASTRO-RF

Responsable scientifique : Mme Anne-Sophie Villégier

Organisme : Ineris - Verneuil en Halatte

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude de l'évolution des tumeurs astrocytaires sous l'effet des champs électromagnétiques radiofréquence du téléphone portable

2. Questions à la recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant au niveau cellulaire (en particulier, génotoxicité, expression génétique, stress oxydant, effets sur les protéines, etc.).

RFES 2.1 - Études sur les réponses physiologiques aux radiofréquences (sur le sommeil, le métabolisme et le débit sanguin cérébral, les fonctions cognitives, etc.).

RFES 2.3 - Études qui viseront à vérifier avec des protocoles rigoureux des travaux antérieurs qui semblent montrer des effets physiologiques ou sanitaires (voir liste dans le rapport « radiofréquence et santé » (Anses, octobre 2013), pages 342 et suivantes).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif d'ASTRO-RF sera d'étudier les potentiels effets des champs électromagnétiques (CEM) radiofréquence (RF) de la téléphonie mobile sur l'évolution des cancers du cerveau dans la population générale. Afin de répondre à cette question, une approche d'épidémiologie réalisée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) permettra de mettre en lien les niveaux d'exposition aux CEM-RF chez l'Homme avec les paramètres d'évolution des cancers du cerveau à partir d'enquêtes déjà réalisées dans l'étude INTERPHONE. En complémentarité directe, la transposition de ces niveaux d'exposition aux CEM-RF pour l'approche expérimentale in vivo permettra de tester l'hypothèse de causalité d'un effet potentiel de ces expositions (appliquées à des durées variables) sur l'évolution clinique d'un modèle rongeur d'astrogliome. Dans une démarche exploratoire, seront également testés des niveaux plus élevés, dans les limites thermiques et fixées par l'ICNIRP.

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

L'originalité d'ASTRO-RF réside dans :

- l'hypothèse de l'impact des CEM-RF sur l'évolution du cancer. Cette hypothèse n'a été étudiée que dans une publication sur une population suédoise, et elle mérite donc un examen plus approfondi.
- la multidisciplinarité dans l'approche scientifique. La complémentarité des disciplines d'investigation, expérimentales in vivo et d'épidémiologie permettra d'aborder la question du lien entre l'évolution du cancer et l'exposition aux CEM-RF. L'objectif sera une validation mutuelle des différentes approches, l'évaluation des effets chez l'Homme aux niveaux d'expositions réelles et le test des niveaux correspondants et plus forts niveaux d'exposition ainsi que la perspective de recherche de mécanismes par l'expérimentation chez l'animal de laboratoire.
- l'apport en termes mécanistiques et d'évaluation du risque. L'approche in vivo permettra de tester le lien de causalité entre l'exposition aux CEM-RF et l'accroissement de la sensibilité des cellules cancéreuses et de poser éventuellement des hypothèses mécanistiques sur l'évolution des cancers. Si les patients atteints d'un cancer s'avéraient plus vulnérables aux expositions aux CEM-RF, leurs expositions quotidiennes constitueraient un questionnement de santé publique.

Argumentation du choix des questions

“ ASTRO-RF examinera la question du lien existant entre les expositions aux CEM-RF et l'évolution des cancers du cerveau. Nous allons chercher à déterminer si la progression de la pathologie chez des sujets atteints d'un cancer du cerveau est modifiée par l'utilisation du téléphone portable.

“ Cette question appartient au domaine de la sécurité sanitaire environnementale de la population générale.

“ Dans ce domaine, les potentiels effets sanitaires des expositions quotidiennes aux CEM-RF restent une préoccupation sociétale, de la communauté scientifique et gouvernementale. Afin de répondre à ces préoccupations, ce domaine spécifique nécessite des investigations nouvelles et l'apport de données.

“ D'après le rapport Radiofréquences et santé de l'Anses d'octobre 2013, le niveau de preuve est insuffisant pour conclure à un risque de gliome associé aux expositions environnementales aux radiofréquences. Toutefois, le rapport indique qu'une augmentation (faible, moins de 20 % d'augmentation de l'incidence des gliomes) du risque de gliome ne doit pas être totalement exclue particulièrement pour les utilisateurs « intensifs ».

Description des méthodes mises en œuvre

Dans la partie épidémiologique, le lien entre l'exposition aux CEM-RF et la survie après diagnostic, sera examiné à partir de données déjà recueillies dans l'étude INTERPHONE, complétées par les dates de décès des sujets interviewés.

Expérimentalement, l'effet de niveaux identiques d'exposition aux CEM-RF sera évalué sur la progression d'astrogliomes chez le rat, induits par greffe de matériel tumoral (selon une procédure publiée et en s'appuyant sur l'expertise du laboratoire de Neuro-Oncologie, UMR5292). Les expositions (type GSM) seront réalisées à partir d'un système d'exposition déjà calibré, en faisant varier les durées et les niveaux (environnementaux et plus élevés). La méthode choisie inclura des expositions et analyses en aveugle, des témoins positifs et négatifs, la répétition des expériences avant communication des résultats et l'inclusion du nombre d'animaux permettant une puissance statistique suffisante.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Ineris - Verneuil en Halatte

Responsable de l'équipe : Mme Anne-Sophie Villégier

Equipe 2 : Centre International de Recherche sur le Cancer – Section Environnement et Radiation - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Joachim Schüz

Résumé ATTRACTIGRE

Responsable scientifique : Mme Claire Valiente Moro

Organisme : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMR 5557 Ecologie Microbienne - Villeurbanne

1. Titre

Projet complet

24 mois

La microflore cutanée comme source de molécules attractantes pour le moustique tigre *Aedes albopictus*: application au développement de stratégies innovantes en lutte anti-vectorielle

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Stratégies de contrôle de la transmission, plus ciblées et plus durables (identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents pour la LAV, méthodes et intérêt d'une lutte par biocides alternatifs, gestion des résistances, lutte biologique, lutte génétique, lutte communautaire, identification et élaboration d'indicateurs d'efficacité des méthodes de lutte et d'impact sur les organismes non-cibles).

3. Résumé

Objectif détaillé

Le moustique tigre *Aedes albopictus* est considéré comme une des espèces animales les plus invasives au monde actuellement. En l'absence de vaccins efficaces contre les principaux virus transmis par ce moustique, la protection individuelle et la lutte anti-vectorielle (LAV) demeurent les seuls moyens disponibles pour son contrôle. En réponse à l'apparition croissante de moustiques résistants aux insecticides, aux coûts souvent prohibitifs pour le développement de nouveaux composés, et à l'impact néfaste sur l'environnement, l'utilisation et le développement de moyens alternatifs sont indispensables et encouragés au niveau mondial. Il est admis qu'à courte distance, l'odeur humaine, propagée par l'activité de la flore microbienne est plus efficace pour attirer la plupart des moustiques anthropophiles et il est prouvé que cette quête est en partie guidée par des molécules sémiochimiques. Dans ce contexte, l'objectif général du projet est d'évaluer une approche novatrice de LAV dans laquelle les communautés microbiennes potentialisent les kairomones servant d'attractants spécifiques au moustique tigre. Le projet s'articulera autour de trois objectifs spécifiques: (i) l'isolement et l'identification moléculaire de bactéries provenant de la peau d'humains volontaires, (ii) la caractérisation de kairomones d'origine bactérienne et l'évaluation de leur pouvoir attractant et (iii) la conception de pièges et leur utilisation en conditions semi-naturelles de laboratoire et de plein-champ.

A noter que ce projet a déjà fait l'objet d'une soumission en 2013: la lettre d'intention avait été retenue mais le projet final non financé. Le comité avait souligné le caractère original de la proposition et considéré les questions traitées judicieuses. La présente soumission intègre l'ensemble des commentaires et recommandations des rapporteurs.

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

Les insecticides et biocides ont montré leur limite pour endiguer les épidémies des maladies émergentes et réurgentes transmises par les moustiques. Des travaux récents, encore peu nombreux, explorent l'attraction exercée par les vertébrés hôtes sur les moustiques pour développer des leurres à molécules sémiochimiques pour la surveillance et le contrôle de ces vecteurs. Pourtant l'utilisation de médiateurs chimiques comme composante de la lutte intégrée contre les insectes ravageurs a été considérablement utilisée dans le domaine de l'agriculture. L'originalité du projet repose donc dans le développement d'une approche intégrée de la LAV dans laquelle les communautés bactériennes potentialisent les kairomones servant d'attractants spécifiques au moustique. Il s'agira d'apporter des informations inédites en matière d'écologie chimique des interactions entre les activités métaboliques du microbiote cutané humain et le

moustique tigre. Il sera ainsi envisageable d'utiliser les composés organiques volatils émis par les bactéries du derme et impliqués dans le comportement anthropophile, comme attractants dans des pièges.

Argumentation du choix des questions

Le projet proposé répond à des attentes fortes de la société et des acteurs économiques. En effet, face aux risques sanitaires liés à l'invasion d'*Ae. albopictus* en France, il devient urgent de disposer de moyens de lutte anti-vectorielle efficaces dirigés contre cette espèce. In fine, les approches développées devraient contribuer au développement de pièges visant l'attraction et la capture spécifique du moustique tigre tout en préservant la biodiversité et l'environnement.

Description des méthodes mises en œuvre

Objectif 1. Durée: 4 mois.

Culture des bactéries présentes sur la peau des humains volontaires («signature odorante corporelle»): les isolats bactériens du derme seront identifiés par des méthodes moléculaires et conservés.

Objectif 2. Durée: 12 mois.

Mise en place en insectarium de niveau 2 de tests simplifiés en olfactomètres pour évaluer le tropisme des moustiques femelles vis à vis des extraits (seuls ou en mélange) précédemment identifiés:

(i) Préparation, analyse et classement des extraits d'origine bactérienne en fonction de leur pouvoir attractant et analyses par GC-MS/MS et/ou LC-MS/MS

(ii) Visualisation et analyse des trajectoires et de la vitesse des déplacements via un système de video-tracking et d'analyse d'image.

Objectif 3. Durée: 8 mois.

Évaluation de l'effet attractant des molécules au travers de dispositifs expérimentaux (mésocosmes dans la plateforme Rovaltain: <http://pole-ecotox.com/>) permettant de tester l'efficacité de pièges et leur réel potentiel pour l'étude du tropisme de populations de moustiques de milieux tropicaux et tempérés (évaluation par comptage des moustiques dans les pièges) et validation en situation de plein-champs.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMR 5557 Ecologie Microbienne – Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Claire Valiente Moro

Equipe 2 : Université Claude Bernard Lyon 1 - CESN UMR CNRS 5557 - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Gilles Comte

Résumé AUPREMO

Responsable scientifique : M. Christian Pautot

Organisme : CNAM - Laboratoire CEDRIC/LAETITIA - Paris

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Enregistreur automatique de la puissance en voie montante sur Mobile

2. Questions à la recherche

RFES 5.1 - Poursuivre l'amélioration de la caractérisation de l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

3. Résumé

Objectif détaillé

- Etudier un outil compact et portable enregistrant la mesure de la puissance émise instantanée d'un téléphone mobile dans le cadre d'une utilisation quotidienne classique, sans modification physique ou logicielle du téléphone observé.
- Mettre au point des outils d'analyse des enregistrements effectués permettant l'observation de l'évolution de la puissance émise en fonction du temps aux cadences des contrôles de puissances des différents réseaux, permettant d'identifier au fil du temps la technologie mobile utilisée et de disposer des caractéristiques temporelles des signaux.
- Evaluer la possibilité d'utiliser un tel dispositif en conditions réelles.

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

L'analyse des facteurs d'exposition aux ondes électromagnétiques pour la téléphonie mobile nous amène à constater la nécessité de disposer de mesures réelles des puissances émises par les téléphones mobiles. Le projet répond à cet objectif.

En effet, lors de l'utilisation d'un téléphone mobile, les variations de la puissance émise sont le facteur qui impacte le plus l'exposition.

Toutefois, l'évaluation de cette puissance est rendue complexe par :

- L'adaptation permanente de cette puissance et selon des stratégies variables en fonction des différentes technologies (2G, 3G, 4G, etc.).
- La diversification des usages amenée par la généralisation des smartphones

Des données expérimentales sont indispensables. Hormis les mesures en laboratoire, il n'existe pas de dispositif permettant la connaissance de la puissance émise en temps réel.

Le dispositif proposé dans ce projet permet la mesure en temps réel au fil des adaptations du contrôle de puissance. Il donne accès à la puissance instantanée. Il est adaptable à tout téléphone mobile sans modification matérielle ou logicielle de celui-ci. Sa mise en oeuvre est peu impactante pour conserver des conditions habituelles d'utilisation. Son utilisation totalement automatique n'impose pas de prérequis techniques dans la phase d'enregistrement.

La réalisation d'un tel dispositif autorise la mise en oeuvre de campagnes de mesures auprès d'utilisateurs quelconques pour enregistrer en temps réel, dans des situations réalistes et pour les différents

usages possibles la puissance réellement émise. La mise à disposition d'un ensemble de modules et sa simplicité d'utilisation permet d'élargir les utilisations possibles à d'autres équipes de recherche.

Argumentation du choix des questions

Parmi les différentes sources de champs électromagnétiques, il est à la fois nécessaires de tenir compte des stations de base des réseaux, mais également du téléphone mobile lui-même. La connaissance du SAR n'est à elle-seule pas suffisante, en particulier parce qu'il n'est pas tenu compte de l'évolution temporelle des puissances émises en voie montante par les dispositifs mobiles. La dynamique de cette évolution temporelle est très importante (70 dB). Par ailleurs, l'évolution temporelle de la puissance émise dépend de nombreux paramètres (technologie de transmission utilisée, position du mobile par rapport aux stations de base, atténuation due à la propagation, algorithme d'ajustement automatique de la puissance, types de services utilisés et débits effectifs (voix, données, vidéo, voix sur IP), stratégie d'allocation des ressources par le réseau mobile, etc.). La caractérisation de la puissance émise nécessite donc de pouvoir disposer de mesures en temps réel, mesures effectuées hors laboratoire dans des conditions habituelles d'utilisation.

Description des méthodes mises en œuvre

- Prétude du système de mesure
- Analyse de l'intégration de cette chaîne au sein d'un boîtier compact
- Une analyse des besoins (taille, autonomie, volume des données, traitements) pour campagnes de mesures

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CNAM - Laboratoire CEDRIC/LAETITIA - Paris

Responsable de l'équipe : M. Christian Pautot

Equipe 3 : VALOTEC - Cachan

Responsable de l'équipe : M. Renan Sobaga

Résumé BEMAM

Responsable scientifique : M. David Rondeau

Organisme : Université de Rennes 1 - IETR (UMR 6164 CNRS) - Rennes

1. Titre	Projet complet	30 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Recherche de mécanismes d'action des ondes millimétriques au niveau cellulaire par approche métabolomique : BioelectroMagnetisme et Analyse Metabolomique.

2. Questions à la recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant au niveau cellulaire (en particulier, génotoxicité, expression génétique, stress oxydant, effets sur les protéines, etc.).

3. Résumé

Objectif détaillé

Ce projet s'inscrit dans les différentes recommandations du rapport « Radiofréquences et santé » d'octobre 2013, qui propose que les effets biologiques des radiofréquences puissent être vérifiés au moyen de recherches complémentaires de celles déjà publiées. Le but est de mieux connaître l'impact potentiel sur la santé des ondes millimétriques (MM) (bande des 60 GHz) de faible puissance associées à un rayonnement, en explorant les effets biologiques au niveau cellulaire grâce à une analyse métabolomique.

Le projet répond à une réelle demande sociétale car les technologies sans fil sont actuellement en cours de déploiement. Les premiers PC portables avec des chipsets à 60 GHz sont déjà sur le marché depuis 2013 aux USA, et un grand projet intégré européen a pour objectif de proposer des solutions d'intégration des technologies à 60 GHz pour les futurs réseaux hétérogènes (3G/4G/5G/MM). La bande des 60 GHz a aussi été identifiée comme très prometteuse pour les réseaux corporels sans fil émergents. Dans ce contexte, le degré d'exposition des utilisateurs à 60 GHz augmentera drastiquement dans les années à venir.

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

L'originalité du projet réside dans son aspect métabolomique et exige une convergence de compétences et de moyens techniques peu commune. Ceci sera réalisé grâce à la mise en synergie de compétences et moyens techniques disponibles au sein de deux laboratoires impliqués (IETR, IRSET) :

- IETR : (i) Analyse métabolomique (couplage entre la chromatographie en phase liquide et la spectrométrie de masse du plateau technique DReAM de l'IETR). (ii) systèmes d'exposition aux ondes MM.
- IRSET : Culture cellulaire, préparation des extraits cellulaires pour l'analyse en spectrométrie. Analyse intégrative des données pour identification des voies métaboliques affectées.

L'application de la métabolomique à l'étude des effets sanitaires potentiels des ondes MM n'a jamais été étudiée à ce jour.

Argumentation du choix des questions

Le projet BEMAM relève clairement de la question RFES 1.1 La majorité des études in vitro se sont pour l'instant focalisées sur l'expression génétique, ou l'apparition de stress oxydant et de dommages à l'ADN. A notre connaissance, ce type d'analyse n'a pas révélé de façon significative la possibilité de modifications délétères après exposition aux rayonnements. Nous ciblerons plus particulièrement les métabolites synthétisés par les cellules pour obtenir une image fiable de l'activité cellulaire. D'éventuelles modifications subtiles peuvent être détectées, même si l'exposition EM ne provoque pas de stress dommageable pour les cellules. Nous envisageons une stratégie métabolomique haut-débit : elle consistera à cibler les produits finaux issus de l'activité des enzymes qui fabrique le métabolome. Cette analyse se fait sans a priori (idéal pour une stratégie de criblage) et elle peut conduire à identifier des biomarqueurs caractéristiques d'une

réponse cellulaire à l'exposition aux ondes EM, en comparant différentes empreintes métaboliques caractéristiques de l'état biologique du système vivant.

Description des méthodes mises en œuvre

La méthodologie proposée se résume ainsi :

1) Utilisation de modèles cellulaires complémentaires : culture primaire de keratynocytes humains (principale cible des ondes MM), ou lignée de neurone-like qui mimera les terminaisons nerveuses de la peau. L'activité et le métabolisme des neurones sous exposition, pourront être indiqués par la synthèse et la sécrétion des catécholes (IRSET+IETR).

2) Étude du rôle des paramètres d'exposition tels que i) impact de la durée d'exposition (d'une heure à 2 jours) sur la modification du métabolisme cellulaire ; ii) impact de la puissance incidente (IRSET+IETR).

3) Identification des biomarqueurs potentiels d'une surexposition des personnes grâce à une analyse statistique des données acquises par couplage LC-MS (IETR).

Le projet a pour durée 30 mois avec 4 tâches :

1. Mise en place, compatibilité et validation du protocole d'exposition des cellules aux EM et des méthodes d'analyses par LC-MS (6 mois).

2. Accumulations des données brutes d'analyses métabolomiques et traitement statistique visant à mettre en évidence un ou des signaux caractérisant la présence de biomarqueur(s) pertinent(s). Livraison du rapport intermédiaire (12 mois).

3. Identification du (des) biomarqueur(s) par caractérisation structurale en mode MS/MS, interrogations des bases de données (6 mois).

4. Interprétations des résultats en termes de mécanismes d'actions cellulaires selon les mécanismes d'action de voies métaboliques recensées (6 mois). Livraison du rapport final.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes 1 - IETR (UMR 6164 CNRS) - Rennes

Responsable de l'équipe : M. David Rondeau

Equipe 3 : Université de Rennes 1 - IRSET Inserm U1085- Rennes

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

Résumé BRAINAIRPOLL

Responsable scientifique : M. Henri Schroeder

Organisme : Université de Lorraine - URAFPA, INRA USC340 – Vandoeuvre-lès-Nancy

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

Toxicité neurodéveloppementale d'une exposition gestationnelle à la pollution atmosphérique. Effets à court et à long terme de l'inhalation répétée de particules de fumées de diesel chez le lapin.

2. Questions à la recherche

AIRR 1 - Evaluation de l'exposition et des risques afférents aux substances dangereuses, aux agents pathogènes et aux particules (COV par exemple) présents dans l'air, notamment de lieux peu étudiés (commerces, bureaux, établissements de soins, moyens de transport).

3. Résumé

Objectif détaillé

La pollution atmosphérique est une préoccupation majeure de santé publique et les données épidémiologiques récentes montrent qu'elle exerce des effets neurodégénératifs pouvant entraîner des pathologies graves dans des populations directement exposées (Calderon-Garciduas et al., 2010, 2013). BRAINAIRPOLL vise à étudier la neurotoxicité de l'exposition indirecte, précoce et répétée à des particules de fumées de diesel chez des lapereaux nés de mères exposées quotidiennement pendant la gestation. L'étude de la plasticité des circuits périphériques liés à l'olfaction ainsi que des voies centrales permettra de caractériser les conséquences à court et à long terme sur le développement et la santé de l'individu, d'une exposition aux fumées de diesel survenant pendant la vie embryonnaire. Cette étude mime la réalité de l'exposition humaine et intervient au cours d'une période critique du développement cérébral qui est la gestation.

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

Alors que les études menées jusqu'à présent ont montré l'impact d'une exposition directe à la pollution sur le fonctionnement neuronal, peu de choses sont connues à propos des effets d'une contamination indirecte du fœtus via l'exposition de la mère gestante aux particules. L'analyse du continuum des effets neurotoxiques de ce type d'exposition depuis l'étage périphérique que représentent la muqueuse et le bulbe olfactif jusqu'aux étages plus centraux n'a jamais été exploré et permettra de caractériser de manière globale la toxicité cérébrale de l'exposition précoce aux particules des fumées de diesel. L'examen systématique de ces atteintes sera réalisé à différents stades de développement de l'individu et apportera des éléments de compréhension de désordres pouvant être observés tardivement chez l'adulte. L'utilisation du lapin comme modèle animal est à la fois original et pertinent de par i) son type de placenta très proche du placenta humain, ii) son développement cérébral périnatal rapide à l'image de celui de l'homme, et iii) l'existence de tests olfactifs précoces à base phéromonale praticables dès la naissance. En effet, le tractus olfactif est non seulement une voie d'entrée de toxiques au niveau cérébral, mais aussi le site de réception de signaux liés à des comportements vitaux comme le développement des comportements sociaux.

Argumentation du choix des questions

BRAINAIRPOLL est une étude in vivo qui vise à caractériser le risque neurotoxique de l'exposition aux particules présentes dans l'air et qui s'inscrit pleinement dans l'axe 1 de la thématique AIR de l'appel d'offre. Le recours à un modèle animal pertinent (le lapin) et à un modèle d'exposition chronique (inhalation sur de courtes périodes journalières) qui reproduit les conditions d'exposition chez l'homme et qui s'appuie sur les compétences reconnues du RIVM pour sa mise en œuvre rend ce projet pertinent et original pour

caractériser et analyser le risque toxique de l'exposition indirecte et répétée à des particules atmosphériques au niveau de populations vulnérables (mère gestante et fœtus).

Description des méthodes mises en œuvre

Des lapines gestantes (n=14) seront exposées par inhalation (voie nasale) aux fumées de diesel dont la teneur en particules a été ajustée à 1mg/m³, 1h matin et soir, 5 jours/semaine du 3^e au 28^e jour de gestation ou à une atmosphère non polluée (n=14). La génération et l'exposition seront réalisées à l'aide d'une unité mobile développée et fournie par le RIVM (MEPEL mobile laboratory, RIVM, Pays-Bas). Les conditions d'exposition seront contrôlées au plan de la taille, de la masse et du nombre de particules, de la température, de l'humidité ainsi que la teneur en polluants atmosphériques gazeux (COV, NOX, ...). Les jeunes seront sacrifiés à G28 ainsi qu'à 10, 21, 42 et 180 jours d'âge postnatal (PN) et le cerveau et le tractus olfactif prélevés. L'exploration comportementale de la fonction olfactive sera effectuée dès PN2. La dérégulation de facteurs impliqués dans l'homéostasie et les fonctions du cerveau et du tractus olfactif sera recherchée de manière systématique aux différents stades de développement retenus par des approches transcriptomiques et histologiques. La durée prévue sera de 36 mois (année 1 : exposition des animaux et étude du comportement, années 2 et 3 : analyse histologique et transcriptomique des tissus). Des points de rencontre entre les différents partenaires seront organisés tous les 6 mois et une période finale de 6 mois sera prévue pour la rédaction du rapport et la valorisation.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Lorraine - URAFPA, INRA USC340 – Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Henri Schroeder

Equipe 2 : INRA - UR INRA 1197, Unité de NeuroBiologie de l'Olfaction - Jouy-en-Josas

Responsable de l'équipe : Mme Christine Baly

Equipe 3 : INRA - UMR INRA-ENVA 1198 Biologie du Développement et Reproduction - Jouy en Josas

Responsable de l'équipe : Mme Pascale Chavatte-Palmer

Equipe 4 : Université de Lorraine - Inserm U954 - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Christophe Nemos

Résumé CIRCADIEM

Responsable scientifique : M. Pascal Guénel

Organisme : Inserm - CESP UMR-S1018 - Villejuif

1. Titre

Projet complet

24 mois

Perturbation du rythme circadien chez les infirmières travaillant de nuit : contribution des facteurs environnementaux, du chronotype, du génotype - marqueurs biologiques

2. Questions à la recherche

CANC 1 - Interactions gènes/environnement : impact des facteurs de risque environnementaux, professionnel et comportementaux en fonction des prédispositions génétiques.

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces de transformation et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 7 - Risque de cancers liés à des expositions environnementales ou professionnelles subies tout au long de la vie.

3. Résumé

Objectif détaillé

En 2007, le travail posté impliquant des perturbations du rythme circadien a été classé par le CIRC comme cancérigène probable, sur la base de preuves suffisantes chez l'animal et limitées chez l'Homme. Le travail de nuit représente la forme d'organisation du travail la plus étudiée car susceptible d'entraîner une désynchronisation importante de l'horloge biologique, avec des conséquences possibles sur la cancérogénèse, mais ce sont les perturbations du rythme circadien (et non le travail de nuit lui-même) qui constituent le facteur étiologique d'intérêt principal. Les premières études épidémiologiques sur le travail de nuit en lien avec le cancer ont porté sur le cancer du sein. Elles suggèrent un lien de cause à effet sans toutefois apporter des éléments de preuve suffisants. Les informations recueillies dans ces études permettent en effet de classer les sujets selon le type de poste occupé, mais sont insuffisantes pour caractériser de façon fine les perturbations de l'horloge biologique interne. L'imprécision dans la mesure de l'exposition d'intérêt a constitué jusqu'à présent un obstacle majeur pour établir clairement l'existence d'un lien de cause à effet entre travail posté et risque de cancer. Par ailleurs les perturbations du rythme circadien résultant d'autres facteurs que le travail en horaires décalés ont pu biaiser la mesure de l'association entre travail de nuit et cancer dans les études épidémiologiques.

Afin de disposer des outils nécessaires pour caractériser les perturbations de l'horloge biologique chez les travailleurs de nuit, nous proposons de mener une étude préalable chez des infirmières de nuit à l'AP-HP avec les objectifs suivants :

- Evaluer l'adaptation au travail de nuit (état de santé, fatigue, insomnie) en tenant compte du type de poste occupé (nuit fixe, équipe tournante), du temps de sommeil à l'issue d'une période de travail, de la somnolence au cours de la période d'éveil, du chronotype, du profil génétique basé sur la recherche des polymorphismes sur les gènes impliqués dans la régulation du rythme circadien.
- Mettre en évidence des marqueurs biologiques d'effets consécutifs à la désynchronisation de l'horloge biologique et/ou la restriction du temps de sommeil sur 24 heures. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux marqueurs du système neuroendocrinien, immunologiques ou liés au stress oxydatif.
- Etudier les altérations épigénétiques associées au travail de nuit, notamment sur les sites de méthylation de l'ADN envisagée comme marqueurs moléculaires de la perturbation du rythme circadien.

Nous souhaitons mettre en place une étude transversale constituée d'infirmières travaillant de nuit depuis au moins 10 années et d'infirmières de jour appariées sur l'âge et l'ancienneté. Un historique professionnel et des informations sur le mode de vie seront recueillies de façon détaillée.

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

Ce projet est envisagé comme un préalable à la réalisation de nouvelles études sur travail de nuit et cancer à mettre en place dans un second temps. Il permettra de caractériser les marqueurs biologiques d'effet précoce liés à la désynchronisation du rythme circadien en tenant compte des prédispositions (sociales, physiologiques, génétiques) propres à chaque individu, utilisables à l'échelle d'études épidémiologiques.

Argumentation du choix des questions

- Mise en place d'indicateurs de la perturbation du rythme circadien chez les travailleurs en horaires décalés.

- Utilité des biomarqueurs d'effet précoce pour l'étude du lien travail de nuit- cancer lors d'études épidémiologiques ultérieures

- Utilité des biomarqueurs de susceptibilité (variants génétiques) pour l'étude des interactions gènes / environnement

Description des méthodes mises en œuvre

Nous prévoyons d'inclure 300 infirmières de nuit ayant au moins 10 ans d'ancienneté et 300 infirmières de jour appariées sur l'âge et l'ancienneté, recrutées dans des services hospitaliers de l'AP-HP avec l'aide des services de santé au travail et du CHSCT.

Un questionnaire en face à face permettra d'évaluer l'adaptation au poste de travail en mesurant l'état de santé général (fatigue, temps et qualité du sommeil, somnolence, anorexie) et de recueillir des informations sur l'historique de carrière, les horaires de travail et de sommeil, le chronotype, l'histoire reproductive, les traitements hormonaux, l'alimentation, le tabac, le bruit, la température, lumière du poste et de la chambre etc)

Des échantillons biologiques (sang, urine) seront recueillis pour la mesure de biomarqueurs et la constitution d'une banque d'ADN.

Le dispositif PICADO, permettant de mesurer les rythmes d'activité-repos, de température et de position à l'aide d'un capteur de surface thoracique sera proposé à 50 volontaires dans chaque groupe pour mieux caractériser le rythme circadien durant 7 jours.

Le recrutement devrait s'étaler sur une année. Une année supplémentaire sera nécessaire pour le génotypage, les dosages de biomarqueurs et l'analyse des données.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - CESP UMR-S1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Pascal Guénel

Equipe 2 : Université Paris Descartes - Paris

Responsable de l'équipe : M. Damien Leger

Equipe 3 : Inserm - UMR S776. Rythmes biologiques et cancers - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Francis Levi

Résumé CREOM

Responsable scientifique : M. Christophe Lemoine

Organisme : INSA de Rennes - IETR - Rennes

1. Titre	Projet complet	26 mois
Chambre Réverbérante d'Exposition aux Ondes Millimétriques		

2. Questions à la recherche

RFES 2.1 - Études sur les réponses physiologiques aux radiofréquences (sur le sommeil, le métabolisme et le débit sanguin cérébral, les fonctions cognitives, etc.).

RFES 5.1 - Poursuivre l'amélioration de la caractérisation de l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les systèmes de communications en ondes millimétriques (OMM) autour de 60 GHz sont amenés à se répandre massivement pour le grand public (à partir de 2014 pour la France) pour les communications de proximité à très haut débit (terminaux utilisateurs [Smartphones / tablettes], réseaux personnels et locaux, backhaul, etc.). Se posent ainsi de nouvelles questions quant à l'interaction des ondes émises par ces nouveaux services avec les organismes vivants. L'objectif de notre projet est de mettre au point un nouveau moyen d'exposition et de métrologie basé sur une chambre réverbérante (CR) pour les expositions dans la bande des 60 GHz. Ce projet, déjà soumis lors du précédent appel à projet de l'ANSES, prend pleinement en compte le retour d'évaluation de CREOM.

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

L'originalité de ce projet est triple :

1) Mettre à disposition de la communauté scientifique un nouveau moyen d'exposition (unique au niveau national, voire européen), compatible avec l'étude des effets potentiellement induits sur les organismes vivants par les OMM au voisinage de 60 GHz. Actuellement, la biocompatibilité de ces fréquences est très peu étudiée bien que de nouvelles applications grand public sont prêtes à être déployées. A terme, un tel dispositif permettrait de réaliser des études expérimentales in vivo ; cela n'a quasiment jamais été effectué jusqu'à présent en OMM car il n'existe pas de système d'exposition disponible et qualifié pour les expériences sur l'animal à ces fréquences.

2) Anticiper les conséquences potentielles sur la santé des nouvelles technologies de communication sans fil, avant leur mise sur le marché (déploiement massif prévu d'ici quelques années [Intel, STM, Samsung, Canon, Sony, NXP, etc.]).

3) Au-delà du risque électromagnétique, un tel moyen d'exposition permettrait d'étudier le bénéfice potentiel des OMM en terme d'applications thérapeutiques (par ex. traitement des cancers cutanés).

Argumentation du choix des questions

Ce projet relève de 2 thèmes de l'appel à projet « Radiofréquences et santé » : effets des radiofréquences d'une part, et caractérisation des expositions d'autre part. Le choix des questions s'appuie sur des aspects novateurs et prometteurs au regard de la littérature scientifique. Une meilleure connaissance des mécanismes d'interactions ondes/vivant est primordiale pour une meilleure évaluation et gestion des risques sanitaires potentiels induits par ces nouvelles technologies. Ce projet présente donc un intérêt scientifique et sociétal majeur (nouveaux signaux, nouvelles applications, nouveaux risques).

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet nécessite des compétences complémentaires en électronique et en bioélectromagnétisme. Notre consortium regroupe électroniciens et biologistes pour traiter les 2 aspects du projet. Les 2 équipes collaborent avec succès depuis 2006. En particulier, une étude pilote interne (thèse en cours, 2011-2014) sur la montée en fréquence des CR a donné lieu à la réalisation d'un premier prototype de CR qui nous permet actuellement d'étendre l'utilisation d'un tel moyen d'essai jusqu'à la limite basse du domaine millimétrique (30 GHz). Ce nouveau projet vise à passer à l'étape suivante, c.-à.-d. concevoir, réaliser et valider un second prototype compatible avec l'exposition à 60 GHz, dans la perspective ultime de tests in vivo.

Les 2 tâches prévues sont les suivantes :

1. Mois 1 à 12 : Etude, développement et construction d'une CR compatible avec les expositions jusqu'à 60 GHz, et mise en place d'un système de mesure non invasif de champ par caméra thermique infra-rouge. Prise en compte des contraintes de test in vivo pour le dimensionnement de la CR.

2. Mois 13 à 26 : Caractérisation de l'environnement de test pour valider les conditions d'exposition requises pour l'étude des interactions ondes-vivant à 60 GHz. Calibrage et estimation des incertitudes de mesure à l'aide d'objets sous test calibrés et optimisation des protocoles d'exposition. Exposition et mesure de DAS sur des fantômes équivalents à la peau humaine. Evaluation du bien-être des animaux en comparant les niveaux plasmatiques de corticostérone entre un « contrôle cage » effectué à l'animalerie de l'IRSET et des animaux élevés dans la CR (sous exposition ou non).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : INSA de Rennes - IETR - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Christophe Lemoine

Equipe 2 : Université de Rennes 1 - IRSET Inserm U1085 Equipe «Transcription, Environnement et Cancer» - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

Résumé DAbRAmOr

Responsable scientifique : M. Antoine Talarmin

Organisme : Institut Pasteur de la Guadeloupe Morne Jolivière - Abymes

1. Titre	Projet complet	30 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Dissémination d'agents pathogènes et de gènes d'antibiorésistance dans les sols et chez l'homme associés à l'épandage d'amendements organiques

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Caractérisation du danger (techniques de détection notamment approches quantitatives, outils moléculaires, indicateurs) liés à la présence d'agents biologiques pathogènes pour l'homme.

ABIO 2 - Documenter l'exposition des travailleurs aux bioaérosols et à différents agents biologiques (micro-organismes, toxines, virus et bactéries pathogènes).

ABIO 4 - Dissémination de l'antibiorésistance : mécanismes d'induction de l'antibiorésistance et facteurs de sa transmission dans l'environnement. Transmission de l'animal à l'homme.

3. Résumé

Objectif détaillé

Évaluer l'impact de l'usage d'amendements organiques issus de stations d'épurations ou d'origine animale sur la sélection et la diffusion de gènes de résistance aux antibiotiques (GRAs) dans les sols. En estimer les risques associés à une transmission à l'homme par inhalation ou ingestion d'aliments contaminés.

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

Ce projet présente 2 aspects novateurs : (i) l'étude, dans le contexte tropical guadeloupéen où très peu de choses sont quantifiées quant à l'utilisation d'antibiotiques et aucune publication disponible à ce jour, des effets sur les sols (modification des flores bactériennes, diffusion de GRAs) de l'utilisation en agriculture d'amendements organiques provenant d'animaux ou de composts dérivés de boues de stations d'épuration (STEP); (ii) l'estimation du risque sanitaire par la recherche de bactéries résistantes et de GRAs dans les aérosols des cultures.

Argumentation du choix des questions

Notre projet s'intéresse à la diffusion de la résistance à l'environnement et à l'homme liée à l'épandage d'amendements organiques dérivés de rejets animaux ou de boues de STEP. La consommation d'antibiotiques animaux représente le double de la consommation humaine. Le danger de diffusion est donc grand. Les données préliminaires en Guadeloupe indiquent que les antibiotiques vétérinaires utilisés sont très variés, et que les cultures maraîchères sont les plus utilisatrices d'amendements organiques (fumiers de bovin, lisiers, fientes, boues de STEP). Il s'intéresse aussi à la caractérisation du danger lié à la présence d'agents résistants aux antibiotiques dans les sols et végétaux cultivés, en utilisant des approches de microbiologie classique et de métagénomique. Enfin, l'évaluation du risque d'exposition des travailleurs aux micro-organismes résistants via les aérosols sera réalisée autour des zones à risque. Ceci permettra de comprendre comment des clones bactériens peuvent se disperser malgré un bon niveau d'hygiène.

Description des méthodes mises en œuvre

Le schéma d'étude a été établi avec un agriculteur biologique. Chaque lot d'amendement organique sera composé de fumiers d'origine animale et de déchets végétaux broyés. Quatre parcelles seront comparées : 1 : absence d'amendement ; 2 : amendement industriel (fumiers, lisiers, boues de STEP) ; 3: fumiers de

chevaux soumis à des traitements antibiotiques et déchets végétaux non traités ; 4 : fumiers de chevaux non soumis à des traitements antibiotiques et déchets végétaux non traités.

Pour les comparaisons, le concombre et la patate douce ont été choisis en raison de leur développement en contact avec le sol et leur rapidité de croissance. Cette rapidité et les conditions climatiques de Guadeloupe permettront de réaliser 3 cycles de culture de 3 mois avec une interruption de 2 mois entre chaque. La composition de l'amendement industriel pourra varier à chaque cycle et sera précisée en début de période.

La composition microbienne des sols et des différents amendements organiques sera étudiée par des prélèvements réalisés avant épandage. L'évolution de la microflore des sols sera étudiée 15 jours après épandage et au moment de la récolte. Les bactéries résistantes aux antibiotiques seront recherchées par culture en utilisant des milieux spécifiques et des milieux généralistes supplémentés en antibiotiques, et caractérisées par des approches phénotypiques/biochimiques (micro-galerie, antibiogramme), de la chromatographie (MALDI-TOF) et de la biologie moléculaire (PCR, ...). Afin d'avoir une vision plus exhaustive de la diversité des flores et d'accéder aux bactéries cultivables et non cultivables, nous utiliserons une approche de type métagénomique ciblant l'ADNr 16S. Des résidus d'antibiotiques seront recherchés dans les sols et les amendements (LC-MS/MS).

La présence de GRAs dans les échantillons de sols et d'aliments sera recherchée dans les bactéries résistantes aux antibiotiques (bêta-lactamines, fluoroquinolones) après isolement et culture. Certains GRAs portés par des éléments génétiques mobiles ou EGMs (plasmides, transposons et intégrons), et plus particulièrement les gènes de résistance aux fluoroquinolones, et aux bêta-lactamines, seront identifiés par métagénomique (séquençage d'amplicons de GRAs). Ces analyses seront complétées par l'utilisation d'autres approches moléculaires (criblage de plasmides transférables, PCR) afin de confirmer les résultats obtenus.

L'exposition aérienne aux bactéries porteuses de GRAs des populations travaillant sur les sites sera étudiée à l'aide de prélèvements d'échantillons d'air (aspiration, analyse des filtres) dans des élevages avicoles avec lesquels nous sommes en contact, l'usine de préparation des amendements industriels, et près des cultures lors de l'épandage et de la récolte sur la zone d'étude. Les flores de ces différents aérosols seront ensuite analysées par métagénomique, afin de les comparer aux flores trouvées lors de l'étude des sols. La recherche des GRAs portés par les bactéries (cultivables et non cultivables) et les EGMs, sera entreprise par les approches précitées. Les résultats permettront une évaluation du risque sanitaire représenté par la dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques après utilisation ou préparation des amendements organiques.

Ce projet durera 30 mois : compostages et cultures (16 mois), analyses de bactériologie et biologie moléculaire (20 mois), métagénomique : mise au point, séquençage (12 mois) et traitement des données (20 mois). Six derniers mois : valorisation des données.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Pasteur de la Guadeloupe Morne Jolivière - Abymes

Responsable de l'équipe : M. Antoine Talarmin

Equipe 2 : Université Lyon 1 - UMR CNRS 5557 Ecologie Microbienne - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Sylvie Nazaret

Equipe 3 : Petit Bourg

Responsable de l'équipe : M. Didier Boismoreau

Résumé DEMETER

Responsable scientifique : M. Nicolas Foray

Organisme : Inserm - CR-U1052 - Lyon

1. Titre

Projet complet

24 mois

DÉfinition Moléculaire de l'ÉlecTrosensibilité humaine et Évaluation du Risque

2. Questions à la recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant au niveau cellulaire (en particulier, génotoxicité, expression génétique, stress oxydant, effets sur les protéines, etc.).

RFES 3.2 - Recherche de mécanismes pouvant expliquer l'hypersensibilité électromagnétique.

RFES 3.4 - Recherche d'outils de diagnostic et de marqueurs spécifiques.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'énergie associée aux ondes électromagnétiques (EM) utilisées en télécommunications est insuffisante pour induire directement des cassures de l'ADN. Cependant, il est possible qu'une exposition puisse induire un faible stress oxydatif : on ne peut donc pas éliminer l'hypothèse que la perturbation due à l'exposition soit amplifiée dans le cas de patients dont l'oxydation cellulaire basale est déjà élevée. Ce phénomène serait d'autant plus marqué que les radiofréquences (RF) sont plus élevées. Ainsi, caractériser moléculairement l'électrosensibilité est une approche majeure pour la mesure du risque lié aux ondes EM. Toutefois, une telle approche requiert : 1) une étude clinique obéissant aux contraintes éthiques, statistiques et méthodologiques, (au moins 30 patients et 30 témoins pour ce genre d'analyse) ; 2) la maîtrise de la métrologie et de l'exposition aux ondes EM ; 3) un modèle mécanistique validé pour des taux d'oxydation faibles et transitoires.

En réponse à ces 3 exigences : 1) l'équipe 1 est familière de projets hospitaliers de recherche clinique ; 2) l'équipe 2 maîtrise la métrologie et l'exposition aux ondes EM, notamment aux ondes millimétriques) ; 3) l'équipe 2 a montré que la protéine ATM passe du cytoplasme au noyau pour initier la reconnaissance des dommages de l'ADN issus du stress oxydatif et organiser la réponse au stress qu'il soit physique (rayons X), chimique (métaux, pesticides, chimiques) ou d'origine biologique (syndromes génétiques). Cette nucléarisation d'ATM et des marqueurs associés est une mesure fiable des stress cellulaires faibles.

Nous proposons donc de caractériser la sensibilité spécifique des personnes électrosensibles. Ceci n'a encore jamais été étudié bien que l'on sache maintenant que des facteurs individuels peuvent amplifier la gravité, voire changer la nature qualitative et quantitative des conséquences du stress induit par l'environnement.

Dans le cadre de ce projet, nous nous proposons d'étudier la réponse moléculaire aux ondes de 60 GHz, de cultures primaires de fibroblastes de peau issus d'au moins 30 patients avérés électrosensibles et de 30 témoins négatifs ou positifs des voies de signalisation ATM-dépendantes (normo-, photo- et radio-sensibles). Cette analyse systématique s'effectuera par immunofluorescence et sur une large gamme d'expositions réalistes délivrées en une ou plus plusieurs fois. Ce projet a reçu le soutien du collectif des électrosensibles de France.

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

Le stress oxydant a déjà été largement étudié dans le domaine du bioélectromagnétisme, mais aucune étude n'a été consacrée à la sensibilité à 60 GHz, ni à la nucléarisation d'ATM. Pour la première fois des prélèvements cutanés chez des volontaires électrosensibles seront utilisés : les fibroblastes de peau non-transformés sont un modèle cellulaire adéquat concernant les RF.

Certains appareils développant des ondes millimétriques autour de 60 GHz sont actuellement sur le marché et on peut prévoir un très large déploiement en environnement domestique et professionnel. Ces fréquences induisent des débits d'absorption spécifique relativement importants, même pour des valeurs de densité de puissance inférieures aux normes limites, ce qui laisse supposer que les effets de ces ondes pourraient être plus marqués.

Argumentation du choix des questions

Comme l'on noté les experts lors d'une précédente évaluation, les points forts de notre projet sont la complémentarité des équipes et la maîtrise de la métrologie et de l'analyse biologique. Il rentre dans les dernières recommandations de l'ANSES en termes de méthodologie. Ce projet permettra de répondre à 2 questions: 1) quels sont les liens entre électrosensibilité, stress oxydatif et dysfonctions de la signalisation ATM-dépendante? 2) les ondes millimétriques produisent-elles directement ou indirectement sur des fibroblastes de peau, des dommages de l'ADN à des taux mesurables?

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet mettra en œuvre pour la première fois des prélèvements cutanés issus de volontaires électrosensibles dont les signes cliniques auront été précisés par un questionnaire adapté. Un collectif d'électrosensibles a donné son accord pour coopérer. Les témoins négatifs ou positifs des voies de signalisations ATM-dépendantes seront issus de la collection de fibroblastes de l'équipe 1. Toutes les procédures éthiques (CPP, AFSSAPS, critères d'exclusion) seront respectées et détaillées dans le dossier de projet final par les médecins de l'Equipe 1.

Les cellules seront exposées à 60 GHz (signaux modulés, continus ou impulsionnels). L'équipe 2 possède un système d'exposition contrôlé, validé et dédié. Elle réalisera les expositions en aveugle de l'équipe 1. L'équipe 1 a mis au point une batterie de tests par immunofluorescence pour mieux caractériser le taux de stress oxydatif spontané et stress-induit. L'immunofluorescence rend possible le suivi dans le temps et dans l'espace de chaque dommage de l'ADN dans le noyau des cellules, révolutionnant ainsi l'évaluation du risque lié à des faibles effets (en analysant notamment l'activité et la nucléarisation de la protéine ATM, connue pour avoir un rôle précoce dans le stress). De plus, nous proposons de sonder systématiquement la réponse aux expositions, en association avec des agents génotoxiques reconnus (métaux, drogues, UV).

Calendrier :

M0-6 : expériences préliminaires, fibroblastes témoins ; M6-12 : recueil échantillons électrosensibles

M12-18 : réponse fibroblastes électrosensibles et témoins; applications agents stressants; M18-24 : modèle général

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - CR-U1052 - Lyon

Responsable de l'équipe : M. Nicolas Foray

Equipe 2 : Université de Rennes 1 - IRSET Inserm U1085 Equipe «Transcription, Environnement et Cancer» - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Yves Le Dréan

Résumé DEVIN

Responsable scientifique : M. Serge Bories

Organisme : CEA - Leti\DSIS\STSC\LAP - Grenoble

1. Titre

Projet complet

24 mois

Dispositif portable de mesure de l'exposition EM d'une source proche en voie montante

2. Questions à la recherche

RFES 5.1 - Poursuivre l'amélioration de la caractérisation de l'exposition du public aux diverses sources de champs électromagnétiques environnantes, notamment à des fins de surveillance temporelle de son évolution, dans l'environnement extérieur ou intérieur.

RFES 5.2 - Engager des travaux permettant de croiser la description spatiale des niveaux de champs électromagnétiques avec la répartition géographique de la population, en vue d'offrir une première caractérisation de l'exposition résidentielle.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet DEVIN vise à résoudre la problématique de l'estimation, à l'aide d'un dosimètre porté ou pas, de l'exposition en termes de débit d'absorption spécifique (DAS) dans le cas d'une source proche du corps et émettant un niveau de champ non connu. Le scénario du smartphone sera choisi car il correspond aujourd'hui à la source principale d'exposition du grand public. Deux objectifs distincts seront adressés :

- Mesurer de manière autonome la puissance réellement émise par le smartphone.
- Estimer l'usage du smartphone à partir de données radio, c'est-à-dire une position approximative de la source par rapport au corps.

Ces deux informations combinées à une table de DAS normalisé en puissance et préalablement simulés pour chaque usage permettront de remonter à l'évaluation du DAS. L'enjeu final est de démontrer que cette méthode d'estimation du DAS au cours des activités quotidiennes intérieures ou extérieures de l'utilisateur est bien plus précise (de plusieurs ordres de grandeur) qu'avec le seul dosimètre portable.

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

Caractériser l'exposition réelle du public de manière fine afin de connaître son évolution sur le long terme et d'observer l'impact de nouveaux systèmes ou de nouveaux usages demeure un enjeu important. Ainsi en équipant de dosimètres EM portables et sélectifs en fréquence, un échantillon représentatif d'une population, il est possible d'enregistrer un niveau de champ EM pendant l'activité quotidienne du porteur et ceci de manière faiblement invasive.

Pour autant quand la source est proche du corps, la mesure du champ au niveau du dosimètre, généralement porté à la ceinture, ne permet pas de remonter précisément à l'exposition DAS. La première raison est que le niveau d'émission de la source n'est en général pas connu ou pas constant. La seconde est que la mesure du champ au niveau du dosimètre ne permet pas son extrapolation en un autre point du corps dès lors que la position de la source est inconnue.

Le cas du téléphone cellulaire illustre typiquement la problématique précédente. En effet le niveau réellement émis n'est pas disponible et la position du terminal par rapport au corps varie suivant l'usage (appel classique, envoi de données...). Or c'est justement cette exposition en liaison montante (du mobile vers la station de base) qui est largement prépondérante par rapport à celle induite par la liaison descendante [1]. C'est donc sur la partie largement majoritaire de l'exposition que le dosimètre porté est le

moins pertinent puisque sa mesure n'est pas exploitable pour en estimer précisément l'exposition DAS due à l'émission du terminal mobile.

Argumentation du choix des questions

Ce projet est rattaché à la question à la recherche sur la caractérisation des expositions du public. L'approche proposée permettra de combiner une estimation rigoureuse du DAS avec un déploiement sur une population bien plus large puisque le coût supplémentaire par rapport à un dosimètre portable sera faible, voire très faible si le dosimètre ne s'avère plus nécessaire. Par ailleurs l'estimation de l'exposition DAS voie montante reste aujourd'hui un point technique bloquant pour des approches d'optimisation de l'exposition (projet LEXNET [2]).

Description des méthodes mises en œuvre

La première tâche consiste à développer une sonde qui enregistre en temps réel la puissance d'émission de manière non collaborative avec la source pendant une journée. Ce dispositif miniature est intégré sur la coque du smartphone sans en perturber le fonctionnement. Il fonctionne sur les principales bandes de fréquences voie montante d'un smartphone. (durée estimée 6 mois entre M1 et M6)

La seconde tâche vise à estimer la position du smartphone à l'aide de la mesure de puissance de liens radio entre la source et plusieurs points disposés judicieusement sur le corps. Ces points correspondront à des antennes déportées reliées au dosimètre portable ou bien des modules de réception autonomes. Ces mesures sont alors comparées à un modèle de propagation radio autour du corps préalablement établi en laboratoire. Ce modèle tiendra compte des variabilités (des individus, des postures, de la latéralité ...). Il sera basé sur les principales configurations d'usages d'un smartphone : collé à l'oreille, devant le tronc, dans la poche. (durée estimée 12 mois entre M5 et M16)

Enfin une campagne de mesure en environnement contrôlé (chambre anéchoïde, fantôme, position du smartphone, contrôle de puissance...) validera la performance de notre approche en se comparant à des instruments de métrologie (sondes de champs et analyseur de spectre, mobile à trace (JDSU)). L'analyse de l'incertitude permettra de fixer le nombre d'antennes déportées en fonction d'une précision donnée sur le DAS. (durée estimée 6 mois entre M17 et M24)

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CEA - Leti\DSIS\STSC\LAP - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Serge Bories

Equipe 2 : France Telecom Orange - Issy les Moulineaux

Responsable de l'équipe : M. Joe Wiat

Résumé DiaPOPs

Responsable scientifique : M. Jérémie Botton

Organisme : Inserm - UMR-S 1018 - Villejuif

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

Polluants organiques persistants (POP) et risque de diabète de type 2, de dyslipidémie et d'obésité : de la toxicologie à l'épidémiologie

2. Questions à la recherche

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

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

3. Résumé

Objectif détaillé

-Epidémiologie: étude de la relation entre exposition à différents polluants organiques persistants (POP, incl. pesticides organochlorés et polychlorobiphényles PCBs) et incidence du diabète, de l'obésité et d'une dyslipidémie ; rôle de la perte de poids, entraînant un relargage des POP du tissu adipeux vers la circulation sanguine qui pourrait s'accompagner d'une diminution de risque sur les paramètres métaboliques inférieure à celle escomptée.

-Toxicologie: caractérisation de l'interaction moléculaire des POP les plus associés (épidémiologie) avec les hépatocytes primaires humains par une approche à la fois "génomique" et fonctionnelle avec étude des effets métaboliques et en particulier inflammatoires.

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

-Une revue de la littérature (expertise collective Inserm+publication #1) a conclu à un lien probable entre POP et diabète, mais sur des études transversales (pas d'éléments de causalité).

-C'est une question de Santé Publique car malgré l'interdiction ayant conduit à la forte diminution de l'émission de POP (convention de Stockholm), la population est imprégnée et exposée à des degrés divers du fait de leur forte persistance.

-La cohorte prospective française D.E.S.I.R., sur les déterminants du diabète avec un suivi de 9 ans (inclusions: 1994-96), permettra d'améliorer le niveau d'évidence et d'étudier la contribution d'une perte de poids dans ces associations: des études suggèrent un effet sur le regain de poids et/ou un risque accru de pathologies métaboliques. Les enzymes hépatiques (ALAT, ASAT, GGT) ont été dosées et seront analysées comme facteur intermédiaire potentiel.

-Le foie est un organe central du métabolisme glucidique et lipidique et un organe de stockage des POP (liaison à des CYP et lipoprotéines). Lors d'un relargage des POP, cet organe est une cible majeure d'un dysfonctionnement potentiel, et des études préliminaires ont montré une modification des enzymes hépatiques. L'étude des modifications épigénétiques (microARN, méthylation de l'ADN) et des voies de signalisation impliquées (AhR, CYP, inflammation) induites par les POP sur les hépatocytes est novatrice (peu de données disponibles) et peut conduire à la découverte de nouveaux marqueurs et l'élucidation de mécanismes fonctionnels.

-L'interface épidémiologie / toxicologie permettra d'effectuer une sélection de POP à tester pour l'étude toxicologique.

Argumentation du choix des questions

La prévalence du diabète de type 2 a fortement augmenté au cours des dernières années. L'hypothèse d'un rôle des contaminants environnementaux est probable. Parmi les POP figurent des pesticides pour lesquels les effets sur le métabolisme ne sont pas clairement établis. La plupart de ces POP a été décrite comme perturbateurs endocriniens. La liste des POP comprendra différentes classes: PCBs dioxin-like (PCB118) et non dioxin-like (PCB153), dioxines, insecticides organochlorés (DDT), fongicides (HCB), PBDE.

Description des méthodes mises en œuvre

0-6 mois. Les dosages des POP seront effectués sur les sérums à l'inclusion (conservés à -20°C), parmi les sujets précédemment sélectionnés pour une autre étude (effets du BPA sur les mêmes événements de santé), par un schéma cas-cohorte: 201 et 244 sujets ayant déclaré respectivement un diabète ou une obésité au cours du suivi et une cohorte de 600 sujets sélectionnés aléatoirement. Les paramètres lipidiques (e.g. triglycérides, cholestérol HDL) seront étudiés à partir de l'échantillon aléatoire.

6-24 mois. L'étude des associations sera réalisée à l'aide de modèles logistiques et linéaires multiples incluant les facteurs de confusion (e.g. âge, sexe, catégorie socioprofessionnelle). Les premières analyses permettront d'orienter la sélection des POP pour l'étude mécanistique.

12-36 mois. Après exposition des hépatocytes primaires humains à différents POP, le transcriptome (ARNm) et le méthylome (metADN) seront analysés par des puces Illumina, les microARN par séquençage nouvelle génération. L'association entre niveaux d'expression et niveaux de méthylation ou de microARN sera effectuée. L'identification des voies métaboliques perturbées entraînera une validation fonctionnelle sur modèles cellulaires par étude des flux modifiés (maîtrise des technologies par l'équipe 1 INSERM 1124) et étude d'expression et de signalisation par des approches classiques de biologie moléculaire (qRT-PCR, Western Blot) complétées par des techniques permettant de caractériser plus finement les régulations épigénétiques (ChIP histones, promoteur...).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - UMR-S 1018 - Villejuif

Responsable de l'équipe : M. Jérémie Botton

Equipe 2 : Institut Pasteur de Lille CNRS UMR 8199 - Lille

Responsable de l'équipe : Mme Odile Poulain-Godefroy

Equipe 3 : Institut Albert Boniot - Inserm - Site Santé U823 - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Rémy Slama

Equipe 4 : Université Paris Descartes Inserm UMR-S 747 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Xavier Coumoul

Résumé EPIRADIOMEM

Responsable scientifique : Mme Anne Pereira De Vasconcelos

Organisme : Inserm - LNCA UMR 7364 - Strasbourg

1. Titre

Projet complet

36 mois

Sensibilité du cerveau aux ondes électromagnétiques (4G) à différents âges chez le Rat: persistance d'un souvenir et mécanismes épigénétiques associés

2. Questions à la recherche

RFES 1.1 - Études in vitro, in vivo ou cliniques sur les mécanismes d'action des radiofréquences sur le vivant au niveau cellulaire (en particulier, génotoxicité, expression génétique, stress oxydant, effets sur les protéines, etc.).

RFES 2.1 - Études sur les réponses physiologiques aux radiofréquences (sur le sommeil, le métabolisme et le débit sanguin cérébral, les fonctions cognitives, etc.).

3. Résumé

Objectif détaillé

A ce jour, les études chez l'Homme et l'animal ont surtout concerné des expositions aux radiofréquences (RF) de téléphonie mobile type GSM (2G) ou UMTS (3G). Les effets de ces RF sur la cognition et la mémoire sont controversés. Nos propres données n'ont pas montré d'effet d'une exposition aiguë à un signal 2,45 GHz sur la mémoire spatiale et l'anxiété (4 articles dans Behav Brain Res, 2004-2005, parmi les co-auteurs : N. Kuster, JC Cassel, A Pereira de Vasconcelos). Notre projet étudiera l'impact d'une exposition à un signal LTE (Long Term Evolution, 4G) sur la formation et la persistance d'un souvenir spatial chez le Rat (Publi. 1). L'apprentissage et la mémoire sont des processus finement régulés et nécessitent une interaction génome-environnement dépendant de processus épigénétiques (Levenson & Sweatt, 2005, Nature Rev 6 :108). Ces processus régulent la transcription des gènes et la synthèse de protéines liées à la plasticité cérébrale. Parmi ces mécanismes, l'acétylation des histones joue un rôle prépondérant (Publi. 2 & 3). Les effets des RF sur ces mécanismes pourraient dépendre de l'âge, avec une sensibilité variable entre un sujet jeune et un sujet âgé présentant un déclin cognitif (Publi. 4). Nous étudierons les effets d'une exposition chronique à un signal LTE sur 4 tranches d'âge : l'adolescent, l'adulte jeune, l'adulte d'âge moyen et le sujet âgé. Le souvenir spatial sera évalué à 2 délais (récent vs ancien) et l'acétylation des histones étudiée en conditions 'basale' (sans apprentissage) et 'apprentissage' dans l'hippocampe (HIP) et le cortex préfrontal médian (mPFC), deux structures-clé de la formation et de la persistance des souvenirs (Publi. 1 à 3).

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

Ce projet représente :

- La 1ère étude des effets d'un signal LTE 4G; aucune donnée clinique ou expérimentale n'est disponible sur les effets de cette technologie sur la cognition et la mémoire.
- La 1ère étude des effets des RF sur la persistance d'un souvenir, et donc la consolidation au niveau des systèmes qui s'appuie sur la réorganisation de la trace mnésique au niveau des structures (Frankland et Bontempi, 2005, Nature Neurosci, 6 : 119).
- La 1ère étude des effets des RF sur des régulations épigénétiques (acétylation des histones) cérébrales impliquées dans la formation d'un souvenir à long terme et répondant à divers facteurs environnementaux.
- La 1ère étude longitudinale portant sur 4 périodes de vie pour évaluer s'il existe des périodes plus critiques pour d'éventuels effets des RF sur le cerveau.

Argumentation du choix des questions

La mémoire est une fonction cognitive complexe jouant un rôle majeur dans la vie d'un individu. Initialement labile, un souvenir se stabilise avec le temps, mais reste sensible à de nombreux facteurs environnementaux. De plus, les capacités mnésiques déclinent avec l'âge, même en l'absence de pathologies. L'impact de facteurs environnementaux comme les RF sur les processus mnésiques via la modification de processus épigénétiques n'est pas décrit. Notre projet vise à étudier l'effet d'une exposition chronique à un signal 4G à différents âges au niveau comportemental (mémoire spatiale récente et ancienne) et moléculaire (épigénétique).

Description des méthodes mises en œuvre

- Approche comportementale : étude de la mémoire spatiale récente (5 jours) et ancienne (25 jours) chez le rat dans la piscine de Morris (Publi. 1) avec 10-12 rats/groupe et 12 groupes [3 conditions 'exposition' (sham-RF-aucune) et 4 conditions 'âge' (adolescent, adulte jeune, adulte d'âge moyen, adulte âgé)]. Le LNCA a une solide expérience des modèles de rongeurs âgés.

- Etude des modifications épigénétiques (acétylation des histones, Publi. 2 & 3) dans l'HIP et le mPFC médian en conditions 'basale' et 'apprentissage', n = 7-9 rats/groupes, 3 conditions 'exposition' (sham-RF-aucune) et 4 conditions 'âge' (voir ci-dessus), soit 24 groupes.

- Adaptation/calibration d'un système d'exposition pour 24 rats et exposition chronique (3 mois, 2h/jour, 5 jours/semaine) à un signal 4G (LTE, 2.6 GHz, E = 61 V/m) entre l'âge de 1-4 mois, 4-7 mois, 12-15 mois et 18-21 mois.

- Eléments du calendrier : 1ère année : installation/calibration du système d'exposition et 1 groupe d'âge; 2e et 3e années: 3 groupes d'âges avec trois expériences/groupe (comportement-mémoire, épigénétique-basale, épigénétique-mémoire).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - LNCA UMR 7364 - Strasbourg

Responsable de l'équipe : Mme Anne Pereira De Vasconcelos

Equipe 2 : IT'IS Foundation for Research on Information Techn – Zurich- Suisse

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

Résumé ExpoVis

Responsable scientifique : Mme Corinne Le Gal La Salle

Organisme : Université de Nîmes - Laboratoire GIS - Nîmes

1. Titre

Projet complet

24 mois

Evaluation de l'exposition aux micropolluants présents dans la nappe de la Vistrenque après usage individuel de la population locale

2. Questions à la recherche

ACHIM 6.1 - Caractérisation de l'exposition et évaluation des risques chroniques chez l'homme associés à la contamination de l'eau par contaminants tels que résidus de médicaments, résidus de produits d'hygiène corporelle et de cosmétique, métaux, hydrocarbures, composés chlorés, polymères, épandage agricole) les, les biocides.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet ExpoVis a pour but d'évaluer l'exposition de la population à des micropolluants après utilisation d'une eau souterraine (la nappe phréatique de la Vistrenque) pour des usages privés (arrosage, loisir, jardin) ou collectifs. Ce projet s'intéressera plus particulièrement à évaluer l'exposition à trois types de substance présentant un impact sanitaire avéré ou supposé: les triazines (atrazine, simazine et leur produit de dégradation), le sulfomethoxazole (SMX) et la carbamazépine (CBZ) et dont les niveaux de concentration dans la nappe ont été mesurés et sont respectivement compris entre 5-300ng/L, 5-20ng/L et 10-50ng/L.

Les 3 objectifs majeurs de ce projet sont:

- L'étude de l'impact de la profondeur du captage (via une mesure de l'âge de l'eau) sur le niveau de contamination des eaux utilisées (par mesure d'eau prélevée sur des forages de profondeurs différentes)
- L'étude du transfert des micropolluants contenus dans la nappe vers le sol, les plantes comestibles et leur possible bioaccumulation (par mesure in situ et en microcosme)
- L'évaluation de l'exposition des usagers via l'eau souterraine et la comparaison avec d'autres voies d'exposition (utilisation de produits phytosanitaire par exemple).

Cette étude s'intéressera également à la perception du risque par les usagers.

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

Située dans le sud du département du Gard, la nappe de la Vistrenque représente une nappe alluviale de taille moyenne typique d'un environnement agricole avec urbanisation croissante. Elle a une grande importance économique, car elle sert, avec la nappe des Costières, à l'alimentation en eau potable de 40 communes (130000 habitants), à l'irrigation (agricole et privée) et à l'industrie. Cette nappe est suivie depuis 1997 pour sa teneur en pesticides par le Syndicat Mixte des Nappes Vistrenques et Costières dans le cadre de l'établissement du SAGE, et récemment l'étude du suivi des teneurs en polluants émergents a été initiée par l'équipe proposante. De nombreux points de captage (de 5 à 25 mètres de profondeur) sont actuellement en service (forages, puits, AEP, ...) mais aucune étude d'exposition des populations utilisant ces points n'a été menée.

L'originalité du projet réside dans l'intégration de données pluridisciplinaires permettant de suivre l'évolution spatio-temporelle de la qualité des eaux d'une nappe en relation avec les usages par les personnes, prenant en compte la profondeur d'exploitation de la nappe. De plus, de récentes études montrent que le transfert et la bioaccumulation de substances chimiques dans les racines et dans les plantes ne sont pas rares. Deux études récentes ont mis, notamment, en évidence la bioaccumulation du sulfaméthoxazole et de la carbamazépine dans des feuilles ou dans des racines. Cette étude permettra d'étudier et de quantifier ce transfert et de le corrélérer directement à l'exposition des usagers des forages.

Argumentation du choix des questions

Le projet répond principalement à la question ACHIM 6.1 car il doit permettre d'apporter des informations sur l'exposition et les risques chroniques chez l'homme associés à la contamination de l'eau par des contaminants tels résidus de médicaments, ou pesticides. Il associera également le comportement des populations et leur perception du risque.

Description des méthodes mises en œuvre

L'exposition des populations via l'utilisation de la nappe de la Vistrenque pour des usages privés (particulier) ou public (collectivité) sera étudiée par:

- Une enquête auprès des usagers pour identifier les usages et volumes d'eaux utilisés. L'enquête tentera également de définir quelles sont les autres sources d'exposition aux molécules sélectionnées. Cette enquête sera réalisée sur la base d'un questionnaire préalablement réalisé et de rencontres avec les intéressés (12 mois).

- L'évaluation de la contamination en composés cibles. Six captages seront considérés en fonction de leur utilisation (essentiellement privée pour l'arrosage de potager) et de leur localisation. Sur ces captages, la concentration en triazines, SMX et CBZ sera déterminée dans l'eau (nappe et forage), les sols et les végétaux cultivés (3 campagnes de mesure). Les analyses (environ 300 au total) seront réalisées par LC-MS et LC-MSMS par le LERES (laboratoire accrédité cofrac) (18 mois).

- L'effet de la profondeur du captage par rapport à la surface de la nappe sur la contamination de l'eau utilisée. L'étude de la contamination à différents profondeurs couplée à la détermination de l'âge de l'eau permettra d'évaluer les flux de polluants liés, les contaminations passées et présentes et de formuler des recommandations sur l'usage de la nappe afin de limiter les expositions futures (12 mois)

- L'évaluation du transfert eau-sol-plantes par l'utilisation de microcosmes en conditions de culture contrôlées. Ces dispositifs, développés par Nymphéa dans le cadre d'un FUI, permettent de quantifier le transfert des polluants de l'eau vers le sol et les plantes tout en maîtrisant l'ensemble des facteurs physico-chimiques pouvant impacter le développement des plantes. Trois plantes ont déjà été sélectionnées: le cresson, la tomate et l'oseille car elles nécessitent beaucoup d'eau pour leur culture et car elles sont communément cultivées dans les potagers des usagers (cf. étude documentaire, dans le cadre d'une thèse de doctorat) (20 mois). Différentes eaux seront utilisées: une eau témoin, de caractéristiques géochimiques similaires à celle de la nappe mais dépourvue de tout contaminant, l'eau de la nappe (nymphéa dispose d'un forage sur la nappe de la Vistrenque), et l'eau de la nappe dopée avec les molécules d'intérêt (seule ou en cocktail).

L'intégration et l'analyse comparative des différentes données permettront une évaluation de l'exposition de personnes via les différents vecteurs d'exposition (3 mois).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Laboratoire GIS, Université de Nîmes Parc Scientifique Georges Besse - Nîmes

Responsable de l'équipe : Mme Corinne Le Gal La Salle

Equipe 2 : EHESP - LERES - Nîmes

Responsable de l'équipe : Mme Axelle Cadiere

Equipe 3 : Nymphaea Distribution - Le Cailar

Responsable de l'équipe : M. Philippe Prohin

Résumé ExproPNano

Responsable scientifique : M. Alain Garrigou

Organisme : Université Bordeaux 1 - Département HSE - Gradignan

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

Evaluation des expositions professionnelles aux particules nanométriques (stratégie de mesurage couplée à de l'analyse d'activité)

2. Questions à la recherche

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

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Le projet vise à documenter les expositions professionnelles aux particules nanométriques manufacturées (PNM) et/ou non intentionnelles (PNNI). Il s'agit de traduire en pratiques de terrain les préconisations françaises de l'INRS, INERIS et CEA (2012) et d'en faire bénéficier les entreprises en incluant des recommandations de prévention. Une thèse de doctorat s'intègre au projet portant sur les objectifs ciblés. Un projet utilisant la même méthodologie sera mis en œuvre au Québec afin de compléter les données sur des situations professionnelles non couvertes par le projet français.

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

Des groupes de travail sont actifs actuellement sur la métrologie des PNM au niveau international afin de mieux répondre aux questions sur les effets sanitaires potentiels. Néanmoins ces travaux laissent ouvert la réflexion dans le champ de la stratégie de mesurage opérationnelle en entreprise et sur son application aux PNNI en milieu de travail. De plus, une originalité du projet est de proposer une approche transdisciplinaire du risque chimique : métrologie, santé publique et ergotoxicologie.

Argumentation du choix des questions

Le Laboratoire santé travail environnement (LSTE), dans le cadre de la construction de la matrice emplois-expositions aux particules nanométriques intitulée MatPUF (INCa) a repéré 58 procédés de travail susceptibles d'émettre des PNNI et PNM. Or, un peu moins de la moitié de ces situations n'est pas couverte par les publications de mesures de PN (plus de 200) que nous avons recueillies et qui en plus, utilisent des stratégies de mesure non harmonisées. Les méthodes utilisées pour caractériser les PN sont les mêmes qu'ils s'agissent des PNM ou des PNNI. Il est donc absolument essentiel de développer des méthodes robustes applicables en milieu de travail, adaptées à l'ensemble du monde des particules nanométriques, manufacturées ou non, permettant aux épidémiologistes et préventeurs de disposer d'outils d'évaluation des expositions et des risques potentiels en rapport avec ces nuisances.

Description des méthodes mises en œuvre

1. Traduction des préconisations françaises en pratiques de terrain

Une analyse critique des préconisations INRS-INERIS-CEA sera menée par les partenaires français et canadiens du projet conduisant à leur traduction en une stratégie de mesurage opérationnelle.

2. Mise en place de l'équipe d'intervention

En France, l'équipe (LSTE) sera composée du thésard et d'un hygiéniste formés par l'INRS et l'INERIS qui encadreront des étudiants en hygiène industrielle et ergonomie. Au Canada, l'équipe (DSEST) sera composée d'un étudiant de maîtrise et d'un agent de recherche encadrée par un chercheur en hygiène industrielle.

3. Choix des entreprises et pré-visites

Les entreprises impliquant des PNM et PNNI sont sélectionnées selon les résultats de MatPUF et la représentativité du tissu industriel ou opportunités locales. Une pré-visite incluant une analyse de l'activité permettra de définir les postes de travail à observer et d'adapter la stratégie de mesurage.

4. Campagne de mesurage et d'analyse de l'activité dans les entreprises

La démarche d'évaluation des expositions professionnelles aux PN s'appuiera sur des mesures en temps réel (concentration numérique), intégrées en vue d'une caractérisation physico-chimique (microscopie électronique, spectrométrie, méthode PIXE) et de celles de la distribution de la masse selon la taille. En complément, une analyse de l'activité réelle (approche ergotoxicologique) permettra d'identifier les déterminants de l'exposition. En France, la CARSAT Aquitaine assurera les mesures conventionnelles afin de disposer de données d'exposition à comparer aux valeurs réglementaires.

5. Analyse des résultats

6. Rendu aux entreprises incluant des préconisations de prévention

7. Synthèse et recommandation d'une stratégie de mesurage opérationnelle et de pratiques de prévention

Calendrier sur 36 mois :

Année 1 : Traduction des préconisations, mise en place des équipes et pré-visites des entreprises

Année 2 : Campagne de mesurage et d'analyse de l'activité en entreprise, analyse des résultats

Année 3 : Rendu aux entreprises, synthèse et recommandations

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Bordeaux 1 - Département HSE - Gradignan

Responsable de l'équipe : M. Alain Garrigou

Equipe 2 : INRS – Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Olivier Witschger

Equipe 3 : INERIS – Vernueil-en-Halatte

Responsable de l'équipe : M. Olivier Le Bihan

Equipe 4 : Université de Montréal - Département de santé environnementale et santé au travail- Montreal - Canada

Responsable de l'équipe : M. Maximilien Debia

Equipe 5 : CARSAT - Laboratoire de chimie - Bruges

Responsable de l'équipe : M. Pierre Lambert

Equipe 6 : InVS - St Maurice

Responsable de l'équipe : Mme Irina Canu

Equipe 7 : Laboratoires de la Ville de Paris – LEPI/Département de Paris - Paris

Responsable de l'équipe : M. Laurent Martinon

Résumé FOS EPSEAL

Responsable scientifique : Mme Barbara Allen

Organisme : Virginia Tech University - Department of Science and Technology in Society - Falls Church - USA

1. Titre Projet complet 27 mois

Etude Participative en Santé-Environnement Ancrée Localement (EPSEAL) sur le front industriel de la zone Fos-sur-Mer/ Etang de Berre (France)

2. Questions à la recherche

DECH 1 - Développement d'outils pour la surveillance sanitaire des populations riveraines d'installations industrielles ou de traitement de déchets (diagnostics précoces) : indicateurs d'exposition, animaux sentinelles en lien avec la surveillance vétérinaire.

SHS 1.1 - Elaboration de modèles d'analyse géographique des données sociales et de données sanitaires et/ou d'expositions, études statistiques.

SHS 3 - Savoirs profanes, savoirs experts et coproduction de connaissances sur les risques sanitaires.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'étude a pour objet de dresser un tableau sanitaire territorialisé, circonstancié et légitime d'une localité limitrophe du complexe industriel Fos-sur-Mer/Etang de Berre, en situation de coproduction de connaissances en santé environnementale, par la conduite d'une Etude Participative en Santé-Environnement Ancrée Localement (EPSEAL).

Le tableau pourra localiser des pathologies avérées, en inférer des risques avérés induits par l'environnement, et rendre visibles de potentiels indicateurs précoces de pathologies plus graves en santé environnementale.

Cette localité sera choisie au stade de la soumission finale du projet dans la région industrielle de Fos/Etang de Berre.

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

Aucun tableau sanitaire holistique de ces localités pourtant emblématiques de la surexposition au risque environnemental, puisque situées sur le front industriel du complexe Fos/Etang de Berre, n'a jamais été réalisé. Or, depuis la controverse environnementale locale des années 2000 autour de l'installation d'un incinérateur à Fos-sur-Mer, les habitants s'interrogent sur l'impact de leur environnement sur leur santé et réclament une étude sanitaire indépendante.

L'originalité de l'étude réside non seulement dans son objectif, mais encore dans la méthodologie qu'elle se propose de mettre en œuvre pour l'atteindre (EPSEAL).

Ce sera ainsi, à notre connaissance et pour un environnement industriel, la première application en France, et en Europe, de la méthode d'épidémiologie critique basée sur une large participation du public aux enquêtes et promue depuis une quinzaine d'années outre-atlantique sous le nom de Community-Based Participatory Health Research. Jusqu'ici, pour le contexte français et européen, seules des ethnographies d'« épidémiologies populaires » embryonnaires ou plutôt d'« enquêtes sanitaires profanes », ont été réalisées (Calvez M., 2009, 2010). Il n'existe pas d'équivalent à l'étude collaborative proposée.

Nous pensons que notre étude sera le maillon manquant qui comblera les lacunes engendrées par le mode de recueil et de diffusion institutionnel des données sanitaires dans les régions industrielles, et viendra répondre aux attentes des habitants en termes de connaissances en santé environnementale.

L'originalité de la démarche, la pertinence de son ancrage et son caractère novateur laissent entrevoir sa capacité à orienter de futures recherches en santé-environnement ainsi que de futures politiques publiques d'évaluation/gestion des risques sanitaires dans les régions industrielles.

Argumentation du choix des questions

SHS 3: Cette forme d'alliance chercheurs-citoyens aboutira à la coproduction de nouvelles connaissances territorialisées sur la santé dans la localité étudiée —utilisables par la population elle-même, les chercheurs et les régulateurs, à qui elle fournira un nouveau mode d'évaluation des risques sanitaires reproductible à l'échelle de régions industrielles circonscrites.

SHS 1.1 & DECH 1: La distribution des pathologies avérées dans le territoire de la localité, à différentes échelles et en fonction de la durée de résidence, ainsi que leur comparaison avec des données obtenues dans la littérature en population générale hors régions industrielles, permettront le cas échéant de lier environnement anthropique et inégalités en termes d'exposition, à des états de santé spécifiques et à des perceptions locales du risque et de l'environnement (Cohen A., Morello-Frosch R. et al., 2011).

Description des méthodes mises en œuvre

Nous emploierons une méthode de recherche hybride appelée ici EPSEAL, qui est une interprétation actualisée de l'«épidémiologie populaire», conceptualisée par Phil Brown et son équipe de recherche sur les pathologies contestées ou inexpliquées, et comprise comme une forme d'alliance chercheurs-citoyens afin de faire émerger des savoirs nouveaux (Brown, 2003).

Cette approche induit la combinaison de méthodes de recherche qualitatives et quantitatives issues de différents champs disciplinaires (santé publique, sociologie, anthropologie) et la participation du 'public' à tous les stades de la recherche.

La conception de l'outil d'enquête (quantitatif et qualitatif) se fera en interaction étroite avec les habitants de la localité retenue, les associations et praticiens médicaux locaux : cet outil de surveillance de la santé pourra être ensuite employé à nouveau pour la même localité, ou pour une autre, pourvu qu'il satisfasse le critère fondamental de la participation. Les données collectées au moyen de cet outil d'enquête feront l'objet d'un traitement statistique reposant sur l'application systématique de l'outil d'enquête à un échantillon randomisé des habitants de la localité, puis à un échantillon raisonné ou volontaire, étudiés séparément.

Une telle enquête collaborative, alliant savoirs profanes et experts, enquêteurs profanes et professionnels, fera de notre étude pilote en Europe une enquête scientifique alternative dotée d'une forte crédibilité.

Le projet se déploiera sur 27 mois. 6 mois: formation des enquêteurs à l'outil d'enquête et son développement en concertation avec les habitants de la localité; 8 mois: enquête et collecte des données; 6 mois: analyse des données quantitatives et qualitatives, collecte de données complémentaires; 7 mois: publications et dissémination.

Brown Ph., 2003, "Qualitative Methods in Environmental Health Research", Ethics and Environmental Health (111, 14): 789-798.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Virginia Tech University - Department of Science and Technology in Society - Falls Church - USA

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Allen

Equipe 2 : EHES - Marseille

Responsable de l'équipe : Mme Valeria Siniscalchi

Résumé Imitomics

Responsable scientifique : M. Eric Leclerc

Organisme : Université de Technologie de Compiègne - CNRS UMR 6600 - Compiègne

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

Intégration de profils de toxicités de pesticides issus d'une culture hépatique microfluidique pour la construction de modèles de biologie systémique et la toxicologie prédictive

2. Questions à la recherche

ACHIM 5 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition chronique.

3. Résumé

Objectif détaillé

The objective of the Imitomics project is to control and identify the impact of pesticides on Human. Our project should lead to the development of a rapid, low cost reliable screening device for evaluating the toxic and environmental risks of those substances. The overall objective of Imitomics is to produce a method that combines in vitro bioartificial organs, metabolome detection by mass spectrometry and mechanistic pathway reconstruction to predict and model the toxicity of pesticides encountered by Human Beings. In fine, the Imitomics approach aims to be used for industrial scale screening to detect as early as possible the potentially toxic effects of a pesticide substance on target cells and entire organisms. For that purpose, we will use bioartificial organs cultivated in parallelized microfluidic biochips that will be exposed to various pesticides such as permethrine, vinchlozoline, DDT or atrazine in vitro. Intracellular information will be characterized by analysis of modulated mRNA levels using transcriptomic microarrays and protein identifications via 2D DIGE followed by mass spectrometry identifications. In addition, the cell and fluid samples will be characterized by mass spectrometers to perform complete metabolomics profiles. The toxic signatures emerging from these Multi-omic analyses will then be used to identify specific biomarkers. Then, these profiles and the biomarkers will be used to model the mechanisms that make these substances toxic. Lastly, the data will be use to build in silico tools for future predictive applications. It will lead to identify the cellular metabolic pathways and the mechanistic signaling resulting to the toxicity. The development and the sharing of the methods proposed in the Imitomics project will help to improve our knowledge of the toxicology of chemical substances. It will help also to develop a strategy for testing the toxicity of these substances by in vitro methods. In terms of the planned objectives and results, the Imitomics project should provide methodological tools integrated in a single testing strategy combining the kinetics and dynamics of chemicals so as to develop a database of biomarkers and mathematical in silico models for assessing the toxicity of molecules.

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

The Imitomics overall objective is to develop a method that combines in vitro bioartificial organs and detection by MS of the metabolome in order to predict and model the toxicity of xenobiotics encountered by Humans. In this sense, the project is a development of an alternative method to experimental animals. The scientific innovations of the Imitomics project are:

- Generation of transcriptomic, proteomic and metabolomic profiles to identify the appearance of genes, proteins, metabolites as biomarkers in the medium or in cells after exposure to a substance. The identified biomarkers may then be used for risk evaluation.
- Reconstruction of mechanistic networks enabling us to characterise the metabolic pathways of pesticides to predict their interactions.
- Mathematical modelling for pesticides toxicity data, prediction and biomarkers.

Argumentation du choix des questions

The Imitomics project falls within the “« Modèles in vitro et in vivo chez l’animal et développement d’indicateurs globaux « d’effets cocktail » pour l’évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l’évaluation d’une exposition chronique » of the call for proposal of the ANSES program.

Description des méthodes mises en œuvre

The project has been composed of four tasks, one administrative and three scientific tasks.

Task 1 project organisation and management (UTC).

Task 2 Exposure of bio-artificial organs in microfluidic biochips (UTC).

We will then carry out biochemical analyses and metabolic characterisation either on the cells or on the medium so as to produce signature databases. For that purpose we can use first the biochips available in the laboratory of UTC. Then, the biochips developed in task 2 will be the reference.

Task 3 Multi-omic approach, biomarkers identifications via analysis of mRNA, protein and metabolites and intracellular metabolomic (subcontract to Cochin institute, to Profilomic and/or to Metabolys, and/or Paris Sud university)

This will provide a rapid, continuous “medium throughput” analytical method. Extracted cells and substances will be added to the signature database developed in task 3.

Task 4 Metabolic networks reconstruction and mathematical model (UTC/Chair).

The data generated in tasks 2 and 3 will be used to describe the metabolism of substances and the potential metabolic interactions of the substances studied. This will also provide a qualitative and predictive link between the doses of the products tested in vitro and our measurements of biomarkers. The data of task 3 will be used to identify the mechanism of action of the pesticides and to build associated in silico models.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Technologie de Compiègne - CNRS UMR 6600 - Compiègne

Responsable de l’équipe : M. Eric Leclerc

Equipe 2 : Université de Technologie de Compiègne - Chaire de toxicologie prédictive - Compiègne

Responsable de l’équipe : M. Frederic Bois

Résumé INQUASAN

Responsable scientifique : M. Alain Geffard

Organisme : Université Reims Champagne Ardenne - UMR-I 02 INERIS-URCA-ULH SEBIO - Unité Stress Environnementaux et BIOSurveillance des milieux aquatiques - Reims

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Utilisation d'invertébrés aquatiques pour évaluer la qualité sanitaire des masses d'eau

2. Questions à la recherche

ABIO 1 - Caractérisation du danger (techniques de détection notamment approches quantitatives, outils moléculaires, indicateurs) liés à la présence d'agents biologiques pathogènes pour l'homme.

ABIO 3 - Connaissances du comportement des agents pathogènes notamment dans les milieux aquatiques et effets potentiels sur la santé humaine.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'évaluation de la qualité biologique des eaux repose sur des indicateurs bactériologiques (*E. coli*) qui ne reflètent pas, ou peu, la contamination parasitaire. Concernant les parasites, ces suivis se font actuellement sur l'eau, ce qui impose de nombreuses contraintes, comme le recourt à la filtration de grands volumes. La quantification de parasites dans la colonne d'eau est fortement variable dans le temps ce qui limite la robustesse et la reproductibilité de ces méthodes.

Dans ce contexte, un intérêt tout particulier sera porté sur les invertébrés d'eau douce couramment utilisés en écotoxicologie. Ces invertébrés (bivalves et crustacés) sont reconnus pour bioaccumuler les contaminants des milieux aquatiques ce qui facilite leur diagnostic. Ce caractère intégratif, ainsi que la facilité d'utilisation de ces organismes, représentent des critères forts pour l'implication de ces derniers dans la surveillance sanitaire des masses d'eau.

Parmi les parasites, *Cryptosporidium parvum* et *Toxoplasma gondii* sont clairement identifiés comme des priorités de santé publique, pouvant être transmis à l'homme via l'eau potable et les eaux de baignade. Quelques études ont déjà souligné la capacité d'accumulation de ces pathogènes par différentes espèces d'invertébrés incluant majoritairement des mollusques bivalves marins.

Lors de premiers travaux nous avons observé en conditions contrôlées chez la moule zébrée, *Dreissena polymorpha*, une charge en pathogènes (*Toxoplasma* et *Cryptosporidium*) proportionnelle à celle du milieu de vie. L'objectif de ce projet est i) de vérifier la présence de charges parasitaires chez des organismes in situ et ii) de définir si la charge en ces pathogènes chez des invertébrés est fonction de leur site géographique et donc représentative du milieu.

Afin de couvrir un nombre de sites plus important, le projet s'intéressera à deux espèces d'invertébrés, la moule zébrée *Dreissena polymorpha* et le gammare *Gammarus fossarum*.

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

La principale originalité du projet réside sur l'utilisation de la capacité d'accumulation de pathogènes par des invertébrés pour évaluer la qualité des milieux aquatiques. Le caractère novateur concerne i) la prise en compte d'espèces continentales pour lesquelles peu d'informations sont actuellement disponibles, ii) la possibilité à plus long terme, grâce aux deux espèces choisies, de mettre en place d'un outil commun à l'évaluation écotoxicologique et sanitaire des masses d'eau.

Argumentation du choix des questions

Le projet concerne la question "Agents biologiques". La capacité d'accumulation des invertébrés peut représenter un outil efficace pour i) améliorer la connaissance sur le comportement de ces agents

pathogènes dans les milieux aquatiques ainsi que ii) préciser, parmi les masses d'eau offrant différents services (potabilisation, récréatives) celles pouvant présenter un risque. Les principaux résultats et apports attendus concernent le caractère intégrateur des mesures réalisées au niveau des matrices biologiques par rapport au compartiment eau.

Description des méthodes mises en œuvre

La quantification des pathogènes dans une matrice complexe, incluant un invertébré (moule zébrée) a été développée dans le cadre de différents projets ANR-09-ALIA-009-01 (pilote par le partenaire 2) et EC2CO IPAD (2011-2013) piloté par le partenaire 1. La quantification des oocystes sera effectuée par PCR en temps réel (TaqMan) suite à une digestion (trypsine) des tissus (Palos-ladeiro et al., 2014). Nous rechercherons sur deux saisons (printemps, automne) des pathogènes (Toxoplasma et Cryptosporidium) chez des organismes exposés en conditions naturelles en lien avec les sources de rejets possibles.

Le calendrier proposé est le suivant :

- 0-6 mois : prospection de 10 sites en amont et aval de stations d'épuration sur différents hydrosystèmes (Seine, Vesle...) et sur notre site de référence (canal de Commercy), dans le but de déterminer si des populations autochtones de dreissènes et de gammare sont présentes et accessibles. Le choix du canal de Commercy en tant que site de référence est motivé par les résultats négatifs obtenus lors d'une quantification de Toxoplasma et Cryptosporidium par PCR en temps réel dans les chairs de dreissènes provenant de ce site.

- 6-16 mois : prélèvements des invertébrés sur les différents sites (technicien demandé). En cas d'absence (gammare) ou d'inaccessibilité (dreissènes trop profondes) des populations autochtones, des organismes références seront exposés sur ces sites à l'aide de la méthode de transplantation (caging). Cette méthodologie est maîtrisée par le partenaire 1 (dreissène) et 3 (gammare)

- 12-18 mois : quantification des parasites dans les tissus des invertébrés prélevés (technicien).

- 18-24 mois : valorisation des résultats sous forme de publications et congrès.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Reims Champagne Ardenne - UMR-I 02 INERIS-URCA-ULH SEBIO - Unité Stress Environnementaux et BIOsurveillance des milieux aquatiques - Reims

Responsable de l'équipe : M. Alain Geffard

Equipe 2 : CHU et Université de Reims Champagne Ardenne - Laboratoire Protozooses transmises par l'alimentation - Reims

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Villena

Equipe 3 : IRSTEA - Laboratoire d'écotoxicologie - UR BELY, TR Belca - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : M. Olivier Geffard

Résumé MARS

Responsable scientifique : Mme Véronique Monnet

Organisme : INRA UMR MICALIS INRA - Jouy en Josas

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Dissémination des gènes d'antibiorésistance par la chaîne alimentaire: quel rôle de la bactérie technologique *Streptococcus thermophilus* via la compétence naturelle ?

2. Questions à la recherche

ABIO 4 - Dissémination de l'antibiorésistance : mécanismes d'induction de l'antibiorésistance et facteurs de sa transmission dans l'environnement. Transmission de l'animal à l'homme.

3. Résumé

Objectif détaillé

Le risque de transmission de l'antibiorésistance à l'Homme à partir d'un réservoir environnemental toujours plus enrichi, est un enjeu de santé publique majeur. Il est essentiel d'identifier des stratégies permettant d'interrompre ou de limiter ces flux de gènes, en particulier via la chaîne alimentaire. Le projet explorera le rôle de la bactérie lactique *Streptococcus thermophilus*, massivement utilisée en industrie laitière, dans la dissémination des gènes d'antibiorésistance provenant des bactéries contaminantes du lait.

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

En parallèle des bactéries pathogènes, les bactéries commensales et technologiques, parce qu'elles sont dominantes en nombre et en diversité, jouent aussi un rôle majeur dans la dissémination de ces gènes. Ce rôle a été peu exploré pour les bactéries technologiques (Wang et al., 2012) mais récemment identifié comme possible par la commission du Codex Alimentarius (www.codexalimentarius.net/download/standards/11776/CXG_077e.pdf, 2012). Ce projet résulte de la démonstration récente par le partenaire 1 que *Streptococcus thermophilus*, bactérie lactique (BL) massivement utilisée en industrie laitière, puis massivement ingérée lors de la consommation de yaourts et fromages, est naturellement compétente via un système de régulation impliquant un peptide et un régulateur. Cette compétence naturelle est étonnamment observée dans le lait, au moins avec certaines souches, et avec la plupart d'entre elles en présence du peptide de compétence. En conséquence, le transfert de gènes porté par des plasmides ou des fragments d'ADN peut se réaliser pendant la fermentation dans ce milieu, en l'absence d'autres bactéries, mais en présence de leur ADN (Gardan et al., 2009 ; Fontaine et al., 2010). Cette observation suggère un rôle possible de vecteur de gènes pour les BL, rôle peu documenté mais déjà envisagé (Delorme et al., 2008). Cette hypothèse est renforcée par l'identification de BL antibiorésistantes (dont *S. thermophilus*) dans des produits laitiers commercialisés, alors même que les industriels fournissent des BL sensibles aux antibiotiques comme levains (Wang et al., 2012). De plus, il a été très récemment montré que la transformation bactérienne était également efficace avec de l'ADN fragmenté ou endommagé (Overballe-Petersen et al., 2013), et donc après traitement du lait et mort bactérienne. La stabilité de l'ADN dans le lait est peu documentée, mais dans un domaine parallèle en sécurité alimentaire, une étude rapporte que des fragments d'ADN d'OGMs sont détectés à l'identique avant et après pasteurisation du lait (Agodi et al., 2006).

Argumentation du choix des questions

Il s'agit d'explorer l'hypothèse d'une dissémination de gènes d'antibiorésistance de l'animal à l'Homme via la transformation naturelle d'une bactérie technologique à partir de l'ADN résiduel du lait. Cette hypothèse est posée à la lumière de résultats de recherche très récents, et vise à émettre, à terme, des recommandations limitant cette voie de dissémination.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous répondrons aux 5 questions suivantes :

1- Quels sont les gènes d'antibiorésistance présents et sous quelle forme (plasmides) ?

Nous développerons une méthode spécifique d'extraction d'ADN, ainsi qu'une méthode de qPCR haut débit adaptée, plus flexible et sensible que les puces commerciales, et permettant la détection et la quantification des gènes d'antibiorésistances pertinents (Part. 1, 2, 3).

2- Quelle est l'étendue et la diversité du transfert de gènes d'antibiorésistance par compétence naturelle chez *S. thermophilus* dans le lait ? Peut-on prédire le comportement des souches dans le lait ? (Part. 1)

3- Quelles sont les propriétés du lait qui impactent la transformation naturelle ? : contenu en peptides (ce paramètre influence la transformation naturelle), traitement du lait (thermique, filtration), présence de bactéries contaminantes (mammites), nature de l'ADN (fragments ou plasmides) (Part. 1)

4- Quelle est la stabilité des gènes d'antibiorésistance transférés à *S. thermophilus* ? (Part. 1 et 2)
Certains gènes de résistance persistent-ils mieux que d'autres au cours du temps ou dans la souche réceptrice ?

5- Quelles recommandations peuvent être émises sur la sélection des souches de *S. thermophilus* et le traitement des laits pour limiter la transmission des gènes d'antibiorésistance ? (Part. 1, 2, 3)

Calendrier

Q 1 : Mois 1-6

Q 2 : Mois 7-12

Q 3 : Mois 13-18

Q 4 : Mois 19-24

Q 5 : Mois 19-24

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inra - UMR MICALIS INRA - Jouy en Josas

Responsable de l'équipe : Mme Véronique Monnet

Equipe 2 : Anses Lyon - Antibiorésistance et Virulences bactériennes - Lyon

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

Equipe 3 : Inra - UMR1313 Génétique animale et Biologie intégrative - Equipe LGS-ICE - Jouy-en-Josas

Responsable de l'équipe : M. Patrice Martin

Résumé METACHILD

Responsable scientifique : Mme Geneviève Van Maele-Fabry

Organisme : Université Catholique de Louvain - SSS/IREC/LTAP – Woluwé - Belgique

1. Titre	Projet complet	24 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Exposition domestique aux pesticides et risques de cancers chez l'enfant:

2. Questions à la recherche

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

CANC 9 - Recherche sur les facteurs de risques environnementaux des cancers de l'enfant.

3. Résumé

Objectif détaillé

Les résultats de l'expertise collective INSERM « Pesticides et santé » à laquelle nous avons participé activement ont été restitués récemment. Malheureusement, la problématique des cancers chez l'enfant en relation éventuelle avec une exposition aux pesticides n'a pu être abordée de façon approfondie dans ce travail (5 pages sur les 1001 du texte). Ces données sont cependant capitales pour guider les politiques de santé publique.

L'objectif de notre projet est de pallier ce manquement en nous focalisant sur les expositions domestiques aux pesticides. Les leucémies chez l'enfant liées à l'utilisation domestique de pesticides ont déjà fait l'objet de plusieurs travaux de synthèse, mais il n'en va pas de même pour les autres cancers (tumeurs cérébrales, lymphomes,...). De nouvelles données, menant souvent à des conclusions contradictoires, s'accumulent et il est nécessaire de clarifier la question.

Nous réaliserons une revue systématique (RS) des études épidémiologiques disponibles, complétée, si possible, par des méta-analyses (MA). Plusieurs facteurs potentiellement à l'origine des divergences seront analysés : le type d'étude (cas-témoins, cohorte), la maladie (sous-types d'une même pathologie), la classe ou le type spécifique de pesticide, la fenêtre d'exposition (pré-conception, pré-, post-natale), la population exposée (père, mère, enfant), la localisation géographique.

Une analyse rigoureuse de ces données devrait permettre aux instances concernées de disposer de données scientifiques objectives et fiables sur lesquelles elles pourront s'appuyer afin de communiquer et prendre le cas échéant les mesures préventives qui s'imposeraient.

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

Aucune MA n'a encore été réalisée sur la relation entre l'exposition domestique aux pesticides et les cancers de l'enfant autres que les leucémies (cancer du cerveau, lymphomes,...), ce qui rend le projet tout à fait original et novateur. Les RS et MA sont les études épidémiologiques apportant le plus haut niveau de preuve scientifique qui peut être fourni par la littérature, ce qui représente la meilleure approche pour la caractérisation d'un lien causal.

Ce projet s'inscrit parfaitement dans la prolongation des travaux réalisés dans le cadre de l'expertise collective INSERM « pesticides et santé ». Il répond aux recommandations du groupe d'experts de l'INSERM de prendre en considération l'exposition pendant les périodes de vulnérabilité et de favoriser des études spécifiques sur les cancers de l'enfant.

Argumentation du choix des questions

Questions. « Cancers », point 9 : recherches sur les facteurs de risque environnementaux des cancers de

l'enfant ; « Exposition aux pesticides » point 2 : améliorer la connaissance des impacts sur l'environnement et la santé.

Argumentation.

L'implication des pesticides dans le développement des cancers les plus fréquents chez l'enfant reste un sujet controversé. Seule une approche systématique et rigoureuse de la littérature pourra apporter des éclaircissements à cette problématique. Notre expérience en termes de MA et de RS et nos compétences respectives dans le domaine de l'évaluation de risques liés à l'utilisation des pesticides permettront de mener à bien cette étude.

Ces questions correspondent toutes deux à des priorités de l'appel à projet.

Pertinence des résultats/de la méthode.

La méthodologie proposée et ses résultats offrent les avantages suivants : ciblage sur la santé humaine en population générale (expositions domestique), recherche d'un groupe de population potentiellement plus sensible (in utero, enfants), intégration des nombreuses données épidémiologiques mondiales récentes présentant une meilleure caractérisation de l'exposition, analyse détaillée de facteurs à la base des divergences de résultats, recherche de la fenêtre d'exposition critique, quantification du risque (MA) pour chaque aspect et chaque pathologie.

Description des méthodes mises en œuvre

RS et MA

1. Identification et collecte des études : initiée dans le cadre des expertises collectives inserm – 1 mois
2. Sélection des études selon des critères d'inclusion ou d'exclusion préétablis – 2 mois
3. Extraction des données : réalisation d'un résumé structuré pour chaque étude et extraction des estimateurs de risques les plus appropriés – 10 mois
4. Analyse des données : – 8 mois
 - a. regroupement des données (modèle fixe et modèle aléatoire) ;
 - b. analyse de l'homogénéité et du pourcentage de variations entre les résultats des études;
 - c. recherche d'un biais de publication (« funnel plot » + régression linéaire [Egger et coll., 1997])
5. Discussion de la causalité de l'association (critères de Hill, 1965) – 1 mois
6. Rédaction de publications – 2 mois

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Catholique de Louvain - SSS/IREC/LTAP – Woluwé - Belgique

Responsable de l'équipe : Mme Geneviève Van Maele-Fabry

Equipe 2 : Inra - TOXALIM - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Laurence Payraastre

Résumé MIXEXPO-HAP

Responsable scientifique : Mme Anne Maitre

Organisme : Université Joseph Fourier - EPSP-TIMC - La Tronche

1. Titre	Projet complet	24 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Evaluation de l'exposition aux cocktails d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques cancérigènes : biomarqueurs d'exposition multiple, d'effet précoce et de susceptibilité individuelle

2. Questions à la recherche

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces de transformation et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 8 - Recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

Développer et valider en population humaine, le screening urinaire de métabolites des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) gazeux et particulaires (naphtalène, fluorène, phénanthrène, benzo(a)anthracène, pyrène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(j)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(e)pyrène et dibenzo(a,h)anthracène).

1/ Évaluer l'exposition de travailleurs à des mélanges d'HAP gazeux et particulaires, par le suivi urinaire des métabolites hydroxylés des différents HAP.

2/ Réaliser une approche phénotypique de la susceptibilité individuelle, par le dosage simultané des métabolites du BaP issus de sa voie de détoxification et de ses voies d'activation métabolique.

3/ Étudier la relation entre l'exposition et les effets évalués par la mesure du stress oxydant via le dosage la 8-oxodésoxyguanosine urinaire (8-oxodGuo).

Ce projet sera conduit en milieu professionnel dans des secteurs où l'exposition est importante et pourra être étendu par la suite à d'autres secteurs, si la sensibilité du dosage le permet. Il a pour but d'apporter des connaissances sur les relations entre les expositions professionnelles aux cocktails d'HAP et la susceptibilité individuelle dans le processus de cancérogénèse, afin de proposer des valeurs limites d'exposition professionnelle.

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

L'originalité de ce travail est d'abord de développer une approche multi-exposition pour l'étude de l'imprégnation aux HAP. En effet, le suivi biologique de leur exposition passe par le dosage d'un seul métabolite urinaire du pyrène (1-OHP) ou du BaP (3-OHBP), alors qu'ils sont toujours sous forme de mélanges complexes. Le dosage simultané des métabolites urinaires des différents HAP est donc plus pertinent.

Dans le deuxième volet du projet, nous étudierons la susceptibilité individuelle aux cancers issus d'une exposition aux HAP, sans avoir recours à des données génétiques. Cette approche phénotypique est basée sur une analyse des métabolites urinaires du BaP utilisés comme des signatures de sa détoxification et de son activation métabolique. Le dosage du 3-OHBP représente la fraction non toxique de BaP ayant été éliminée de l'organisme, tandis que celui des quinones et des dérivés tétrahydroxylés représente les voies d'activation.

La troisième partie du projet, étudiera un indicateur d'effet ne nécessitant qu'un prélèvement d'urine. Ce choix permet de garantir des résultats dans des délais compatibles avec l'appel à projet de recherche.

Argumentation du choix des questions

Le projet répond aux questions à la recherche dans la thématique « cancers ».

La question 5 indique que les indicateurs développés doivent être applicables chez l'homme. Les analyses génétiques nécessaires à l'étude de la susceptibilité individuelle au cancer issu d'une exposition professionnelle sont source de problèmes, notamment en termes de sélection à l'embauche. L'approche phénotypique proposée dans ce travail est plus adaptée. De plus, aucun lien formel n'a été établi entre les polymorphismes enzymatiques et la susceptibilité au cancer issu d'une exposition aux HAP, du fait des nombreuses enzymes impliquées. L'étude des ratios de concentrations urinaires des métabolites signatures est donc très intéressante pour mettre à jour d'éventuelles différences interindividuelles. Le projet traite aussi des biomarqueurs de transformation précoce présentés dans la question 5. Cette partie présente un intérêt évident pour les évaluations de risque.

Le projet répond également à la question 8, relative à la recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des familles de polluants cancérigènes. L'analyse simultanée de plusieurs métabolites des HAP est l'approche la plus pertinente pour évaluer l'exposition aux cocktails.

Description des méthodes mises en œuvre

1ère année: Développement du dosage urinaire de plusieurs métabolites des HAP gazeux et particulaires à partir d'une chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (GC-MS/MS). Si le risque scientifique de cette proposition est limité, le dosage des métabolites urinaires issus des différentes voies d'activation du BaP est totalement innovant en population humaine.

2ème année: Dosage des métabolites sur différentes mictions (début et fin de poste) collectées chez une cinquantaine de sujets. De nombreux échantillons urinaires sont déjà en possession du laboratoire et proviennent de secteurs industriels variés ce qui est une assurance supplémentaire de l'aboutissement du projet. Pour l'ensemble de ces situations professionnelles nous avons analysé les niveaux atmosphériques d'HAP. Si de nouveaux échantillons sont nécessaires, ils pourront être collectés sans difficulté.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Joseph Fourier - EPSP-TIMC - La Tronche

Responsable de l'équipe : Mme Anne Maitre

Résumé NANATMOPATH

Responsable scientifique : M. Jean-Marc Lo-Guidice

Organisme : Inserm - Pôle Recherche EA 4483 - Lille

1. Titre

Projet complet

36 mois

Polluants atmosphériques nanoparticulaires : Identification, caractérisation physico-chimique et recherche de biomarqueurs de pathogénicité pulmonaire

2. Questions à la recherche

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

ACHIM 5 - Modèles in vitro et in vivo chez l'animal et développement d'indicateurs globaux « d'effets cocktail » pour l'évaluation de la toxicité des mélanges de micropolluants en vue de l'évaluation d'une exposition chronique.

CANC 8 - Recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérogènes (avérés ou suspects).

3. Résumé

Objectif détaillé

La pollution atmosphérique est un mélange hétérogène et complexe de gaz et de particules (grossières, fines et ultrafines) exerçant chacun leur toxicité par des mécanismes moléculaires distincts impliquant des voies de signalisation régulées à différents niveaux de l'organisation cellulaire. Pour ces raisons, l'impact sanitaire réel de niveaux faibles à modérés de pollution atmosphérique ainsi que la contribution respective de chaque polluant restent difficiles à évaluer par des approches épidémiologiques. Ces études se heurtent de plus à la difficulté de mesurer l'exposition précise à l'échelon individuel sur le long terme, et de prendre en compte les contributions relatives des atmosphères intérieures et extérieures.

Dans le cadre de ce projet, nous proposons d'évaluer la pathogénicité pulmonaire des fractions nanoparticulaires (NP) de polluants atmosphériques collectés en zone urbano-industrielle. Nous aurons pour objectifs (1) de développer des méthodes de prélèvement, d'identification et de caractérisation physico-chimique des NP atmosphériques, (2) d'analyser leur bioaccessibilité dans les fluides bronchiques, (3) d'évaluer in vivo, sur des modèles murins, leur toxicité et leur génotoxicité selon des scénarii d'expositions aiguës ou subchroniques à des doses réalistes, (4) de comparer ces effets à ceux de particules fines (PM2.5) prélevées sur le même site.

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

L'originalité de ce projet réside dans le fait (1) d'allier une identification et une caractérisation physico-chimique et surfacique approfondie des NP et des PM2.5, (2) de rechercher leurs éventuelles modifications de propriétés dans les fluides bronchiques, (3) d'identifier, à partir de modèles murins transgéniques, de nouveaux biomarqueurs génétiques et épigénétiques associés à leur toxicité pulmonaire. Pour cela, nous mesurerons plus particulièrement l'expression pulmonaire des ARNm et des microARN à l'aide de techniques innovantes pangénomiques. L'étude de l'expression des microARN semble pertinente et représente un élément fort du projet puisque cette classe d'ARN non codant très conservée entre les espèces joue un rôle majeur non seulement dans la régulation de l'apoptose, la croissance et la différenciation cellulaire mais également dans le développement de nombreux processus pathologiques, dont le cancer. De plus, les microARN présentant une bonne stabilité dans les fluides biologiques, leur détection au niveau systémique pourrait être le reflet d'atteintes pulmonaires. Les biomarqueurs ainsi identifiés pourraient être ensuite évalués chez l'homme afin d'étudier leurs potentielles corrélations aux

maladies respiratoires environnementales que sont les bronchopneumopathies chroniques et le cancer du poumon.

Argumentation du choix des questions

Les polluants atmosphériques particuliers, en particulier les fractions fines, constituent un mélange complexe de métaux et composés organiques toxiques, et sont considérés par le CIRC comme des cancérogènes avérés. Cette proposition répond aux questions préoccupantes posées sur le devenir, le comportement et l'impact sanitaire des fractions nanoparticulaires relarguées dans l'environnement. Notre approche permettra, grâce à la caractérisation de ces mélanges complexes dans l'environnement et les fluides bronchiques, ainsi qu'à l'utilisation de modèles expérimentaux originaux, de mieux comprendre leur absorption, leur toxicité pulmonaire et leur potentiel cancérogène. Nos résultats devraient contribuer à proposer de nouveaux marqueurs biologiques systémiques applicables, après validation, à la surveillance des populations humaines exposées.

Description des méthodes mises en œuvre

Les NP et PM_{2,5} atmosphériques seront récoltées en zone urbano-industrielle à l'aide d'impacteurs en cascade, puis caractérisées du point de vue physico-chimique et surfacique par XPS, spectrométrie IR à transformée de Fourier, analyses BET et zetasizer. Les fractions bioaccessibles et insolubles dans des fluides bronchiques seront mesurées par ICP/MS HR. L'exposition des souris sera réalisée par injection endotrachéale de suspensions particulières. Plusieurs doses réalistes, et deux modes d'exposition (aiguë et sub-chronique) seront testés. L'absorption cellulaire des particules sera analysée par MET. L'identification de biomarqueurs se fera en partie à l'aide de techniques pangénomiques qui cibleront l'expression pulmonaire des ARNm et des microARN. Les différentiels d'expression les plus significatifs observés entre les souris exposées et non exposées seront confirmés par des techniques plus résolutive au niveau tissulaire mais également au niveau sérique pour les microARN. Pour les gènes candidats les plus prometteurs, les résultats seront évalués à l'échelle protéique; une attention particulière sera accordée aux marqueurs du stress oxydant, de l'inflammation et de la prolifération cellulaire, ainsi qu'à la survenue d'altérations épigénétiques (télomères, méthylation de l'ADN, modification d'histones) et génotoxiques.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm - Pôle Recherche EA 4483 - Lille

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

Equipe 2 : Institut Pasteur de Lille - Laboratoire de toxicologie - Lille

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Nessler

Equipe 3 : Ecole des Mines de Douai - Département Chimie et Environnement - Douai

Responsable de l'équipe : M. Laurent Alleman

Equipe 4 : CNRS - Université Paris 12 - ICMPE - Thiais

Responsable de l'équipe : M. Pierre Dubot

Résumé NANOTRANSBRAIN

Responsable scientifique : M. Aloïse Mabondzo

Organisme : CEA de Saclay - iBiTecS, Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse - Gif sur Yvette

1. Titre

Projet complet

36 mois

Outils In Vivo et In Vitro pour l'Évaluation des Effets de l'Exposition aux Nanoparticules sur la Physiologie de la Barrière Hémato-Encéphalique de Rats Adultes et Agés

2. Questions à la recherche

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

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

3. Résumé

Objectif détaillé

La présence croissante de nanoparticules (NPs) dans des produits manufacturés pose la question de leurs éventuels effets sur la santé. Les NPs de dioxyde de titane (nano-TiO₂), par exemple, sont produites à l'échelle industrielle et se retrouvent aussi bien dans des peintures que dans des cosmétiques ou des systèmes de dépollution. Par le passé, elles étaient considérées comme inertes mais récemment, l'Agence Internationale pour la Recherche contre le Cancer a revu son jugement et les a classées comme cancérogènes possibles chez l'homme (2B). Si de nombreuses études in vitro ont décrit leurs effets sur des lignées cellulaires, peu se sont intéressées au système nerveux central (SNC). Plusieurs études sur rongeurs ont montré que les nano-TiO₂ peuvent traverser certaines barrières physiologiques comme les épithéliums respiratoires et vasculaires et donc rejoindre la circulation sanguine pour atteindre différents organes dont le cerveau. Mais une telle translocation reste controversée et il n'existe pas de données in vivo sur les conséquences d'une exposition au nano-TiO₂ par inhalation subaiguë sur le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique (BHE) de sujets adultes et âgés. Ces derniers sont en outre souvent écartés des études alors que cette population est très importante dans le monde du travail.

En s'appuyant sur la ligne directrice de l'OCDE TG-412, le projet vise après une exposition subaiguë de rats adultes ou âgés aux aérosols de nano-TiO₂, à : i) préciser la biocinétique de nano-TiO₂ ; ii) évaluer in vivo les conséquences d'une telle exposition sur l'intégrité de la BHE et sur ses fonctions de transport ; iii) évaluer la neurotoxicité potentielle découlant de ces perturbations.

Nos premières données in vitro à de très faibles doses d'exposition aux nano-TiO₂ montrent une altération de l'activité des fonctions de transport des protéines [P-glycoprotéine et BCRP (Breast Cancer Resistance Protein)] impliquées dans la détoxification du SNC; on observe en outre une biopersistance du titane dans les cellules endothéliales sans transcytose. Des expériences menées in vivo après administration de nano-TiO₂ par voie intraveineuse montrent une pénétration du titane dans le cerveau. De plus, nous notons une biopersistance jusqu'à 90 jours dans certains organes comme le foie, les poumons et la rate. L'ensemble de nos résultats permettent d'envisager l'impact que l'inhalation (voie majeure d'exposition professionnelle) de nanoaérosols de TiO₂ pourrait avoir sur l'intégrité de la BHE et sur ses fonctions de détoxification cérébrale. L'utilisation de nos modèles in vitro de BHE, permettront in fine d'interpréter les données provenant des expériences in vivo.

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

L'étude des effets du nano-TiO₂ sur les fonctions de transport et de détoxification de la BHE est limitée par les possibilités d'exposer par voie inhalatoire des animaux à un aérosol de nano-TiO₂, voie la plus représentative de l'exposition réelle. Nous surmontons cette difficulté grâce à notre étroite collaboration avec l'INRS qui dispose d'ores et déjà des chambres d'inhalation. L'exploitation de ces systèmes d'inhalation permettra pour la première fois de disposer des données de biocinétique et de bioaccumulation du titane et de rechercher les médiateurs susceptibles de modifier les propriétés de la BHE. De plus, nous venons de développer une méthode sensible et reproductible en ICPMS permettant de quantifier le titane dans les différents tissus. L'intégration dans notre étude de rats âgés vulnérables aux côtés des rats adultes permettra de mettre en évidence une relation dose d'exposition environnementale et âge. La capacité de disposer des modèles innovants in vitro de BHE en culture primaire permettra d'étayer, d'un point de vue moléculaire, nos observations vivo.

Cette double approche permettra de préciser les facteurs responsables de la perturbations des propriétés de la BHE qui pourrait résulter: i) d'une interaction des nano-TiO₂ avec la BHE, ii) d'une inflammation systémique modulant l'activité des protéines de transport, ou enfin iii) d'une bio-accumulation de titane dans certains organes comme le foie. Dans le cas d'une bioaccumulation, l'analyse lipidomique et métabolomique dans les tissus extrapulmonaires permettront de mettre en évidence les différentes espèces lipidiques et/ou métabolites susceptibles d'affecter les fonctions de la BHE et entraîner une neuroinflammation et une neurotoxicité.

Argumentation du choix des questions

La biocinétique de nano-TiO₂ chez des rats adultes et âgés après exposition subaiguë par inhalation n'a pas encore été rapportée dans la littérature. Cette étude de biocinétique dans les deux populations et l'étude des conséquences d'une telle exposition est essentielle pour évaluer la toxicité des nanoparticules chez l'homme et les pathologies pouvant être associées aux dysfonctionnements de la BHE.

Description des méthodes mises en œuvre

Un échantillon de nano-TiO₂ P25 (anatase 75%/rutile 25%) sera utilisé. Après caractérisation en termes de taille, morphologie et cristallinité..., les rats adultes et âgés seront exposés par voie oro-nasale à un aérosol de nano-TiO₂, 6h/jour, 5 jours/semaine pendant 4 semaines. Après exposition, la fraction de la dose inhalée dans les poumons sera mesurée par ICPMS immédiatement puis 3,14, 28, 90 et 180 jours après la fin de l'exposition. La quantification du titane dans les tissus extra-pulmonaires sera également réalisée (M6-M24). Les altérations de l'intégrité de la BHE et de ses fonctions de transport seront évaluées in-vivo par l'utilisation de cocktails de médicaments (aténolol pour la mesure de l'intégrité, digoxine et prazosine pour la mesure des fonctions de la P-gp et de la BCRP). La mesure des concentrations plasmatiques et cérébrales de ces substrats sera réalisée par LC/MS/MS (M1-M24). Les analyses immunohistochimiques et le dosage des cytokines permettront d'évaluer respectivement la neurotoxicité et la réponse inflammatoire systémique et cérébrale (M6-M30). Des approches métabolomique et lipidomique plasmatiques et tissulaires seront mises en œuvre afin d'évaluer les altérations métaboliques consécutives à l'exposition aux nanoaérosols de TiO₂ (M6-M36).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CEA de Saclay - iBiTecS, Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse - Gif sur Yvette

Responsable de l'équipe : M. Aloïse Mabondzo

Equipe 2 : INRS - Département Toxicologie et Biométrie - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Monique Chalansonnet

Equipe 3 : Université Paris 11 Laboratoire de Chimie Physique - Orsay

Responsable de l'équipe : Mme Emilie Brun

Résumé NeuroBiomecaTMS

Responsable scientifique : Mme Julie Bodin

Organisme : Université d'Angers - LEEST - Angers

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude de l'impact de la co-exposition aux agents chimiques neurotoxiques et aux facteurs de risque physiques de troubles musculo-squelettiques sur la survenue de syndrome du canal carpien chez les travailleurs

2. Questions à la recherche

SHS 3 - Savoirs profanes, savoirs experts et coproduction de connaissances sur les risques sanitaires.

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif est d'étudier la co-exposition aux agents chimiques neurotoxiques et aux facteurs de risque physiques de troubles musculo-squelettiques (TMS) chez les travailleurs, et l'impact de cette co-exposition sur la survenue de syndrome du canal carpien (SCC). Pour cela, des profils d'exposition chimiques neurotoxiques et physiques seront établis à partir de l'enquête Sumer 2010 en fonction des emplois, et ensuite confrontés aux données de santé issues des cohortes Constances et Coset-MSA.

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

Les neuropathies périphériques d'origine professionnelle sont principalement des syndromes canaux (principalement le SCC), par hypersollicitation mécanique par compression externe, et plus rarement des neuropathies périphériques toxiques, dont la prévalence est sans doute sous-estimée [Lasfargues, 2007; Chouaniere 2007].

La physiopathologie du SCC montre que la compression externe et l'augmentation de la pression intracanales (PIC) sont des mécanismes importants, mais que des phénomènes vasculaires et inflammatoires interviennent également. De plus, il est connu qu'un nerf périphérique fragilisé par une neuropathie débutante, telle une neuropathie diabétique, neurotoxique ou une neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression, est plus sensible aux effets des compressions (externes, augmentation de la PIC). C'est pourquoi, on peut faire l'hypothèse d'un effet cumulatif des expositions chimiques et physiques sur le risque de SCC.

Argumentation du choix des questions

Peu de données sont disponibles sur la co-exposition des travailleurs à des agents chimiques neurotoxiques (solvants organiques, produits phytosanitaires, métaux lourds, etc.) et à des contraintes physiques (répétitivité, efforts intenses, etc.). La surveillance épidémiologique des TMS en Pays de la Loire a montré une prévalence du SCC de 3,0 % et une exposition élevée aux facteurs physiques, psychosociaux et organisationnels de TMS [Ha, 2009]. L'enquête Sumer 2003 dans les Pays de la Loire (3 938 salariés, données non publiées) montre que les expositions aux agents chimiques potentiellement neurotoxiques et aux contraintes physiques se concentrent sur les mêmes catégories socio-professionnelles (ouvriers et employés peu qualifiés) [Petit, 2013]. Ces co-expositions semblent donc fréquentes et concerneraient environ 90 000 salariés dans la région (données calées sur marge). Il serait pertinent de renouveler cette étude sur un échantillon plus important et de confronter les résultats à des données de santé pour tester l'hypothèse d'un risque accru de SCC en cas de co-exposition chimique et physique.

Description des méthodes mises en œuvre

Les données de trois études seront utilisées :

- Enquête transversale Sumer 2010 (n=47 983), Dares et Direction générale du travail-Inspection médicale du travail
- Cohorte Constances (n~25 000 en avril 2014, 200 000 en 2017), Plateforme de recherches Cohortes épidémiologiques en population - Inserm U1018- CESP Villejuif - Université Versailles St-Quentin
- Phase pilote de la cohorte Coset-MSA (n=2 363, 35 000 à terme), DST-InVS et MSA

A partir de l'enquête Sumer 2010 calée sur marge, une analyse descriptive des expositions aux agents neurotoxiques (89 agents chimiques dont n-hexane, solvants chlorés, mélange de solvants, métaux lourds, produits phytosanitaires, etc.), des contraintes physiques (gestes répétitifs, position forcée, vibration et froid) et des co-expositions neurotoxiques et physiques sera effectuée par emploi et par genre. Une matrice emploi exposition (MEE) sera créée pour définir les expositions aux produits neurotoxiques et aux contraintes physiques, en collaboration avec l'unité Eval-Expo du DST-InVS.

La MEE ainsi obtenue sera appliquée aux cohortes Constances et Coset-MSA pour estimer les expositions neurotoxiques, expositions physiques et les co-expositions neurotoxiques et physiques. Une comparaison des données d'exposition issues de la MEE et des données issues des auto-questionnaires d'inclusion des cohortes Constances et Coset-MSA sera effectuée. Les données de santé seront recueillies par auto-questionnaire (inclusion et suivi annuel) et examen clinique (inclusion pour Constances). Les relations entre les groupes d'exposition (agents neurotoxiques seuls, contraintes physiques seules, co-exposition) et l'existence de symptômes de la main et de SCC seront étudiées en ajustant sur les facteurs de risque potentiels de neuropathies (diabète, alcool, etc.). Des explorations neurophysiologiques pour dépister infracliniquement le SCC pourront être envisagées dans une sous cohorte de Constances lors du suivi clinique (examen clinique tous les 5 ans).

Calendrier :

- Mois 1-2 : Actualisation de la bibliographie
- Mois 3-18 : Analyse statistique et création de la MEE à partir de Sumer 2010
- Mois 19-30 : Analyse statistique et rédaction de la discussion des résultats de Constances et Coset-MSA
- Mois 31-36 : Rédaction du rapport de fin d'étude

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université d'Angers - LEEST – Angers

Responsable de l'équipe : Mme Julie Bodin

Equipe 2 : EHESP - Département santé Environnement Travail et Génie Sanitaire - Rennes

Responsable de l'équipe : M. Ronan Garlantézec

Equipe 3 : UVSQ -Inserm UMRS1018, Unité de pathologie professionnelle - Garches

Responsable de l'équipe : M. Alexis Descatha

Résumé PACATox

Responsable scientifique : M. Sylvain Billet

Organisme : UCEIV - EA 4492 MREID2 - Dunkerque

1. Titre

Projet complet

36 mois

Biomarqueurs de toxicité de la pollution atmosphérique particulaire influencés par l'âge

2. Questions à la recherche

CANC 5 - Développement d'indicateurs, applicables chez l'homme, associés à un excès de risque de cancers dans des situations d'exposition environnementales et professionnelles (notamment biomarqueurs précoces de transformation et de susceptibilité, modèles animaux, etc.).

CANC 8 - Recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'exposition à long terme à la pollution atmosphérique et les particules fines (PM2.5) ont récemment été classées cancérogènes pour l'homme par le CIRC (Groupe 1, IARC 2013). Parmi les populations vulnérables aux toxiques environnementaux, les personnes âgées sont particulièrement sensibles. La pollution de l'air pourrait augmenter chez cette population l'incidence du cancer. Le vieillissement est, en effet, un processus complexe fortement corrélé à l'augmentation de l'incidence de grandes maladies comme les troubles immunitaires et le cancer. Dunkerque possède l'une des zones industrielles les plus importantes de France, ce qui en fait un site de référence en matière de pollution atmosphérique, notamment particulaire. La réduction de ces inégalités environnementales, ou points noirs environnementaux, constitue également un axe fort du PNSE2.

Dans cette optique de meilleure prise en compte de la santé environnementale, l'étude de l'influence de l'âge sur la réponse de lymphocytes sanguins à une exposition à la pollution particulaire fine urbaine permettra de proposer des biomarqueurs de toxicité en lien avec les étapes précoces de la cancérogenèse.

Un échantillon de PM2.5 sera prélevé en centre-ville de Dunkerque, afin d'intégrer les composantes urbaines et industrielles de la pollution atmosphérique particulaire. Après une analyse physico-chimique approfondie de ces PM2.5, leur toxicité sera étudiée sur des cultures primaires de cellules sanguines humaines. Trois classes d'âges ont été proposées: 25-30, 50-55 et 75-80 ans. Le recrutement de 90 patients sains a reçu l'accord du CPP (ECH11/03 DC-2011-1393). Cet accord a permis d'initier le processus de recrutement, et de valider l'applicabilité des marqueurs proposés aux cultures de cellules sanguines.

L'influence de l'âge dans la réponse toxique, notamment tumorale, à l'exposition ex vivo de cellules sanguines à un échantillon réel de PM2.5 sera recherchée à quatre niveaux : (i) caractérisation des lymphocytes et des médiateurs impliqués dans la réponse inflammatoire; (ii) activité métabolique des cellules; (iii) recherche d'altérations génotoxiques; et (iv) modulation épigénétique de facteurs identifiés dans la survenue de pathologies tumorales.

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

Le vieillissement de la population, conséquence positive du développement, nous confronte à l'accroissement de l'incidence des pathologies chroniques d'ordre inflammatoire et tumoral. Bien que d'importance considérable, ce champ de recherche reste particulièrement inexploré à l'heure actuelle. Pourtant, les personnes âgées constituent des populations particulièrement sensibles aux facteurs environnementaux tels que la pollution atmosphérique. Cela pourrait s'expliquer par les importants changements associés à l'âge, connus sous le nom d'«immunosénescence», qui affectent les lymphocytes sanguins, et ainsi réduisent leur capacité à répondre aux infections et aux vaccins et accroissent la prédisposition au cancer.

L'activité métabolique de ces cellules sera étudiée, non seulement en s'intéressant aux EMX, mais aussi en établissant leur profil métabolomique en fonction de l'exposition et de l'âge, ce qui constitue une approche originale et prometteuse.

En complément de la recherche de marqueurs de génotoxicité récemment mis en évidence, tels que les adduits exocycliques, l'étude de certaines modifications épigénétiques telles que les miARN, permettra la proposition de nouveaux biomarqueurs précoces potentiellement impliqués dans la survenue de pathologies tumorales suspectées comme consécutives à l'exposition à la pollution atmosphérique particulaire.

Argumentation du choix des questions

Le projet PACATox contribuera à l'avancée des connaissances sur l'influence de l'âge et la sensibilité aux polluants, à la fois par son concept original d'exposition de lymphocytes sanguins issus de trois classes d'âge, mais aussi par les paramètres mesurés. Parmi ces derniers, plusieurs biomarqueurs d'effet impliqués dans les étapes précoces de la cancérogenèse pourront être proposés sur les plans génotoxique, épigénétique et métabolomique (CANC 5). Dans un objectif secondaire, certains paramètres pourront correspondre à des biomarqueurs d'exposition aux polluants atmosphériques, cancérogènes avérés (CANC 8).

Description des méthodes mises en œuvre

1. Prélèvement et caractérisation physico-chimique de PM_{2.5} à Dunkerque (Année 1 et 2; CCM) :
 - a. Impacteurs en cascade asservis aux conditions météorologiques
 - b. Caractérisation physique : Granulométrie laser, surface spécifique
 - c. Caractérisation chimique : ICP-MS, CI, CHONS, GC-MS, HRGC-HRMS.
2. Prélèvements de sang de 90 patients répartis en 3 classes d'âge, isolement des lymphocytes. (Année 1; GHICL). Chaque patient devra remplir un questionnaire comportant les facteurs d'inclusion et d'exclusion, ainsi qu'une lettre de consentement éclairé.
3. Recherche des biomarqueurs d'exposition ou d'effet impliqués dans la toxicité des PM_{2.5}:
 - a. Exposition des lymphocytes aux particules atmosphériques en présence ou absence d'activateur métabolique (Année 1; UCEIV).
 - b. Caractérisation des lymphocytes et de la réponse inflammatoire par cytométrie en flux, RT-qPCR et ELISA (Année 2 et 3; UCEIV)
 - c. Activité métabolique:
 - Expression des gènes codant pour les EMX (Année 2 et 3; UCEIV)
 - Etude métabolomique par GC-MS et LC-MS (Année 2 et 3; Mass Spectrometry Facility et UCEIV)
 - d. Génotoxicité:
 - Mesure des adduits exocycliques par LC-MS et LC-HRMS (Année 2 et 3; ABTE)
 - Quantification des cassures double-brins de l'ADN (Année 2 et 3; UCEIV)
 - e. Modifications épigénétiques: profil en miARN par TLDA et RT-qPCR (Année 3; UCEIV)

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : UCEIV - EA 4492 MREID2 - Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Sylvain Billet

Equipe 2 : ULCO - Centre Commun de Mesures- Dunkerque

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Cazier

Equipe 3 : Hôpital St Vincent - Service d'Anatomie Pathologie - Lille

Responsable de l'équipe : M. Pierre Gosset

Equipe 4 : Université de Caen Basse-Normandie - EA4651 CNRS FR 3519 IEPE/SFR ICORE - Caen

Responsable de l'équipe : M. Raphaël Delépée

Equipe 5 : Mass Spectrometry Facility – London – Grande Bretagne

Responsable de l'équipe : M. John Halket

Résumé PAOLA

Responsable scientifique : Mme Isabelle Thaon

Organisme : CHU de Nancy - Centre de Consultation de Pathologie Professionnelle – Vandoeuvre-lès-Nancy

1. Titre

Projet complet

36 mois

Impact psychologique de l'amiante et autres expositions professionnelles dans le cancer broncho-pulmonaire

2. Questions à la recherche

CANC 6 - Expositions multiples aux substances cancérogènes.

SHS 8 - Médiatisation et amplification sociale des risques.

3. Résumé

Objectif détaillé

Evaluer l'impact des expositions antérieures à un ou plusieurs cancérogènes bronchiques certains d'origine professionnelle (amiante, HAP, silice, gaz d'échappement diesel) ou environnementale (radon, pollution atmosphérique) sur la perception de la maladie et la qualité de vie chez des patients atteints de cancers bronchiques dans le mois suivant le diagnostic et puis à 3 mois en fonction de l'exposition, de son caractère subi ou non (exposition professionnelle ou environnementale versus tabagisme), de son degré de médiatisation (amiante, pollution atmosphérique, radon ...), de son mode d'évaluation (autoévaluation ou exposition déterminée par expertise) et analyser les mécanismes psychologiques qui sous-tendent l'impact de ces expositions sur la qualité de vie et la perception de la maladie.

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

Les expositions professionnelles ou environnementales à des cancérogènes constituent, avec le tabagisme, les principaux facteurs de risque des cancers du poumon. Cependant, contrairement au tabagisme actif, ces expositions sont des expositions subies et non choisies. De plus, dans le cas de l'amiante, quelques auteurs ont souligné l'existence de modifications profondes de la santé perçue chez des sujets exposés (Barak 1998, Lebovitz 1988). Nous avons également montré que l'intensité de l'exposition à l'amiante autoévaluée, était prédictive d'un retentissement psychologique chez des sujets indemnes de cancer bronchique (Maurel 2009). L'hypothèse qu'une exposition à un facteur professionnel ou environnemental soit susceptible de modifier la perception et la représentation de la pathologie en l'occurrence le cancer bronchique, et d'avoir ainsi un retentissement sur la qualité de vie (exposition subie, sentiment d'injustice sociale), semble donc plausible. De plus, nous formulons également l'hypothèse que cet impact sur la qualité de vie diffère en fonction du degré de médiatisation dont a fait l'objet l'impact cancérogène de cette exposition. Aucune étude n'a été menée sur ces questions à notre connaissance à ce jour. De plus notre projet a pour originalité d'associer une démarche d'analyse de type épidémiologique et une démarche de type sciences humaines et sociales.

Argumentation du choix des questions

Notre étude explorera l'impact des expositions professionnelles et/ou environnementales à des cancérogènes, sur la qualité de vie de patients atteints de cancer bronchique, notamment en cas d'expositions multiples (CANC6). Elle tentera également de mieux cerner l'impact de la médiatisation de ces expositions (SHS8). Nous rechercherons une éventuelle modification de l'impact de chaque exposition sur la qualité de vie en recherchant une éventuelle interaction avec le niveau de perception par le patient des risques de cancer associés à l'exposition. Nous avons mené une étude de faisabilité sur un échantillon de 200 sujets atteints de cancer bronchique dont 140 exposés à l'amiante. Les résultats préliminaires suggèrent une qualité de vie altérée chez les sujets exposés à l'amiante. Cependant, la taille de cet échantillon ne nous a pas permis d'approfondir les analyses. Les entretiens psychologiques semi directifs (absents de l'étude faisabilité) permettront d'explorer plus en détail le rôle de la médiatisation des expositions.

Description des méthodes mises en œuvre

Janvier à février 2015 : Formation des équipes et mise en place des bases de saisie en ligne.

Mars 2015 à février 2017 : inclusion des sujets avec diagnostic récent de cancer bronchique primitif, au sein d'un des services de pneumologie, chirurgie thoracique ou oncologie des CHU de Bordeaux, Brest, Caen et Nancy et du CHI de Créteil. Ces sujets bénéficieront notamment à l'inclusion d'une évaluation

- de leur perception de la maladie à partir du Illness Perception Questionnaire
- de leur perception et leur connaissance concernant les effets cancérigènes associés aux cancérigènes étudiés, ainsi que leurs sources d'information
- de leur autoperception de leur exposition personnelle à ces cancérigènes
- de leur exposition aux cancérigènes bronchiques professionnels à partir d'une analyse de leur cursus professionnel et de questionnaires tâches validés, et de leur exposition environnementale au radon à partir de l'historique des lieux de résidence
- de leur tabagisme (actif et passif)
- de leur qualité de vie à l'aide du SF36, de l'EORTC QLQ30 et du QLQ13
- des principaux facteurs susceptibles d'influencer la qualité de vie (stade du cancer bronchique, score OMS ...)

La qualité de vie et la perception de la maladie seront ensuite réévaluées à 3 mois soit de juin 2015 à mai 2017. De plus dans les 3 mois suivants l'inclusion (mars 2015 à mai 2017), un sous groupe de 120 patients, tirés au sort avec randomisation en fonction de l'existence ou non d'une exposition professionnelle et d'une exposition environnementale, bénéficiera d'un entretien psychologique semi directif.

Mars 2015 à juin 2017 : saisie des questionnaires

Juillet 2017 à décembre 2017 : analyse des données, rédaction des publications du rapport final

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CHU de Nancy - Centre de Consultation de Pathologie Professionnelle - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Thaon

Equipe 2 : Université Bordeaux Segalen - Centre Inserm U897 - Bordeaux

Responsable de l'équipe : M. Patrick Brochard

Equipe 3 : CHI de Créteil- Service de Pneumologie - Créteil

Responsable de l'équipe : M. Bruno Housset

Equipe 4 : CHRU Côte de Nacre - Service de Pathologie professionnelle - Caen

Responsable de l'équipe : Mme Bénédicte Clin-Godard

Equipe 5 : CHRU de brest – Service de Pathologies Professionnelles - Brest

Responsable de l'équipe : Mme Véronique Le Denmat

Equipe 6 : Université de Lorraine - Vandoeuvre-lès-Nancy

Responsable de l'équipe : M. Francis Guillemin

Equipe 7 : Université de Lorraine - Département de Psychologie - Nancy

Responsable de l'équipe : Mme Joëlle Lighezzolo-Alnot

Résumé PhthalatPreg

Responsable scientifique : M. Thierry Fournier

Organisme : Université Paris Descartes - Inserm UMR-S 1139 - Paris

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

Effets des phtalates sur le développement et les fonctions placentaires : impact sur la grossesse et la croissance fœtale.

2. Questions à la recherche

ACHIM 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Les phtalates sont des plastifiants largement utilisés dans de nombreux produits de grande consommation ce qui soumet la population à une exposition importante. Leur capacité à interagir avec certains récepteurs nucléaires tel que le PPAR γ , les classe dans la catégorie des perturbateurs endocriniens. Des données récentes suggèrent que l'exposition de la femme enceinte entraîne des accouchements avant terme et donc de la prématurité.

Notre objectif principal est d'identifier des biomarqueurs d'origine placentaire, de l'exposition de la femme enceinte aux phtalates.

Pour atteindre cet objectif, nous avons développé trois axes principaux :

1) Etablir et quantifier pour la 1ère fois l'existence d'une contamination du placenta humain in vivo par les phtalates (DEHP, MEHP et autres métabolites) au premier trimestre de la grossesse et à terme. L'étude sera menée parallèlement sur un broyat placentaire (possiblement contaminé par le sang maternel) et une composante cellulaire placentaire majeure (cellules trophoblastiques purifiées) siège de toutes les fonctions placentaires ;

2) Etudier l'impact des phtalates identifiés de façon prédominante en 1 (dont MEHP) sur la fonction placentaire in vitro (différenciation du trophoblaste, fonctions endocrine et d'échange) et leur capacité à moduler l'activité de PPAR γ , un facteur essentiel pour la différenciation trophoblastique et le métabolisme lipidique ;

3) Identifier, par analyse lipidomique différentielle en spectrométrie de masse, des biomarqueurs lipidiques à partir de trophoblastes exposés in vitro aux phtalates. La recherche et la validation de ces biomarqueurs seront effectuées dans des placentas issus de grossesses normales et pathologiques (RCIU, prématurité : accès à PérinatCollection).

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

L'originalité de ce projet de toxicologie moléculaire réside dans l'association d'une approche biologique et analytique dans la cellule trophoblastique humaine, siège des fonctions d'échanges entre le sang maternel et fœtal. La mesure et l'impact des phtalates n'ont jamais été étudiés sur des trophoblastes humains purifiés, la contamination n'ayant été déterminée que sur du tissu placentaire total à terme. Une des cibles des phtalates étant le récepteur nucléaire PPAR γ , un facteur clé du développement du placenta et du métabolisme lipidique, l'approche lipidomique permettra de découvrir des biomarqueurs spécifiques

d'exposition. Cette étude revêt un intérêt particulier pour l'évaluation de l'effet des phtalates sur le développement du placenta, l'issue de grossesse et la croissance du fœtus.

Argumentation du choix des questions

Ce projet associant biologie placentaire et lipidomique permettra de caractériser l'exposition de la femme enceinte à ces contaminants environnementaux, en établissant ou non l'existence d'une accumulation des phtalates au niveau placentaire au cours de la grossesse (ACHIM2). La mise en évidence de biomarqueurs spécifiques d'exposition de la femme enceinte à ces perturbateurs endocriniens répond aux questions de ACHIM 3.2 et permettra d'améliorer le dépistage de pathologies de la grossesse d'origine placentaire (RCIU, prématurité). Cette étude permettra de comprendre comment les phtalates altèrent le développement et la fonction placentaire (ACHIM 3.1) et donc la croissance du fœtus.

Description des méthodes mises en œuvre

1/ Mesure des concentrations de phtalates (DEHP, MEHP et autres métabolites) au niveau du placenta et des trophoblastes au 1er trimestre et à terme. Cette étude permettra de déterminer l'imprégnation basale et l'accumulation dans les trophoblastes en comparaison avec le placenta total. Dans un échantillon représentatif (n=30 placentas pour chaque terme), des morceaux de placenta seront prélevés et des cellules trophoblastiques isolées et purifiées sans aucune contamination par des cellules maternelles. Les polluants seront extraits du broyat placentaire et du culot cellulaire par des techniques d'extraction liquide/liquide. Les solutions seront analysées en spectrométrie de masse (LC/MS) (9 mois).

2/ Caractérisation des changements de la composition du lipidome par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (UPLC/ESI-MS) après traitement des trophoblastes en culture par les phtalates (DEHP, MEHP et métabolites identifiés en 1) (12 placentas) (9 mois).

3/ Les biomarqueurs lipidiques identifiés seront recherchés dans des échantillons placentaires normaux et pathologiques (n=30 par condition) (18 mois).

4/ La capacité des phtalates à moduler l'activité du PPAR? et à altérer le métabolisme, la différenciation et les fonctions endocrines du trophoblaste sera analysée in vitro sur des cultures de trophoblastes humains (12 cultures, 12 mois).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université Paris Descartes - Inserm UMR-S 1139 - Paris

Responsable de l'équipe : M. Thierry Fournier

Equipe 3 : Université Paris Descartes - Chimie-Toxicologie Analytique et Cellulaire - UMR CNRS 8638 COMETE - Paris

Responsable de l'équipe : M. Olivier Laprevote

Résumé PRESENSE

Responsable scientifique : Mme Anne Perrin

Organisme : CNRS - IMEP-LAHC, INP-Grenoble, Minatec - Grenoble

1. Titre

Etude de faisabilité

18 mois

Etude préliminaire pour la conception d'un espace d'exploration du sensible en environnement électromagnétique contrôlé

2. Questions à la recherche

RFES 3.1 - Recherche de liens de causalité entre certaines caractéristiques des radiofréquences et les symptômes ressentis par les personnes « EHS » (expériences de provocation, mesures d'exposition continues et recueil de symptômes, etc.).

RFES 3.2 - Recherche de mécanismes pouvant expliquer l'hypersensibilité électromagnétique.

RFES 3.3 - Recherche de facteurs de vulnérabilité (études comparatives utilisant des populations témoins et des populations présentant des syndromes médicalement inexpliqués par exemple).

3. Résumé

Objectif détaillé

L'objectif du projet est de rédiger le cahier des charges pour la réalisation future d'un système mobile d'exposition humaine aux radiofréquences (RF). Il s'agira d'un espace équipé pour permettre différentes approches (physiologique, biologique et psychologique) de la perception de l'exposition dans un environnement électromagnétique caractérisé et contrôlé, reproduisant celui rencontré dans un environnement quotidien en extérieur ou intérieur.

A terme, cet espace offrira la possibilité :

- à des citoyens de tester leur sensibilité aux champs électromagnétiques environnementaux, dans le cadre de prestations pour des collectivités locales, des entreprises, des associations, des cursus d'enseignement, ou diverses manifestations (fête de la science, expositions).
- à des chercheurs, de réaliser des travaux scientifiques rigoureux avec différents signaux RF (téléphonie, Wi-fi, DECT, W-lan, télédiffusion...) dans des conditions expérimentales optimisées et contrôlées.
- à des médecins d'envisager cet équipement comme outil complémentaire de diagnostic ou à des fins thérapeutiques.

Il sera composé d'une zone d'exposition « habitable », isolée de toute exposition RF environnementale et d'un local technique accueillant système d'émission et équipements nécessaires aux expérimentations. Il sera doté d'un équipement de base pour l'observation non invasive d'indicateurs physiologiques (santé et psychophysiologie). L'espace devra présenter un confort satisfaisant pour les sujets volontaires. Les sujets testés pourront porter un exposimètre sur eux.

L'ergonomie tiendra compte des paramètres sources de stress (représentation du lieu, choix des matériaux) pour que l'espace soit le plus neutre possible concernant la partie habitable et l'ensemble du dispositif vu de l'extérieur afin de limiter au maximum les risques de biais expérimentaux.

La conception d'un tel système est complexe et justifie une étude préliminaire à la phase de construction proprement dite pour en définir les spécifications en fonction des besoins et attentes des utilisateurs.

Des collaborations internationales et avec les futurs utilisateurs de cet espace seront d'ores et déjà envisagées.

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

Le projet repose sur une collaboration multidisciplinaire, sa finalité est à la fois scientifique, médicale et sociétale. Le pari novateur est de définir les spécifications d'un espace où la notion de sensible pourra être

explorée au travers des multiples facettes de la thématique radiofréquences (sanitaire, psychologique, environnementale, physique).

Les contraintes techniques liées aux futurs usages de cet espace seront prises en compte dès sa conception. Sa mobilité le rendra accessible et évitera d'être tributaire d'un laboratoire pour réaliser des expériences dans des conditions d'exposition contrôlées et reproductibles, notamment au bénéfice des EHS.

Il permettra d'aborder la question sanitaire des ondes relative à la sensibilité, aussi bien pour améliorer l'état des connaissances que pour prévenir le développement d'appréhensions dans la population générale. En effet, la banalisation de l'expérience de provocation peut être un moyen de test de sensibilité individuelle, mais aussi d'appropriation de l'environnement électromagnétique pour toute personne, EHS ou non.

Argumentation du choix des questions

Toutes les solutions techniques permettant d'atteindre l'objectif fixé seront étudiées. Le document final permettra de construire un espace mobile d'exploration du sensible prêt l'emploi, dans le respect des lois et recommandations relatives à l'éthique de l'expérimentation sur sujets.

Description des méthodes mises en œuvre

1 - Évaluation des besoins

Bibliographie

Contacts avec les équipes Européennes et Françaises impliquées dans des études sur l'EHS

Consultation des utilisateurs potentiels de l'espace

2 - Ergonomie, bien-être et stress

Identification des sources de stress et d'altération du bien-être des sujets liées à l'espace et aux conditions d'expérimentations (sujets EHS et non EHS), d'après :

La littérature

Des entretiens individuels* (approche ergonomique et sociologique)

Le retour d'expérience de professionnels de santé et des équipes du CSTB impliqués sur différents types d'intolérances environnementales (F. De Olivera, D. Marchand).

*Le consortium juge indispensable de tenir compte du vécu de personnes EHS, celle-ci seront contactées par les voies habituelles utilisées en sociologie.

3 - Analyse des solutions techniques

Bilan des attentes et des besoins, priorisation

Solutions techniques

Analyse comparative des solutions (efficacité, mise en œuvre, coûts)

4 - Rédaction du cahier des charges

Synthèse finale et rédaction du document comprenant synoptique et spécifications techniques

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CNRS - IMEP-LAHC, INP-Grenoble, Minatec - Grenoble

Responsable de l'équipe : Mme Anne Perrin

Equipe 2 : CSTB - Département acoustique et éclairage - Saint Martin d'Hères

Responsable de l'équipe : M. François Gaudaire

Equipe 3 : Université Claude Bernard Lyon 1 - UMRESTTE - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Amélie Massardier-Pilonchery

Résumé REAGIR

Responsable scientifique : Mme Isabelle Dusfour

Organisme : Institut Pasteur de la Guyane - Cayenne

1. Titre

Projet complet

36 mois

Résistance aux pyréthrinoïdes chez *Aedes aegypti* : évaluation de nouveaux candidats insecticides et étude du phénomène de réversion

2. Questions à la recherche

LAVE 1 - Stratégies de contrôle de la transmission, plus ciblées et plus durables (identification de nouvelles substances actives et produits biocides pertinents pour la LAV, méthodes et intérêt d'une lutte par biocides alternatifs, gestion des résistances, lutte biologique, lutte génétique, lutte communautaire, identification et élaboration d'indicateurs d'efficacité des méthodes de lutte et d'impact sur les organismes non-cibles).

3. Résumé

Objectif détaillé

Dans un contexte de résistance aux pyréthrinoïdes dans les populations d'*Ae aegypti* de la plupart des territoires Français d'outre-mer et face au nombre limité de molécules alternatives autorisées, notre premier objectif est d'identifier de nouvelles substances actives contre ce vecteur (cf liste du rapport de saisine n° 2012-SA-0028 de l'ANSES). Le deuxième objectif est d'obtenir des données sur l'évolution de cette résistance en étudiant comment le phénotype et ses mécanismes évoluent en l'absence de pression insecticide, lors de l'introggression par des populations sensibles et lors de l'utilisation de nouveaux insecticides.

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

L'originalité du projet réside d'une part dans le criblage de molécules qui visent plus particulièrement les populations résistantes aux pyréthrinoïdes. En effet, la recherche de molécules actives est en général menée sur des souches de laboratoire sensibles à tout insecticide, situation de plus en plus rare en milieu naturel. D'autre part, nous chercherons à comprendre l'évolution de la résistance des populations en simulant en laboratoire des changements d'utilisation d'insecticide. Quelques études de réversion ont été menées au Brésil sur des populations résistantes au téméphos. Cependant, aucune approche n'a été menée sur des populations sauvages résistantes aux pyréthrinoïdes. De plus, aucune étude n'a tenté de reproduire la contre-sélection de ces populations par de nouvelles molécules. Afin d'obtenir des résultats robustes et extrapolables, notre étude s'appuiera sur des populations de fonds génétiques différents venant de Guyane et de Nouvelle Calédonie. Notre étude se veut aussi proche que possible de la réalité de terrain tout en limitant les facteurs confondants afin d'apporter des réponses pour l'amélioration de la lutte antivectorielle.

Argumentation du choix des questions

Les populations d'*Ae aegypti* dans certains territoires français d'outre-mer sont résistantes à la deltaméthrine entravant l'efficacité des programmes de lutte. Face à la recrudescence des épidémies de dengue, à la présence ou au risque d'introduction du chikungunya et à la raréfaction des molécules insecticides efficaces, il est urgent que de nouvelles molécules soient mises sur le marché et que des programmes de gestion de la résistance soient mis en place. Nous souhaitons donc apporter des réponses à ces deux problématiques afin de donner des éléments d'aide à la décision aux opérateurs de la lutte.

Description des méthodes mises en œuvre

Notre projet s'articule autour de cinq tâches :

Tâche 1 - Colonisation et caractérisation des populations d'*Ae aegypti*. Année 1. Une population résistante et une population sensible de chaque territoire d'étude seront mises en élevage. Ces populations

seront phénotypées pour leur sensibilité à la deltaméthrine selon la méthode des tests en tubes de l'OMS. Ces populations seront utilisées pour la suite du projet.

Tâche 2 - Criblage de molécules adulticides. Années 1-2. Une sélection de molécules issues de nouvelles familles insecticides sera faite à partir de la liste précitée. Cette étude sera effectuée sur des femelles sensibles en suivant les protocoles de l'OMS. Les candidats les plus prometteurs seront ensuite testés sur des femelles résistantes afin d'évaluer la présence de résistance croisée vis-à-vis de ces nouvelles molécules.

Tâche 3 - Réversion de la résistance à la deltaméthrine en l'absence de pression de sélection. Années 1-2. Pour chaque territoire, quatre lignées seront créées et élevées en parallèle sur une dizaine de générations. Les deux lignées contrôles seront composées de la population de terrain résistante maintenue sous pression insecticide de deltaméthrine et de la population sensible. Les deux autres nous permettront d'évaluer la réversion par l'élevage de la population de terrain résistante sans pression de sélection et par introgression de la population sensible.

Tâche 4 - Contre-sélection de la résistance à la deltaméthrine et résistance aux nouvelles molécules. Année 2. Quatre nouvelles lignées seront créées et maintenues sur 10 générations. Les deux lignées contrôles seront composées de la population de terrain résistante maintenue avec et sans pression de deltaméthrine et les deux lignées expérimentales seront constituées par la population résistante sélectionnée avec deux adulticides candidats.

Tâche 5 - Suivi de la résistance et de ces mécanismes. Année 3. Lors de chaque expérimentation, un suivi du phénotype de sensibilité sera effectué pour la deltaméthrine et les candidats insecticides. La fréquence des mutations du canal sodium liées à la résistance aux pyréthrinoïdes et l'expression des gènes de détoxification impliqués dans les résistances aux insecticides seront mesurées (qRT-PCR ou puce à ADN).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Institut Pasteur de la Guyane - Cayenne

Responsable de l'équipe : Mme Isabelle Dusfour

Equipe 2 : Université Joseph Fourier - LECA - UMR 5553 - Grenoble

Responsable de l'équipe : M. Jean Philippe David

Equipe 3 : Institut de Recherche pour le Développement - UMR MIVEGEC - Montpellier

Responsable de l'équipe : M. Fabrice Chandre

Equipe 4 : Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie - Nouméa

Responsable de l'équipe : M. Laurent Guillaumot

Résumé REDHÉM

Responsable scientifique : M. Daniel Benamouzig

Organisme : Centre de Sociologie des Organisations - Sciences PO - Paris

1. Titre

Etude de faisabilité

24 mois

Recherche sur la Définition de l'Hypersensibilité ElectroMagnétique

2. Questions à la recherche

RFES 3.3 - Recherche de facteurs de vulnérabilité (études comparatives utilisant des populations témoins et des populations présentant des syndromes médicalement inexpliqués par exemple).

RFES 3.4 - Recherche d'outils de diagnostic et de marqueurs spécifiques.

3. Résumé

Objectif détaillé

Mise au devant de l'actualité depuis plusieurs années par des éléments de controverse publique, l'hypersensibilité électromagnétique (HE) est un syndrome déclaré par des personnes exposées aux rayonnements électromagnétiques. Ce syndrome constitue un objet de recherche d'intérêt général, en raison de ses expressions médicales incertaines et des enjeux scientifiques, sociaux et économiques auxquels il est directement lié – à tel point que sa définition reste aujourd'hui instable et questionnée, jusque dans les recherches médicales qui lui sont consacrées (Baliatsas Christos et al., 2012). En pratique, cette définition demeure essentiellement liée à l'auto-déclaration des patients, ce qui entretient une incertitude préjudiciable à son analyse scientifique. Notre recherche vise à élaborer un cadre opératoire d'appréhension de l'HE, qui puisse faciliter son exploration ultérieure.

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

Cette recherche présente trois caractères novateurs. Le premier est de ne pas concevoir les facteurs de vulnérabilité et les marqueurs de l'HE en termes exclusivement médicaux ou psychiatriques, mais de leur reconnaître une dimension socio-cognitive, en considérant qu'ils peuvent aussi recouvrir des modes de raisonnement particuliers et des expériences sociales spécifiques. Le second consiste en l'articulation d'un volet à dominante médicale et d'un volet à dominante sociologique, qui permettront d'appréhender conjointement l'expérience clinique et l'expérience sociale des patients concernés. Ces deux volets seront conçus, mis en œuvre et exploités conjointement pendant toute la durée de la recherche. Celle-ci est enfin novatrice par la mobilisation systématique d'éléments de comparaison avec la situation de patients souffrant d'un autre trouble médicalement inexpliqué : la fibromyalgie.

Argumentation du choix des questions

Le volet à dominante médicale a pour objectif de caractériser les symptômes associés au trouble. Les études médicales consacrées à cette question comparent des échantillons importants de personnes affirmant souffrir d'HE, à des échantillons équivalents d'individus bien-portants ($n > 200$). Ces études permettent de repérer des variations significatives, mais délicates à interpréter (Johansson Amanda et al., 2010). Notre recherche privilégie une démarche qualitative, en étudiant de manière approfondie un petit groupe de personnes. La consultation d'un chercheur en médecine interne permettra d'objectiver les symptômes rapportés par les participants, de vérifier l'absence de diagnostic alternatif susceptible de les expliquer, et d'appréhender la situation médicale, psychologique et sociale des individus.

Le volet à dominante sociologique comprendra deux opérations, dont la première visera à identifier les formes de savoirs (y compris médicaux) impliqués dans la mise en évidence des troubles tels que l'HE. Elle permettra de disposer d'une revue de littérature et d'une analyse de la controverse scientifique de nature à

préparer et à faciliter d'éventuelles expertises de ces questions par l'Anses, ou par d'autres instances appelées à se prononcer. La seconde opération consistera en une étude qualitative des processus sociaux et cognitifs conduisant certaines personnes à se déclarer atteintes d'HE, et à reconnaître ainsi qu'elles souffrent d'un problème médical imputé à leur environnement électromagnétique. Ces deux types d'apports des sciences sociales ont été identifiés comme potentiellement utiles à l'Anses (Benamouzig Daniel et al., 2013).

De cette association entre démarches médicale et sociologique est attendue une meilleure connaissance des conditions pratiques de définition, de diagnostic, d'évolution et de prise en charge du syndrome d'HE.

Description des méthodes mises en œuvre

Les échantillons étudiés dans le volet à dominante médicale compteront chacun dix personnes. La consultation sera réalisée à leur domicile, afin d'éviter que les expositions ou le stress engendrés par un déplacement à l'hôpital ne perturbent les observations. Leur situation sociale et professionnelle, leur trajectoire biographique ainsi que leur ressenti subjectif seront recueillis au cours d'un entretien libre selon des principes établis de manière collective au sein de l'équipe. Afin de faciliter la comparaison des résultats obtenus avec ceux de précédentes études plusieurs tests et questionnaires standardisés seront administrés aux patients volontaires, (EVA, SCL-90 et FIQ sur la symptomatologie, MINI sur la psychopathologie passée et présente, PSS sur le stress perçu, SF-36 sur la qualité de vie).

La première opération du volet à dominante sociologique débutera par la constitution d'un corpus de référence et sera suivie d'une analyse sociologique des données selon la méthode, aujourd'hui bien établie, de l'analyse des controverses (Gilbert Claude & Henry Emmanuel (dir.), 2009). Sa seconde opération mobilisera une trentaine d'entretiens approfondis et sera complétée par une seconde étude conduite auprès d'une vingtaine de personnes se déclarant fibromyalgiques : vérifier si ces dernières attribuent un sens différent à leur diagnostic facilitera l'interprétation des données collectées dans le volet à dominante médicale. Ces enquêtes bénéficieront du travail engagé dans le cadre d'une thèse en cours, financée par ailleurs, ce qui permettra d'échapper aux difficultés d'accès au terrain qui leur sont inhérentes.

La durée prévue de la recherche est de 24 mois. La documentation donnant lieu à une analyse de controverse sera collectée sur une période de six mois et sera analysée au cours d'une période de trois mois. La collecte des données par entretiens sera réalisée sur une période de 18 mois. Les six derniers mois seront consacrés à la rédaction du rapport.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Centre de Sociologie des Organisations - Sciences PO - Paris

Responsable de l'équipe : M. Daniel Benamouzig

Equipe 2 : CHU de Saint-Etienne - Service de médecine interne - Saint-Etienne

Responsable de l'équipe : M. Pascal Cathébras

Résumé Release_NanoTox

Responsable scientifique : M. Stéphane Delaby

Organisme : CSTB - Saint-Martin d'Hères

1. Titre

Projet complet

36 mois

Etude in vivo de l'impact potentiel sur les fonctions cérébrales des particules issues de matériaux nanocomposites sous contrainte d'usage

2. Questions à la recherche

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

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

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

3. Résumé

Objectif détaillé

Malgré son classement en catégorie 2B par le CIRC en 2006, l'usage de nano-objets de TiO₂ dans des matériaux nanocomposites ne cesse de croître, s'accompagnant d'interrogations légitimes de la part des pouvoirs publics quant à leur devenir et leur impact potentiel sur la santé humaine et l'environnement. L'usure d'un matériau nanocomposite conduit majoritairement à la production de particules dont la taille est supérieure à 100 nm et constituées de nanoparticules encapsulées dans la matrice du matériau. Pour l'heure, aucune étude ne s'est intéressée à l'effet toxique de ces particules complexes. Quelques études in vivo récentes indiquent cependant, que les nano-objets de TiO₂ peuvent traverser les barrières physiologiques telles les épithéliums respiratoires et cérébraux vasculaires et donc circuler pour atteindre le cerveau. Dans le cerveau, les effets possibles rapportés d'une exposition à des nano-objets de TiO₂, sont l'induction d'un stress oxydant, d'une inflammation cérébrale et l'altération de l'expression de neurotransmetteurs. La translocation pulmonaire et l'accumulation dans les organes cibles secondaires sont fortement dépendantes de la composition chimique, la taille des particules et leurs voies d'administration. Le projet vise ainsi à caractériser l'impact sur les fonctions cérébrales des particules issues de matériaux nanocomposites, additivés de nano-objets de TiO₂, sous contrainte d'usage.

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

L'originalité principale du projet réside dans la convergence des travaux sur le relargage particulaire provenant de matériaux nanocomposites et l'étude de la toxicité des nano-objets émis. Il s'agira ainsi d'appréhender l'impact potentiel sur les fonctions cérébrales d'une pollution particulaire réaliste en termes de distribution granulométrique, de concentration, de surface spécifique, de composition chimique, ... Les outils et méthodes développés dans le projet fourniront un ensemble de protocoles originaux utiles aux autorités pour leur prises de décision dans l'évaluation de l'impact sur la santé, notamment sur le système nerveux central (SNC) après une exposition de nanoparticules issues de matériaux nanocomposites. De même de façon innovante, suite à l'exposition à des nanoparticules en phase aéroportée, les techniques d'imagerie cérébrale haute résolution développées par un des partenaires du consortium seront appliquées pour visualiser in vivo la neuroinflammation.

Argumentation du choix des questions

En formant un consortium d'experts pour ce projet, il sera possible d'apporter des informations sur les conséquences d'une exposition aux nano-objets provenant de matériaux nanoadditivés. A ce jour très peu de données sont disponibles voire inexistantes sur l'impact de ce type de nano-objets, tels que le TiO₂, sur le cerveau en particulier alors même que la voie olfactive représente un accès direct au SNC. Les résultats collectés seront donc particulièrement pertinents pour approfondir les connaissances sur l'impact des produits nanométriques issus de l'usure d'un matériau nanoadditivé. De plus, le projet permettra la mise en œuvre de travaux visant à caractériser l'innocuité sanitaire des matériaux nanocomposites et proposer des stratégies de production assurant la sécurité des usagers durant l'ensemble du cycle de vie de ces matériaux.

Description des méthodes mises en œuvre

Lot 1: Caractérisation physicochimique des particules émises par des matériaux nanoadditivés de TiO₂ sous contrainte d'usage (T0 - T0 + 14 mois)

Il s'agira de préparer et caractériser des peintures nanoadditivées dont les caractéristiques physicochimiques de la matrice et du nanomatériau seront maîtrisées. Les matériaux nanocomposites subiront des cycles d'abrasion à l'aide d'un montage expérimental permettant d'appliquer différentes sollicitations (surface abrasive et pression). Leurs propriétés physicochimiques seront mesurées expérimentalement sur les plateformes d'analyse du LNE et du CSTB par MET (morphologie des particules), surface BET (surface spécifique), ICPMS (analyse chimique élémentaire), thermogravimétrie (analyse chimique, cinétique d'oxydation). Les particules résultant de l'abrasion seront également caractérisées en nombre (CPC), en taille (SMPS, DMS 500, APS), en masse (TEOM), en terme de morphologie (MEB ou MET) et en composition chimique élémentaire (EDX, fluo X ou ICPMS).

Lot 2: Etude in vivo de leur impact sur les fonctions cérébrales (T0 + 14 mois - T0 + 36 mois)

L'approche in vivo utilisera des souris présentant une prédisposition au développement de processus neuropathologiques. L'impact sur les fonctions neurologiques comme les aptitudes motrices (Rotarod), l'induction d'une neuroinflammation (IRM), la bioaccumulation de nanoparticules de TiO₂ (ICPMS), notamment dans le SNC ainsi que la présence d'altérations morphofonctionnelles (imagerie par résonance magnétique et microtomographie par contraste de phase, colorations anatomopathologiques, immunohistochimiques) seront recherchées. Un banc d'exposition par inhalation sera défini et caractérisé (aérodynamique et comportement des aérosols) de façon à acheminer les particules produites vers les souris.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : CSTB - Saint-Martin d'Hères

Responsable de l'équipe : M. Stéphane Delaby

Equipe 2 : Anses - Maladies Neuro-Dégénératives - Lyon

Responsable de l'équipe : Mme Anna Bencsik

Equipe 3 : LNE - Paris

Responsable de l'équipe : M. Charles Motzkus

Equipe 4 : Creatis - Villeurbanne

Responsable de l'équipe : Mme Marlene Wiart

Résumé THYPEST

Responsable scientifique : Mme Barbara Demeneix

Organisme : MNHN/CNRS - UMR 7221 - Paris

1. Titre

Projet complet

24 mois

Evaluation des effets des deux pesticides Amitrole et le Chlorpyrifos, sur la signalisation thyroïdienne et la neurogenèse précoce

2. Questions à la recherche

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

ACHIM 2 - Études sur les niveaux d'exposition et évaluation des risques pour les populations vulnérables ou sensibles (enfants, femmes enceintes, personnes atteintes de pathologies...) à des substances toxiques, en particulier cancérigènes, mutagènes reprotoxiques ou les perturbateurs endocriniens (y compris lorsqu'elles sont présentes à des concentrations inférieures au seuil de classement).

ACHIM 3.1 - Etude des effets des perturbateurs endocriniens.

3. Résumé

Objectif détaillé

Des données épidémiologiques montrent des augmentations marquées de l'incidence des troubles du spectre autistique (ASD) atteignant 1 enfant sur 88 en 2012. Plusieurs données pointent l'origine environnementale de cette élévation et notamment une exposition à des pesticides ou biocides affectant la signalisation des hormones thyroïdiennes (HT) (Winneke et al, 2011). Chez l'homme, l'exposition embryonnaire à des pesticides, lors du développement du système nerveux (semaines 1 à 8) multiplie par 6 les risques d'être atteint d'autisme (Roberts et al 2007). Le premier trimestre de grossesse chez la femme est considéré comme une fenêtre de développement très vulnérable pendant laquelle la signalisation thyroïdienne est essentielle pour un développement optimal du système nerveux (Haddow 1999). Par ailleurs, Roman en 2007 montra les similitudes entre la neuropathologie des cerveaux de patients autistes et ceux retrouvés dans des modèles d'hypothyroïdie induite. Enfin, l'EFSA rapporte que sur 287 pesticides testés, 103 ont des actions anti-thyroïdiennes (EFSA Journal 2013;11-7). Ainsi il est urgent de déterminer la capacité des pesticides à perturber la signalisation thyroïdienne pendant cette période critique embryonnaire.

Ce projet analysera les effets de deux pesticides qui sont en cours de réévaluation par la Commission Européenne en 2014 : le chlorpyrifos et l'amitrole tous deux retrouvés à des concentrations nanomolaires dans les eaux de surface. Cette réévaluation fait suite à la publication par plusieurs équipes de résultats sur les effets perturbateurs endocriniens de ces deux molécules. Ce projet étudiera leurs potentiels de perturbation thyroïdienne et leurs effets sur la neurogenèse et le développement. Les résultats obtenus permettront

1) de tester l'activité de deux pesticides actuellement en cours de réévaluation par l'EU sur la signalisation thyroïdienne

2) d'étudier l'effet d'une exposition précoce sur le développement ultérieur et sur le comportement (études de motricité)

3) de tester l'hypothèse que l'exposition à des stades embryonnaires induit des effets sur des gènes cibles des HT (qPCR) et/ou des gènes candidats associés avec l'autisme.

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

Les augmentations parallèles de l'incidence de l'autisme et du nombre de xénobiotiques sur le marché ont contribué à formuler l'hypothèse d'une relation de cause à effet, soutenue par des données épidémiologiques récentes. L'originalité du projet THYPEST réside dans l'étude de la perturbation du développement neuronal, démontré comme étant dépendant des HT, à des stades précoces. Chez l'humain comme chez les autres vertébrés ces fenêtres critiques du développement neuronal se trouvent avant la mise en place de la thyroïde. Cependant, le bon déroulement de la neurogenèse à ces stades est dépendante de l'apport en HT, provenant soit du sang maternel chez le mammifère (Pop 1999), soit des stocks dans l'œuf et le vitellus chez les ovipares (ex : embryon de *Xenopus* (Fini et al., 2012)). Les petits modèles organismes (ici les embryons d'amphibiens) permettent une exposition lors de l'embryogenèse précoce difficilement abordée expérimentalement chez les mammifères. Les avantages du développement embryonnaire externe, de l'exposition par balnéation des embryons de quelques jours et la description fine des événements du développement du système nerveux font de l'embryon de xénope un modèle expérimental pertinent qui reflète la neurogenèse lors du développement intra-utérin chez le mammifère. Enfin, l'utilisation de ce modèle est une alternative aux tests in vivo classiques.

Argumentation du choix des questions

Le projet THYPEST concerne les effets de perturbation endocrinienne (ACHIM 3.1) de deux pesticides. Les questions PEST2.1/ACHIM 2 sont également abordées car les conservations évolutives de la signalisation thyroïdienne et de la neurogenèse précoce, font de l'embryon de *Xenope* un modèle alternatif représentatif d'une fenêtre de vulnérabilité du fœtus humain. Aussi, ce travail focalise sur 2 biocides actuellement réanalysés par l'Europe : l'herbicide amitrole et le pesticide chlorpyrifos.

Description des méthodes mises en œuvre

Ce projet (24 mois) implique 3 séries de manipulations:

- 1) Lors de la 1ère année des courbes doses réponses détaillées (Fini et al 2007) seront établies pour les 2 biocides en utilisant la lignée THB-ZIP (WatchFrog). Cette lignée amphibienne TH/bZIP-GFP porte le promoteur TH/bZIP contenant des éléments de réponse aux HT, permet de révéler une perturbation thyroïdienne. Elle est actuellement en cours de validation par l'OCDE.
- 2) En parallèle de l'étape 1), l'équipe Demeneix suivra les conséquences de l'exposition des embryons de xénope, aux doses croissantes de 2 pesticides à des stades précoces
 - a. Suivi, immédiatement après l'exposition de leurs effets sur l'expression des gènes endogènes (qPCR), cibles directs des HT et des gènes candidats impliqués dans l'autisme (par ex : *bdnf*, *reelin*, *rora*).
 - b. Suivi à plus long terme après exposition, avec une étude sur la structure du cervelet (étude comparative de la structure des neurones de Purkinje au niveau de du cervelet).
- 3) Lors de la deuxième année les deux équipes collaboreront sur un troisième volet d'étude comportementale sur des têtards exposés aux pesticides pendant la fenêtre critique embryonnaire. La vitesse et le parcours de nage seront évalués grâce à des enregistrements en temps réel (Viewpoint).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : MNHN/CNRS - UMR 7221 - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Barbara Demeneix

Equipe 2 : Watchfrog - Evry

Responsable de l'équipe : M. David Du Pasquier

Résumé TOXLYMIX

Responsable scientifique : Mme Lydie Sparfel

Organisme : Université Rennes 1 - IRSET UMR INSERM 1085 - Rennes

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

Effets génotoxiques de mélanges d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les lymphocytes humains : identification de biomarqueurs géniques d'exposition à ces mélanges

2. Questions à la recherche

CANC 8 - Recherche sur des biomarqueurs d'exposition à des mélanges de polluants ou à des familles de polluants cancérigènes (avérés ou suspectés).

3. Résumé

Objectif détaillé

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), générés par combustion incomplète des matières organiques, sont des polluants majeurs de l'environnement aux effets cancérigènes établis. L'homme est cependant habituellement exposé à des mélanges d'HAPs et l'évaluation du risque cancérigène lié à ces mélanges reste mal maîtrisée. Ce projet vise à analyser les cibles géniques régulées par les HAPs en mélange dans les lymphocytes humains en culture primaire à l'aide d'une approche transcriptomique sans à priori et à étudier les dommages à l'ADN dans ces cellules afin de proposer des biomarqueurs géniques d'exposition aux mélanges d'HAPs témoignant de l'atteinte génotoxique et donc pertinents dans le cadre de l'évaluation du risque cancérigène.

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

Une analyse transcriptomique pangénomique sur lymphocytes humains après exposition aux HAPs est peu documentée pour des cellules humaines normales. De plus, la nature des cibles géniques lymphocytaires régulées par les HAPs, seuls ou en mélange, ainsi que le lien avec le risque génotoxique ne sont pas caractérisés. Enfin, les différents biomarqueurs actuellement proposés pour évaluer l'exposition humaine aux HAPs (métabolites urinaires, adduits à l'ADN) présentent une mise en pratique et une interprétation délicates. L'étude des cibles géniques combinée à l'analyse d'une génotoxicité après exposition aux HAPs, traduisant une réponse in situ de l'organisme, devrait permettre l'identification de biomarqueurs géniques précoces d'exposition aux HAPs pertinents dans le cadre de l'évaluation du risque génotoxique.

Argumentation du choix des questions

Ces dernières années, un intérêt croissant est apparu pour les multi-expositions et leurs effets, avec une incertitude importante sur l'évaluation des risques liés aux mélanges, du fait d'une méconnaissance des interactions possibles entre les composés. Pour mieux connaître la nature et l'importance de ces interactions, il est nécessaire de caractériser la toxicité des mélanges à l'aide de modèles biologiques pertinents. Ce projet propose d'identifier et de quantifier les effets génotoxiques de mélanges d'HAPs dans un modèle de culture primaire de lymphocytes humains alors que la plupart des études expérimentales concernent un HAP unique. De plus, seule la toxicité d'un nombre restreint d'HAPs est actuellement décrite, et les études épidémiologiques chez l'homme ont été conduites avec des mélanges dont la composition est souvent mal connue. Nous souhaitons ici déterminer la réponse génique et mesurer la survenue de dommages à l'ADN dans les lymphocytes humains normaux après exposition aux HAPs, seuls et en mélanges. La comparaison des réponses moléculaires et cellulaires obtenues permettra de proposer des biomarqueurs géniques d'exposition à ces mélanges et de préciser la nature de la modulation des effets génotoxiques au sein des mélanges d'HAPs.

Description des méthodes mises en œuvre

(1) Choix des HAPs: 6 HAPs ont été sélectionnés, sur la base de leur présence dans l'environnement et de leur activité cancérigène avérée ou suspectée. Des mélanges d'HAPs en présence de benzo(a)pyrène (BaP) seront réalisés. Le BaP se trouvant en proportion relativement constante dans bon nombre de mélanges d'HAPs, il servira de référence pour établir le potentiel toxique des autres HAPs. (2) Exposition des lymphocytes aux HAPs (0-6 mois): 7 cultures primaires indépendantes de lymphocytes humains, issus de concentrés leuco-plaquettaire (Etablissement Français du Sang), seront exposées aux HAPs seuls et en mélange, à des concentrations non cytotoxiques et en relation avec les niveaux d'exposition de la population humaine et pour des temps d'exposition à déterminer à l'aide d'expériences préliminaires. (3) Etude transcriptomique (6-24 mois): cette étude sera réalisée sur la plateforme Biogenouest® (Rennes). L'analyse in silico des résultats permettra d'identifier les gènes cibles régulés par les HAPs, seuls et en mélange ; nous les validerons par PCR quantitative. Une attention particulière sera portée aux gènes de la réponse aux dommages à l'ADN et du stress oxydant. (4) Etude des dommages à l'ADN (12 mois): afin de couvrir les voies majeures de dommages à l'ADN produits par les HAPs, nous analyserons les adduits stables du BaP et la 8-oxoguanine par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (plateforme Metatoul-AXIOM®, Toulouse), ainsi que les cassures simple et double brins et les sites abasiques instables en milieu alcalin à l'aide du test des comètes. La variante de ce test avec ajout de la formamidopyrimidine (ADN glycosylase) permettra d'évaluer des modifications de bases de l'ADN (majoritairement de type oxydations) induites par les HAPs seuls et en mélange. Nous déterminerons ensuite si la régulation des gènes identifiés est associée à la survenue de dommages à l'ADN, pour définir l'intérêt de gènes cibles comme biomarqueurs prédictifs d'un risque cancérigène.

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Université de Rennes 1 - IRSET UMR INSERM 1085 - Rennes

Responsable de l'équipe : Mme Lydie Sparfel

Equipe 2 : Inra - TOXALIM UMR 1331 INRA-INP-UPS - Toulouse

Responsable de l'équipe : Mme Elisa Boutet

Résumé UV-LED

Responsable scientifique : Mme Alicia Torriglia

Organisme : Inserm - U 872 Physiopathologie des maladies oculaires Innovations thérapeutiques - Paris

1. Titre	Projet complet	24 mois
-----------------	-----------------------	----------------

Risques visuels des nouvelles diodes électroluminescentes (LEDs).

2. Questions à la recherche

RNIO 1 - Caractérisation des expositions professionnelles aux UV artificiels et naturels (en tenant compte pour ces derniers de leur variabilité spatiale et temporelle) et évaluation de leurs impacts sanitaires.

RNIO 4 - Effet des nouvelles technologies pour l'énergie sur l'exposition des populations (production locale d'électricité, smart grid, véhicules électriques..)

3. Résumé

Objectif détaillé

La directive européenne 2005/32/CE et les règlements européens 244/2009, 245/2009 et 1194/2012 incitent à l'amélioration des performances énergétiques de l'éclairage domestique et professionnel. De ce fait, la plupart des lampes à incandescence disparaîtront en 2016 et seront remplacées par des lampes plus efficaces incorporant des diodes électroluminescentes(LED). En 2008 l'ANSES a remis un rapport (Saisine 2008-SA-0408) indiquant le besoin d'études expérimentales sur la question de la phototoxicité rétinienne de ses dispositifs. En effet, la production de lumière blanche résulte du traitement et de la réémission d'un rayonnement de courte longueur d'onde exposant l'individu à une lumière bleue-violette. Nous avons montré (projet RETINALED) que ces dispositifs sont beaucoup plus nocifs pour la rétine que les anciens systèmes d'éclairage, justifiant expérimentalement les réticences de l'ANSES.

Récemment, une nouvelle génération de LEDs blanches dites «GaN sur GaN» est apparue. Ces LEDs utilisent une source dont une partie du spectre se situe dans les UV. En conséquence, aux dangers de la lumière bleue-violette, s'ajoutent ceux des UV résiduels. Le but de ce travail est d'étudier les effets rétinien de la lumière bleue-violette combinée aux UV résiduels émis par ces LEDs, sur des rétines normales ou pathologiques.

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

Les caractéristiques spectrales des LEDs ont conduit l'ANSES à émettre un avis réservé quant à leur sécurité oculaire. Ce travail a, de plus, mis en évidence une inadéquation des normes actuelles, peu adaptées à ce type d'éclairage (elles considèrent toxiques les radiations provoquant un blanchiment de la rétine). Le projet RETINALED nous a permis de montrer une forte toxicité aiguë de ses dispositifs utilisés sur des rats albinos, non visible à l'examen du fond d'œil. Ceci nous a conduits à établir d'autres critères de toxicité. Ces résultats ont donné un support expérimental aux réticences de l'ANSES. Les nouvelles LEDs GaN sur GaN semblent, a priori, encore plus dangereuses. Ces LED blanches sont construites à base de nitrure de gallium et possèdent une puce semi-conductrice qui émet partiellement dans l'UV. Actuellement on trouve ces LEDs dans des lampes commercialisées par la société américaine SORAA et la société japonaise Mitsubishi.

La première originalité de ce projet est d'étudier ce nouveau type d'éclairage, de plus en plus utilisé dans la vie courante et particulièrement dans les locaux professionnels. Par ailleurs, l'évaluation de la phototoxicité rétinienne est effectuée en général que sur des organismes sains, négligeant des populations, dont les rétines sont pourtant très exposées au stress photochimique: les patients atteints de dystrophies rétiniennes héréditaires, de dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA, 4M en Europe) ou de rétinopathie diabétique (5M en Europe). Nous conduirons des études visant à définir les effets cumulatifs de l'exposition à des LEDs et de déterminer un critère de toxicité plus fiable. Ces situations, jamais considérées auparavant constituent le deuxième élément original de notre projet.

Argumentation du choix des questions

Nous étudierons de façon détaillée les lésions rétinienne induites par la lumière provenant de LEDs (de différentes longueurs d'onde, incluant les GaN sur GaN qui émettent des UV). Des animaux normaux ou atteints d'une dégénérescence rétinienne seront utilisés. Ceci nous permettra d'établir une première approche sur les conditions de sécurité de ces équipements. De plus, nous rechercherons les effets cumulatifs de ces expositions, une nécessité si l'on veut éviter des problèmes de santé publique liés à la diffusion en masse de ces dispositifs.

A partir des résultats obtenus, le CSTB élaborera des recommandations relatives aux pratiques de l'éclairagisme pour faire évoluer la normalisation et la réglementation dans ce domaine. En particulier, une proposition d'évolution de la norme de sécurité photobiologique EN 62471 sera établie et communiquée aux instances technico-normatives internationales en charge de l'éclairage et de la sécurité photobiologique (IEC, CIE).

Ces données pourront intéresser les constructeurs de LED, les fabricants de verres ophtalmiques et les pouvoirs publics, pour faire évoluer la réglementation dans le domaine des nouvelles techniques d'éclairage.

Description des méthodes mises en œuvre

Nous déterminerons les seuils de toxicité rétinienne de la lumière émise par les dernières générations de LEDs comportant différents taux d'émission de lumière bleue, violette et UV. Les effets d'expositions cumulatives seront recherchés. L'étude sera faite sur des animaux sains (année 1) et atteints de maladies rétinienne (rat diabétique, RCS, P23H) (année 2) afin d'évaluer l'effet de cette lumière sur une rétine déjà malade. Les rétines des rats exposés aux LEDs, seront analysées par histologie, immunochimie et biochimie, en recherchant l'activation de marqueurs de mort (caspase dépendante et indépendante) et de stress cellulaires (stress oxydant, stress du réticulum endoplasmique).

4. Membres participants au projet

Equipe 1 : Inserm – U872 Physiopathologie des maladies oculaires Innovations thérapeutiques - Paris

Responsable de l'équipe : Mme Alicia Torriglia

Equipe 2 : CSTB - Saint Martin d'Hères

Responsable de l'équipe : M. Christophe Martinsons

Equipe 3 : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Maisons-Alfort

Responsable de l'équipe : Mme Sabine Chahory

Bilan par thématique

Dès l'étape lettre d'intention, une ou plusieurs thématiques sont associées aux projets (dans 30% des cas, il y a plus d'une thématique). Celles-ci sont sélectionnées par les porteurs de projet. Un tableau récapitulatif par thématique est établi annuellement. Il permet de suivre le volume des recherches proposées et en cours par thématique et de mesurer d'éventuelles distorsions entre sujets.

Questions	Sur les 248 lettres intention 2014	Sur les 127 projets soumis 2014	Sur les 58 projets acceptés CSPR 2014	Sur les 33 projets acceptés COPR 2014	Sur les 37 projets retenus CO en 2013	Sur les 31 projets retenus CO en 2012	Sur les 38 projets retenus CO en 2011
NSON	5	3	0	0	1	2	2
RNIO (ray. non ionisant)	2	1	1	1	0	0	2
RFES (radiofréquences) ²	28	17	11	9	11	6	6
FMIN (fibres minérales)	1	0	0	0	0	0	1
NANO	29	18	9	4	3	2	8
PEST (pesticides)	32	14	5	3	3	1	1
ACHIM (agents chimiques)	65	26	13	6	8	7	6
LAV (lutte anti vectorielle)	10	4	3	2	2	1	1
ABIO (agents biologiques)	54	24	9	3	2	2	10
SOL	3	0	0	0	0	1	0
AIR	36	17	5	1	5	4	5
DECHETS	4	2	2	1	0	0	0
SHS ³	24	15	5	3	1	9	3
CANCER	29	16	7	7	9	2	5
Total questions abordées	322	157	70	40	44	37	50

² Cette ligne contient les données sur ce thème cumulé sur les deux appels pour 2013.

³ En 2013, un projet SHS a été financé sur le thème des RF. Le porteur avait choisi de ne pas se positionner sur une question SHS en sus.