

# COLLOQUE BILAN et Perspectives

Santé Environnement - Santé Travail  
Édition 2007



1<sup>ER</sup> ET 2 FÉVRIER 2012 - PARIS



## SOMMAIRE

Sommaire .....	2
Introduction .....	4
Organisation d'une vaste réflexion stratégique .....	4
Le programme « Santé-environnement Santé-travail » .....	5
Bilan du programme Sest 2005/2007.....	6
Quelques chiffres .....	6
Bilan par grands domaines .....	6
Impacts sur la santé.....	7
Rôle de l'environnement dans la dynamique des agents pathogènes et des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes .....	9
Mise au point de méthodes et d'outils .....	12
Santé et travail.....	14
Santé, environnement : dynamiques sociales des risques, déterminants sociaux de la santé et de la maladie, représentations et pratiques face aux épidémies.....	16
Objectifs du colloque.....	19
Comité de pilotage scientifique du colloque.....	19
Responsables ANR.....	19
Résumés des projets 2006-2007 .....	20
Rôle de l'environnement dans l'émergence ou la réémergence de maladies infectieuses .....	21
Les agents pathogènes et leurs vecteurs .....	23
Bactéries et toxines.....	31
Facteurs environnementaux et impacts sur la santé.....	40
Allergies et maladies respiratoires, inflammation.....	41
Perturbateurs endocriniens, résidus pharmaceutiques, pollutions atmosphériques .....	49
Santé, travail et déterminants sociaux.....	55
Facteurs environnementaux et impacts sur la santé.....	61
Environnement et cancers : facteurs de risque.....	61
Effets des rayonnements, mécanismes moléculaires .....	64
Effets des nanomatériaux et des contaminants chimiques .....	70
Construction sociale de l'expertise et controverses.....	75



## INTRODUCTION

L'impact des facteurs environnementaux sur la santé constitue un vaste champ d'investigation et la connaissance de leurs interactions avec les autres déterminants de la santé, qu'ils soient sociaux, comportementaux ou génétiques, constitue un défi pour la recherche scientifique. L'identification du rôle de ces facteurs, de leur contribution à la genèse ou à l'aggravation de pathologies dont l'étiologie reste mal connue, les formes d'exposition, forment un ensemble de questions pour la recherche qui sont au centre du programme « Santé-environnement et Santé-travail » de l'Agence Nationale de la Recherche.

Les conditions de vie et de travail, les types d'urbanisation et d'habitat, l'accès aux soins, les modalités d'organisation de la prévention et de la prise en charge, sont aussi des déterminants de la santé dont le rôle mérite d'être mieux compris. Il en est de même des modalités de construction des savoirs, des conditions de production, de mise en œuvre des normes, des formes de régulation, du rôle que peuvent jouer les acteurs et l'action collective. L'enjeu est aussi de comprendre les facteurs qui concourent à la protection de la santé des populations et les conditions qui doivent être réunies pour qu'une action ait les effets attendus.

Ces différentes questions dessinent un champ de problématiques et d'hypothèses dont la complexité appelle une mobilisation des différentes disciplines et l'intensification de leur coopération et de leurs échanges.

Le Plan cancer (2003), le Plan national santé environnement (PNSE1 juin 2004) et le Plan santé travail (PST 1 février 2005) avaient souligné le manque de connaissances scientifiques dans les domaines santé-environnement et santé-travail. Aussi le PNSE1, porté par les ministères chargés de la santé, de l'environnement, du travail et de la recherche, et le PST1, porté par le ministère chargé du travail, en association, notamment, avec le ministère en charge de la recherche, avaient inscrit la mobilisation et le développement du potentiel de recherche comme un axe prioritaire d'action<sup>1</sup>.

## ORGANISATION D'UNE VASTE REFLEXION STRATEGIQUE

Après avoir organisé un premier état des lieux des recherches en cours et des thèmes en émergence dans le cadre d'une consultation des organismes de recherche et des universités, le ministère chargé de la recherche (automne 2003) a mis en œuvre, avec le GIP ANR, une réflexion prospective associant largement les opérateurs de recherche (CEA, CEE, CNRS, CPU, INED, INRA, INSERM, Institut Pasteur, IRD, CIRAD) et les chercheurs des différentes disciplines concernées. Cette réflexion prospective qui avait pour objet de définir les priorités thématiques et les thèmes émergents s'est appuyée sur :

- un document d'orientation scientifique<sup>2</sup>, faisant le point sur les principales questions scientifiques et sur les domaines à explorer, réunissant 35 notes thématiques, auxquelles ont participé près de 150 scientifiques de l'ensemble des disciplines.  
Ces contributions individuelles et collectives abordaient : les différents objets de recherche concernés, les dynamiques scientifiques à l'étranger, le potentiel de recherche en France, les manques, les perspectives scientifiques, les priorités et les programmes de recherche envisageables, les modalités d'intervention adaptées.

---

<sup>1</sup> Les domaines scientifiques prioritaires du PNSE1 étaient les suivants : connaissance fondamentale des déterminants environnementaux et sociétaux de la santé des populations et des pathologies transmissibles et non transmissibles ; expérimentation et modélisation en toxicologie et en épidémiologie, renouvellement des méthodes ; écologie de la santé ; santé et travail ; recherche technologique (métrologie, substitution, évitement, qualité des milieux et des pratiques...).

<sup>2</sup> <http://www.agence-nationale-recherche.fr/magazine/actualites/detail/1er-bilan-des-projets-finances-dans-le-programme-sante-environnement-et-sante-travail-edition-2005/>

- un séminaire<sup>3</sup>, les 31 mars et 1er avril 2005, favorisant la confrontation des différents points de vue, qui a réuni 45 intervenants issus des organismes de recherche et des universités, des représentants des agences d'expertises et des ministères concernés, des représentants des acteurs socio-économiques, des représentants des organisations internationales et 400 participants.

## LE PROGRAMME « SANTE-ENVIRONNEMENT SANTE-TRAVAIL »

Le programme « Santé-environnement Santé-travail » a été mis en œuvre par l'ANR de 2005 à 2007 afin de favoriser la production de connaissances fondamentales sur le rôle des déterminants environnementaux sur la santé et d'analyser leurs effets conjugués avec les déterminants sociaux et comportementaux. Il s'est attaché également à la connaissance des populations, à l'exploration du rôle des modifications de l'environnement dans la dynamique des pathogènes, de leurs vecteurs et dans le développement des maladies infectieuses, et aux déterminants organisationnels et sociaux de la santé au travail.

Ce programme avait aussi pour objectifs :

- de mobiliser l'ensemble des disciplines scientifiques : sciences biologiques et médicales, physiques et chimiques, de la terre et de l'univers, mathématiques, de l'ingénieur, humaines et sociales ;
- de développer les échanges entre les disciplines et le montage de projets communs, ceci afin de renouveler les méthodes et les outils d'analyse, tant conceptuels que statistiques ;
- de caractériser les déterminants environnementaux (nature, sources) en favorisant la mise au point de nouveaux outils et méthodes de mesure, qui permettent, notamment, de prendre en compte les expositions dans les différents milieux de vie, de mesurer les phénomènes sur des échelles à court, moyen et long termes, de coupler des bases de données environnementales et de santé, de développer des méthodes, des outils d'analyse innovants, notamment en matière d'intégration des données, d'identifier les populations à risques ;
- d'étudier les impacts sur la santé et les grandes pathologies ;
- de décrire les dimensions sociales, économiques, des interactions entre santé et environnement ou santé et travail.

---

<sup>3</sup> Ce séminaire de prospective scientifique a été organisé à Paris par le ministère délégué à la recherche et le GIP ANR, en collaboration avec le CEA, le CEE, le CIRAD, le CNRS, la CPU, l'INED, l'INRA, l'INSERM, l'Institut Pasteur, l'IRD, et en liaison avec le ministère des Solidarités, de la Santé, de la Famille, le ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion Sociale, le ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

## BILAN DU PROGRAMME SEST 2005/2007

### QUELQUES CHIFFRES

Les trois éditions de l'appel à projets Santé-environnement et santé-travail ont permis d'affecter 25 millions d'euros à 114 projets de recherche, mobilisant 318 partenaires, dans les domaines des sciences biologiques et médicales, des sciences physiques et chimiques, des sciences humaines et sociales.

### Projets sélectionnés

Les projets financés se répartissent selon trois grands thèmes :

- Impacts des déterminants environnementaux sur la santé : 62 projets, soit 54% des projets financés, mobilisant 185 équipes
- Rôle de l'environnement dans la dynamique des agents pathogènes et des maladies infectieuses : 25 projets, 22% des projets, mobilisant 85 équipes
- Santé, travail, environnement et société : 27 projets, 24% des projets, mobilisant 48 équipes

Le pourcentage de sélection des projets est de 28,8 % en moyenne sur les trois éditions, soit 30,5% pour les 49 projets financés en 2005, 29,9% pour les 41 projets financés en 2006 et 24,7% pour les projets financés en 2007.

Le pourcentage de sélection moyen des trois années selon les 3 principaux thèmes est le suivant :

- Impact des déterminants environnementaux sur la santé : 26,4%
- Rôle de l'environnement dans les maladies infectieuses : 34,7%
- Santé, travail, environnement, société : 30,7%

### Projets reçus

395 projets ont été soumis sur les trois éditions :

- 235 projets déposés dans le thème « Impacts des déterminants environnementaux sur la santé »
- 72 projets déposés dans le thème « Rôle de l'environnement dans la dynamique des agents pathogènes et des maladies infectieuses »
- 88 projets déposés dans le thème « Santé, travail, environnement et société »

### Valorisation et publications

Nombre de publications parues : 550

Nombre de publications soumises : 120

Communications à des congrès : 929

Chapitre d'ouvrage ou ouvrages : 104

Brevets : 2

### BILAN PAR GRANDS DOMAINES

Les résultats scientifiques<sup>4</sup> obtenus dans le cadre du programme SEST peuvent être déclinés par grands domaines thématiques, à travers les impacts sur la santé analysés par grandes pathologies, le

---

<sup>4</sup> Pour les résumés et les articles de synthèse des résultats des projets financés voir :

Édition 2005

<http://www.agence-nationale-recherche.fr/magazine/actualites/detail/1er-bilan-des-projets-finances-dans-le-programme-sante-environnement-et-sante-travail-edition-2005/>

Édition 2006

<http://www.agence-nationale-recherche.fr/magazine/actualites/detail/sante-environnement-sante-travail-actes-du-colloque-bilan-des-projets-finances-en-2006/>

Éditions 2006/2007

rôle de l'environnement dans la dynamique des pathogènes, en termes de méthodes nouvelles et d'outils innovants, et également, du point de vue de la connaissance des relations entre travail et santé et des dimensions humaines et sociales de la relation entre santé et environnement.

## **Impacts sur la santé**

Les recherches engagées en sciences biologiques et médicales (biologie cellulaire et moléculaire, épidémiologie, toxicologie,...) portent sur les grands types d'altérations de la santé (maladies respiratoires et allergiques, cancers ; cardiovasculaires, neurodégénératives et neurologiques, infectieuses ; troubles de la fertilité ; stress) et la connaissance des expositions (aux agents physiques, chimiques ou biologiques, y compris nanomatériaux). On peut distinguer des domaines pour lesquels les travaux ont permis de compléter des domaines déjà identifiés comme centraux dans le champ considéré (maladies respiratoires et immunoallergiques, cancers) et des domaines plus émergents, tels que les maladies cardio-vasculaires, neurologiques, les troubles de la reproduction ou de la fertilité et les effets des nanoparticules.

### **Les maladies respiratoires et allergiques**

Les maladies immuno-allergiques, concernant notamment la sphère respiratoire, font partie des pathologies chroniques les plus fréquentes dans le monde occidental. Le rôle de l'environnement dans leur développement a été mis en évidence depuis une dizaine d'années, mais l'appréhension des effets reste une question à documenter largement. Si ce domaine de recherche était déjà bien identifié, les travaux conduits dans le cadre du programme ont permis de renforcer les connaissances grâce à l'étude des effets des contaminants atmosphériques et des expositions sur l'asthme. Ces effets ont été surtout identifiés à travers une compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans l'hyperactivité pulmonaire ou dans l'inflammation des voies respiratoires et des effets cytotoxiques et allergiques en réponse à des expositions aux polluants atmosphériques chimiques volatils, à des particules ou nanoparticules (particules métalliques, nanotubes de carbone). Ces recherches ont aussi apporté des informations pertinentes sur l'incidence de risques de cancers des voies respiratoires lors d'expositions prolongées aux polluants atmosphériques et aux micro ou nanoparticules.

Ces différents travaux, qui se sont appuyés tant sur des études épidémiologiques que sur des études expérimentales, ont été développés dans 20 projets parmi lesquels 7 concernaient les nanoparticules, 4 les microparticules et 9 les polluants chimiques atmosphériques.

### **Les effets cancérigènes des contaminants et des conditions environnementales**

La part des facteurs environnementaux dans le développement des cancers est un enjeu important en termes de santé publique car ouvrant la voie vers des perspectives de prévention. Abordés dans 8 projets, le lien entre conditions environnementales et cancers, concernent les effets des polluants atmosphériques et des nanoparticules sur le développement de cancers pulmonaires, celui des polluants organiques volatils dans la formation de leucémies chez les enfants et autres cancers, ainsi que les effets des radiations ionisantes dans le développement de cancers thyroïdiens.

Ces projets abordent les facteurs de risques professionnels et environnementaux des cancers du sein, du poumon, des voies aéro-digestives supérieures et du tissu thyroïdien, les facteurs de risques environnementaux des cancers de l'enfant et le rôle de l'environnement et des interactions gène-environnement dans le risque de leucémie de l'enfant. Ils abordent aussi la modélisation génétique pour identifier des marqueurs d'exposition à des fibres minérales dans le mésothéliome et dans le cancer pulmonaire du aux fibres d'amiante.

Le lien entre les contaminants organiques et le développement de cancers a été abordé dans deux projets concernant les effets chroniques et mutagènes/cancérigènes de contaminants de l'environnement, évalués à l'aide de cellules d'un hépatome humain, et le rôle des polluants organiques persistants dans la migration cellulaire et la progression tumorale.

## **Le rôle des caractéristiques environnementales et contextuelles sur l'apparition de maladies cardiovasculaires**

Trois projets étudient le rôle de la pollution atmosphérique sur l'insuffisance cardiaque, abordé du point de vue des mécanismes physiopathologiques et des effets sur les populations humaines, et celui des caractéristiques socio-économiques et des conditions de vie ou d'habitation sur la morbidité cardiovasculaire.

## **Les effets neurotoxiques**

Le rôle des facteurs environnementaux sur le développement des pathologies neurodégénératives fait partie des thèmes qui étaient peu explorés par la recherche lors de la mise en place du programme SEST. Les travaux conduits dans cinq projets mettent en évidence les effets neurotoxiques des métaux (dont le mercure) sur les populations aquatiques et humaines, le rôle de l'exposition professionnelle aux pesticides sur le développement de la maladie de parkinson, les effets des radiations ionisantes sur la neurogenèse, ainsi que les effets des radicaux libres de l'environnement sur le vieillissement et la neurodégénérescence.

## **Les perturbateurs endocriniens**

Différentes études faisaient apparaître l'hypothèse que les déterminants environnementaux pouvaient avoir un effet sur la reproduction et la fertilité. Ces interrogations appelaient le renforcement des recherches dans ce domaine, ceci d'autant qu'il faisait partie des domaines émergents peu explorés. Les travaux conduits sur les perturbations endocriniennes dues aux contaminants chimiques ont mis en évidence des effets notamment sur la fertilité et les malformations intra-utérines des organes reproducteurs à travers sept projets. Ceux-ci abordent, par exemple, les facteurs de risque environnementaux ou professionnels de la cryptorchidie, l'impact des pesticides sur le développement intra-utérin, les effets et les mécanismes d'action des phtalates sur le développement et les fonctions du testicule chez la souris et l'homme. Des projets ont étudié l'influence de l'exposition aux polluants atmosphériques sur la fécondité et identifié un biomarqueur de fertilité féminine ou encore le rôle des perturbateurs endocriniens sur les infertilités masculines et le suivi épidémiologique de la fertilité en France. Enfin, des travaux ont porté sur la dynamique et l'impact des perturbateurs endocriniens et des résidus pharmaceutiques issus des élevages agricoles dans l'environnement.

## **La caractérisation et les effets des nanoparticules et nanomatériaux**

En permettant la fabrication de structures, dispositifs et systèmes à partir de procédés permettant de structurer la matière au niveau atomique, moléculaire et supramoléculaire, le développement de la recherche et de l'innovation dans le secteur des nanomatériaux et nanotechnologies a soulevé des interrogations sur les effets sur la santé. Le constat de la faiblesse des données disponibles et du nombre d'équipes impliquées avait conduit, lors de la réflexion stratégique, à identifier ce thème comme un des thèmes prioritaires émergents. Les projets financés ont permis à la fois de mobiliser les équipes et de nouer des coopérations fructueuses entre les spécialistes de physique ou de chimie, impliqués dans la caractérisation, et les spécialistes de toxicologie et de biologie impliqués dans l'identification des effets sur la santé humaine.

Les études conduites se sont attachées à la fois à comprendre les modalités d'accumulation et de transport, de toxicité, les aspects physiologiques et à établir les bases scientifiques pour la caractérisation des particules, à travers sept projets de recherche. Ceux-ci ont exploré notamment, la toxicité des nanomatériaux et des nanotubes de carbone sur les cellules bronchiques et l'appareil respiratoire, ainsi que sur des lignées cellulaires de foie, de rein et de poumon. D'autres travaux se sont attachés à la synthèse, la détection et la toxicologie de nanoparticules métalliques.

L'analyse de l'impact des nanoparticules les plus répandues dans le marché (silices ultrafines, dioxydes de titane, oxyde zinc ultrafin) et le développement d'une technologie permettant de caractériser la cytotoxicité, se sont accompagnés de la description d'une soixantaine de nanoparticules, selon leur nature et leur surface, permettant d'amorcer l'identification de standards et la création d'une base de données de nanomatériaux.

## Rôle de l'environnement dans la dynamique des agents pathogènes et des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes

L'émergence ou la réémergence d'agents pathogènes, comme le SRAS, la légionnelle, le west nile et l'extension de certaines pathologies, habituellement concentrées sur les zones tropicales, a impliqué de renouveler les modes d'approche des maladies infectieuses. Dans un contexte de développement spectaculaire de la microbiologie moléculaire qui a généré des progrès très importants en matière de taxonomie et en génétique moléculaire des micro-organismes pathogènes, la prise en compte conjointe des conditions d'émergence, des caractéristiques des vecteurs et des hôtes est apparue comme une nouvelle voie à explorer. La proportion d'agents pathogènes d'origine zoonotique a aussi conduit à aborder conjointement les pathologies humaines et animales<sup>5</sup>. Le développement de l'utilisation de biocides (en tant que médicaments et insecticides) et des phénomènes adaptatifs et de résistance qui en résultent est aussi un des facteurs environnementaux. Renforcer les connaissances des phénomènes de résistance, tant dans leur rôle éventuel dans la réémergence de certaines pathologies, dans la modification de la virulence, que pour la mise au point de nouvelles méthodes prophylactiques pouvait générer des voies de recherche pertinentes. Ces perspectives ont conduit à définir le thème du rôle de l'environnement dans la dynamique des pathogènes comme prioritaire et ainsi permis d'accompagner le développement des recherches en lien notamment avec les épidémies de chikungunya et de grippe.

25 projets de recherche, impliquant en moyenne 3 équipes par projet, concernent la dynamique des pathogènes et les maladies infectieuses émergentes. Différentes pathologies ont été étudiées (grippes, dengue, paludisme, ulcère de Buruli, borreliose, chikungunya, peste, légionellose, onchocercose, leishmaniose, malaria) dans différentes aires géographiques qui vont de l'Amérique latine, à l'Afrique, à l'Asie, en passant par l'océan indien (Madagascar, La Réunion), la Guyane, le bassin méditerranéen et le sud de la France.

L'apport conjoint de l'épidémiologie, de la médecine, de la biologie, de la géographie, de la télédétection, de l'entomologie et des mathématiques est à l'origine d'avancées très significatives dans l'analyse intégrée de la diffusion des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes (rôle des vecteurs et des réservoirs, conditions écologiques, distribution spatio-temporelle des pathogènes, modèles de diffusion, rôle des pratiques sociales...) appliquée aux maladies bactériennes et virales, ou encore au paludisme.

Les collaborations entre les sciences biologiques et médicales et les sciences de l'environnement se sont avérées particulièrement fructueuses. De nombreux projets ont intégré des approches dans le domaine de la géographie. Plusieurs projets comportaient une forte dimension en sciences humaines et sociales et deux projets, abordant les conditions de gestion des maladies vectorielles et les déterminants géographiques de la prévalence du paludisme, étaient portés par une équipe d'anthropologues et de sociologues.

Les résultats obtenus ont montré la pertinence d'appréhender le rôle de l'environnement sur la dynamique des agents pathogènes pour renouveler la connaissance de l'émergence et de la diffusion des maladies infectieuses. Ils apportent des éléments essentiels pour mieux comprendre les interrelations entre les facteurs environnementaux au sens large (utilisation des sols et des espaces, habitat, ressources naturelles, biodiversité, modes de vie et modes de production, flux de personnes et de marchandises,...) ; les agents pathogènes (évolution, adaptation, biodiversité, distribution, résistances...); les populations humaines et animales ; le développement des pathologies (émergence-réémergence, intensité des symptômes,...) ; les conditions sociales, économiques et culturelles (y compris les modes de gestion et les stratégies de lutte, l'accès aux soins...), les méthodes de lutte.

---

<sup>5</sup> Cette prise en compte conjointe des pathologies animales et humaines se retrouve dans le développement des approches « one health – one world » qui commencent à se diffuser largement. Le programme SEST a pu ainsi contribuer à accompagner une dynamique scientifique en émergence qui a montré depuis sa pertinence scientifique.

Les projets financés peuvent être regroupés autour de cinq grands thèmes :

- Émergence et réémergence des maladies infectieuses dans des environnements en mutation
- Virus influenza
- Chikungunya
- Toxines et dynamiques des pathogènes dans l'environnement
- Résistances et transfert de gènes

### **Émergence et réémergence des maladies infectieuses dans des environnements en mutation**

Les projets financés dans ce thème concernent l'analyse des mécanismes d'émergence et de diffusion des maladies infectieuses, à travers le rôle des changements de l'environnement, l'étude comparative entre différentes zones géographiques et entre différentes pathologies, grâce à des approches interdisciplinaires mobilisant des spécialistes en biologie et santé humaine, en écologie et environnement, en entomologie, en génétique, en géographie, en modélisation.

Les 10 projets abordent : la mise en évidence des mécanismes d'émergence lors de modification de la biologie et de l'écologie d'un agent pathogène (nouvelle expression chez l'hôte, modification de la circulation) ; l'analyse des interrelations entre environnement (taux de forestation, urbanisation, pluviométrie, mares...), l'écologie des pathogènes (biodiversité, caractéristiques physiologiques, évolutions génétiques) et l'émergence des épidémies (cas de la dengue, du paludisme, de l'ulcère de Buruli, des maladies à hantavirus, des borrelioses, de la maladie de chagas, de la leishmaniose).

Le recueil de données pluridisciplinaires permet l'élaboration de modèle spatialisé d'émergence et de diffusion de la dengue ou de la peste.

### **Virus influenza**

Trois projets examinent les conditions d'émergence et de diffusion des gripes.

La détection des virus influenza aviaries H5N1 dans les sols de zones colonisées par des oiseaux migrateurs a permis de mettre en évidence les conditions d'émergence et de persistance de ces virus dans tous les types de sols de zones humides et leur relative stabilité. Ces études réalisées en fonction de la cartographie de l'épizootie de grippe aviaire sont nécessaires pour l'amélioration des réseaux de surveillance.

De plus, afin de déterminer les risques biologiques associés aux influenza aviaries, l'étude de la présence de ces virus chez les mammifères et dans diverses espèces d'oiseaux sauvages migrateurs, lors de leur séjour en Camargue, a permis d'appréhender leur diversité. Elle a mis l'accent sur le rôle central des canards et des sarcelles pour la diffusion des virus. Toutefois, le rôle des oiseaux dans la dispersion du virus apparaît mineur en comparaison de celui des activités humaines (commerce, transports d'animaux).

Enfin, la récurrence des infections grippales et ses conséquences en termes d'épidémie et de risque pandémique fait l'objet d'une étude épidémiologique visant à recruter une cohorte de patients (FLUREC) ayant consulté pour un syndrome grippal, avéré ou non avéré, de façon à explorer la réponse immunitaire contre le H1N1.

### **Chikungunya**

La réémergence du Chikungunya a été explorée à travers 4 projets qui concernent : l'étude de la distribution et l'évolution du virus chez les vertébrés domestiques et sauvages des îles de l'océan indien et la constitution d'une biothèque ; l'étude de la diffusion du virus à travers l'interaction microbes/virus/vecteurs au moyen d'un inventaire des espèces vectrices potentielles (*Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*) et de l'analyse de la communauté bactérienne présente chez ces espèces vectrices ainsi que des interactions entre bactéries et virus. Les facteurs entomologiques d'émergence du Chikungunya et d'arboviroses humaines dans l'île de la Réunion ont été identifiés grâce au suivi de la dynamique des populations de moustiques vecteurs (*Aedes*) et à l'étude de leur biologie et leur comportement.

Un projet associant les sciences sociales et médicales a permis d'analyser la gestion de l'épidémie sur l'île de la Réunion, les représentations, les connaissances mobilisées, les pratiques et de mettre en

évidence les itinéraires thérapeutiques, les facteurs de prévalence et les caractéristiques des populations les plus affectées, les attitudes face au risque.

### **Résistances et transfert de gènes**

L'émergence des phénomènes de résistances (chez les humains, les animaux, les insectes, les bactéries) peut être étudiée à travers les facteurs adaptatifs concernés (déterminismes génétiques, mutation de la résistance), les conditions de la dissémination de la résistance (due, par exemple, à l'utilisation d'insecticides, de médicaments, à de nouvelles pratiques - gestion des déchets -), à des modifications de l'environnement et des écosystèmes (naturels ou anthropisés). Ces connaissances peuvent déboucher sur la mise au point d'outils et sur de nouvelles pratiques ou stratégies de lutte.

Six projets ont été financés dans ce domaine. Ils permettent d'appréhender : les mécanismes de résistance des vecteurs grâce à l'étude du déterminisme génétique chez les diptères et à l'identification des mutations de la résistance aux insecticides en populations naturelles ; les modifications comportementales et physiologiques induites par les répulsifs chez les insectes, ainsi que les effets neurophysiologiques impliqués dans le mode d'action de ces composés et l'identification de leurs effets secondaires sur le système nerveux central des insectes et des mammifères. Les études de résistance aux insecticides ont aussi été mises en rapport avec les conditions de diffusion et de transmission du paludisme.

Plusieurs projets concernaient les bactéries à travers : l'étude des conditions de dissémination de leur résistance (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) aux antibiotiques à partir d'observations d'une population d'un village amazonien (Guyane) ; l'étude des sources environnementales des bactéries pathogènes, des conditions favorisant leur survie, leur multiplication, leur diffusion dans deux types de milieux de gestion de déchets (zones d'épandage de déchets organiques agricoles et urbains sur les terres agricoles et lagunage des eaux usées domestiques) et dans les hôpitaux. La résistance aux médicaments a été abordée à travers l'émergence d'une résistance à l'ivermectine dans la lutte contre l'onchocercose au Cameroun.

### **Bactéries, toxines et virus**

Huit projets concernent la connaissance de la distribution des bactéries et des toxines en fonction de la spécificité des milieux, la mesure de leur toxicité et les méthodes innovantes pour leur caractérisation.

L'impact de facteurs environnementaux sur la survie et la pathogénicité des légionnelles a été étudié dans diverses conditions (différentes eaux aérosolisées, matrices intra-amibiennes, différentes températures et durées). Les légionnelles survivent plus facilement dans les aérosols contenant de la matière organique et minérale. De même des études de la répartition géographique des bactéries pathogènes de l'homme dans les sols mettent en évidence leur maintenance et leur survie associées aux conséquences de l'urbanisation.

La détection de ces micro-organismes dans divers types d'environnement peut être améliorée grâce à la mise au point de systèmes intégrés et portables pour la capture sélective à haute-sensibilité de microorganismes.

L'étude des mécanismes de contamination des coquillages par des phycotoxines a permis de construire un modèle intégratif de la contamination lors de blooms phycotoxiques. Les expériences entreprises montrent une modification du comportement des huitres en fonction de l'accumulation de toxines. Il prend en compte différentes toxines et différents comportements des bivalves.

L'analyse in situ de ces toxines algales dans les prélèvements environnementaux a été améliorée par la mise au point d'un système basé sur l'intégration d'aptamères dans des micro-puces.

La distribution spatiale des cyanobactéries dans des lacs de la région d'Ile de France a été étudiée pour estimer leur production de cyanotoxines et leur toxicité potentielle. Une de ces cyanobactéries, *Microcystis aeruginosa*, a constitué un modèle d'étude pour le déterminisme de la toxicité associée à la production de cyanotoxines.

La mise au point de tests de détection des norovirus, pathogènes pour l'homme, dans l'environnement marin a été réalisée in situ et in vivo (dans les coquillages) sur la sélection de souches humaines ou animales de ces virus. Ceci afin d'améliorer la rapidité de leur détection.

Dans le domaine des techniques de mesure, la préparation de mycotoxines enrichies par des isotopes stables a permis de les utiliser comme standard pour la mesure de la qualité tout au long de la chaîne des matières premières agricoles et des produits finis.

## **Mise au point de méthodes et d'outils**

Le programme a aussi permis de structurer des recherches qui ont abouti au développement de nouvelles méthodes, notamment l'identification de nouveaux marqueurs d'expositions plus sensibles ou spécifiques et le développement de méthodes analytiques chimiques, physiques ou biologiques pour la caractérisation de contaminants et de leurs effets toxicologiques.

### **Biomarqueurs**

L'évaluation du dosage des marqueurs de l'inflammation du poumon profond par la méthode des condensats d'air expiré, l'identification de récepteurs spécifiques de l'inflammation du poumon permettent de mieux appréhender les mécanismes fondamentaux de l'asthme et des allergies respiratoires.

La caractérisation des mécanismes d'action de perturbateurs endocriniens sur l'infertilité masculine a permis de générer de nouveaux types de biomarqueurs, empreintes de l'exposition aux perturbateurs endocriniens environnementaux. Dans le cas de l'exposition aux métaux toxiques, par exemple, du cadmium, l'identification de transporteurs actifs impliqués dans la bioaccumulation et la détoxification de ce métal dans les organismes est importante pour la mise en évidence des effets toxicologiques au niveau physiologique, moléculaire et immunologique de l'exposition.

### **Mise au point de méthodes analytiques physiques ou chimiques**

La production de nouveaux types de molécules ou de particules qui peuvent devenir des contaminants dans l'environnement nécessitent l'amélioration de leur détection à l'état de traces ou d'ultra traces et de leur caractérisation au niveau physique, chimique et biologique.

La synthèse de nanoparticules et la production d'aérosols calibrés est une étape préalable à la caractérisation de surface et de structure des nanoobjets, laquelle permet l'étude de leurs effets sur les organismes au niveau cellulaire et moléculaire. La mise au point de technologies de type « puces à cellule » permet de caractériser la cytotoxicité de nanoparticules et de mettre en lien leurs effets toxiques avec leurs caractéristiques structurales. Grâce aux outils de modélisation, il a été possible de caractériser la nature du transfert des particules dans l'arbre bronchique.

De nouvelles méthodes d'imagerie ont été mises au point pour analyser les éléments traces, notamment grâce à des couplages avec des techniques d'électrophorèse sur gel pour caractériser les complexes « métal-protéine » dans les organismes.

Les proliférations de microorganismes, pathogènes ou toxigènes, dues à des variations des contraintes anthropiques et des modifications environnementales demandent à mettre au point des techniques très sensibles pour les caractériser spécifiquement. La mise au point de systèmes intégrés et portables a permis la capture sélective à haute-sensibilité de microorganismes, l'amélioration technique et moléculaire de micro-puces permet l'analyse in situ et directe d'algues toxiques. L'identification de l'action de ces toxines issues de l'environnement a demandé la mise au point de standards uniformément enrichis par des isotopes stables.

### **Méthodes intégrées, recueil de données de terrain, couplage de données, modélisation**

Les méthodes intégrées sont nécessaires pour appréhender la diversité des expositions humaines et de leurs conséquences de façon à identifier les populations et les zones sensibles ou à risques. Il est nécessaire pour cela de développer des bases de données, de coupler des données environnementales, de santé avec des données de population, afin de construire des modèles statistiques prédictifs.

Pour la compréhension de la réémergence et de l'émergence de maladies infectieuses le recueil de données de terrains (par exemple, biologie, écologie et comportement des pathogènes et des vecteurs – rats, moustiques, tiques...-), avec des données environnementales (climat, usages des terres, pratiques) et des données sociales et comportementales (habitat, pratiques sociales et modes de vie, circulations humaines) permettent de générer des modèles prédictifs utiles aux politiques de santé publique. Ces méthodes intégrées ont permis, par exemple, de mieux comprendre la réémergence et la diffusion de la peste à Madagascar.

De la même manière, comprendre les conditions d'exposition d'une population à des contaminations chimiques issues d'activités industrielles implique de coupler les données de détection et de transfert des contaminants dans les milieux, avec les modes de caractérisation des expositions des populations selon leurs caractéristiques socio-économiques et démographiques, les réponses biologiques des individus et les données de santé. Ce type d'étude a montré sa faisabilité dans l'étude de la contamination par pollution polymétallique d'une population d'une ville minière de l'altiplano bolivien.

Des approches originales basées sur la collaboration entre historiens et médecins ont permis un renouvellement de l'appréciation du poids de la silicose ou entre ergonomes, épidémiologistes et médecins ont contribué à saisir les déterminants des pathologies et des troubles de santé au travail.

### **Connaissance des populations, bases d'observations populationnelles, traitement de données**

La connaissance fines des inégalités de santé (âge, appartenance socioprofessionnelle, sexe,...) et des mécanismes qui conduisent à l'exposition des populations à des risques environnementaux, sanitaires ou professionnels mobilisent l'épidémiologie, la modélisation mathématique, les sciences de la vie et de la nature et les sciences humaines et sociales.

Les travaux financés ont permis de constituer ou de conforter de grandes bases d'observations populationnelles (cohortes, cas-témoins, registres) pour identifier les populations humaines spécifiques (populations vulnérables ou générales, professionnelles), afin de les caractériser et d'estimer, dans des suivis à long terme, les effets des facteurs environnementaux par rapport aux facteurs comportementaux et génétiques.

Parmi les 18 projets financés, s'appuyant sur de telles bases d'envergure, les travaux ont porté sur la fertilité et la fécondité, le développement de cancers, de maladies neurodégénératives, respiratoires ou infectieuses, les troubles et les pathologies liées aux travail (troubles musculo squelettiques, stress,...).

En ce qui concerne la fertilité, ces bases d'observations permettent de mesurer l'exposition aux pesticides en agriculture, d'observer les évolutions de la fertilité en France, de suivre l'impact des pesticides sur le développement intra-utérin, d'appréhender l'influence de l'exposition aux polluants atmosphériques sur la fécondabilité.

En ce qui concerne le développement de cancers, plusieurs de ces bases d'observations en population ont permis d'approcher les facteurs de risques professionnels et environnementaux des cancers du sein, les facteurs de risques environnementaux des cancers de l'enfant, les facteurs de risques professionnels des cancers du poumon des voies aéro-digestives supérieures, le rôle de l'environnement et des interactions gène-environnement dans le risque de leucémie de l'enfant et les facteurs de risque des cancers thyroïdiens différenciés du sujet jeune.

Une étude de cas témoins a permis d'analyser le lien possible entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson parmi les agriculteurs.

Trois cohortes ont permis d'aborder conjointement les effets de la pollution atmosphérique, des inégalités sociales de santé (y compris l'obésité) et leurs impacts sur la santé (asthme ou maladies cardiovasculaires).

Dans le domaine santé travail, des outils pour la surveillance et l'évaluation du poids des facteurs de risque dans la population sur les risques à long terme, ont permis de mieux caractériser les évolutions des Troubles musculo Squelettiques et les liens entre vieillissement, santé, et travail

Dans le cadre des maladies infectieuses deux enquêtes en population générale ont permis l'analyse des déterminants génétiques, biologiques et environnementaux pour suivre la survenue des premières infections palustres chez les nouveaux nés et la prévalence du paludisme en fonction de l'environnement urbain et des stratégies de lutte adaptées aux conditions sociales.

## **Santé et travail**

Grâce au financement d'une trentaine de projets, le programme SEST a permis une meilleure visibilité et un renforcement des connaissances dans le domaine santé travail. En mobilisant des approches sociologiques, historiques, anthropologiques, juridiques, ergonomiques, économiques, statistiques, épidémiologiques, cliniques, ces travaux montrent le caractère multifactoriel de l'apparition des troubles ou pathologies liées au travail et des processus permettant leur reconnaissance et leur prise en charge. L'avancée des connaissances s'appuie sur la prise en compte des dimensions cliniques, des facteurs de risques comme des contraintes qui pèsent sur l'activité et des ressources que les salariés peuvent mobiliser ou encore du contexte organisationnel.

Plus largement ces recherches ouvrent de nouvelles perspectives pour comprendre les transformations du travail, de son cadre, de son contenu.

Les différentes recherches peuvent être regroupées autour de cinq grands domaines : déterminants organisationnels, activité de travail et santé ; transformations socio-historiques des normes et de la reconnaissance des pathologies au travail ; des données, des savoirs pour agir ; caractérisation des populations et des expositions aux risques ; connaissance et prévention des Troubles Musculo Squelettiques.

### **Déterminants organisationnels, activité de travail et santé**

Nombre de pathologies au travail sont imputées à l'intensification du travail. Aussi, pour comprendre les déterminants de la santé au travail, il est nécessaire d'analyser le travail et ses transformations, les déterminants organisationnels et managériaux de l'activité, les contraintes qui pèsent sur elle et les ressources que les salariés mobilisent pour sa réalisation. Les recherches conduites dans ce domaine évoquent : l'étude de l'impact des facteurs d'organisation et individuels sur la charge cognitive des agents et sur la santé physique et mentale des salariés (spécificité de la tâche, latitude décisionnelle, soutien social, récompenses, investissement dans le travail, interférences entre vie professionnelle et vie familiale) ; la connaissance des déterminants organisationnels des risques psychosociaux (notamment symptôme d'épuisement) et des TMS chez les soignants ; le rôle des collectifs et des référentiels communs, de l'encadrement du travail dans la construction des nouvelles pénibilités ; l'étude conjointe des caractéristiques de santé des personnels, des conditions de mise en place de nouveaux dispositifs d'organisation et des modalités de leur accompagnement.

### **Transformations socio-historiques des normes et de la reconnaissance des pathologies au travail**

L'étude des sources historiques (politiques, juridiques, syndicales, patronales, scientifiques) et les comparaisons internationales, du 20ème siècle jusqu'à nos jours, permettent de mettre en évidence les règles et les pratiques qui font perdurer les dangers au travail et les inégalités de santé au travail. L'étude de la reconnaissance de la silicose comme maladie professionnelle, les comparaisons internationales, l'analyse du rôle et de l'histoire des organismes transnationaux permet de comprendre, à travers un exemple archétypal, les mécanismes de reconnaissance d'une maladie professionnelle.

Ainsi, les analyses des transformations socio-historiques des catégories d'analyse et d'action, des règles dans la reconnaissance des maladies professionnelles, du rôle des différents acteurs et du

droit mettent en évidence les tensions qui président à la production des dispositifs destinés à assurer la réparation. Dès les années soixante, la Commission européenne a pris des initiatives en matière d'harmonisation des listes de maladies professionnelles et d'indemnisation. Les travaux montrent aussi les transformations historiques des conditions d'identification ou d'objectivation (scientifique, médicales, statistique) et de prise en charge des pathologies dont le lien avec le travail est avéré ou suspecté. La négociation entre les acteurs joue un rôle central dans la production de la santé.

Les évolutions des dispositifs destinés à assurer la réparation des dommages liés aux risques professionnels, les transformations du cadre juridique et de l'expérience et les itinéraires des victimes mettent en évidence les évolutions des mobilisations collectives autour de la réparation des accidents du travail et des maladies professionnelles.

### **Des données et des savoirs pour agir**

Les conditions de production de données ou de savoirs, essentiels pour comprendre les modes d'action publique et privée, sont étudiées à travers la mise en œuvre des dispositifs statistiques, leur formes d'utilisation - par les représentants des salariés, les médecins du travail, les entreprises - et les actions de prévention générées.

A contrario, l'étude des « angles morts » de la connaissance des atteintes de la santé au travail permet de mieux comprendre selon quels processus sociaux l'invisibilité des problèmes se construit et les facteurs socio-historiques qui font varier, selon les pays, les frontières entre connaissance et invisibilité des problèmes. Ces évolutions sont marquées à la fois par les connaissances médicales et scientifique mais aussi par les transformations du travail et de l'emploi.

L'observation de l'action publique dans le domaine de la prévention des risques professionnels permet de comprendre, à partir de la situation en Provence-Alpes-Côte d'Azur, les transformations en cours marquées, à la fois, par un renouvellement des référentiels d'action entre approches épidémiologique et ergonomique, une nouvelle articulation entre la sphère d'action de la santé publique et celle des risques professionnels et de la sécurité au travail. Des enquêtes auprès des TPE dans le secteur de la restauration et de la réparation automobile montrent les spécificités de la prise en charge de la santé au travail liées à l'organisation souvent familiale et à la faiblesse de l'expertise technique de ces entreprises.

Grâce à une approche conjointe en économie et épidémiologie et à des comparaisons européennes une évaluation du coût des pathologies imputables au stress professionnel (maladies cardiovasculaires, troubles de santé mentale - dépression, syndrome anxieux -, troubles musculo-squelettiques) a permis d'approcher les fractions de pathologies attribuables, le taux d'exposition par pays et l'estimation du coût professionnel.

### **Caractérisation des populations et des expositions aux risques**

L'impact des différentes conditions de travail sur la santé physique et mentale des salariés (organisation du travail – notamment horaire de nuit - ; spécificité de la tâche, latitude décisionnelle, soutien social, récompenses, investissement dans le travail ; interférences entre vie professionnelle et vie familiale...) sur la charge cognitive des travailleurs postés a été étudié dans le secteur du contrôle aérien ou satellite. Cette étude mobilisait différentes disciplines : neurosciences, psychologie sociale, psychologie cognitive, ergonomie.

La cohorte VISAT (Vieillesse, Santé, Travail) permet le suivi de 3000 salariés actifs et retraités et fournit des éléments sur différents troubles liés au travail qu'ils concernent le sommeil, les fonctions cognitives, la consommation de substances psychoactives, la pénibilité ressentie, la sortie précoce de l'emploi. Elle montre que certains troubles sont réversibles, tels les troubles du sommeil ou de la mémoire épisodique dus au travail posté, qui disparaissent lors du changement de situation professionnelle. Elle montre aussi que les salariés qui ne se sentent pas capables d'occuper leur emploi jusqu'à la retraite ont un risque deux fois et demi supérieur d'être en arrêt maladie ou au chômage 5 ans plus tard et un risque 30% supérieur d'être à la retraite ou en pré-retraite à la même période.

Plusieurs facteurs de causalité jouent sur le lien entre pénibilité du travail, santé et départ en retraite : situations individuelles, conditions de marché du travail, contextes institutionnels et économiques

nationaux. Le traitement de plusieurs enquêtes statistiques françaises ou européennes permet de mettre en perspective ces facteurs avec le rôle des mauvaises conditions de travail, de la satisfaction au travail ou encore de l'état de santé en fin de vie active sur les souhaits et les décisions d'âge de départ en retraite.

### **Connaissance et prévention des Troubles Musculo Squelettiques**

Première pathologie professionnelle, les Troubles Musculo Squelettiques (TMS) ont été étudiés à travers des approches épidémiologiques qui ont exploré leur lien avec l'environnement de travail, des approches cliniques et du point de vue des outils de surveillance et de prévention. Les trois projets financés concernent : l'évaluation physiologique des conséquences de la pathologie en termes de compression du nerf et de microcirculation cutanée afin d'améliorer la compréhension du syndrome du canal carpien ; l'analyse des différents facteurs de risque associés aux TMS (susceptibilité individuelle, facteurs biomécaniques, organisationnels et psychosociaux) ; l'appréhension des causes, grâce à la mise en place d'outils de surveillance en entreprise, à l'étude du poids des expositions et de leur rôle dans les inégalités de santé ou grâce à l'analyse des risques à long terme.

Ces recherches permettent notamment d'examiner la pertinence des modèles de risque de TMS au regard de la prévention et de confronter les apports réciproques de l'ergonomie et de l'épidémiologie.

## **Santé, environnement : dynamiques sociales des risques, déterminants sociaux de la santé et de la maladie, représentations et pratiques face aux épidémies**

Les approches en sciences humaines et sociale dans le domaine santé environnement ont permis des apports dans le domaine des dynamiques sociales à l'œuvre dans la construction des risques comme objet d'action publique, dans les déterminants sociaux de la santé ou de la maladie, et dans les représentations et les pratiques face aux épidémies.

### **Dynamiques sociales des risques : victimes, expertises, normes, réparation**

Depuis les années 1990 les risques sanitaires sont marqués par deux grands types d'évolutions. Le premier concerne l'espace public qui se trouve confronté à la multiplication des alertes et des controverses, voir des procès, à l'apparition de collectifs de victimes. Le second concerne la gestion de la sécurité sanitaire caractérisée par une mobilisation accrue de l'expertise scientifique et le renouvellement de son organisation, ainsi que par des transformations du dispositif institutionnel. Ces évolutions se sont accompagnées de questionnements autour des dispositifs de gestion des risques ou de réparation des dommages et sur les modalités de définition des normes qu'elles soient juridiques, techniques, scientifiques ou sanitaires.

Le travail d'animation et de mobilisation de la recherche conduit dans le cadre du programme/Gis Risques collectifs et situations de crise (1994/2004) a montré la pertinence de ce thème pour la recherche en sciences humaines et sociales.

Les quatre projets financés dans le cadre du programme SEST se sont attachés à l'étude de différents dossiers : pollutions atmosphériques urbaines, pesticides, incinérateurs, risques et maladies professionnelles, accidents médicaux, sang contaminé, hormones contaminées, essais nucléaires, radioactivité, nanoparticules. Ils ont permis des avancés sur des questions telles que les processus impliqués dans la visibilité publique (ou dans l'invisibilité) des risques et problèmes, les mécanismes d'imputation des causes et de constitution des preuves, l'expérience et le statut des victimes, les mobilisations, les évolutions des institutions en charge de l'expertise, de la gestion et de la réparation, les débats publics.

Une enquête auprès des vétérans des essais nucléaires sur l'impact sanitaire permet de comprendre la dynamique des controverses en santé environnementale et en santé au travail, lesquelles sont

marquées par les incertitudes liées aux mécanismes causaux, par une période de latence entre l'exposition et par l'apparition des premiers symptômes de la maladie. Cette enquête permet aussi de mieux comprendre les ambivalences du statut de victime.

La question des effets des expositions aux faibles doses est un sujet de controverse qui se pose dans de nombreux dossiers dans le champ de l'environnement et de la santé. Les études conduites ont permis de mettre en évidence l'histoire des modèles scientifiques (relation dose-effet), les transformations des controverses entre experts, les mobilisations publiques et associatives, les modes de traitement médiatiques ainsi que les contraintes produites par les controverses et par les mobilisations sur la décision publique à partir de l'analyse comparée de trois grands dossiers : radioactivité, pesticides, nanoparticules.

L'étude conjointe de l'expérience et des itinéraires des victimes, des modalités de leur mobilisation en tant collectif, de leur relations avec les institutions judiciaires, médicales ou en charge de la réparation et des débats parlementaires, judiciaires ou médiatiques, ont permis une avancé des connaissances dans deux domaines. Le premier concerne les processus par lesquels les victimes se reconnaissent en tant que victime et s'inscrivent dans une mobilisation collective dont les caractéristiques peuvent être analysées du point des liens avec les institutions ou de leur fonctionnement (démocratie interne, lien avec les bienfaiteurs, intégration de nouveaux membres). Le second concerne les évolutions des débats qui peuvent passer du déni à la compassion pour les victimes. Cette étude a aussi permis une comparaison entre les dossiers des accidents du travail et les accidents médicaux.

Les conséquences de la mise en place du dispositif de sécurité sanitaire ont été étudiées dans trois secteurs d'activité que sont les incinérateurs d'ordures ménagères, les pesticides et la pollution atmosphérique urbaine. Ces études portaient sur la régulation de ces activités et leur capacité à prendre en compte des préoccupations sanitaires : comparaison des indicateurs de mise sur agenda, scientifiques concernés, nature des risques et des acteurs qui portent les alertes, médiatisation et configuration des coalitions soutenant l'idée d'un risque, actions ou décisions prises.

Ces études montrent que le dispositif de gestion des risques contribue à concentrer les controverses et les critiques sur les agences, notamment pour les dossiers présentant de fortes incertitudes. Elles mettent aussi en évidence que les risques n'émergent pas en dehors des systèmes en charge de leur régulation que ceux-ci concernent les secteurs industriel, agricole, environnemental ou des transports ; le dispositif de gestion des risques s'apparente plus à un processus de normalisation (centré sur l'organisation de l'expertise et sur la transparence) et peine ainsi à jouer un rôle d'alerte. Les controverses tendent à se développer en dehors des dispositifs institutionnels et à se déplacer vers l'espace médiatique, politique, associatif, voire judiciaire. Ces études permettent aussi d'observer les logiques qui conduisent au « confinement » ou à l'invisibilité sociale d'un dossier.

### **Déterminants sociaux de la santé et de la maladie**

Les conditions de constitution de symptômes en « entité clinique » à travers l'étude du cas des allergies et les déterminants sociaux de l'état de santé ont été abordés dans 3 projets.

Les conditions qui rendent possibles (ou non) la constitution des allergies en dispositifs de santé publique peuvent être analysées à travers la dynamique interne au champ médical pour laquelle les allergies se constituent en enjeu scientifique et professionnel pour des médecins libéraux et hospitaliers qui formalisent l'allergie en tant « qu'entité clinique » et cherchent à développer un domaine de spécialité et, à travers un mouvement social, porteur de revendications et promoteur de solutions sociales liées au « problème des allergies », qui remplissent une fonction de socialisation des malades en élaborant une « identité sociale » autour de ces maladies. Ce processus est aussi marqué par une perception de l'environnement comme se dégradant.

Le recours aux soins est un des facteurs déterminants de l'état de santé d'une population. Une analyse quantitative à partir de la base de données des Centre d'examen de santé financées par l'Assurance maladie et qualitative auprès de consultants de Centre d'examen de santé de la région Rhône Alpes (150 personnes) a permis d'analyser les relations entre faible recours aux soins et

précarité d'emploi et de revenu. Si les inégalités de santé sont fortement associées à l'absence d'assurance complémentaire santé et à des variables socioéconomiques, elles sont aussi liées à l'environnement social de l'individu : l'isolement et l'absence de responsabilité familiale. Les individus sans support social et sans responsabilité d'autrui sont davantage vulnérables au non recours au soin.

Une étude a permis d'appréhender les liens entre les spécificités de l'environnement construit et l'activité physique grâce à l'analyse des différents paramètres (accessibilité, continuité, connectivité, perméabilité, lisibilité) contribuant à diminuer ou à augmenter la pratique de la marche. Elle s'appuie sur des comparaisons entre la France et la Suisse et mobilise des approches urbanistiques, des systèmes d'information géographique, des enquêtes ethnographiques.

### **Gestion des épidémies : représentations, connaissance, pratiques**

La connaissance des représentations, des perceptions, des attitudes et des comportements des populations et des différents acteurs face aux risques de contamination, aux actions de prévention, aux stratégies thérapeutiques et de lutte est essentielle à la compréhension des situations épidémiques.

L'épidémie de chikungunya qui a sévit sur l'île de la Réunion à partir d'avril 2005 a surpris par sa gravité et a laissé les professionnels de santé et les populations relativement démunies face à l'absence de traitement approprié. L'analyse de la gestion, des représentations, des connaissances mobilisées, des pratiques lors de l'épidémie, s'est appuyée sur des approches conjointe en sciences sociales et médicales. Des enquêtes, réalisées deux années après l'épidémie, auprès des populations, des professionnels de santé et des institutions ont mis en évidence la diversité des itinéraires thérapeutiques mêlant automédication, usage des plantes et consultation du médecin, observation pouvant être mise en rapport avec la diversité culturelle de l'île et l'ancienneté du pluralisme médical. Les personnes âgées, faiblement scolarisées, présentant un niveau socioprofessionnel peu élevé ont des facteurs de prévalence plus importants et ont fait partie des populations les plus affectées. Si la majorité de la population enquêtée valorisent fortement le risque, en revanche, elle se sent personnellement peu concernée, en dépit de la mise en œuvre des conseils de prévention (élimination des gîtes larvaires). Pour ces personnes, la protection apparaît plus liée à l'immunité, à la vulnérabilité ou encore à la chance qu'aux comportements de prévention.

L'hétérogénéité socio-spatiale des risques d'infection, des vulnérabilités et des pratiques de recours aux soins a été étudiée pour le cas du paludisme, grâce à deux enquêtes combinées conduites en population générale à Dakar : une enquête biologique d'exposition aux risques de piqûres d'anophèles et de prévalence du paludisme et une enquête socio-comportementale sur la morbidité ressentie et l'accès aux soins auprès de 3000 personnes. Elles ont permis de recueillir des données qui ont été complétées par un système d'information géographique, utilisant l'analyse d'image satellite. Les résultats font apparaître une prévalence du paludisme d'environ 10%, variant selon des facteurs biogéographiques : présence de zones humides, existence de gîtes larvaires. Les risques épidémiologiques se conjuguent très souvent avec les vulnérabilités sociales et économiques des populations. Les conseils de voisinages, les structures médicales et la présence d'équipements sanitaires dans les quartiers jouent un rôle protecteur.

Denis Hémon, directeur de recherche, INSERM, président du comité d'évaluation du programme SEST 2005 - 2007

Pierre Caumette, responsable des programmes SEST (Santé-Environnement et Santé-Travail) et CES (Contaminants Ecosystèmes Santé), département Biologie Santé, Professeur de Microbiologie, université de Pau

Catherine Courtet, coordinatrice scientifique, département sciences humaines et sociales, coordinatrice scientifique du programme SEST (Santé-Environnement et Santé-Travail), ancienne responsable du volet recherche du PNSE1 et du PST2

## OBJECTIFS DU COLLOQUE

Le colloque Bilan et perspectives a pour objet de faire le point sur les principaux résultats scientifiques de l'édition 2007, de faire un bilan de l'ensemble du programme et de définir de nouvelles perspectives de recherche.

Le programme est organisé en 5 modules :

- Rôle de l'environnement dans l'émergence et la réémergence des maladies infectieuses : les agents pathogènes et leurs vecteurs ; bactéries et toxines
- Facteurs environnementaux et impacts sur la santé : allergies et maladies respiratoires, inflammation ; perturbateurs endocriniens, résidus pharmaceutiques, pollutions atmosphériques
- Santé, travail et autres déterminants sociaux
- Facteurs environnementaux et impacts sur la santé : environnement et cancers : facteurs de risques ; effets des rayonnements, mécanismes moléculaires ; effets des nanomatériaux et des contaminants chimiques
- La construction sociale de l'expertise

## COMITE DE PILOTAGE SCIENTIFIQUE DU COLLOQUE

Denis Hémon, directeur de recherche, INSERM, président du comité d'évaluation du programme SEST 2005 - 2007

Marina Petrolani, directeur de recherche INSERM, directeur du laboratoire « Epidémiologie et physiopathologie de l'insuffisance respiratoire », faculté de médecine Xavier Bichat

Marcel Filoche, directeur de recherche CNRS, laboratoire de physique de la matière condensée, Ecole polytechnique

René Bally, directeur de recherche CNRS, Université de Lyon 2, vice-président du comité d'évaluation du programme SEST 2006 - 2007

Michel Gollac, directeur du laboratoire de sociologie quantitative du Centre de recherche en économie et statistiques

Noël Tordo, directeur de l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes, Institut Pasteur

Pierre Louis Toutain, directeur de l'unité INRA « Physiopathologie et toxicologie expérimentale », Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Gilles Aumont, directeur de recherche, INRA

André Guillouzo, professeur, INSERM U991, Université de Rennes 1

Yves Clot, professeur, CNAM

Martine Hossaert, directeur scientifique adjoint, Institut National Ecologie et Evolution, CNRS

Marie Thérèse Ménager, Programmes Technologies pour la Santé & Toxicologie, CEA

Anne-Hélène Prieur-Richard, directeur adjoint, Diversitas

Jean François Guegan, directeur de recherche, IRD

## RESPONSABLES ANR

Pierre Caumette, responsable des programmes SEST (Santé-Environnement et Santé-Travail) et CES (Contaminants Ecosystèmes Santé), département Biologie Santé, Professeur de Microbiologie, université de Pau

Catherine Courtet, coordinatrice scientifique, département sciences humaines et sociales, coordinatrice scientifique du programme SEST (Santé-Environnement et Santé-Travail)

## **RESUMES DES PROJETS 2006-2007**

## ROLE DE L'ENVIRONNEMENT DANS L'ÉMERGENCE OU LA REÉMERGENCE DE MALADIES INFECTIEUSES

L'augmentation des activités anthropiques et les évolutions des écosystèmes qu'elles entraînent, ont un effet sur l'émergence ou la re-émergence d'agents pathogènes (micro-organismes, bactéries, virus), leur virulence, l'évolution de leurs hôtes et la diffusion ou l'apparition de maladies infectieuses. Aussi, il est nécessaire de renforcer les connaissances de l'impact des modifications de l'environnement (abiotique et biotique) sur la dynamique des agents infectieux, quel que soit le milieu : hospitalier, urbain, péri-urbain, industriel ou agricole...

Cette problématique soulève de nombreuses questions concernant : l'origine des agents pathogènes ; leur niche écologique (hôtes-réservoirs et vecteurs) ; les conditions de leur développement ; leur dynamique et leur distribution spatio-temporelle ; les déterminants de la virulence à l'échelle micro-évolutive et génomique, leur biogéographie en lien avec les modifications environnementales ou bioclimatiques.

Pour aborder ces questions, les observations, les enquêtes, les mesures, le couplage des données (environnementales, de santé,...) sont nécessaires, de même que la mise au point de modèles (théoriques et appliqués) des paramètres de l'émergence, de la propagation, de la diffusion, de la virulence ou de la résistance, afin de mieux appréhender l'écologie et la dynamique *in situ* de ces agents pathogènes et de renseigner les politiques de lutte et de contrôle sur les stratégies les plus optimales.

Des connaissances sont aussi indispensables dans les domaines des mécanismes moléculaires, cellulaires et tissulaires des agents et des pathologies développées, ainsi que dans ceux des caractéristiques individuelles, biologiques ou génétiques des populations et des facteurs associés (immunitaires, autres pathologies...).

Les apports conjoints de l'épidémiologie, de la médecine, de l'infectiologie, de l'entomologie, de l'écologie, de la biologie évolutive, des sciences humaines et sociales et des mathématiques est à l'origine d'avancées très significatives dans l'étude intégrative de la diffusion des pathogènes et des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes. Ces travaux débouchent notamment sur des avancées en matière de modélisation intégrée constituant de nouvelles bases pour les politiques de santé.

Ces nouvelles approches nécessitent en effet des collaborations pluridisciplinaires propices analyses intégratives à différentes échelles spatiales et temporelles : de la biodiversité des agents infectieux, des réservoirs et des vecteurs dans les écosystèmes ; de la circulation des agents infectieux et des processus de passage d'un espèce hôte à une autre, dont l'humain, par l'étude en particulier des diversités génétiques et de leurs différentiels d'expressions phénotypiques ; des processus d'adaptation des organismes aux biocides, aux vaccins, aux mécanismes de défense de l'hôte ; des caractéristiques des écosystèmes et des pratiques de gestion ; des caractéristiques démographiques, sociales et sanitaires des populations ; des modes d'organisation des sociétés, y compris des systèmes de soins, des politiques publiques ; des pratiques sociales et des modes de vie et de gestion de l'espace.

De nombreuses maladies infectieuses sévissant en zone tropicale ont un impact considérable sur les populations, du sud comme du nord, en termes économiques et de santé publique. Elles constituent aussi de bons modèles pour le développement d'approches intégratives et de modélisation. Plus généralement, les méthodes appliquées aux terrains de recherche des pays du Sud (intégration pluridisciplinaire, approches en termes de développement) peuvent contribuer au renouvellement des approches.

Outre un accroissement des connaissances fondamentales, ces travaux peuvent déboucher sur l'amélioration des stratégies de prévention compatibles avec l'environnement et la santé humaine.

Les résultats des recherches financées<sup>6</sup> dans le cadre du programme SEST ont montré la pertinence de l'étude du rôle de l'environnement et de ses modifications dans la dynamique des agents pathogènes et de leurs vecteurs pour :

- renouveler l'étude de l'émergence-réémergence, de la diffusion des maladies infectieuses ;
- caractériser les facteurs environnementaux<sup>7</sup> qui influent sur la pathogénicité des virus, des micro-organismes et des toxines ;
- contribuer à mieux comprendre les interactions entre les différentes composantes du vivant et les différentes caractéristiques de l'environnement, y compris en termes de résistance et d'adaptation ;
- adapter les stratégies de prévention, les méthodes prophylactiques et les différents moyens de lutte (anti vectoriel, méthodes de prophylaxies sanitaires et vaccinales) contre les vecteurs, les hôtes-réservoirs et les pathogènes.

L'édition 2007 de l'appel à projets SEST a permis de financer des projets sur la connaissance des agents infectieux, de leurs vecteurs et de leurs espèces hôtes ainsi que sur les bactéries et les toxines.

---

<sup>6</sup> Les projets ont mobilisé des chercheurs de l'IRD, du CNRS, de l'INSERM, des Instituts Pasteur, de l'INRA, du CIRAD, des universités, en collaboration avec de nombreux chercheurs et laboratoires étrangers.

<sup>7</sup> Les facteurs environnementaux concernant à la fois l'utilisation des sols et des espaces, l'habitat, les ressources naturelles, la biodiversité, les modes de vie et de production, les flux de populations et de marchandises,...

## Les agents pathogènes et leurs vecteurs

La connaissance de la dynamique des maladies infectieuses passe par des recherches sur les agents pathogènes, leurs vecteurs ou leurs espèces réservoirs, ainsi que sur les conditions bioécologiques et leurs évolutions. L'émergence des phénomènes de résistances (chez les humains, les animaux, les insectes, les bactéries) peut être étudiée à travers les facteurs adaptatifs concernés (déterminismes génétiques, mutation de la résistance), les conditions d'apparition et de dissémination de la résistance (due, par exemple, à l'utilisation d'insecticides, de médicaments, à de nouvelles pratiques comme la gestion des déchets), à des modifications de l'environnement et des écosystèmes (naturels ou anthropisés).

Les travaux conduits dans l'édition 2007 concernent le rôle des migrations de populations humaines dans l'adaptation de l'agent du paludisme (malaria), des polluants dans la tolérance des moustiques aux traitements, des modifications des mécanismes de transmission des vecteurs ayant développé des résistances aux insecticides, du rôle de l'émergence de résistance aux insecticides sur la persistance de foyers sauvages de vecteurs.

- L'analyse du génome du principal agent du paludisme (*Plasmodium falciparum*), sévissant en Amérique du Sud, permet de reconstituer l'histoire de son introduction via les populations africaines qui ont été exilées lors de colonisations, de son adaptation aux populations humaines locales d'Amérindiens, et, plus récemment, de son adaptation aux traitements antipaludéens. (F. Prugnolle)
- Les eaux dans lesquelles les larves de moustiques se développent sont fréquemment contaminées par des polluants (herbicides, pesticides, métaux, HAPs). Ces éléments peuvent même à faibles doses, induire une augmentation significative de la tolérance des moustiques aux insecticides en particulier. Des expositions répétées peuvent moduler la sélection des gènes par les insecticides. (J.-P. David)
- Les moustiques vecteur du paludisme, ayant développé des mécanismes de résistance aux traitements insecticides sur longues périodes, développent des capacités de transmission de la maladie plus importantes. (A. Rivero)
- Les analyses génétiques des populations de l'agent de la maladie de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), transmis par des punaises hématophages en Amérique latine, montrent une large distribution de foyers sauvages en dépit des opérations de lutte. Cette répartition dépend des mécanismes de résistances aux insecticides. (F. Brénière)
- Deux enquêtes combinées ont été conduites en population générale à Dakar : une enquête biologique d'exposition aux risques de piqûres d'anophèles et de prévalence du paludisme et une enquête socio-comportementale sur la morbidité ressentie et l'accès aux soins auprès de 3000 personnes. Elles ont permis de recueillir des données qui ont été complétées par un système d'information géographique, utilisant l'analyse d'image satellite. Les résultats font apparaître une prévalence du paludisme d'environ 10% variant selon des facteurs biogéographiques : présence de zones humides, existence de gîtes larvaires. Les risques épidémiologiques se conjuguent très souvent avec les vulnérabilités sociales et économiques des populations. Les conseils de voisinages, les structures médicales et la présence d'équipements sanitaires dans les quartiers joue un rôle protecteur. (R. Lalou)

## Origine et adaptation de *Plasmodium falciparum* - agent de la malaria - à de nouveaux environnements

Franck Prugnolle<sup>1</sup>, Erhan Yalcindag<sup>1</sup>, Eric Elguero<sup>1</sup>, Celine Arnathau<sup>1</sup>, Eric Legrand<sup>2</sup>, Bernard Carme<sup>3</sup>, Christine Chevillon<sup>1</sup>, Patrick Durand<sup>1</sup>, François Renaud<sup>1</sup>

Il est communément admis que *Plasmodium falciparum*, l'agent principal de la malaria chez l'homme, a colonisé le continent sud-Américain dans les 500 dernières années, au moment de la traite des noirs. Au cours de cette colonisation, le parasite a dû s'adapter à de nouvelles conditions environnementales telles que de nouvelles populations humaines (e.g. populations amérindiennes) et une nouvelle espèce de vecteur (*Anopheles darlingi*). Plus récemment, il a aussi dû s'adapter aux traitements antipaludéens.

L'objectif majeur de notre projet était donc de déterminer, mais aussi de comprendre l'évolution, en Amérique du Sud, des régions du génome de *P. falciparum* qui ont joué un rôle dans l'adaptation à ce nouvel environnement, aussi bien vecteur qu'humain.

### Méthode

Pour réaliser ce type d'analyses, une première étape consiste tout d'abord à comprendre l'histoire démographique des populations analysées et son effet sur la distribution du polymorphisme. Puis, sur cette base, il s'agit ensuite de rechercher les zones du génome ayant connu des événements de sélection positive récents.

### Principaux résultats

Concernant l'origine et l'histoire démographique des populations de *P. falciparum* en Amérique du Sud, nous avons pu démontrer qu'elles étaient très vraisemblablement issues de deux introductions indépendantes à partir de l'Afrique. Une introduction au nord du continent Sud Américain, vraisemblablement liée à la traite des noirs engagée par l'empire espagnol entre le 15<sup>ème</sup> et le 19<sup>ème</sup> siècle, et une introduction Sud liée à la traite engagée par l'empire portugais. Ces deux introductions, qui se sont accompagnées d'effets de fondations forts, sont à l'origine de la faible diversité génétique observée en Amérique du Sud et de la sous-structuration du parasite en deux clusters génétiques distincts, formant une zone hybride allant du Venezuela au nord du Pérou.

Concernant l'adaptation de *P. falciparum*, le scan génomique qui devait être initialement réalisé sur la base de 3000 SNPs n'a pu l'être du fait de problèmes techniques. Nous avons donc dû revoir nos objectifs à la baisse en ne génotypant que 384 SNPs dans les populations sud Américaines. Cette analyse nous a toutefois permis de mettre en évidence l'existence d'une sélection positive récente sur plusieurs gènes et notamment dans le gène EBA 175, un gène jouant un rôle dans l'invasion des globules rouges par le parasite. Cette sélection a certainement joué un rôle dans l'adaptation du parasite aux nouvelles populations humaines infectées en Amérique du Sud.

<sup>1</sup> Laboratoire MIVEGEC, UMR 224-5290 CNRS-IRD-UMI, IRD Montpellier

<sup>2</sup> Laboratoire de parasitologie, Centre National de Référence de la Chimiorésistance du Paludisme aux Antilles – Guyane Institut Pasteur de la Guyane - Cayenne

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CH de Cayenne

franck.prugnolle@ird.fr; erhan.yalcindag@ird.fr; eric.elguero@ird.fr; celine.arnathau@ird.fr; elegrand@pasteur-cayenne.fr; carme.bernard@wanadoo.fr; christine.chevillon@ird.fr; patrick.durand@ird.fr; francois.renaud@ird.fr

## **Interaction gènes-environnement et résistance aux insecticides chez les moustiques (MOSQUITO-ENV)**

Jean-Philippe DAVID, Chargé de Recherche CNRS, jean-philippe.david@ujf-grenoble.fr  
Laboratoire d'Ecologie Alpine de Grenoble (LECA), UMR 5553 CNRS-Université de Grenoble.

Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies infectieuses et ont un impact important sur la santé et le développement. Afin de réduire leur nuisance, les populations sont généralement contrôlées par des traitements insecticides. L'utilisation massive d'insecticides chimiques depuis les années 50 a favorisé l'apparition de phénomènes de résistance, conduisant parfois à l'échec des programmes de lutte anti-vectorielle. Or, les eaux dans lesquelles les larves de moustiques se développent sont fréquemment contaminées par des polluants d'origine anthropique comme les herbicides et pesticides, métaux ou bien HAPs. Aujourd'hui, l'impact de ces perturbations chimiques sur la capacité des moustiques à résister aux insecticides reste méconnue.

### **Objectifs**

Dans ce contexte, le projet ANR « MOSQUITO-ENV » du programme SEST 2007 visait à étudier les relations entre la capacité des moustiques à résister aux insecticides chimiques et la présence de polluants dans leur milieu.

Les deux principaux objectifs du projet étaient définis comme suit :

- Etudier l'effet à court terme (sur une seule génération) des polluants sur la capacité des moustiques à tolérer les insecticides et identifier les mécanismes moléculaires associés.
- Etudier l'effet à long terme (sur plusieurs générations) des polluants sur la capacité des moustiques à résister aux insecticides et identifier les mécanismes moléculaires associés.

### **Principaux résultats**

Pour atteindre ces objectifs, des expérimentations ont été réalisées au laboratoire incluant des expositions à court terme (une seule génération) mais aussi des expositions à plus long terme (plusieurs générations) couplées ou non avec des traitements insecticides. Au niveau analytique, ce projet a adopté une approche multidisciplinaire combinant un large éventail de disciplines comme l'éco-toxicologie, la biochimie, la transcriptomique et la biologie fonctionnelle.

Les résultats obtenus au cours de ce projet montrent qu'une exposition courte des moustiques à de faibles doses de polluants peut induire une augmentation significative de leur tolérance aux insecticides chimiques. Les analyses moléculaires montrent que les mécanismes moléculaires impliqués dans cette augmentation de tolérance reposent sur des changements métaboliques des moustiques en réponse à l'exposition aux polluants avec un rôle important des enzymes de biodégradation.

D'autres expérimentations effectuées sur plusieurs générations montrent qu'une exposition répétée de populations de moustiques à des polluants couplée à des traitements insecticides peut moduler la sélection des gènes par les insecticides.

La validation fonctionnelle du rôle des gènes impliqués dans la résistance aux insecticides et leurs interactions avec les polluants a été initiée et devra être poursuivie au-delà du projet. Ces travaux faciliteront aussi le développement de nouvelles molécules insecticides et contribueront à l'optimisation de la gestion de la résistance des moustiques aux insecticides en prenant en compte le rôle des polluants environnementaux.

## Résistance aux insecticides – quel est son vrai impact sur la transmission de la malaria ?

Ana Rivero, MIVEGEC (UMR CNRS 5290), IRD, Montpellier

Parmi les maladies infectieuses humaines les plus graves, un grand nombre (malaria, dengue, filariose, ...) sont transmises par des moustiques. Les insecticides sont largement utilisés depuis les années quarante pour contrôler les pullulations de ces moustiques et des maladies qu'ils véhiculent.

### Principaux résultats

Différents mécanismes de résistance aux insecticides ont rapidement été sélectionnés chez de nombreuses espèces et en particulier chez les moustiques du genre *Anopheles* (vecteur de la malaria humaine). On pourrait s'attendre à ce que la résistance aux insecticides, en augmentant la taille des populations de moustiques (la *quantité* de vecteurs), augmente aussi la transmission de ces maladies. Cependant, des études récentes montrent que la résistance aux insecticides pourrait affecter aussi la *qualité* de ces vecteurs. Où dans d'autres termes : les moustiques résistants aux insecticides pourraient être de pires (ou des meilleures) vecteurs de la malaria que les moustiques sensibles. L'objectif de cet ANR est de répondre à cette question qui peut avoir des conséquences importantes en santé publique.

# Le nouveau paradigme de la Maladie de Chagas en Amérique du sud du aux populations sylvestre *Triatoma infestans*, vecteur principal en Amérique du Sud

Simone Frédérique Brenière

Equipe INCHA\*: François Noireau (Coordinateur, DR2), Simone Frédérique Brenière (co-  
coordinateur, DR2, Frederique.Breniere@ird.fr), Christian Barnabé<sup>1,2</sup> (IR,  
Christian.Barnabe@ird.fr), Philippe Brémond<sup>1,3,8</sup> (CR1, Philippe.Bremond@ird.fr), Etienne  
Waleckx<sup>1,4</sup> (Post doc, etiennewalex@yahoo.fr), Stéphanie Depickère<sup>1,5</sup> (Post doc,  
stephanie.depickere@gmail.com).

Environ 10 millions de personnes sont infectées par *Trypanosoma cruzi*, l'agent de la maladie de Chagas, transmis par des punaises hématophages (Triatominae) en Amérique Latine. Les pays du Cône Sud ont été les plus durement frappés mais les opérations de lutte contre le vecteur principal *Triatoma infestans* ont été un succès. Néanmoins, en Bolivie, la découverte (étendue depuis le début du projet au Chili, à l'Argentine et au Paraguay) de foyers sauvages de *T. infestans* dont la tendance synanthropique est mal connue, a débouché sur une problématique prioritaire développée dans le cadre du projet TiBo.

## Principaux résultats

L'effort de recherche active des populations sauvages de ce vecteur sur toute son aire d'endémie en Bolivie a permis de démontrer (i) l'existence d'une large distribution de foyers sauvages de *T. infestans* sylvestres, principalement dans deux écorégions « Bosque seco inter andino » (forêt sèche inter-antine, en altitude) et « Gran Chaco » (tropical sec, basses terres) et (ii) la stabilité de ces foyers sylvestres dans le temps. Les résultats des analyses de génétique des populations ont permis d'argumenter en faveur d'une nouvelle origine de *T. infestans*, de son expansion avant la venue de l'homme et d'une domestication ubiquiste de l'espèce.

Le suivi entomologique systématique dans cinq aires « partagées », comprenant l'habitat humain (domicile et péri-domicile) et l'environnement sylvestre proche, a abouti à une évaluation précise de la cinétique de la ré-infestation des zones habitées et des risques que les populations sylvestres représentent, ceci grâce à l'analyse spatiale, celle du comportement humain, celle de la sensibilité des vecteurs aux insecticides et celle de génétique des populations. La ré-infestation post-traitement insecticide des habitations, dans les espaces domiciliaire et/ou péri-domiciliaire, est plus intense dans le Gran Chaco, où un processus de résistance aux insecticides jouerait un rôle important, et bien effective dans les Andes, où interviendrait surtout un déplacement de triatomes sylvestres vers l'habitat humain.

Le fort taux d'infection des populations andines de *T. infestans*, porteuses dans leur grande majorité de la DTU (discrete typing unit) TcI de *T. cruzi*, amène à alerter les autorités en charge du contrôle des vecteurs sur la vaste distribution de populations sylvestres capables de se déplacer de leur milieu naturel vers les habitations et porteuses du parasite à une fréquence élevée. Ces populations de *T. infestans* peuvent donc être responsables de la persistance de la transmission vectorielle de la maladie de Chagas, en Bolivie et ailleurs.

Etudiants : Rosio Buitrago (Doctorant, rosiob8@gmail.com) <sup>1,2,6</sup>, Sergio Quisberth<sup>1,4</sup> (Master, ser\_barr@hotmail.com), Nerida Huaman<sup>4</sup> (Master, neridanadia@gmail.com), Marianne Baume<sup>1,6</sup> (Master, mariabaune@yahoo.fr), Marinely Bustamante<sup>1,7</sup> (Master, marinelybustamante@gmail.com).

Professionnels boliviens sous contrat TiBo : Claudia Aliaga<sup>1,2</sup> (biologiste, aliagaclau@yahoo.es), Mario Arrien<sup>9</sup> (sociologue), Fabian Benavidez<sup>9</sup> (sociologue, Fabian\_Aymara@yahoo.com), Hiber Calle<sup>1,7</sup> (technicien, hiber calle@gmail.com), Mario Charrière<sup>1,8</sup> (Ingénieur Génie Rural Eaux et Forêts, charrieremario@yahoo.fr), Pamela Cossio<sup>8</sup> (agronome), Marcelo Monje<sup>1,3,8</sup> (informaticien,

e\_marcelo\_monje\_salazar@hotmail.com), Esdenka Perez<sup>2,4</sup> (biologiste, esden.biogen@gmail.com), Renata Salas<sup>1,4,7</sup> (biologiste, renabacci2@yahoo.es), Victor Sossa<sup>3,8</sup> (biologiste, cruzsur\_gamata@hotmail.com).

INLASA (Institut Nacional de Laboratorios de Salud, La Paz) : Tamara Chavez<sup>5</sup> (entomologiste, chaveztamy@yahoo.com), Eda Siñani<sup>6,7</sup> (technicienne, edda-sp26@hotmail.com), Ronald Lopez<sup>5</sup> (biologiste, zelopr@hotmail.com).

Programme National Chagas, La Paz : Mirko Rojas<sup>1</sup> (entomologiste, rojascortez@gmail.com).  
UMSS (Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba), IIBISMED : Lineth Garcia<sup>1,2</sup> (Biologiste PhD, lineth.garcia@gmail.com).

SEDES (Servicio Departamental de Salud, La Paz et Santa Cruz) : Roberto Vargas<sup>1</sup> (Directeur programme Chagas), Nestor Suarez<sup>1</sup> (Superviseur technique, nestor\_sua@hotmail.com), Boris Chang<sup>1</sup> (responsable technique, borismedic@hotmail.com), Pablo Vidaurre<sup>1</sup> (superviseur technique, pevidaurrep@hotmail.com), Elio Mamani<sup>1</sup> (technicien).

Fonctions dans le projet : 1) Travaux de terrain, 2) Génétique des populations de parasite, 3) Systèmes d'information géographique, 4) Génétique des populations de vecteur, 5) Sensibilité des populations de vecteur aux insecticides, 6) Origine des repas sanguins des vecteurs, 7) Biologie des vecteurs, 8) Bases de données, 9) Anthropologie.

# Les paludismes et leurs contextes urbains à Dakar : hétérogénéité socio-spatiale des risques d'infection, des vulnérabilités et des pratiques de recours aux soins

Richard Lalou 3, Stéphanie Dos Santos 3, Jean-Yves Le Hesran 1, 2  
Richard.Lalou@univ-provence.fr  
Stephanie.dossantos@ird.fr  
Jean-yves.lehesran@ird.fr

Le paludisme pèse lourdement sur la santé et le développement des populations africaines, qu'elles soient rurales ou urbaines. Jusqu'à récemment, le milieu urbain était perçu comme une barrière à la présence du vecteur, à la multiplication des sites de reproduction et donc à la transmission du paludisme. Cependant, des millions d'épisodes cliniques du paludisme surviennent chaque année dans les zones urbaines et autant de traitements antipaludiques y sont prescrits, indiquant que l'écologie de la maladie évolue. En plus d'être une véritable question d'épidémiologie, la prise en charge du paludisme en ville constitue également un enjeu en santé publique dans un écosystème urbain complexe et fortement hétérogène, où se conjugue contraintes et nécessités. En ville, les ségrégations environnementales et sociales qui agissent sur la santé se repèrent souvent à des échelles micro-locales, comme celle du quartier. En effet, les quartiers urbains n'ont pas une capacité identique à se constituer comme ressource ou à garantir un environnement favorable à la santé ; tout comme les populations de ces quartiers n'ont pas les mêmes niveaux de vulnérabilité face à la maladie, ni les mêmes dotations en capital pour y résister et se soigner. Une présence irrégulière, en termes de fréquence et d'intensité, du parasite *P. falciparum* dans l'espace dakarois, conjuguée à l'hétérogénéité spatiale des facteurs de vulnérabilités et d'incapacités devraient donc permettre de mieux caractériser les environnements urbains à risque et de favoriser ainsi une stratégie de lutte mieux ciblée.

## Objectifs

Dans le prolongement de travaux entomologiques et géographiques récents menés à Dakar, l'objet de cette communication est de comprendre à la fois les facteurs environnementaux et comportementaux qui déterminent la géographie du paludisme à Dakar, ainsi que les vulnérabilités et les incapacités du milieu et des individus qui font obstacle à une bonne utilisation des antipaludiques.

## Méthode

Pour ce faire, l'Action ACTU-PALU a engagé des opérations de terrain multidisciplinaires en 2008, durant la période de forte transmission du paludisme. Deux enquêtes combinées ont été conduites en population générale, sur 50 quartiers et 3000 ménages/personnes : une enquête biologique d'exposition au risque de piqûres d'anophèles et de prévalence du paludisme et une enquête socio-comportementale sur la morbidité ressentie et l'accès aux soins. Ces données ont été complétées par un système d'information géographique, l'analyse d'images satellite (2008 et 2010) par télédétection et des enquêtes auprès d'établissements sanitaires.

## Principaux résultats

Les données biologiques : portage asymptomatique de *P. falciparum* (PCR) et exposition au risque de piqûres d'anophèles (réponses Ac spécifiques au peptide gSG6-P1) montrent que le paludisme n'est pas une maladie rare à Dakar, avec une prévalence proche de 10%, qu'il varie fortement dans l'espace (et y compris hors de la zone des bas-fonds), et que sa répartition géographique répond à une logique qui met clairement en cause certains facteurs environnementaux : présence de zones humides permanentes ou saisonnières, existence de gîtes larvaires *a. gambiae* à proximité du quartier. De même, la prévalence d'une fièvre simple en saison de forte transmission (morbidité ressentie et déclarée) est associée de façon significative à la présence dans le quartier de résidence de zones

humides naturelles et de canaux. Rappelons ici que l'enquête ACTU-PALU s'est déroulée au moment d'une des plus fortes inondations récentes qu'ait connu Dakar.

Le contexte du quartier influence aussi les pratiques sanitaires, même si ce n'est pas de façon aussi prononcée que pour les risques épidémiologiques. Dans le cas de l'automédication et du recours à un établissement de santé, les facteurs contextuels en jeu sont principalement de nature sociale et économique, et concernent les niveaux d'équipements sanitaires. De manière générale, nous observons que la densité des structures publiques est beaucoup plus forte à l'ouest de la communauté urbaine de Dakar et que cette zone occidentale concentre la plus grande partie des établissements privés (cabinets, cliniques et pharmacies). Cette géographie des équipements recoupe celles des pratiques sanitaires, avec une plus forte automédication et une plus forte consultation des structures privées à l'ouest de Dakar et une prédominance du recours aux structures publiques à l'est. Des analyses statistiques plus fines (autocorrélations spatiales et analyses multiniveaux) confirment cette partition de l'espace urbain. Nous observons tout d'abord que l'espace opère par regroupement des ressemblances entre les quartiers et qu'il se scinde, pour les pratiques sanitaires, entre l'ouest et l'est. Ces proximités spatiales des ressemblances sociales des quartiers apparaissent notamment au travers du rôle des influences sociales, des facteurs environnementaux et de la disponibilité des équipements sanitaires sur les pratiques de soins.

L'effet positif des conseils du voisinage sur le recours externe (qui témoigne de l'action des **influences sociales** sur les pratiques) définit aussi de façon significative des agrégations spatiales des quartiers, à l'est de Dakar. De même nous constatons que si les ménages les plus démunis consultent moins dans un établissement de santé (coef = -0,34 ;  $p < 0,01$ ), ils utilisent davantage les structures médicales (coef.=0,39 ;  $p < 0,1$ ) quand ils résident dans un quartier riche. La présence de certains **équipements sanitaires** dans le quartier détermine également les comportements. Ainsi, un recours à l'automédication est statistiquement associé à la présence d'une pharmacie privée dans le quartier (coef = 0,17 ;  $p < 0,1$ ). Cette association statistique caractérise davantage et de façon significative les quartiers de la partie ouest de Dakar. Enfin parmi les **facteurs environnementaux**, nous observons que plus les risques d'infection au niveau du quartier sont ressentis fortement (risque d'inondations) et plus les ménages vont directement consulter dans un établissement médical.

Même si l'effet global du contexte ne ressort pas toujours de façon très importante, son analyse dans l'espace urbain de Dakar indique clairement que les risques épidémiologiques se conjuguent très souvent avec les vulnérabilités sociales et économiques des populations et des milieux. Pour être plus efficaces, les stratégies de lutte contre le paludisme urbain doivent donc porter plus d'attention à la définition des populations et des espaces cibles.

1 Institut de Recherche pour le Développement, UMR 216 - Mère et enfant face aux infections tropicales, Faculté des sciences pharmaceutiques, Paris

2 Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté des sciences pharmaceutiques, Paris.

3 Institut de Recherche pour le Développement, UMR151 - Laboratoire, Populations, Environnement et Développement, Université d'Aix Marseille

## Bactéries et toxines

Pour mieux appréhender les modes d'action et l'impact sur la santé humaine des micro-organismes et toxines, il est nécessaire de renforcer la connaissance sur leurs caractéristiques biochimiques et de mieux comprendre et estimer le rôle de l'environnement sur leur développement.

Les travaux conduits dans le cadre de l'édition 2007 concernent la mise au point de systèmes de surveillance, d'outils de diagnostic, le rôle de l'environnement dans la dynamique des populations de cyanobactéries toxigènes, dans leur survie et leur dispersion.

- La mise au point d'un appareil de mesure de capture sélective de particules et de micro-organismes dans l'air s'appuie sur un échantillonnage par inertie avec précipitation électrostatique et une concentration micro-fluidique par technique diélectrophorèse. Cette technique est applicable pour les systèmes de surveillance liés au bioterrorisme, aux épidémies ou encore la prévention des infections nosocomiales. (V. Bergeron)
- Des outils de diagnostic à base d'acides nucléiques aptamères, élaborés au cours de cette étude, permettent d'évaluer rapidement les teneurs en microcystines toxiques, toxines mortelles pour les animaux, synthétisées par certaines cyanobactéries d'eau douce, et présentant de sévère impact sur la santé humaine. (E. Peyrin)
- La majorité des plans d'eau connectés au réseau hydrographique de l'Ile de France sont dans un état eutrophe ou hypereutrophes. 30% présentent des dominances à cyanobactéries avec production de cyanotoxines (microcystines, saxitoxines et, sous forme de traces, cylindrospermopsine et anatoxine-a). S'il est possible de prédire, à partir de quelques variables environnementales, le niveau d'eutrophisation des plans d'eau et la biomasse en cyanobactéries, ce n'est pas le cas pour les concentrations en toxines. Plusieurs efflorescences à cyanobactéries ont montré une toxicité aiguë sur les alevins du poisson Medaka. Les données d'expologie humaine recueillies au cours de cette étude montrent une probable mésestimation des risques associés à certains usages des plans d'eau et mettent en évidence la nécessité de nouvelles approches d'analyse de ces risques. (C. Bernard)
- L'étude de la composition génotypique de diverses populations de *Microcystis aeruginosa*, une des espèces les plus fréquentes de cyanobactéries des plans d'eaux continentaux produisant des toxines hépatiques, a permis de mettre en évidence l'importance prépondérante des conditions environnementales locales sur la dynamique de ces populations et sur la production potentielle de leurs cyanotoxines. (J.F. Humbert)
- Une analyse de 1400 échantillons de sols sur l'ensemble du territoire français de différents agents pathogènes humains primaires et opportunistes a permis de comprendre l'influence des facteurs abiotiques (climatiques, caractéristiques physico-chimique, fertilisation, sources de contamination,..) et biotiques (structure génétique des communautés bactériennes indigènes) sur la survie et la dispersion de ces pathogènes. (S. Nazaret)

## Collecte biologique avancée de l'air pour la détection de menaces infectieuses aéroportées (BIOCAPT)

Vance Bergeron, ENS de Lyon  
Vance.bergeron@ens-lyon.fr

### Objectifs

Le projet porte sur la mise en place d'une unité portable de capture sélective de microorganismes dans l'air. Le but est de développer un collecteur/concentrateur d'aérosol de faible coût et ayant une faible consommation d'énergie. Ce collecteur doit maximiser la capture de particules et de microorganismes dans la gamme 1-10 micromètre tout en réduisant la collecte d'aérosol en dehors de cette gamme. Les stratégies actuelles de traitement des aérosols reposent sur la collecte par inertie et sont limitées par une grande consommation d'énergie et une faible efficacité de collecte. Par contraste, notre objectif principal est de concevoir et de réaliser un nouveau type de collecteur électrostatique qui apportera d'importantes améliorations. L'instrument repose sur une étape originale de collection électrostatique de l'aérosol vers une solution, combiné à une technique de diélectrophorèse pour une concentration efficace. Les nombreuses applications de ce dispositif incluent : les systèmes de surveillance liés aux bioterrorismes, le bouclier sanitaire concernant les maladies pandémiques (SARS, Grippe aviaire H5N1,...), les champs de bataille et la prévention des infections nosocomiales.

Les principes scientifiques de la technologie en cours de développement reposent sur la combinaison d'un appareil d'échantillonnage par inertie classique avec la précipitation électrostatique, suivie d'un concentrateur micro-fluidique utilisant la technique de diélectrophorèse. Durant la collection des particules de l'air vers un milieu liquide, les forces électrostatiques améliorent l'efficacité globale de collection, tandis que dans le milieu liquide la diélectrophorèse permet de concentrer l'échantillon de façon sélective. Une part importante du projet concerne la conception et le développement d'équipements de test et de procédures permettant d'évaluer quantitativement la performance des collecteurs de particules biologiques aéroportées. En raison de la difficulté de manipuler des aérosols biologiques, de nouvelles méthodes ont été établies afin d'assurer la reproductibilité et le réalisme des conditions des tests sous une grande diversité de conditions environnementales. Elles comprennent la construction d'une chambre de test de pointe et de nouveaux systèmes pour la génération de niveaux contrôlés d'aérosols biologiques.

### Principaux résultats

Le développement d'un nouveau prototype de laboratoire ; une nouvelle compréhension de la façon dont les systèmes électrostatiques modifient la viabilité des micro-organismes collectés ; un nouveau partenariat international Européen financé par l'Agence Européenne de Défense pour le développement d'un collecteur biologique personnel pour les soldats et les premiers secours. Un second projet co-financé par l'AED a également commencé à développer un collecteur haut-débit basé sur le travail effectué. De plus, les procédures de test mises au point sont directement incorporées au sein de la nouvelle norme standard internationale ISO pour l'évaluation des collecteurs de particules biologiques aéroportées. Recherches sur l'utilisation de systèmes électrostatique pour détruire les contaminants biologiques

# Microsystèmes analytiques à base d'aptamères : analyse in situ des toxines algales dans des échantillons environnementaux (Micraptox)

Eric Peyrin, DPM UMR 5063 CNR - Université Grenoble I  
eric.peyrin@ujf-grenoble.fr

## Objectifs

Certaines cyanobactéries d'eau douce synthétisent des toxines qui ont causé la mort de nombreux animaux et ont déjà eu un sévère impact sur la santé humaine engendrant des décès. Une des familles les plus dangereuses de toxines sont les microcystines qui sont susceptibles de promouvoir des tumeurs à partir de concentrations aussi faibles que  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Lorsque l'environnement leur est favorable, les cyanobactéries se développent massivement et forment des efflorescences, blooms, qui sont directement associés à l'eutrophisation des milieux aquatiques. La dose létale en injection intrapéritonale chez la souris varie de 50 à 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$  témoignant de leur très forte toxicité. Ce projet a pour objectif la mise en œuvre de nouveaux outils de diagnostic à base d'acides nucléiques aptamères permettant d'évaluer rapidement les teneurs en microcystines toxiques dans des eaux concernées.

## Principaux résultats

- La méthode de sélection des aptamères (SELEX)

La méthode SELEX a été validée sur une petite molécule modèle (amphétamine, projet initié en 2006). 10 cycles de sélection ont été menés avec succès contre cette cible sur un robot. 20 séquences ont été obtenues et 3 séquences étudiées. Une séquence avec un  $K_d$  de l'ordre de  $30 \mu\text{M}$  a été isolée. Cette approche a été ensuite appliquée à la sélection d'aptamères anti-microcystine, les séquences obtenues sont en cours de caractérisation.

- Les méthodes d'analyse en milieu homogène

Nous avons développé différentes méthodes de dosage rapides, en milieu homogène, à haut débit à base d'aptamères, dédiées à l'analyse de petites molécules (modèles). Les systèmes de détection utilisés sont la polarisation de fluorescence et la colorimétrie. Une méthode indirecte par électrophorèse capillaire a également été décrite.

- Les méthodes d'analyse en milieu hétérogène

Nous avons également mis au point une cartouche à base d'aptamères pour l'extraction sélective de petites molécules en milieu complexe.

- Valorisation des résultats

- 9 publications dans des journaux internationaux : 3 dans *Anal. Chem.* (dont une en commun partenaires 1 et 3) ; 1 dans *Biosens. Bioelectron.*
- 1 brevet en cours
- Plus de 15 communications orales ou affiches dans des congrès nationaux ou internationaux
- Organisation d'un workshop aptamères à Bordeaux en décembre 2009 (80 participants)

## **Cyanobactéries et cyanotoxines en milieu périurbain (Ile de France) : distribution spatiale et toxicité**

C. Bernard\*, A. Catherine, M. Edery, K. Comte, B. Bodo, C. Yéprémian, C. Duval, S. Amand, N. Escoffier, M. Malécot, K. Mehzoud, T., D. Moyenga, M. Berkal, S. Maloufi, L. Nasri, S. Hamlaoui. UMR 7245 MCAM CNRS-MNHN, Paris

M. Troussellier, D. Mouillot, UMR 5119 ECOSYM Université Montpellier 2, CNRS, IRD, Ifremer, Université Montpellier 1, Université Montpellier 2

A. de Luze, D. Franco, UMR 7221 CNRS-MNHN, Évolution des Régulations Endocriniennes, Muséum National d'Histoire Naturelle, RDDM, Paris

D. Praseuth, UMR 5153 CNRS-MNHN, U565 INSERM, Acides nucléiques: dynamique, ciblage et fonctions biologiques, Paris

C. Djediat, A. Marie, Plateformes Muséum National d'Histoire Naturelle, RDDM, Paris

F. Crespeau, H. Huet, Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Ecole National Vétérinaire d'Alfort

M. Legeas, L. Gruau, EHESP, Rennes

\* Porteur du projet : cbernard@mnhn.fr

Les cyanobactéries, microorganismes photosynthétiques capables de produire des toxines, connaissent des phases de proliférations massives dans les écosystèmes aquatiques continentaux sous certaines conditions trophiques et climatiques (e.g. Pearl & Huissman, 2009). La biomasse atteinte par ces microorganismes est alors considérable entraînant une dégradation de la qualité de l'eau, avec des conséquences sur la santé publique dès lors qu'ils produisent des cyanotoxines. L'Ile de France, zone périurbaine comprend 980 plans d'eau et, cette région, est soumise à une grande diversité de pressions anthropiques.

### **Principaux résultats**

L'échantillonnage d'un ensemble représentatif de ces plans d'eau ( $n = 50$ ) répété à quatre saisons, a montré que 96% de ceux connectés au réseau hydrographique ( $n = 25$ ) sont eutrophes-hypereutrophes. A l'opposé, seulement 40% des plans d'eau isolés ( $n = 25$ ) sont dans cet état. Nous avons également mis en évidence que 30% des plans d'eau en Ile de France présentent des dominances à cyanobactéries avec production de cyanotoxines. Les toxines identifiées sont des microcystines ( $n = 15$  variants), des saxitoxines ( $n = 2$  variants) ainsi que, sous forme de traces, de la cylindrospermopsine et de l'anatoxine-a. Ce sont, soit des hépatotoxines, soit des neurotoxines, deux plans d'eau étant contaminés par ces deux grands types de toxines.

Les contextes environnementaux favorables à la présence et/ou au développement des cyanobactéries et des cyanotoxines ont été analysés par des modèles mettant en jeu des variables à faible coût d'acquisition (les caractéristiques morphologiques des plans d'eau et la nature de leurs bassins versants). Ces modèles ont montré un bon pouvoir prédictif de l'évolution de l'état trophique (concentration en chlorophylle a) des plans d'eau et une prédiction acceptable du niveau d'abondance de cyanobactéries à l'échelle de l'Ile de France. Par contre, les capacités prédictives se sont avérées insuffisantes en ce qui concerne les concentrations en microcystines. En effet, les variables agissant sur le contrôle de la production de toxines sont complexes et s'effectuent à des niveaux d'organisation biologique trop nombreux pour être pris en compte par les variables sélectionnées dans nos modèles.

Parmi les efflorescences observées lors des campagnes d'échantillonnage, plusieurs ont montré des effets de toxicité aiguë sur les alevins de médaka (modèle toxicologique), aussi bien en termes de mortalité que sur le développement. Des effets de synergie ont été clairement identifiés entre les microcystines et des métabolites de cyanobactéries, autres que les toxines identifiées. Dans le cadre du projet nous avons plus particulièrement étudié les mécanismes de toxicité associés aux microcystines, de l'échelle moléculaire à celle des organes ainsi que sur le développement d'adultes de médaka. Les microcystines agissent sur plusieurs voies de signalisation moléculaire (e.g.

modifications de la signalisation cellulaire, nécrose, désorganisation du cytosquelette, ...) ce qui a pour conséquences des altérations des organes où ont lieu les processus de transport des toxines et de détoxification (e.g. l'intestin et le foie). Ces effets toxiques, mis en évidence à partir de toxine pure, sont augmentés avec le cortège de molécules bioactives associées aux cultures monospécifiques de cyanobactéries ainsi qu'aux efflorescences naturelles. Ces résultats ont été obtenus à partir du modèle *Planktothrix agardhii*, cyanobactérie largement rencontrée en Ile de France et qui forme des efflorescences toxiques pérennes.

Enfin, pour contribuer à alimenter des scénarii d'évaluation des risques sanitaires pour les populations humaines après exposition aux cyanobactéries et cyanotoxines, nous avons confronté les modalités réelles d'exposition à l'eau des différentes classes d'âge et de genre de la population, aux valeurs habituellement utilisées lors de l'évaluation des risques associée aux cyanotoxines. Un des résultats majeurs est la sous estimation du contact des enfants (8-12 ans) avec les eaux douces en période estivale, alors que les études épidémiologiques ou d'évaluation des risques portent très majoritairement sur des adultes. Par ailleurs, l'intensité de l'exposition globale (volume d'eau ingéré estimé sur la période estivale) est très supérieure à celle classiquement prise en compte.

## Rôle et dynamique de la production de microcystines (toxines hépatiques) chez la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa* (MATRICS)

J.F. Humbert, coordinateur du programme, DR INRA, Unité des Cyanobactéries, Institut Pasteur de Paris puis UMR Bioemco, ENS Paris ([humbert@biologie.ens.fr](mailto:humbert@biologie.ens.fr))

M. Bormans, DR CNRS, UMR ECOBIO, Rennes ([myriam.bormans@univ-rennes1.fr](mailto:myriam.bormans@univ-rennes1.fr))

D. Latour, MCU Université Blaise-Pascal, UMR LMGE, Clermont-Ferrand ([delphine\\_latour@yahoo.fr](mailto:delphine_latour@yahoo.fr))

C. Quiblier, MCU Université Paris Diderot, UMR MCAM, MNHN Paris ([quiblier@mnhn.fr](mailto:quiblier@mnhn.fr))

P. Quillardet, CR, Unité des Cyanobactéries, Institut Pasteur de Paris ([quillardet@pasteur.fr](mailto:quillardet@pasteur.fr))

C.C. Zhang, PR Université Aix-Marseille II, LCB, Marseille ([cczhang@ifr88.cnrs-mrs.fr](mailto:cczhang@ifr88.cnrs-mrs.fr))

### Objectifs

Le projet MATRICS se plaçait dans une problématique générale relative à l'étude de la production des microcystines (toxines hépatiques) par une des espèces de cyanobactéries les plus communes des plans d'eaux continentaux, *Microcystis aeruginosa*. Ses objectifs étaient de mieux comprendre les variations observées dans la toxicité potentielle de cette espèce lors de ses phases de prolifération et de tenter d'identifier le rôle fonctionnel de ces métabolites pour les cellules qui les produisent. Le projet MATRICS reposait à la fois sur des suivis de terrain et sur des approches expérimentales en laboratoire et il a fait appel à des approches allant de l'écologie moléculaire à la transcriptomique et à la protéomique.

### Principaux résultats

Une étude sur la composition génotypique de diverses populations de *M. aeruginosa* a montré que lors des phases de prolifération de cette cyanobactérie, les conditions environnementales peuvent conduire soit à une diminution de la diversité génétique au sein des populations avec sélection de quelques génotypes dominants (probablement par exclusion compétitive), soit au maintien de cette diversité génétique au sein des populations. Par ailleurs, la comparaison de la composition génotypique de populations proliférant dans des écosystèmes plus ou moins éloignés géographiquement révèle qu'il n'existe aucune structuration biogéographique chez cette cyanobactérie, mais aussi que les processus sélectifs observés dans certaines populations s'opèrent à l'échelle de chaque écosystème, même lorsque ceux-ci sont interconnectés. Tous ces résultats soulignent l'importance prépondérante des conditions environnementales locales sur la dynamique des populations de la cyanobactérie (1, 3, 5).

L'étude de l'évolution des proportions de cellules capables ou non, de produire des microcystines au cours des phases de proliférations de *M. aeruginosa*, a montré que la sélection progressive d'un nombre restreint de génotypes lors du développement de certaines populations s'accompagne, dans le même temps, d'une augmentation de la proportion de cellules non productrices de microcystines (MCs), ce qui suggère une meilleure fitness de ces dernières dans ces conditions. Enfin, la comparaison des proportions relatives de cellules productrices ou non productrices de MCs dans différentes populations a révélé que ces proportions peuvent être extrêmement variables d'une population à l'autre, sans qu'il ne soit cependant possible de comprendre cette variabilité à la lumière des conditions environnementales (1, 3, 4).

Pour tenter de mieux comprendre ces différences dans la fitness des souches productrices ou non productrices de MCs en fonction des conditions environnementales, une approche expérimentale basée sur l'utilisation d'une souche sauvage productrice de MCs (*M. aeruginosa* PCC 7806) et de son mutant non producteur de ces mêmes MCs a été développée. Ces travaux ont permis de montrer que dans les conditions de culture permettant une forte production de MCs, le coût de cette production dépasse les bénéfices, ce qui se traduit, en conditions de co-culture des deux souches, par une dominance de la souche non productrice de MCs. Par ailleurs, au cours de certaines de ces mêmes expériences, des relations de type coopération ont été mises en évidence entre les deux souches et devront d'être étudiées plus en profondeur, dans le futur (2).

Enfin, la dernière partie des travaux avait pour objectif de mieux comprendre le rôle fonctionnel des MCs pour les cellules qui les produisent. Dans ce but, une approche de transcriptomique comparée a été réalisée sur la souche sauvage et sur son mutant non toxique. Cette approche a nécessité, dans un premier temps, le développement d'une puce à ADN basée sur le génome de *M. aeruginosa* PCC 7806. La validation de cette puce a été réalisée sur une étude du métabolisme global de *M. aeruginosa* au cours d'un cycle jour/nuit (6). La comparaison de la souche sauvage et de son mutant non-toxique dans les mêmes conditions de cycle jour/nuit a ensuite permis de révéler de nombreuses différences dans le métabolisme des deux souches, ce qui suggère un rôle pleïotropique des MCs dans le métabolisme cellulaire. Par ailleurs, des interactions avec d'autres métabolites secondaires à synthèse non ribosomale ont également été mises en évidence lors de cette approche (publication en préparation). L'analyse de protéomique comparée est en cours et elle sera complétée prochainement par une analyse du métabolome.

### Publications parues ou sous presse

1. Briand E., Escoffier N., Straub C., Sabart M., Quiblier C. & Humbert J.F. 2009. Spatiotemporal changes in the genetic diversity of a bloom-forming *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) population. *The ISME Journal* 3, 419-429.
2. Briand E., Bormans M., Quiblier C., Salençon M.J. & Humbert J.F. Evidence of the cost of the production of microcystins by *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) under certain environmental conditions. Sous presse dans *PLoS One*.
3. Pobel D., Godon J.J., Humbert J.F. & Robin J. High frequency monitoring of changes occurring in the genetic diversity and in the toxicity of a *Microcystis aeruginosa* bloom-forming population in a French pond. Sous presse dans *FEMS Microbiol. Ecol.*
4. Sabart M., Pobel D., Briand E., Combourieu B., Salençon M.J., Humbert J.F. & Latour D. 2010. Spatiotemporal variations in the microcystin concentrations and in the proportions of potentially microcystin producer genotypes in several *Microcystis aeruginosa* populations. *Appl. Env. Microbiol.* 76, 4750-4759.
5. Sabart M., Pobel D., Latour D., Robin J. Salençon M.J. & Humbert J.F. 2009. Spatiotemporal changes in the genetic diversity in French bloom-forming populations of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Env. Microbiol. Reports* 1, 263-272.
6. Straub C., Quillardet P., Vergalli J., Tandeau de Marsac N. & Humbert J.F. 2011. A day in the life of *Microcystis aeruginosa* PCC7806 as revealed by a transcriptomic approach. *PLoS One* 6, e16208.

*Post-doctorants recrutés sur le projet :* **C. Boileau**, LCB, Marseille (celine.boileau@laposte.net); **E. Briand**, UMR ECOBIO, Rennes (briandenora@yahoo.fr); **C. Straub**, Unité des Cyanobactéries, IP Paris (cecile.straub@free.fr)

*Doctorants impliqués dans le projet :* **E. Briand**, UMR MCAM, MNHN Paris (briandenora@yahoo.fr); **D. Pobel**, Unité des Cyanobactéries, Institut Pasteur de Paris (dpobel@isara.fr); **M. Sabart**, UMR LMGE, Clermont-Ferrand (Marion.SABART@univ-bpclermont.fr)

*Laboratoire associé en sous-traitance pour la partie protéomique:* **L. Hoffmann**, PR, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann, Luxembourg (hoffmann@lippmann.lu); **J. Renaut**, IR, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann, Luxembourg (renaut@lippmann.lu)

## Répartition géographique des bactéries pathogènes de l'Homme dans les sols : effet des constituants et de l'urbanisation (PATHO-RMQS)

**Sylvie Nazaret**, Equipe Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement, CNRS, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, et Université Lyon 1, UMR 5557 Ecologie Microbienne, Villeurbanne. [sylvie.nazaret@univ-lyon1.fr](mailto:sylvie.nazaret@univ-lyon1.fr)

**Alain Hartmann**, INRA - Université Bourgogne, UMR 1229 Microbiologie du Sol et de l'Environnement, Dijon. [alain.hartmann@dijon.inra.fr](mailto:alain.hartmann@dijon.inra.fr)

**Claudy Jolivet**, INRA, Unité InfoSol, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, 45075 Orléans. [claudy.jolivet@orleans.inra.fr](mailto:claudy.jolivet@orleans.inra.fr)

**Jean Thioulouse**, CNRS, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, et Université Lyon 1, UMR 5558 Biométrie et Biologie Evolutive, Villeurbanne. [jean.thioulouse@univ-lyon1.fr](mailto:jean.thioulouse@univ-lyon1.fr)

**Lionel Ranjard**, INRA - Université Bourgogne, UMR 1229 Microbiologie du Sol et de l'Environnement / Plateforme Genosol, Dijon. [lionel.ranjard@dijon.inra.fr](mailto:lionel.ranjard@dijon.inra.fr)

**Jérôme Briolay**, CNRS, Université Lyon 1, Plateforme du DTAMB, Villeurbanne. [jerome.briolay@univ-lyon1.fr](mailto:jerome.briolay@univ-lyon1.fr)

### Objectifs

Le projet Patho-RMQS a pour objectifs d'étudier la distribution de différents pathogènes humains dans les sols français *via* une stratégie d'échantillonnage portant sur l'ensemble du territoire français métropolitain et à comprendre l'influence des facteurs abiotiques (facteurs climatiques, caractéristiques physico-chimiques, source de contamination, fertilisation ...) et biotiques (densité et structure génétique des communautés bactériennes indigènes) sur la survie et la dispersion de ces pathogènes. Les points forts de ce projet sont le développement de marqueurs génétiques spécifiques de différentes espèces bactériennes pathogènes de l'homme et leur validation pour le suivi d'espèce dans un environnement complexe. Ces outils sont d'intérêt tant dans le domaine clinique que dans celui du développement de bioindicateurs et la mise au point de normes pour rendre compte de l'impact environnemental de diverses pratiques agronomiques. Nous disposons également pour une dizaine d'espèces d'un instantané de leur distribution dans l'environnement sol à grande échelle à savoir une échelle nationale, échelle rarement explorée. Les dispositifs RMQS (Réseau de Mesures de la Qualité des Sols) et ICP-Forest niveau 1 (ICP-Forest) sur lesquels s'appuie ce projet étant mis en place pour permettre plusieurs campagnes d'échantillonnage (mesures effectuées tous les 10 ans) cette distribution des pathogènes pourrait être évaluée sur le long terme. Ce projet a également permis d'étoffer les collections d'espèces pathogènes en y ajoutant un grand nombre d'isolats environnementaux, isolats qui pourront être utilisés et diffusés par les centres de référence sur certains agents pathogènes (plateau PARMIC-CRB de l'Equipex Biobanque).

### Méthodes

Pour répondre aux objectifs décrits, le projet Patho-RMQS s'appuie sur deux réseaux nationaux, le RMQS) et l'ICP-Forest, et sur une stratégie d'échantillonnage portant sur l'ensemble du territoire métropolitain (échantillonnage exhaustif, standardisé, représentatif de différents types et modes d'exploitation du sol). Les pathogènes ciblés sont des pathogènes "primaires" et des pathogènes opportunistes se différenciant par leur distribution présumée dans l'environnement (aquatique, sols/rhizosphère) et chez les mammifères (animal/humain). Un outil moléculaire indépendant de la culture (la PCR quantitative en temps réel ciblant des marqueurs spécifiques d'espèce) a été développé et optimisé pour détecter et quantifier ces pathogènes sur des ADNs extraits de plus de 1400 échantillons de sols. Des stratégies de restriction et séquençage, d'enrichissement sur milieu de culture sélectif, d'études de survie en microcosmes de sol complètent cette approche. Des outils de statistique descriptive (analyses multivariées) sont appliqués afin d'identifier les facteurs environnementaux déterminant la distribution de ces pathogènes.

## Principaux résultats

A l'exception d'*Escherichia coli* retrouvé dans 75% des sols, les pathogènes "primaires" et opportunistes ciblés ont rarement été détectés suggérant pour la majorité d'entre eux leur absence ou présence à des seuils inférieurs à 1000 ou 10000 individus par g de sol (limite de détection de la PCR quantitative). D'autres espèces ont cependant été retrouvées (*Stenotrophomonas maltophilia*), mais à des seuils excédant rarement  $10^4$  à  $10^5$  cellules par gramme de sol. Des stratégies de culture ont permis de confirmer ces niveaux d'abondance et d'obtenir une collection d'isolats environnementaux des différentes espèces retrouvées. Par conséquent les sols sont des réservoirs de certaines bactéries pathogènes qui font partie intégrante de la microflore indigène, mais ne constitue qu'un réservoir transitoire de certaines espèces de pathogènes primaires et opportunistes. La présence sporadique de certaines espèces laisse supposer l'influence des activités humaines (dont l'épandage d'amendements organiques) sur la dispersion des pathogènes. Cependant les faibles niveaux de détection semblent indicateurs d'un faible taux de survie à long terme. Des études de survie en microcosmes de sol ont complétées cette approche révélant une importante hétérogénéité quant à la capacité d'un sol a assuré la survie de bactéries pathogènes. Des paramètres tel que le pH, la teneur en argile et la capacité d'échange de cations sont des facteurs conditionnant cette survie.

## FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET IMPACTS SUR LA SANTE

Les facteurs environnementaux, qu'ils agissent dans le milieu de vie général ou professionnel, ont un rôle étiologique dans les principales causes de morbidité et de mortalité des populations humaines. Les diverses activités (industries, agricultures, domestiques, transport, équipement) émettent des substances organiques (phytosanitaires, hydrocarbures, biocides...), métalliques (mercure, cadmium, cuivre, plomb...), des particules, des rayonnements non-ionisants et ionisants.

La connaissance des impacts des conditions environnementales, y compris dans l'environnement professionnel, sur la santé humaine nécessite à la fois :

- d'identifier, de caractériser les déterminants environnementaux (agents physiques, chimiques et biologiques, modifications des écosystèmes...), parfois de modéliser le transfert de ces polluants dans les différents milieux,
- de caractériser et de mesurer les expositions humaines (métrologie, expologie...),
- d'établir, grâce à des approches en épidémiologie, un lien entre l'exposition à un facteur et la survenue de la maladie.
- de décrire les mécanismes d'action (moléculaires, cellulaires et tissulaires), les effets biologiques ou physiopathologiques, les interactions entre expositions environnementales et caractéristiques individuelles, biologiques ou génétiques, et ainsi de donner des explications causales,
- de développer des modèles numériques pour une meilleure interprétation des données, la validation de nouveaux concepts et la prévision de l'impact sur la santé.

Les recherches portent aussi sur le développement d'outils et de nouvelles méthodes : modèles toxicologiques (y compris en utilisant les méthodologies de la génomique et de la protéomique) ; développement de modèles animaux (sur animaux conventionnels ou génétiquement modifiés) ; identification des gènes de susceptibilité individuelle (études expérimentales et épidémiologiques), compréhension des mécanismes d'interaction entre gènes et facteurs environnementaux ; étude d'autres déterminants de l'impact des expositions environnementales (âge, sexe, comorbidité) ; développement de nouveaux marqueurs d'exposition et d'effet, estimation de la biodisponibilité des produits et des risques liés à différents types d'expositions (chroniques à faibles doses ; multiexpositions chroniques ; effets à long terme ; effets des agents émergents...).

De nombreuses maladies (neurologiques et neurosensorielles, respiratoires et immuno-allergiques, de la reproduction et du développement, rénales, cancers, maladies infectieuses, troubles musculo-squelettiques, etc.) font l'objet d'investigations.

Les résultats des recherches financées par le programme SEST 2007 (et certains en 2006) sont déclinés en cinq grands champs qui font l'objet de présentations détaillées ci après :

- Allergies et maladies respiratoires, inflammation
- Perturbateurs endocriniens, résidus pharmaceutiques, pollution atmosphérique
- Environnement et cancers : facteurs de risque
- Effets des rayonnements, mécanismes moléculaires
- Effets des nanomatériaux et des contaminants chimiques

## Allergies et maladies respiratoires, inflammation

Dans un contexte d'augmentation de la prévalence des pathologies allergiques et respiratoires, les travaux réalisés dans ce domaine permettent de contribuer à élaborer des indicateurs d'exposition, de mieux comprendre le rôle des différents facteurs (environnementaux, comportementaux, génétiques) et les mécanismes physiologiques, d'élaborer des outils d'investigation et de diagnostic, mais aussi de nouvelles thérapeutiques.

Les projets de l'édition 2007 concernent les facteurs favorisant la tolérance immunitaire aux allergènes, les facteurs favorisant l'asthme, les mécanismes biologiques impliqués, les biomarqueurs pour le pronostic, le diagnostic et le suivi thérapeutique.

- De nouvelles voies impliquées dans la signalisation des molécules allergisantes dans les cellules dendritiques ont été identifiées. Ces voies sont celles de la calmoduline Kinase 2 et de la protéine kinase C alpha. Le rôle de ces espèces réactives dans les modifications du phénotype des cellules dendritiques et dans la survie de ces cellules est en cours de validation. Le sulfate de nickel provoque la production d'IL-12 par les cellules dendritiques. Ces résultats montrent un des mécanismes « adjuvant » du nickel pourrait expliquer la forte prévalence des allergies au nickel dans la population. (M. Pallardy)
- Des souriceaux allaités par des mères ayant été exposées à des allergènes deviennent résistants à l'induction d'asthme. Ce résultat illustre les mécanismes protecteurs de l'allaitement vis-à-vis de l'asthme. Cet état de tolérance immunitaire pourrait s'expliquer par la présence conjointe dans le lait de l'allergène et d'une cytokine immunosuppressive (Transforming Growth Factor) naturellement présente dans le lait maternel. (N. Glaichenhaus)
- L'analyse des données de l'étude européenne sur la santé respiratoire « European Community respiratory Health Survey » auprès de 1000 personnes met en évidence que la rhinite allergique est un facteur de risque pour le développement de l'asthme. D'autres études montrent que l'inactivité physique est associée à une augmentation de l'inflammation bronchique, qu'une proportion importante de personnes qui développent de l'asthme à l'âge adulte n'est pas sensibilisée aux allergènes communs de l'environnement et que l'incidence de l'asthme non allergique est plus élevée chez les femmes que chez les hommes. Par ailleurs, l'obésité est associée à une augmentation de risque d'asthme non-allergique. (B. Leynaert)
- Des expérimentations sur des modèles murins ont mis en évidence les mécanismes biologiques des effets des agents microbiens, en fonction du récepteur inné qu'ils stimulent, en termes d'inhibition ou d'exacerbation de l'asthme allergique. Elles mettent en évidence le rôle des cellules dendritiques et des cellules épithéliales bronchiques dans l'exacerbation. (C. Duez)
- Des travaux en recherche clinique et en biologie moléculaire sur des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques des voies aériennes (asthme ou bronchopneumopathie chronique obstructive – BPCO -) permettent de mettre en évidence des biomarqueurs pour le pronostic, le diagnostic et le suivi thérapeutique à partir de prises de sang. (N. Frossard)

## Mécanismes de la signalisation des allergènes chimiques dans la cellule dendritique humaine

Marc Pallardy, INSERM UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry ; marc.pallardy@u-psud.fr

Saadia Kerdine-Römer, INSERM UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry ; Saadia.kerdine-roemer@u-psud.fr

Diane Antonios, INSERM UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry ; diane.antonios@gmail.com

Philippe Rousseau, INSERM UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry

Nadège Ade, INSERM UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry

Zeina El-Ali, UMR 996, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry ; zeina.el-ali@u-psud.fr

La cellule dendritique (DC) est au carrefour de l'initiation des réponses immunitaires adaptatives via leur capacité à capter l'antigène puis de le présenter à des lymphocytes spécifiques de l'antigène dans les ganglions drainants le territoire où est entré l'antigène. Pour que la réponse immunitaire soit « effectrice » et non pas « régulatrice » ou tolérogène, il est nécessaire que les DC reçoivent de manière concomitante à la présence de l'antigène des signaux dits de « danger » comme le LPS bactérien dans le cas d'une infection.

Par analogie avec la réponse immune anti-infectieuse, le projet AllergoDC est basé sur l'hypothèse que les molécules allergisantes sont capables d'activer les cellules dendritiques humaines en mimant la signalisation des signaux de danger comme le LPS. Nous avons précédemment montré comme d'autres équipes que ces molécules activaient des voies de signalisation comme les MAPK ou la voie NF- $\kappa$ B. Les molécules employées dans ce projet sont : le dinitrochlorobenzène, le sulfate de nickel et l'aldéhyde cinnamique.

### Principaux résultats

Par une approche employant la technique du phosphokinome nous avons identifié de nouvelles voies impliquées dans la signalisation des molécules allergisantes dans les cellules dendritiques. Ces voies sont celles de la calmoduline Kinase 2 et de la protéine kinase C alpha. Ces voies sont en cours de validation par l'emploi de siRNA et d'inhibiteurs spécifiques.

Nous avons aussi montré que ces molécules activaient la voie Nrf-2 et les gènes régulés par cette voie comme l'hème oxygénase, la NADPH quinone réductase, la glutathion peroxydase et l'interleukine-8. L'activation de cette voie suggère l'implication d'espèces électrophiles et/ou d'un stress oxydant dans la signalisation des molécules allergisantes dans les cellules dendritiques. Le rôle de ces espèces réactives dans les modifications du phénotype des cellules dendritiques et dans la survie de ces cellules est en cours de validation par l'emploi de siRNA nrf-2.

Dans la recherche des mécanismes d'action nous avons aussi montré récemment que le sulfate de nickel provoque la production d'IL-12 par les cellules dendritiques via un mécanisme original impliquant la voie JAK/STAT (Janus Activated Kinase/ Signal Transducers and Activators of Transcription). Le nickel provoque l'activation des kinases JAK induisant la phosphorylation de STAT-1 et de IRF-1 (Interféron regulatory factor-1) et la production d'IL12 p40 et d'IL-12 p70 en présence d'INF-gamma. Ces résultats montrent un des mécanismes « adjuvant » du nickel pouvant expliquer la forte prévalence des allergies au nickel dans la population en plus de sa capacité à se fixer au récepteur TLR-4 humain (Toll-Like Receptor).

### Publications

- Ade N, Leon F, Pallardy M, Peiffer JL, Kerdine-Romer S, Tissier MH, Bonnet PA, Fabre I, Ourlin JC. HMOX1 and NQO1 genes are up-regulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: role of the Keap1/Nrf2 pathway. Toxicol Sci, 107 (2):451-60 (2009).

- Antonios D, Ade N, Kerdine-Römer S, Assaf-Vandecasteele H, Larangé A, Azouri H, Pallardy M. Metallic haptens induce differential phenotype of human dendritic cells through activation of mitogen-activated protein kinase and NF-KB pathways. *Toxicol In Vitro*, 23(2):227-234 (2009)
- Antonios D, Rousseau P, Larangé A, Kerdine-Römer S and Pallardy M. Mechanisms of IL-12 synthesis by human dendritic cells treated with the chemical sensitizer NiSO<sub>4</sub>. *J Immunol*. 185(1):89-98 (2010)

### **Conférences invitées**

- « NF-KB plays a major role in the maturation of dendritic cells by chemical sensitizers ». Symposia « Transcriptional changes in immunotoxicology: Transcription factors signal transduction and epigenetics ». 48<sup>th</sup> annual meeting of the Society of Toxicology. Baltimore. USA. March 2009.
- “Use of dendritic cells for the identification and characterization of chemical allergens”. Symposia “Chemical sensitization: from immunobiology to quantitative risk assessment” 46<sup>th</sup> EUROTOX meeting, Dresden, Germany, September 2009.

### **Communications orales**

- « Heme-oxygenase 1 and NADPH Quinone oxidoreductase 1: new targets genes to predict the sensitising potential of chemicals ? ». 47<sup>th</sup> annual meeting of the Society of Toxicology. Seattle. USA. Platform session “Mechanisms of hypersensitivity”. March 2008.
- The chemical sensitizer nickel sulfate induces the production of interleukin-12: cooperation among p38 MAPK, NF-KB and IRF-1 pathways. 48<sup>th</sup> annual meeting of the Society of Toxicology. Baltimore. USA. Platform session “Mechanisms of hypersensitivity”. March 2009.

## Tolérance immunitaire induite par l'allaitement maternel

Nicolas Glaichenhaus, Professeur à l'Université de Nice-Sophia Antipolis  
Immunité des maladies infectieuses, allergiques et autoimmunes, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, Valbonne  
Nicolas.glaichenhaus@unice.fr, tel : 04 93 95 77 85  
INSERM et Université de Nice-Sophia Antipolis

L'asthme, maladie respiratoire chronique en augmentation constante ces dernières décennies et qui touche majoritairement les enfants. Cette maladie est la conséquence d'une réponse immunitaire inappropriée contre des substances présentes dans l'air appelées « allergènes ». De plus, de nombreuses études suggéraient un rôle protecteur de l'allaitement sur le développement des maladies allergiques, mais les mécanismes de cette protection n'étaient à ce jour pas encore élucidés.

### Principaux résultats

Afin d'étudier ce phénomène, nous avons exposé des souris, mais pas leurs petits, à des allergènes par voie d'aérosols. Quelques heures plus tard, nous avons retrouvé ces allergènes dans le lait des mères. Une fois devenus adultes, les souriceaux allaités par des mères exposées à des allergènes étaient devenus résistants à l'induction d'asthme. En accord avec ce résultat, la réponse immunitaire de ces souris contre les allergènes de l'environnement était diminuée de 60 à 80% par rapport à celle de souris qui avaient été allaitées par des mères non exposées. De nouvelles expériences nous ont permis de montrer que cet état de « tolérance immunitaire » pouvait s'expliquer par la présence conjointe dans le lait de l'allergène et d'une cytokine immunosuppressive, le Transforming Growth Factor (TGF)-beta, qui est naturellement abondante dans le lait maternel et qui favorise le développement d'un état de tolérance. Outre son intérêt dans le domaine de l'immunologie fondamentale, cette étude pourrait permettre de définir de nouvelles stratégies de prévention en modifiant par exemple les pratiques d'allaitement et la qualité des laits artificiels.

### Principales publications issues de ce travail

Les noms des membres de l'équipe financée sont soulignés

- Verhasselt, V., V. Milcent, J. Cazareth, A. Kanda, S. Fleury, D. Dombrowicz, N. Glaichenhaus, and V. Julia. (2008). Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nat Med* 14:170-175.
- Mosconi, E., A. Rekima, B. Seitz-Polski, A. Kanda, S. Fleury, E. Tissandie, R. Monteiro, D., D. Dombrowicz, V. Julia, N. Glaichenhaus, and V. Verhasselt. (2010). Breast milk immune complexes are potent inducers of oral tolerance in neonates and prevent asthma development. *Mucosal Immunol.* 3: 461-74.

## **Asthme Allergique et Non Allergique de l'Adulte : déterminants personnels et environnementaux - Etude longitudinale européenne (AANAA)**

Bénédicte Leynaert <sup>(1)</sup>, David Soussan<sup>(1)</sup>, Jean-Rodrigue Ndong<sup>(1)</sup>, Jai Pirkash<sup>(1)</sup>, Rafea Shaaban<sup>(1)</sup>, Nathalie Leone<sup>(1)</sup>, Catherine Neukirch<sup>(1)</sup>, Mahmoud Zureik<sup>(1)</sup>, Françoise Neukirch<sup>(1)</sup>, Fathi Driss<sup>(2)</sup>, et les membres du groupe de travail « Gender » et du comité de pilotage de l'étude ECRHS (European Community Respiratory Health Survey).

1. Inserm, U 700 - Paris; Université Paris-Diderot Paris 7, Paris

2. Service de biochimie hormones et génétique, Hôpital X. Bichat, AP-HP, Paris.

Alors que la prévalence de l'asthme a fortement augmenté dans de nombreux pays, et plus particulièrement dans les pays ayant un style de vie « occidental », les raisons de cette augmentation restent mal connues. La plupart des études sur les facteurs de risque de l'asthme ont porté sur l'asthme allergique. On s'interroge notamment sur le rôle de la rhinite allergique dans le développement de l'asthme. Cependant, une part non négligeable des personnes asthmatiques semblent ne pas être sensibilisées aux allergènes de l'environnement. D'après l'observation de patients consultant à l'hôpital, cet asthme « non-allergique » pourrait être plus sévère que l'asthme « allergique », et plus fréquent chez les femmes et les personnes plus âgées. Toutefois, l'asthme non-allergique a été peu étudié en population générale.

### **Objectifs**

L'objectif général de ce projet était l'étude, en population générale, des facteurs environnementaux et de leurs interactions avec des déterminants personnels et biologiques, vis à vis de la survenue et de l'histoire naturelle de la rhinite et de l'asthme allergique et non allergique, chez l'adulte.

Pour répondre à cet objectif, nous avons utilisé les données d'une vaste étude européenne sur la santé respiratoire « European Community Respiratory Health Survey » (ECRHS), qui porte sur près de 10000 personnes tirées au sort dans la population générale, initialement âgées de 20 à 44 ans lors de la première étude en 1991/92 ; et revues après une période de 9 à 10 ans.

### **Principaux résultats**

Le caractère multicentrique de l'étude ECRHS a permis d'analyser des résultats de tests allergologiques pour un nombre important de sujets. Ainsi, nous avons pu étudier le risque de développer un asthme chez les personnes ayant une rhinite, selon le type d'allergènes auxquels le sujet est sensibilisé. Notre étude montre que les sujets ayant une rhinite allergique ont un risque de développer un asthme plus important que les personnes sans rhinite. Ce risque est particulièrement élevé chez les personnes ayant une rhinite, sensibilisées aux acariens. Cependant, nos résultats indiquent également que les personnes ayant une rhinite « non-allergique » (non sensibilisées aux allergènes) sont également plus à risque d'asthme. Cette recherche indique que la rhinite est un facteur de risque de l'asthme et pose la question du traitement de la rhinite comme possible mesure de prévention de l'asthme. Un questionnaire spécifique a été développé afin que cette nouvelle hypothèse puisse être traitée lors du prochain suivi de l'étude ECRHS.

Nous avons également étudié les relations entre certaines caractéristiques individuelles (ou liées au mode de vie) et le risque de développer un asthme. Une première recherche indique que l'inactivité physique est associée à une augmentation de l'inflammation bronchique. Ce résultat est particulièrement intéressant car il s'agit d'un facteur qui est fréquent dans nos sociétés occidentales, mais « modifiable ». Une autre recherche montre qu'une proportion relativement importante des personnes qui développent de l'asthme à l'âge adulte ne sont pas sensibilisées aux allergènes communs de l'environnement. Cette proportion est particulièrement élevée chez les femmes. Nous

avons démontré, pour la première fois, que l'incidence de l'asthme non-allergique est plus élevée chez les femmes par rapport aux hommes. Afin d'étudier plus spécifiquement les facteurs liés à l'asthme de la femme, nous avons mis en place un protocole spécifique et réalisé des dosages dans des échantillons de sérum de 2000 femmes de l'étude ECRHS. Une première recherche sur relations entre le niveau des hormones sexuelles et l'asthme ne semble pas indiquer d'effet notable des hormones sexuelles « féminines » vis à vis de l'asthme. De façon très intéressante, une autre recherche indique que chez la femme, l'obésité est associée à une augmentation du risque d'asthme non-allergique, et qu'un niveau élevé de leptine (une hormone pro-inflammatoire sécrétée par les tissus adipeux, plus élevée chez les personnes en surpoids et plus élevée chez les femmes) est associé à une augmentation du risque d'asthme non-allergique. Ce résultat renforce l'hypothèse d'un lien de causalité entre l'obésité et l'asthme, et ouvre de nouvelles perspectives vis à vis de la prise en charge de l'asthme, particulièrement chez les personnes en surpoids.

Au total, ce projet a apporté de nouveaux éléments de connaissance sur les déterminants de l'asthme et l'histoire naturelle de la rhinite allergique. L'étude des relations rhinite-asthme selon le type de sensibilisation indique que la rhinite représente un facteur de risque pour l'asthme. Les résultats des recherches sur les facteurs liés au mode de vie occidental suggèrent un rôle de l'inactivité physique, et des hormones liées à l'obésité dans l'inflammation bronchique et le développement de l'asthme, en particulier l'asthme non-allergique. Les résultats obtenus soulèvent toutefois de nouvelles questions qui ne peuvent être étudiées avec les données actuellement disponibles, et auxquelles le prochain suivi de l'étude ECRHS tentera de répondre.

# Exacerbation ou résolution de la réaction asthmatique par des agents environnementaux microbiens : implication de cellules de l'immunité innée

Catherine Duez<sup>8</sup>, Coordinatrice du Projet, CR1 Inserm, [catherine.duez@pasteur-lille.fr](mailto:catherine.duez@pasteur-lille.fr)  
Philippe Gosset<sup>9</sup>, Co-coordonateur du projet, CR1 Inserm, [philippe.gosset@pasteur-lille.fr](mailto:philippe.gosset@pasteur-lille.fr)  
Mathieu Barrier, Investigateur Principal Projet TLR2, Postdoctorant  
David Torres, Investigateur Principal Projet TLR3, Postdoctorant  
Bernard Ryffel<sup>10</sup>, Partenaire du projet, DR1 CNRS, [bryffel@cnrs-orleans.fr](mailto:bryffel@cnrs-orleans.fr)

## Objectifs

L'amélioration des conditions hygiéniques, qui conduit à une diminution des infections microbiennes notamment au cours de la petite enfance, est considérée comme un facteur déclenchant des maladies allergiques en diminuant les réponses tolérogéniques. A l'inverse, certaines infections respiratoires, comme celles causées par le virus Influenza, favorisent le développement de la maladie asthmatique. Notre objectif était de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors d'une inhibition ou d'une exacerbation de l'asthme allergique par des agonistes de Toll-like receptor (TLR), mimant certains composants microbiens. Plus particulièrement, l'importance de cellules de l'immunité innée a été définie en utilisant des modèles murins de sensibilisation à l'ovalbumine (OVA).

## Principaux résultats

Nous avons montré que des agonistes du TLR2 (Pam3CSK4, agoniste du TLR2 dimérisé avec le TLR1 ; FSL-1, agoniste du TLR2 dimérisé avec le TLR6) administrés après l'administration pulmonaire de l'allergène (afin de simuler un traitement chez un sujet asthmatique) diminuent significativement l'inflammation éosinophilique. Seule l'administration de FSL-1 inhibe l'hyperréactivité bronchique. FSL-1 inhibe également la production de cytokines Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) et à l'inverse, augmente la production d'IFN- $\gamma$  pulmonaire. Les taux sériques d'IgE et d'IgG1 spécifiques d'OVA restent inchangés. FSL-1 ne modifie pas les pourcentages de cellules NK dans les poumons et ganglions médiastinaux des souris sensibilisées à l'OVA, mais modifie la répartition des sous-populations de cellules NK.

A l'inverse, l'administration d'un agoniste du TLR3 (poly(I:C)) au cours des dernières administrations d'allergène induit une exacerbation des manifestations d'asthme allergique expérimental: augmentation de la production des immunoglobulines de type 2 (IgG1, IgE spécifiques), de l'inflammation pulmonaire (éosinophilie, production des cytokines et des chimiokines de type Th2) et de l'hyperréactivité bronchique. Les cellules dendritiques (DC) myéloïdes (mDC) sont impliquées dans cette exacerbation. Ces cellules sont vraisemblablement recrutées et polarisées à la suite de l'activation des cellules épithéliales bronchiques par le poly(I:C) ou le virus influenza de type A. L'augmentation de la production de chimiokines (CCL5 et CCL17) détectées au niveau de l'épithélium montre également le rôle direct de ces cellules dans l'inflammation allergique.

Par conséquent, nos études montrent que des agents microbiens, en fonction du récepteur inné qu'ils stimulent, sont capables d'inhiber ou d'exacerber l'asthme allergique expérimental. Les cellules dendritiques et les cellules épithéliales bronchiques sont impliquées dans l'exacerbation. Le rôle des cellules Natural killer, autres cellules de l'immunité innée, reste à définir.

---

<sup>8</sup> Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Équipe Immunité Pulmonaire, Institut Pasteur de Lille, 1 rue du Pr Calmette, 59019, Lille Cedex

<sup>9</sup> Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Équipe Infection Pulmonaire et Immunité Innée, Institut Pasteur de Lille, 1 rue du Pr Calmette, 59019, Lille Cedex

<sup>10</sup> CNRS - IEM - UMR 6218, Institut de Transgénose, 3B rue de la Férellerie, 45071 Orléans Cedex 2

## **Biomarqueurs RCPG de l'asthme et de la BPCO**

Nelly Frossard, directeur de recherche INSERM, Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, UMR 7200 CNRS / Université de Strasbourg

Collaborateurs : C. Lehalle, R. Kessler, A. Magnan, P. Chanez, K. Botturi-Cavaillès, D. Gras, J-L Galzi, J. Haiech

### **Contexte**

L'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont deux maladies inflammatoires chroniques des voies aériennes dont le diagnostic et le pronostic sont évalués cliniquement par des méthodes lourdes d'épreuves de provocation bronchique à la méthacholine (bronchoconstricteur) et mesure de la réactivité bronchique. Ces deux maladies inflammatoires chroniques des voies aériennes sont caractérisées par un profil inflammatoire totalement opposé (lymphocytes de type Th2, polynucléaires éosinophiles et mastocytes dans l'asthme ; lymphocytes de type CD8 et Th1, polynucléaires neutrophiles et macrophages dans la BPCO). L'objectif de notre étude était d'identifier un/des biomarqueurs qui permettraient de suivre l'état pathologique des patients atteints d'asthme ou de BPCO à partir d'une prise de sang.

### **Méthode**

Nous avons évalué le profil exhaustif d'expression du transcriptome RCPG (récepteurs couplés aux protéines G) (384 puits, carte TLDA, Applied biosystem) sur les cellules circulantes (leucocytes) de patients bien caractérisés atteints d'asthme ou de BPCO par rapport à leurs sujets contrôles appariés : apparentés dans le cas de l'asthme ou vivant dans un même environnement dans le cas de la BPCO. Les cellules circulantes sont obtenues des patients, les leucocytes séparés (Leukolock®), l'ARN extrait. La qualité de l'ARN est évaluée et validée avant transcription inverse en ADNc et amplification par qPCR. L'expression protéique sur les leucocytes circulants est à l'étude.

### **Principaux résultats**

Nous avons mis au point tout d'abord une technique de validation de la qualité des ARN par utilisation d'un ARN « Alien » n'ayant aucune séquence homologue à l'ARN de mammifère. Cet ARN de qualité parfaitement validée a été analysé par RT-qPCR. Nous avons identifié l'expression différentielle dans l'asthme et la BPCO du gène d'un récepteur couplé aux protéines G (appelé GPR AB pour Asthme-BPCO). L'expression est fonction de l'âge chez les sujets contrôles ainsi que chez les patients. Cependant, l'expression est surélevée dans la BPCO alors qu'elle est réduite dans l'asthme. Une prolongation de l'étude sera lancée prochainement en augmentant le nombre de patients à 100 au moins par maladie et contrôles.

Cette expression différentielle de GPR AB pourra potentiellement être utilisée comme biomarqueur de ces maladies inflammatoires chroniques des voies aériennes pour le pronostic, le diagnostic et/ou le suivi thérapeutique à partir d'une prise de sang.

## **Perturbateurs endocriniens, résidus pharmaceutiques, pollutions atmosphériques**

Les travaux réalisés dans ce domaine permettent à la fois de réaliser des études d'expositions des populations humaines et de définir des outils de surveillance, des modèles d'exposition aux polluants, et ainsi de contribuer à mieux comprendre les multiples facteurs qui interviennent dans les pathologies endocriniennes et neurologiques.

Les projets de l'édition 2007 concernent l'analyse et la persistance des hormones dans les lisiers et dans les sols, les effets des phtalates sur la reproduction, les effets de l'exposition au dioxyde d'azote.

- Une méthode d'analyse chimique des hormones, des antibiotiques et du suivi de l'antibiorésistance dans le lisier, s'appuyant sur l'extraction en phase solide, suivi de la séparation et de l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, a été élaborée. L'étude de différents lisiers a mis en évidence la forte concentration en hormones dans des lisiers bruts et d'antibiotiques, ainsi que la présence et la persistance d'entérobactéries potentiellement résistantes à la tétracycline. Les conditions aérobies apparaissent plus efficaces pour éliminer les hormones, les antibiotiques et les activités oestrogéniques associées. Par ailleurs, les antibiotiques présentent peu d'effet sur les champignons et les bactéries du sol. (G. Hernandez-Raquet)
- Les phtalates sont très répandus dans l'environnement et suspectés d'avoir des effets toxiques sur la reproduction. Il a été montré que l'exposition aux mono-éthyl hexyl phtalate pouvait diminuer le nombre de cellules germinales. Des expositions d'explants testiculaires humains adultes et de lignées cellulaires ont mis en évidence les mécanismes d'action des phtalates. (R. Habert)
- Un échantillon de 484 couples, de 18 à 44 ans, a été constitué pour caractériser l'impact des polluants atmosphériques urbains sur leur fertilité. Cette approche en population générale permet de montrer qu'il n'y pas d'éléments en faveur d'un effet à court terme des niveaux de dioxyde d'azote, marqueur de polluants d'origine urbaine, sur la fertilité des couples étudiés. (G. Allemand)

# Dynamique et Impact des Perturbateurs endocriniens et des composés Pharmaceutiques issus des élevages agricoles (DIPERPHA)

Guillermina Hernandez-Raquet<sup>1,2</sup> (hernandg@insa-toulouse.fr)

Patrick Dabert<sup>3</sup> (dabert@cemagref.fr)

Patrick Balaguer<sup>4</sup> (balaguer@montpellier.unicancer.fr)

Hélène Budzinski<sup>5</sup> (h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr)

Christian Mougin<sup>6</sup> (mougin@versailles.inra.fr)

Nicolas Bernet<sup>1</sup> (bernet@supagro.inra.fr).

Avec également les contributions de : Virginie Bellet, Marion Justine Capdeville, Sarah Combalbert, Nathalie Cheviron, Mickael Hedde, Angélique Igel Egalon, Christelle Marraud, et Cédric Repinçay.

## Problématique et objectifs

Les rejets issus de l'élevage sont une source avérée de composés perturbateurs endocriniens tels que les hormones et d'antibiotiques pour l'environnement. La disruption endocrinienne se fait par la liaison des hormones sur différents récepteurs nucléaires spécifiques. Les hormones sont naturellement produites par les animaux et excrétées dans les urines et les fèces. Également, dans les exploitations agricoles, différents composés antibiotiques sont régulièrement utilisés afin d'améliorer l'état sanitaire des animaux. Ces composés, hormones et antibiotiques, se retrouvent dans les déjections animales qui sont traditionnellement utilisées en agriculture comme fertilisant. A travers l'épandage des déchets agricoles, les hormones et les antibiotiques sont dispersés dans les sols et peuvent donc contaminer notre environnement aquatique et édaphique. Ce projet s'est focalisé sur l'étude du devenir des hormones et des activités endocrines associées, ainsi que des antibiotiques et des bactéries résistantes aux antibiotiques dans des systèmes de gestion des lisiers porcins, à échelle réelle ou contrôlée, en conditions anaérobies ou aérobies. Dans ce projet, nous nous sommes également intéressés au devenir des antibiotiques dans les sols et à leur impact sur la microflore du sol.

## Méthode

Pour réaliser cette étude, il a été nécessaire de valider et développer des méthodologies pour l'analyse chimique des hormones, des antibiotiques et du suivi de l'antibiorésistance dans le lisier. Ainsi, le mode de conditionnement des échantillons a été validé pour la quantification des hormones et des antibiotiques. Une méthode d'analyse des antibiotiques contenus dans la phase dissoute le lisier a été développée, basée sur l'extraction en phase solide, suivie de la séparation et analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Une méthodologie d'extraction a également été développée pour l'analyse des hormones et des antibiotiques contenus dans la fraction solide du lisier. Afin de déterminer le devenir des hormones, des activités endocrines et des antibiotiques dans les systèmes actuels de gestion du lisier, nous avons analysé les échantillons issus des systèmes réels de stockage et de traitement du lisier. L'antibiorésistance a été évaluée dans les mêmes échantillons en utilisant comme témoin du lisier d'animaux non –exposés aux antibiotiques. Pour identifier les principaux paramètres qui déterminent la dégradation des hormones et des antibiotiques, des réacteurs contrôlés ont été mis en œuvre sous conditions aérobie/anoxique, anaérobie mésophile ou thermophile et par couplage des deux conditions. Des mesocosmes contrôlés ont été utilisés pour l'étude du devenir des antibiotiques dans les sols et l'évaluation de leur impact sur la microflore.

## Principaux résultats

Une forte concentration en hormones a été détectée dans les lisiers bruts. Les hormones sont principalement contenues dans la fraction solide du lisier; dans cette fraction, la présence d'autres composés œstrogéniques a été décelée. Une forte perturbation endocrinienne via l'activation du récepteur aux estrogènes (ER) et dioxin-like (A/R) a été également détectée. Dix-huit antibiotiques

ont été détectés dans le lisier ; sept d'entre eux ont été détectés dans plus de 50% des échantillons analysés. La présence et la persistance d'entérobactéries potentiellement résistantes à la tétracycline a été détectée dans la plupart des lisiers étudiés. Dans les systèmes de traitement sous conditions réelles ou contrôlées, les conditions aérobies sont plus efficaces pour éliminer les hormones, les antibiotiques, les activités œstrogéniques et «dioxin-like» associées, bien que cette dernière semble plus récalcitrante. Les antibiotiques présentent peu d'effet sur les champignons et les bactéries du sol. L'antibiotique ciprofloxacine est fortement retenu dans les sols où il est faiblement dégradé.

<sup>1</sup>INRA- UR050 Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Narbonne

<sup>2</sup> Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et Procédés, UMR5504, UMR792, CNRS, INRA, INSA, Toulouse.

Coordinatrice du projet : Guillermina HERNANDEZ-RAQUET CR1 INRA

Responsable : Nicolas BERNET DR2 INRA

hernandg@insa-toulouse.fr

<sup>3</sup>Cemagref, Unité de recherche GERE - Gestion environnementale et traitement biologique des déchets, Rennes

Responsable : Patrick DABERT DR2 Cemagref

Patrick.Dabert@cemagref.fr

<sup>4</sup>INSERM- U896 UM1 - Signalisation Hormonale, Environnement et Cancer, CRLC Val d'Aurelle - Parc Euromédecine, Montpellier

Responsable : Patrick BALAGUER CR1 INSERM

patrick.balaguer@montpellier.unicancer.fr

<sup>5</sup>UMR 5805 CNRS - Université de Bordeaux 1 - Laboratoire de Physico et Toxicochimie de l'environnement (LPTC). Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux – EPOC, Talence

Responsable : Hélène BUDZINSKI DR2 CNRS

h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

<sup>6</sup>INRA-UR251 PESSAC - Physicochimie et Ecotoxicologie des Sols d'Agrosystèmes Contaminés.

Route de Saint-Cyr, VERSAILLES

Responsable : Christian MOUGIN DR2 INRA

christian.mougin@versailles.inra.fr

## Effets et mécanismes d'action des phtalates sur le développement et les fonctions du testicule chez la souris et l'homme (PHTALATESTIS)

Partenaires : Equipes de René Habert\*, Bernard Jégou et René Frydman

Au cours des dernières années, l'inquiétude et le débat se sont cristallisés sur l'augmentation des troubles de la reproduction masculine (baisse de la production spermatique, augmentation de l'incidence du cancer testiculaire, de l'hypospadias et de la cryptorchidie. Des arguments épidémiologiques, cliniques et expérimentaux laissent supposer que ces troubles résultent des effets délétères des perturbateurs endocriniens (PE) à activité œstrogénique ou anti-androgénique, qui sont de plus en plus variés et concentrés dans l'environnement. La période critique de sensibilité aux PE est la période fœtale et néonatale mais les PE peuvent également agir chez l'adulte.

Parmi ces perturbateurs endocriniens, nous avons choisi d'étudier les phtalates parce qu'ils sont très répandus dans l'environnement et que ce sont les perturbateurs endocriniens pour lesquels les données épidémiologiques suggérant une reprotoxicité aux concentrations environnementales sont les plus solides. Nos études ont été focalisées sur le Di-Ethyl-Hexyl-Phtalate (DEHP) et son métabolite actif, le Mono-Ethyl Hexyl Phtalate (MEHP) car le DEHP est le phtalate le plus abondant.

Aucune étude expérimentale sur le testicule dans l'espèce humaine n'ayant été effectuée, notre premier objectif fut de combler cette carence majeure en utilisant des modèles *in vitro* que nous avons précédemment mis au point chez le fœtus [1, 2] et l'adulte [3].

### Principaux résultats

Dans ce contexte, l'équipe de René Habert en collaboration avec le Service de Gynécologie de René Frydman a démontré que le MEHP a la potentialité de diminuer le nombre de cellules germinales en augmentant leur apoptose dans le testicule fœtal humain sans modifier l'activité stéroïdogène de cet organe [4, 5]. Cette observation a eu un très fort impact médiatique car c'était la première démonstration expérimentale directe de l'impact d'un PE sur les fonctions de reproduction dans l'espèce humaine. Le travail a été poursuivi en montrant que la concentration efficace minimale était de  $10^{-5}$  M *i.e.* la concentration maximale observée dans le sang du cordon ombilical [article soumis].

En utilisant des explants testiculaires humains adultes et des lignées cellulaires, l'équipe de Bernard Jégou a observé une diminution de la production de testostérone en réponse au MEHP mais aussi au DEHP à des niveaux compatibles avec les expositions objectivées chez l'homme. De plus, le testicule humain adulte est capable de convertir le DEHP en MEHP [article soumis].

Le 2<sup>e</sup> objectif du programme PHTALATESTIS fut d'étudier le mécanisme d'action des phtalates. Les phtalates sont décrits comme des substances oestrogéniques et/ou antiandrogéniques mais l'équipe de René Habert a démontré que l'invalidation du récepteur des androgènes ou des oestrogènes (ER alpha ou ER beta) ne modifie pas l'effet délétère du MEHP sur le développement des cellules germinales du testicule fœtal chez la souris [6]. De nouvelles voies d'action du MEHP ont donc été explorées en analysant l'expression des récepteurs nucléaires du testicule fœtal humain [article soumis].

### Références

- 1 - Livera G, Delbes G, Pairault C, Rouiller-Fabre V, Habert R (2006) Organotypic culture, a powerful model for studying rat and mouse fetal testis development. *Cell Tissue Res.* 324(3):507-21.
- 2 - Lambrot R, Livera G, Coffigny H, Pairault C, Frydman R, Habert R, Rouiller-Fabre V (2006) A new method for toxicity assays on human and mouse fetal testis. *Biochimie.* 88(11):1831-5.
- 3 - Roulet V, Denis H, Staub C, Le Tortorec A, Delaleu B, Satie AP, Patard JJ, Jégou B, Dejucq-Rainsford N (2006) Human testis in organotypic culture: application for basic or clinical research. *Hum Reprod.* 21(6):1564-75.
- 4 - Lambrot R, Muczynski V, Lécureuil C, Angenard G, Coffigny H, Pairault C, Moison D, Frydman R, Habert R, Rouiller-Fabre V (2009) Phthalates impair germ cell development in the

human fetal testis in vitro without change in testosterone production. *Environ Health Perspect.* 117(1):32-7.

5 - Habert R, Muczynski V, Lehraiki A, Lambrot R, Lécureuil C, Levacher C, Coffigny H, Pairault C, Moison D, Frydman R, Rouiller-Fabre V (2009) Adverse effects of endocrine disruptors on the foetal testis development: focus on the phthalates. *Folia Histochem Cytobiol.* 47(5):S67-74.

6 - Lehraiki A, Racine C, Krust A, Habert R, Levacher C (2009) Phthalates impair germ cell number in the mouse fetal testis by an androgen- and estrogen-independent mechanism. *Toxicol Sci.* 111(2):372-82.

\* René Habert, Professeur à l'Université Paris Diderot - Paris 7, Equipe de Développement des Gonades, UMR Cellules Souches et Radiations, INSERM U 967 - CEA - Université Paris Diderot  
CEA / DSV / IRCM / SCSR / LDRG

## Impact à court terme de la pollution atmosphérique sur la fertilité des couples

Lise Giorgis Allemand (1), Florence Pittion (1), Sébastien Bottagisi (1), Ditte Norbo Sorensen (2), Aline Bohet (3), Béatrice Ducot (3), Niels Keiding (2), Jean Bouyer (3), Rémy Slama (1).

Quelques études chez l'animal et l'humain ont rapporté un impact possible de l'exposition à l'âge adulte aux polluants atmosphériques sur les caractéristiques spermatiques. A notre connaissance, son impact sur la fertilité des couples n'a jamais été caractérisé.

### Objectifs

Notre objectif était de caractériser l'impact à court terme de l'exposition des couples aux polluants atmosphériques sur leur fertilité. Le polluant pris en compte était le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), considéré comme marqueur de polluants d'origine urbaine.

### Méthode

Nous avons recruté un échantillon aléatoire de couples n'utilisant pas de contraception et vivant en France métropolitaine, selon l'approche des *durées en cours*. La date de début de la période sans contraception a été recueillie pour chaque couple. La station fixe de surveillance de la qualité de l'air la plus proche du domicile du couple a été identifiée et ses niveaux moyennés durant la période précédant le début de la période sans contraception. L'association entre l'exposition et le délai avant l'obtention d'une grossesse a été estimée par un modèle de probabilité de défaillance en temps accéléré (*Accelerated Failure Time model*). Les analyses ont été ajustées sur l'âge, le niveau d'étude, la fréquence des rapports sexuels, la consommation d'alcool et le tabagisme actif et passif. Une approche par simulations a permis de quantifier dans quelle mesure les associations observées pouvaient être expliquées par des tendances temporelles dans les niveaux de pollution et de fertilité.

### Principaux résultats

Nous avons contacté un échantillon aléatoire d'environ 63 000 foyers, dont 15 811 comprenaient une femme de 18 à 44 ans qui a répondu au questionnaire d'éligibilité. Ceci a permis de recruter 484 couples n'utilisant pas de contraception et pour lesquels la durée en cours sans contraception a été estimée. Le délai avant la survenue d'une grossesse tendait à augmenter avec la concentration moyenne de NO<sub>2</sub> durant les 70 jours précédant l'arrêt de la contraception (multiplication du délai médian avant grossesse de 1,31, intervalle de confiance à 95% [1,19; 1,44] pour une augmentation de 10 µg/m<sup>3</sup> de la concentration de NO<sub>2</sub> après ajustement,  $p < 0,01$ ). Les tendances temporelles dans les niveaux de NO<sub>2</sub> expliquaient la plus grande partie de cette association (après prise en compte l'effet de la tendance temporelle sur l'association entre délai avant grossesse et exposition,  $p = 0,27$ ).

Notre approche en population générale a permis de ne pas se limiter aux couples féconds ou à ceux choisissant de médicaliser leurs difficultés à concevoir. C'est aussi une des premières études sur l'influence de la pollution atmosphérique sur la santé s'appuyant sur les données de surveillance de la qualité de l'air à l'échelle de la France entière. Après prise en compte d'un biais dû aux tendances temporelles, il n'y avait pas d'élément en faveur d'un effet à court terme des niveaux de NO<sub>2</sub> sur la fertilité des couples.

(1) Inserm, Equipe d'épidémiologie environnementale appliquée à la reproduction et la santé respiratoire, U823, Université de Grenoble, Grenoble

(2) Department of Biostatistics, Copenhagen University, Copenhagen, Danemark.

(3) Inserm, CESP Centre de recherche en Epidémiologie et Santé des Populations U1018, Equipe Epidémiologie de la reproduction et du développement de l'enfant, Le Kremlin-Bicêtre.

Correspondance : [remy.slama@ujf-grenoble.fr](mailto:remy.slama@ujf-grenoble.fr)

## SANTE, TRAVAIL ET DETERMINANTS SOCIAUX

La compréhension des différents déterminants professionnels ou environnementaux de la santé implique de mobiliser des travaux qui permettent de distinguer les parts respectives des différents facteurs, ainsi que les déterminants de la mise en œuvre des actions de prévention ou encore les mécanismes physiologiques impliqués.

Les projets financés dans l'édition 2007 concernent une approche conjointe des déterminants sociaux économiques et environnementaux des maladies cardio-vasculaires, l'observation du rôle des médecins du travail dans les pratiques de prévention, l'évaluation des mécanismes physiologiques des troubles musculo-squelettiques du canal carpien.

- Une approche spatiale à très petite échelle géographique permet à partir des mesures de pollution et des données socio-économiques de l'INSEE d'appréhender l'association entre pollution particulaire et survenue d'infarctus du myocarde. Les résultats montrent que les classes moyennes sont le plus exposées et, parmi elles, celles vivant dans les zones les plus défavorisées. Par ailleurs, les femmes les plus âgées et les plus défavorisées semblent présenter une sensibilité accrue. (D. Bard)
- L'observation sur le terrain de l'activité de travail des médecins du travail et la réalisation d'entretiens permet de comprendre leurs pratiques réelles, leurs savoir-faire, leurs difficultés et les conditions de leurs actions. (S. Caroly)
- L'évaluation des mécanismes physiologiques liés aux troubles musculo-squelettiques du canal carpien permet de mettre en évidence les effets de la compression du nerf sur la microcirculation cutanée (débit sanguin et nerveux). L'observation de patients, un mois après intervention chirurgicale, révèle que si les sensibilités tactiles et thermiques altérées reviennent à des valeurs normales, en revanche on observe une perturbation persistante de la fonction nerveuse 30 jours après l'opération. Eviter les récurrences implique des temps de récupération supérieurs. Une étude expérimentale chez le rongeur après compression du nerf sciatique montre que plus la compression a eu lieu sur une période longue, plus les difficultés de récupération sont importantes, ce qui pourrait s'expliquer par une altération des petites fibres nerveuses non-myélinisées associée à une modification des réponses endothéliales. Ces études pourraient déboucher sur l'établissement de critères de gravité dans le cadre d'un premier diagnostic. (JL Saumet)

## **Pollution atmosphérique, inégalités sociales et infarctus du myocarde (PAISIM)**

Denis BARD<sup>1</sup>, Sabrina HAVARD<sup>2</sup>, Séverine DEGUEN<sup>3</sup>, Gaëlle PEDRONO<sup>4</sup>, Charles SCHILLINGER<sup>5</sup>, Daniel EILSTEIN<sup>6</sup>, Claire SEGALA<sup>4</sup>, Dominique ARVEILER<sup>7</sup>

Les effets nocifs de la pollution atmosphérique urbaine sur la santé sont à présent établis. Certaines populations pourraient y être particulièrement vulnérables (enfants, personnes âgées, personnes porteuses de pathologies chroniques). Le niveau socio-économique pourrait moduler les relations à court terme entre la pollution atmosphérique et les événements de santé. Le projet PAISIM étudie dans ce contexte si le niveau socio-économique, estimé à une très petite échelle géographique, influence l'association à court terme entre pollution particulaire et survenue d'infarctus du myocarde.

### **Méthode**

Le protocole choisi est écologique, avec pour unité statistique l'IRIS 2000 de l'INSEE ( $\approx$  2000 habitants), et pour zone d'étude la Communauté Urbaine de Strasbourg (CUS, 190 IRIS). Les concentrations horaires des PM<sub>10</sub>, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub> et CO ont été estimées par IRIS à l'aide du modèle de dispersion atmosphérique ADMS-Urban sur la durée de l'étude et sur une base horaire. Les 1.193 cas (35-74 ans ; CIM-9 : 410) obtenus du Registre des Cardiopathies du Bas-Rhin (2000-2003) ont été géocodés à leur IRIS de résidence. Un index de niveau socio-économique spécifique a été développé, à partir de 52 variables socio-économiques du recensement de 1999, par analyse en composantes principales (19 variables expliquent 66% de la variance), et attribué à chaque IRIS. Pour décrire les inégalités socio-spatiales dans la distribution du risque d'infarctus du myocarde et dans celle des niveaux de polluants atmosphériques ont été mises en œuvre des méthodes d'analyse spatiale prenant en compte la non indépendance des données géographiques (modèle hiérarchique bayésien et modèle simultané autorégressif). Une analyse cas-croisés, stratifiée sur le temps, a été conduite par tertile de niveau socio-économique.

### **Principaux résultats**

Ce sont les classes moyennes qui sont les plus exposées, non les plus défavorisées. Il apparaît une influence significative du niveau socio-économique de l'IRIS de résidence, avec un effet plus marqué des PM<sub>10</sub> chez les sujets vivant dans les zones les plus défavorisées (accroissement de 20,5% du risque d'infarctus du myocarde pour une augmentation de 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  des PM<sub>10</sub> (lag 0 à 1 jour), intervalle de confiance à 95% (IC) : 2,2-42,0). Parmi ce sous-groupe, les femmes les plus âgées semblent particulièrement sensibles (accroissement du risque de 49,9% pour une augmentation de 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  des PM<sub>10</sub>, IC : 4,9-112,9). Des associations positives non significatives sont observées entre l'exposition à court terme (lag 0 à 1 jour) aux différents polluants atmosphériques.

L'un des points forts de PAISIM est de porter sur de très petites zones géographiques, limitant ainsi le biais de classification de l'exposition ou de niveau socio-économique. Il apporte des résultats nouveaux sur l'influence du niveau socio-économique sur le risque de déclenchement d'infarctus du myocarde lié à la pollution atmosphérique particulaire. En particulier, les femmes les plus âgées et les plus défavorisées semblent présenter une sensibilité accrue.

<sup>1</sup>Département d'Epidémiologie et de Biostatistiques EHESP, EA 4069, Université Paris Descartes. [denis.bard@ehesp.fr](mailto:denis.bard@ehesp.fr)

<sup>2</sup>ANSES, Maisons-Alfort

<sup>3</sup> Département d'Epidémiologie et de Biostatistiques EHESP, Institut de Recherches en Santé-Environnement-Travail, Rennes

<sup>4</sup>SEPIA-Santé, Baud, France

<sup>5</sup>Association pour la Surveillance et l'Etude de la Pollution Atmosphérique en Alsace (ASPA), Schiltigheim

<sup>6</sup>Département Santé-environnement, InVS, Saint Maurice

<sup>7</sup>Laboratoire d'Epidémiologie et de Santé Publique, EA3430, Strasbourg

## Les pratiques des médecins du travail dans la prévention des TMS : ressources et empêchements

Sandrine Caroly<sup>11</sup>, ergonome, maitre de conférences, Laboratoire « Politiques Publiques, Actions Politiques, Territoires » (Pacte), UMR 51 94, CNRS, université de Grenoble  
Céline Cholez, sociologue, maitre de conférences, Laboratoire Pacte, université de Grenoble  
Aurélie Landry, ergonome, maitre de conférences, (Lip--PC2S) université de Grenoble  
Philippe Davezies, clinique médicale, maitre de conférences, université Lyon  
Nadine Poussin, psychologue clinique de l'activité, doctorante, CNAM Paris  
Karine Chassaing,(IDC) ergonome, maitre de conférences, université de Bordeaux  
Fabien Coutarel, ergonome, maitre de conférences, laboratoire « Activité, connaissance, Transmission, éducation », université Blaise Pascal, Clermont Ferrand  
Alain Garrigou, ergonome, maitre de conférences, (LSTE) université Bordeaux 1  
Johan Petit, ergonome, maitre de conférences, (IDC) université Bordeaux.  
Marie Bellemare, ergonome, professeur, département des relations industrielles, université Laval à Québec  
Geneviève Baril-Gingras, ergonome-sociologue, professeur, département des relations industrielles, université Laval à Québec  
Daniel Prudhomme, ergonome, doctorant, université Laval à Québec

### Objectifs

La prévention des TMS nécessite aujourd'hui de produire des connaissances sur l'action produite par les intervenants en santé au travail. Les médecins du travail sont un des acteurs clés de la prévention, dont l'évaluation de l'efficacité de leur action est posée. L'objectif de cette recherche est de comprendre quelles sont les pratiques réelles des médecins du travail afin d'identifier leurs savoir-faire, les difficultés rencontrées et les conditions à leurs actions.

### Méthode

Notre dispositif de recherche est fondé sur un objectif de développement de l'activité des médecins du travail. Pour cela, nous avons construit une méthodologie fondée sur l'analyse de l'activité de travail. Celle-ci s'est réalisée par l'observation sur le terrain de médecins du travail (dans le cadre de la consultation et des actions en entreprise), suivi d'entretiens d'auto-confrontation simple ou croisée sur les traces de leur activité. Plus de 200h d'observations sur le terrain ont été effectuées. D'autres méthodologies ont été mises en œuvre, comme la méthode du sosie ou la confrontation du médecin au suivi d'une situation à partir de ses notes prises dans le dossier médical. De plus, nous avons pu suivre quelques médecins dans le cadre de projet de prévention des TMS en entreprise. Par ailleurs, nous avons constitué quatre groupes de médecins du travail volontaires provenant de différents services de santé au travail dans deux régions en France. L'objectif de ces groupes était d'organiser des échanges entre pairs sur la base de l'analyse de activité afin de dépasser quelques discours préconstruits et pouvoir accéder aux modes opératoires, aux empêchements liés aux contextes et aux relations avec les salariés et l'employeur et aux stratégies d'expérience. A partir d'échanges sur les controverses issues de ce métier, l'objectif était de donner des modalités de développement de l'activité pour chacun des médecins. Au total 55 médecins du travail ont participé à notre dispositif de recherche.

### Principaux résultats

L'analyse de l'activité des médecins permet de produire des connaissances sur la spécificité du métier de médecin du travail parmi les intervenants en santé au travail :

---

<sup>11</sup> D'autres chercheurs ont participé à cette recherche : Céline Cholez et Aurélie Landry (MCF, université Grenoble), et

- la consultation individuelle est importante pour pouvoir agir indirectement sur l'organisation du travail et les relations entre acteurs ;
- prendre en compte le lien santé-travail dans la consultation permet de mobiliser le salarié ;
- la consultation et les actions en entreprise sont complètement liées dans l'activité du médecin et ne peuvent pas être séparées ;
- l'intervention du médecin du travail s'inscrit dans la durée contrairement aux autres intervenants extérieurs ;
- les instruments de travail sont transformés dans l'action pour être au service de l'efficacité et de l'efficience (inaptitude, partage de dossier informatique, fiche entreprise...) ;
- lorsque le médecin du travail est en interaction avec les acteurs de l'entreprise (direction et représentants du personnel), il peut développer des ressources visant à articuler la connaissance individuelle des atteintes à la santé, la connaissance des activités de travail individuelles et collectives ;
- les médecins du travail ont du mal à évaluer l'efficacité de leur action si on les évalue dans un modèle d'intervention ;
- les médecins ont des difficultés à construire un collectif de travail, pourtant indispensable compte-tenu du caractère hybride des liens santé-travail et des variantes génériques du métier. Les médecins du travail font face à des dilemmes d'activité avec lesquels il est difficile d'agir sans les ressources d'un collectif de travail ;
- l'évaluation des pratiques professionnelles des médecins du travail pourrait servir d'instrument de formation, d'apprentissage et de lieu de débat sur le réel de l'activité.

## **Le syndrome du canal carpien : apports de l'exploration des microcirculations cutanée et nerveuse**

Jean Louis SAUMET, Professeur des Universités, Laboratoire de Physiologie FRE 3310 CNRS, Université Claude Bernard - LYON 1, LYON, jean-louis.saumet@univ-lyon1.fr

Co auteurs de ce travail : B Fromy et D Sigauco-Roussel FRE 3310 CNRS Université Lyon1 ; P. Abraham CHU d'Angers.

Première maladie professionnelle indemnisée, principal trouble musculo-squelettique, le syndrome du canal carpien (SCC) est la première cause d'intervention chirurgicale en France. Il est la conséquence de la compression du nerf médian, avec des troubles nerveux et vasomoteurs au niveau de la main. Les mécanismes physiologiques sous-jacents restent largement méconnus.

### **Objectifs**

L'objectif du projet est l'évaluation des conséquences de la pathologie, la compression du nerf, sur la microcirculation cutanée avec de nouveaux outils et concepts afin d'améliorer la compréhension et la prévention du SCC. Le débit sanguin cutané et/ou nerveux a été mesuré par débitmétrie laser Doppler avec divers tests originaux (réponse à une contrainte mécanique, tests pharmacologiques). Des méthodes classiques de biochimie, de biologie moléculaire ou d'histologie ont permis de documenter les résultats des tests fonctionnels.

### **Principaux résultats**

Deux études ont été réalisées :

1° La microcirculation cutanée a été étudiée, avant et un mois après la chirurgie, dans le territoire innervé par le nerf médian chez des patients ayant un syndrome du canal carpien. Dans la zone cutanée concernée les sensibilités tactiles et thermiques sont altérées par la présence du SCC et reviennent à des valeurs normales après la chirurgie. Toutefois, les scores fonctionnels et symptomatiques révèlent une perturbation persistante de la fonction nerveuse 30 jours après l'opération chirurgicale.

Nous avons observé une altération de la réponse à l'acétylcholine sans altération de la capacité du muscle lisse à se relaxer traduisant une atteinte endothéliale chez les patients SCC avant l'intervention chirurgicale. Elle persiste 30 jours après l'intervention chirurgicale.

Ces résultats montrent que 30 jours post- opératoires ne sont pas suffisants pour une récupération totale chez les patients. Totalement originaux ils permettront de suivre la récupération des patients à plus long terme et d'éviter les récives dues à une nouvelle exposition au risque trop précoce.

2° Une étude expérimentale chez le rongeur a été réalisée par compression modérée du nerf sciatique chez le rat. Sur la zone cutanée elle montre une altération de la fonction endothéliale et de la vasomotricité lors d'une contrainte mécanique après un mois de compression nerveuse. La récupération est bonne un mois après la libération du nerf.

Cette récupération n'est que partielle si la compression du nerf dure six mois.

Afin de mieux comprendre les mécanismes sous jacents des tests fonctionnels de la microcirculation et des analyses morphologiques ont été réalisées sur le nerf lui-même.

Au niveau cutané l'altération des tests fonctionnels vasculaires ou neuro - vasculaires suite à 1 mois de compression du nerf sciatique pourrait s'expliquer par une altération des petites fibres nerveuses non-myélinisées et non par une atteinte vasculaire.

Au contraire leur altération suite à 6 mois de compression du nerf sciatique pourrait s'expliquer par une altération des petites fibres nerveuses non-myélinisées associée à une modification des réponses endothéliales.

Le nerf lésé libère des facteurs antigéniques et inflammatoires qui pourraient influencer les réponses vasculaires en aval, sur la peau.

Les explorations réalisées chez le rongeur sont pour partie utilisable chez l'homme pour suivre la récupération après chirurgie. Une étude clinique de plus grande ampleur serait nécessaire pour connaître leur validité comme critère de gravité de la maladie dès le premier diagnostic et leur intérêt pronostique.

## FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET IMPACTS SUR LA SANTE

### Environnement et cancers : facteurs de risque

La connaissance des effets de l'environnement sur le développement des cancers implique des études à long terme à la fois en population générale et en populations spécifiques, qui puissent déterminer la part respective des différents facteurs génétiques, comportementaux, environnementaux, sociaux. Ceci nécessite de construire des cohortes suffisamment représentatives.

Les projets de l'édition 2006-2007 concernent les facteurs de risques des cancers thyroïdiens et le rôle de l'environnement dans le risque de leucémie chez l'enfant.

- La réalisation d'une base de données comprenant 1703 sujets (825 cas et 878 témoins) a été constituée pour permettre une meilleure compréhension des facteurs de risque, environnementaux et génétiques du cancer différencié de la thyroïde, ainsi qu'une évaluation de l'impact des retombées de l'accident de Tchernobyl. Cette base de données constitue une très importante source d'information pour l'identification des polymorphismes prédisposant au cancer différencié de la thyroïde. La validation des données et l'obtention de données complémentaires sont poursuivies. (F. De Vathaire)
- Les travaux d'épidémiologie ont montré très nettement une association entre la manipulation d'insecticides par la mère pendant la grossesse et le risque de leucémie chez l'enfant. En revanche, la consommation de tabac pendant la grossesse ne semble pas avoir de lien avec le risque de leucémie chez l'enfant. Il apparaît aussi un risque accru de leucémie chez les enfants vivant à proximité de routes à grande circulation ou de stations service, en rapport avec la concentration en hydrocarbures aromatiques et NO<sub>2</sub>. (J. Clavel)

## ESCALE : Rôle de l'environnement et des interactions gène-environnement dans le risque de leucémie de l'enfant

Jacqueline Clavel, Directeur de recherche Inserm, CESP, UMRS1018, Inserm, Université Paris-Sud

### Objectifs

L'enquête nationale ESCALE a été réalisée en 2003-2004 pour étudier les facteurs de risque environnementaux et génétiques des cancers de l'enfant. Elle a inclus 1454 cas incidents de moins de 15 ans atteints de leucémie aiguë (LA ; n=764), lymphome de Hodgkin (LH ; n=128), lymphome non hodgkinien (LNH : n=194), neuroblastome (NB ; 191) ou tumeur cérébrale maligne (TC ; n=209)), et 1681 témoins de population générale de mêmes âge et sexe en moyenne. Les mères des cas et des témoins ont été interrogées par téléphone et une banque d'ADN a été constituée à partir d'un prélèvement de sang pour les cas et d'un prélèvement de salive pour les témoins et les parents des cas. Le génotypage génome entier des cas de leucémie et de lymphome a été réalisé par le CNG, et une puce à façon a permis d'analyser le statut d'environ 5000 SNPs situés dans des gènes d'intérêt chez les témoins.

### Principaux résultats

La majorité de nos résultats concerne les leucémies de l'enfant et la présentation leur sera consacrée. Nous avons mis en évidence une association nette entre la manipulation d'insecticides par la mère pendant la grossesse et le risque de leucémie de l'enfant, qui renforce les doutes soulevés par la littérature et en particulier nos précédents travaux (Rudant et al, 2007a). Les stations-service sont une source d'exposition environnementale au benzène. Nous avons mis en évidence, Comme dans notre précédente enquête, nous avons observé un lien entre leucémie de l'enfant et présence mitoyenne d'une station-service, source potentielle d'exposition au benzène (Brosselin et al, 2009). Nous avons localisé les dernières résidences par rapport aux routes et à la carte des concentrations mesurées de NO<sub>2</sub> et observé un lien entre leucémie de l'enfant et différents indicateurs de trafic routier, également source potentielle d'exposition au benzène (Amigou et al, 2011).

Les infections banales précoces, un rang de naissance élevé, le fait d'être gardé en crèche, l'allaitement maternel étaient négativement associées aux leucémies de l'enfant, résultats qui renforcent l'hypothèse hygiéniste de Greaves (Rudant et al, 2010). Les antécédents vaccinaux, en revanche, étaient rigoureusement comparables entre cas et témoins (Mallol-Mesnard et al, 2007).

Nous n'avons pas observé d'association entre la consommation maternelle de tabac pendant la grossesse et le risque de leucémie, ce qui est cohérent avec l'ensemble de la littérature, mais nous observons en revanche une association avec la consommation paternelle préconceptionnelle (Rudant et al, 2008). Nous n'avons pas mis en évidence d'interactions entre consommation de tabac maternelle et des gènes impliqués dans le métabolisme du benzène (*CYP2E1*, *EPHX1* et *NQO1*), des amines aromatiques (*NAT2*) et des hydrocarbures polycycliques aromatiques (*CYP1A1* et *NQO1*), mais certains polymorphismes (*NAT2\*5*, combinaison *CYP2E1\*5* et *EPHX1 'slow'*) étaient plus fréquents chez les cas que chez les témoins (Bonaventure et al, en révision). Enfin, la supplémentation maternelle en folates pendant la grossesse était négativement associée aux leucémies, et cet effet paraissait suffisant pour compenser l'effet potentiellement délétère des polymorphismes des gènes *MTHFR* et *MTRR* (Amigou et al, en cours de soumission).

Enfin, contrairement à nos études précédentes, Escalé n'a pas montré de lien avec les antécédents familiaux (Rudant et al, 2007b). L'analyse génome entier confirme le lien fort déjà publié entre LA lymphoblastiques et des SNPs situés dans *IKZF1* (ICAROS) et *ARID5B* et précise ce lien en fonction des sous-types immunologiques et cytogénétique des cas (en cours de soumission).

Au total, ESCALE a beaucoup contribué (et contribuera encore) à une meilleure connaissance des facteurs environnementaux et génétiques des cancers de l'enfant et en particulier des leucémies. Elle constitue également un partenaire majeur du consortium international CLIC sur les leucémies de l'enfant.

Mallol-Mesnard N et al. *Int J Epidemiol* 2007;36:110-6.  
Rudant J et al. *Environ Health Perspect* 2007a;115:1787-93.  
Rudant J et al. *Int J Cancer* 2007b;121:119-26.  
Rudant J et al. *Cancer Causes Control* 2008;19:1277-90.  
Brosselin P et al. *Occup Environ Med* 2009;66:598-606.  
Rudant J et al. *Am J Epidemiol* 2010;172:1015-27.  
Rudant J et al. *Int J Cancer* 2010.  
Amigou A et al. *Environ Health Perspect* 2011;119:566-72.

## Effets des rayonnements, mécanismes moléculaires

Dans le domaine de l'exposition aux rayonnements il est nécessaire de mieux comprendre les effets des radiations ionisantes et des ondes électromagnétiques au niveau cellulaire (réponses adaptatives ou métaboliques) et au niveau moléculaire (modifications génétiques, dommages à l'ADN).

Les trois projets financés dans l'édition 2007 concernent les mécanismes moléculaires de la dégradation de l'ADN sous stress oxydant du aux radiations, la réponse cellulaire aux rayonnements ionisants, les dommages des radiations ionisantes sur les cellules nerveuses et les effets biologiques des rayonnements millimétriques.

- La connaissance au niveau moléculaire des produits de dégradation de l'ADN (leur nature, le ou les mécanismes de leur formation) est nécessaire pour mieux comprendre leurs conséquences biologiques. Les produits d'oxydation de la guanine dans l'ADN ont été étudiés et des mécanismes originaux par lesquels une lésion initiale (ou primaire) se transforme en lésions secondaires ont été identifiés. Un nouveau produit primaire d'oxydation de la guanine a été mis en évidence. (G. Pratviel)
- Les mécanismes moléculaires qui président à la phosphorylation de H2AX ou à la formation des foyers H2AX aux abords des DSB restent mal connus. Dans ce projet, on a cherché à caractériser toutes les kinases humaines qui participent directement ou indirectement à la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux irradiations. Pour ce faire nous avons utilisé deux innovations technologiques majeures : des puces à cellules et une méthode automatique et à haut débit d'imagerie et d'analyse microscopiques cellule à cellule. (X. Gidrol)
- L'objectif du projet était d'étudier la réponse aux dommages à l'ADN des cellules souches nerveuses, fœtales et adultes, à la suite d'une exposition à des radiations ionisantes et d'en établir les conséquences fonctionnelles. Des résultats expérimentaux importants ont été obtenus sur les effets de l'irradiation au cours du développement fœtal et sur la neurogenèse adulte. Le rôle de l'impact de la neurogenèse adulte sur les comportements sociaux des mammifères est abordé ; les animaux irradiés présentant une altération de la reconnaissance du genre. (F. Boussin)
- Les systèmes de communication sans fil utilisent de nouvelles fréquences qui se décalent vers les fréquences millimétriques (au voisinage de 60 GHz). Des cellules humaines en culture ont été exposées à ces fréquences, plusieurs de types de stress cellulaires ont été examinés lors d'expériences pilotes et notamment des stress sur des cultures primaires de kératinocytes humains. L'exposition à des ondes millimétriques n'induit pas de stress cellulaire. (Y. Le Dréan)

## **Mécanisme moléculaire de la dégradation de la base nucléique guanine sous stress oxydant**

Geneviève PRATVIEL, DR2 CNRS, Laboratoire de Chimie de Coordination, UPR 8241, CNRS, Toulouse  
genevieve.pratviel@lcc-toulouse.fr

L'ADN est endommagé sous stress oxydant et les lésions formées sont impliquées dans les processus de vieillissement, de carcinogénèse et de mort cellulaire. Quels sont les produits d'oxydation de l'ADN sous stress oxydant que l'on peut attendre in vivo ? La connaissance au niveau moléculaire des produits de dégradation de l'ADN (leur nature, le ou les mécanismes de leur formation) est nécessaire pour mieux comprendre leurs conséquences biologiques. En effet, on peut envisager de les rechercher in vivo lorsqu'on dispose de standards. On peut étudier leur réparation de manière individuelle. On peut mieux prédire lesquels se formeront dans telles conditions.

### **Méthode et principaux résultats**

La base nucléique guanine étant la plus oxydable, nous nous sommes focalisés sur les produits d'oxydation de la guanine dans l'ADN en cherchant à décrire quels produits sont issus d'un événement d'oxydation initial et isolé par rapport aux produits issus d'oxydations successives de la lésion initiale et cela par quels chemins réactionnels.

Nous avons pu décrire des mécanismes originaux par lesquels une lésion initiale (ou primaire) se transforme en lésions secondaires. Nous avons caractérisé un nouveau produit primaire d'oxydation de la guanine.

# Un crible fonctionnel par ARNi ciblant l'ensemble des kinases humaines révèle le rôle de la signalisation FGF dans la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux irradiations

Sami Benzina<sup>1,2,3</sup>, Amandine Pitaval<sup>1,2,3</sup>, Claudie Lemerrier<sup>1,2,3</sup>, Céline Lustremant<sup>4</sup>, Vincent Frouin<sup>4</sup>, Alexandre Papine<sup>5</sup>, Françoise Soussaline<sup>5</sup> and Xavier Gidrol<sup>1,2,3</sup>

La phosphorylation de l'histone H2AX aux abords des cassures doubles brins (DSB) de l'ADN a été caractérisée comme l'une des réponses les plus précoces aux rayonnements ionisants, dès 3 minutes après une irradiation. La détection des foyers  $\gamma$ H2AX (forme phosphorylée de l'histone H2AX) est aussi la méthode la plus sensible pour détecter les DSB et par conséquent, elle constitue une approche intéressante en biodosimétrie pour estimer les niveaux d'exposition aux rayonnements ionisants chez l'homme. En revanche, les mécanismes moléculaires qui président à la phosphorylation de H2AX ou à la formation des foyers  $\gamma$ H2AX aux abords des DSB restent mal connus. Une meilleure connaissance de ces mécanismes permettrait d'exploiter leur potentiel en biodosimétrie, mais elle pourrait également ouvrir de nouvelles perspectives en radiothérapie anticancéreuse. Nous avons donc cherché à caractériser toutes les kinases humaines qui participent directement ou indirectement à la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux irradiations.

## Méthode

Pour identifier ces enzymes nous avons utilisé une approche de génétique inverse. Elle consiste à inhiber systématiquement et consécutivement grâce à des ARN interférents (siRNA), chacune des kinases du génome dans des cellules de l'épiderme humain et à observer les conséquences sur la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux irradiations. Pour ce faire nous avons utilisé deux innovations technologiques majeures : des puces à cellules et une méthode automatique et à haut débit d'imagerie et d'analyse microscopiques cellule à cellule.

## Principaux résultats

Nous avons montré que la voie de signalisation liée au récepteur membranaire du FGF (Fibroblast Growth Factor) est impliquée dans la réponse aux dommages de l'ADN. En corollaire, il se pourrait qu'elle participe à la transmission des effets induits à distance dans les cellules non directement irradiées. A plus long terme, nos travaux permettent d'envisager l'utilisation d'inhibiteurs de kinases de cette voie pour optimiser la radiothérapie en inhibant la réparation de l'ADN dans les cellules cancéreuses irradiées pour favoriser leur mort, tout en limitant les effets induits à distance vers les cellules saines voisines.

1 CEA, DSV, IRTSV, BGE, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex, France

2 INSERM, U1038, Grenoble, France

3 UJF-Grenoble 1, Grenoble, France

4 CEA, DSV, IRCM Fontenay aux Roses

5 IMSTAR, 60 Rue Notre Dame-des-Champs, Paris 75006, France

## Cellules souches nerveuses et irradiations ionisantes

F. Lazarini <sup>a</sup>, T. Roque <sup>b,c,d,e</sup>, MA Mouthon <sup>b,c,d,e</sup>, O. Feierstein CE, C. Haton <sup>b,c,d,e</sup>, L. Rousseau <sup>b,c,d,e</sup>, O. Etienne, A. <sup>b,c,d,e</sup>, A. Mabondzo <sup>f</sup>, P.M. Lledo <sup>a</sup>, F. Boussin <sup>b,c,d,e</sup>

Notre objectif était d'étudier la réponse aux dommages à l'ADN des cellules souches nerveuses, fœtales et adultes, à la suite d'une exposition à des radiations ionisantes et d'en établir les conséquences fonctionnelles.

### Principaux résultats

Concernant les effets de l'irradiation au cours du développement fœtal, nous avons démontré que les radiations ionisantes n'induisaient pas de checkpoint G1/S dans les cellules souches nerveuses murines irradiées *in utero*. La durée de la phase G1 joue un rôle prépondérant dans la détermination du choix entre prolifération et différenciation de ces cellules. L'absence de checkpoint G1/S contribuerait ainsi à la reconstitution rapide de leur stock après l'irradiation. Nous avons par ailleurs montré l'importance de la recombinaison homologue pour les cellules souches nerveuses irradiées en phase S et G2. Son inhibition entraîne sélectivement leur apoptose, après un allongement très significatif des checkpoints intra-S et G2/M.

L'analyse protéomique de la zone neurogénèse adulte irradiée nous a permis d'identifier des candidats impliqués dans les mécanismes de prolifération des cellules souches. En particulier, différentes protéines du métabolisme de la cellule et de la réponse au stress oxydatif ont été identifiées, et une étude plus approfondie est en cours. Les résultats obtenus après fortes doses (15 Gy) révèlent que le déficit de la neurogénèse observé après radiothérapie reflète des altérations dans le microenvironnement qui régit le destin des cellules souches, plutôt qu'un effet direct de l'irradiation sur les cellules souches elles-mêmes, qui ont montré une survie inattendue à long terme après exposition à forte dose. Cela rend donc possible de stimuler les cellules souches endogènes survivantes afin de permettre une récupération de la neurogénèse. Nous avons identifié que la synthèse radio-induite de TGF-beta par les cellules endothéliales est un perturbateur majeur pour les cellules souches des niches neurogéniques adultes. Enfin l'analyse par RT-PCR (Reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction) des cellules endothéliales a montré des différences significatives d'expression de gènes après irradiation, en fonction des régions cérébrales dans lesquelles elles étaient prélevées.

Enfin, nous avons étudié le rôle de la neurogénèse bulbaire adulte dans la perception et la discrimination olfactive, ainsi que dans les apprentissages olfactifs. Nous avons notamment montré, en utilisant un modèle murin d'ablation de la neurogénèse adulte par irradiation, que les neurones générés à l'âge adulte jouent un rôle important dans les apprentissages olfactifs, au niveau de la mémoire à long terme des odeurs.

Enfin, nous avons mis en évidence des problèmes d'interaction sociale après irradiation de la SVZ (Subventricular zone) : les souris femelles irradiées interagissent plus que les contrôles avec des souris mâles de même espèce, suggérant une altération de la reconnaissance du genre après blocage de la neurogénèse bulbaire murine. La neurogénèse adulte pourrait donc jouer un rôle important pour les comportements sociaux des mammifères.

<sup>a</sup> Laboratory for Perception and Memory, Institut Pasteur and CNRS URA2182, Paris, France

<sup>b</sup> CEA DSV iRCM, SCSR, Laboratoire de Radiopathologie, Fontenay-aux-Roses

<sup>c</sup> INSERM, U967, F-92265 Fontenay-aux-Roses, France

<sup>d</sup> Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMR 967, Fontenay-aux-Roses

<sup>e</sup> Université Paris Sud, UMR 967, Fontenay-aux-Roses, France.

<sup>f</sup> CEA, DSV, iBiTec-S, Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse, Gif-sur-Yvette

## Effets biologiques potentiels des rayonnements millimétriques autour de 60 GHz

Christophe Nicolas Nicolaz<sup>1,2</sup>, Maxim Zhadobov<sup>2</sup>, Catherine Le Quément<sup>1</sup>, Fabienne Desmots<sup>1</sup>, Ronan Sauleau<sup>2</sup>, Daniel Thouroude<sup>2</sup>, Denis Michel<sup>1</sup> & Yves Le Dréan<sup>1</sup>

### Contexte et objectifs

Les systèmes de communication sans fil se sont considérablement développés ces dernières années. En raison de la saturation de la partie basse du spectre micro-ondes et des besoins croissants en transmission haut débit, les nouvelles fréquences de fonctionnement se décalent vers les fréquences millimétriques. Celles situées au voisinage de 60 GHz ont été choisies par les leaders mondiaux en télécommunications, car elles présentent de nombreux avantages. Cependant, l'utilisation de rayonnements électromagnétiques aux alentours de 60 GHz soulève quelques inquiétudes. Par exemple, ces ondes sont utilisées en thérapie dans certains pays d'Europe de l'est, ce qui laisse supposer des interactions possible entre ces ondes et les organismes vivants. Les objectifs majeurs de notre projet consistaient à déterminer *in vitro*, les effets potentiels des ondes millimétriques de faible puissance sur les processus cellulaires liés aux stress. L'originalité de ce projet tient principalement à son caractère anticipateur et préventif. En effet, il est important de noter que notre étude s'est placée en amont et que son but était de vérifier l'innocuité des ondes millimétriques avant que ces dernières ne soient mises sur le marché. A notre connaissance, ce fût le premier projet en Europe se proposant d'étudier à grande échelle, les effets biologiques potentiels des ondes millimétriques.

### Principaux résultats

Tout d'abord, un dispositif d'exposition de cellules humaines en culture a été mis en place au laboratoire. De la dosimétrie numérique et des mesures physiques ont été réalisées afin de caractériser le système d'exposition utilisé. Ensuite, nous avons analysé les modifications de l'expression génétique potentiellement induites par l'exposition des cellules aux fréquences millimétriques.

Plusieurs types de stress cellulaires ont d'abord été examinés lors d'expériences pilotes. Ces résultats préliminaires nous ont incités à concentrer nos efforts sur le stress du réticulum. De façon à avoir une approche la plus complète possible, plusieurs niveaux de réponse (promoteur, ARN, protéines) ont été analysés. Ensuite, nous avons regardé par RT-PCR (Reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction) si les caractéristiques physiques des ondes (fréquences, puissance, ..) pouvaient ou non avoir une influence sur l'expression de marqueurs du stress réticulaire. Nos résultats montrent que les ondes millimétriques de faibles puissances, quelles que soient les fréquences utilisées, n'induisent pas l'expression des protéines chaperons spécialisées dans la réponse au stress réticulaire.

Nous avons ensuite mené une approche à haut débit sur des cultures primaires de kératinocytes humains. En utilisant des puces à ADN, nous avons recherché à l'échelle du génome entier, l'existence de gènes cibles. Notre analyse a mis en évidence 5 gènes candidats qui sont différentiellement exprimés en cas d'exposition. Parmi ces gènes, 2 sont impliqués dans la réponse immunitaire ou dans la perception sensorielle, ce qui pourrait être en relation avec les effets potentiels de ces ondes millimétriques en thérapie.

La conclusion majeure de ce projet, est que dans la limite de faibles puissances ne générant pas d'effets thermiques, l'exposition à des ondes millimétriques n'induit pas de stress cellulaire, notamment de stress du réticulum. L'analyse par puces à ADN montre qu'à court terme, l'impact des ondes millimétriques sur l'expression génétique est très limité. Seuls 5 gènes ont été trouvés comme ayant une expression modifiée après 6 h d'exposition, avec un retour à la normal après 24h. Les résultats obtenus dans cette étude sont donc rassurants quant à l'utilisation des ondes millimétriques en télécommunication sans fil. Ils ont fait l'objet de 5 publications dans des journaux internationaux à comité de lecture et de 9 présentations dans des congrès internationaux

<sup>1</sup>Equipe « Homéostasie Intracellulaire des Protéines » - UMR CNRS 6026 ([www.umr6026.univ-rennes1.fr](http://www.umr6026.univ-rennes1.fr)), Université de Rennes 1, IFR 140, Rennes, France.

<sup>2</sup>Groupe « Antennes et Hyperfréquences » de l'institut d'Électronique et de Télécommunications de Rennes (IETR) - UMR CNRS 6164 ([www.ietr.org](http://www.ietr.org)). Université de Rennes 1, Rennes, France.

Contact : [yves.le-drean@univ-rennes1.fr](mailto:yves.le-drean@univ-rennes1.fr)

Titre du projet SEST : Impact sur la santé des rayonnements millimétriques (HIMWR)  
Coordonnateur du projet : professeur Denis Michel, équipe « Homéostasie Intracellulaire des Protéines » - UMR CNRS 6026 – Université de Rennes I

## Effets des nanomatériaux et des contaminants chimiques

L'analyse des effets des nanomatériaux sur la santé humaine et sur les différentes composantes de l'environnement implique de développer conjointement des travaux dans les domaines :

- de la caractérisation physico-chimique des nanomatériaux ;
- de la diffusion dans les milieux (eau, sols, air) ou dans différents substrats ;
- de la diffusion au sein des cellules et des effets biologiques.

Ces travaux s'appuient sur l'utilisation de modèles biologiques pertinents, sur la mise au point de nouvelles techniques de détection, de caractérisation, d'évaluation, de visualisation.

Si les dernières années ont permis des progrès en termes de toxicité au niveau moléculaire et cellulaire et au niveau des techniques de caractérisation, les mécanismes d'action et les effets sur les organismes vivants restent encore largement à élucider. L'interprétation des données expérimentales et leur transposition aux conditions réelles, la mise au point d'outils de mesure, nécessitent encore de vastes efforts de recherche.

Les projets de l'édition 2007 concernent la recherche de transporteurs actifs pour la détoxification du cadmium, la mise au point d'une méthode innovante de caractérisation de la cytotoxicité des nanoparticules et de définition de standards, et la caractérisation des réponses cellulaires aux nanoparticules d'oxydes métalliques.

- Une approche transversale de toxicologie allant de l'écophysiologie à la biologie moléculaire et l'immunologie a permis de mettre en évidence les mécanismes d'action du cadmium. Grâce à l'approche écophysiologique, plusieurs transporteurs chez le poisson zèbre, surexprimés après une contamination de l'eau au cadmium, ont été identifiés. De même, le rôle de l'un des transporteurs ABC humains dans la détoxification du cadmium a été identifié, ce qui ouvre de nouvelles voies de recherche. Chez l'homme, les cellules dendritiques plasmacytoïdes et myéloïdes répondent différemment. Dans le sang humain, l'effet du cadmium semble plus marqué sur les monocytes que sur les lymphocytes. (P. Catty)
- Une approche multidisciplinaire a permis de développer un instrument spécifique et intégré de type « puces à cellules » pour la compréhension de l'impact des nanoparticules les plus répandues dans le marché (silices ultrafines, dioxydes de titane, oxyde de zinc ultrafin) sur la biologie cellulaire et, ainsi, développer une technologie permettant de caractériser la cytotoxicité. Une soixantaine de nanoparticules a été décrite selon leur nature, leur surface permettant d'amorcer l'identification de standards et la création d'une base de données de nanomatériaux. (J. Angulo)
- L'exposition de lignées cellulaires *in vitro* (foie, poumon, rein) à un panel de nanoparticules choisies parmi les plus produites (oxydes métalliques) a permis de caractériser l'accumulation et leurs répartitions cellulaires, leurs effets cytotoxiques, génotoxiques et oxydatifs, afin d'identifier un profil commun de réponses cellulaires. Si les nanoparticules induisent un effet cytotoxique modéré avec 30% de mortalité cellulaire après exposition à des doses massives, certaines induisent des dommages sur l'ADN. La recherche de signatures toxicologiques de l'exposition aux nanoparticules permettrait d'identifier des marqueurs précoces de l'exposition des travailleurs ou de la population. (M. Carrière)

## Caractérisation des transporteurs actifs impliqués dans la détoxification du cadmium chez les eucaryotes supérieurs (TR-ACTIFS)

Jean-Paul BOURDINEAUD (jean-paul.bourdineaud@u-bordeaux1.fr), Patrice CATTY (patrice.catty@cea.fr) et Cyrille FORESTIER (cyrille.forestier@cea.fr)

Le cadmium (Cd), issu des activités anthropiques est un contaminant majeur de l'environnement qui s'incorpore aisément dans les chaînes trophiques. Chez l'homme, il est connu pour ses effets cancérigènes et les désordres immunitaires qu'il provoque. Les transporteurs responsables de sa détoxification ne sont toujours pas connus et sa demi-vie dans l'organisme excède 15 ans.

### Principaux résultats

Le projet TR-ACTIFS a participé à l'identification, grâce à une approche écophysiologique, de plusieurs transporteurs appartenant aux sous-familles ABC-B et ABC-C chez le poisson zèbre *Danio rerio*, surexprimés après une contamination de l'eau au Cd. L'expression hétérologue des ADNc de poisson zèbre LOC556826 et wu:fc20c02, déterminant respectivement la biosynthèse des transporteurs TAP2-like et ABCB7, confèrent une protection contre les métaux lourds au mutant *tolC* de la bactérie *Escherichia coli*. En effet, on note à la fois une augmentation importante du taux de survie et une diminution de la concentration de métal bioaccumulé par les bactéries exprimant ces transporteurs par rapport à celles témoins. Les plus proches homologues humains des transporteurs du poisson zèbre, MRP1/2, TAP1/2, ont été clonés, étiquetés et introduits chez *S. cerevisiae*. Ces quatre transporteurs s'expriment fonctionnellement mais seul l'un d'entre eux permet à la levure de survivre sur des milieux contaminés en Cd et améliore sa résistance à d'autres métaux. Ces résultats, étayés par des contrôles appropriés, semblent indiquer que MRP1 humain joue un rôle dans l'élimination du Cd chez l'homme, mais qu'aucun des 4 transporteurs ne participe directement aux désordres immunitaires provoqués par le Cd. Sur ce premier point, nos résultats vont contribuer à clarifier une littérature polémique sur le sujet...

Par ailleurs, nous avons analysé l'impact du Cd sur le niveau de présentation des molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (Classe I, impliquant TAP1/TAP2 ; Classe II, indépendante des TAP). Ces travaux ont été réalisés sur les cellules dendritiques myéloïdes et plasmacytoïdes, cellules présentatrices par excellence, mais aussi sur l'ensemble des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC), comprenant monocytes et lymphocytes. Sur les cellules dendritiques, l'exposition au cadmium induit une diminution de la présentation des CMHII uniquement sur les cellules d'origine myéloïde. La présentation des CMHIII n'est affectée par le cadmium dans aucun des deux types de cellules dendritiques. Sur les PBMC, l'effet du cadmium semble plus marqué sur les monocytes que sur les lymphocytes. Sur ces mêmes cellules, l'analyse du transcrit du gène XBP-1 suggère que la néosynthèse des protéines au niveau du réticulum n'est pas affectée par le cadmium dans nos conditions expérimentales.

Le projet TR-ACTIFS a le mérite d'avoir mis en place une approche transversale de toxicologie allant de l'écophysiologie à la biologie moléculaire et l'immunologie, sur des protéines et transporteurs de vertébrés supérieurs. Il contribue à éclaircir le rôle de l'un des transporteurs ABC humains dans la détoxification du cadmium et ouvre de nouvelles voies de recherche. De nombreuses zones d'ombre restent à éclaircir dans les années futures afin de mieux comprendre les cibles et mécanismes d'action de ce contaminant environnemental majeur qu'est le cadmium.

# Premiers pas vers l'identification des relations entre cytotoxicité aigüe in vitro et les propriétés physicochimiques des nanoparticules (PARTOX)

Jesus Angulo<sup>a</sup>, Kinga A. Malinger<sup>b</sup>, Jean-François Hochepped<sup>b</sup>, Aude Maguer<sup>c</sup>, Alain Thorel<sup>e</sup>, Christian Lajaunie<sup>d</sup>, Béatrice Schaack<sup>e</sup>

Les nanoparticules (NPs) peuvent constituer une innovation majeure dans différents domaines, car leur taille permet l'émergence de propriétés inédites de la matière. Or il semble que les nanoparticules fabriquées par l'homme ont des effets délétères sur la santé. Les déterminants de ces effets sont complexes et feraient intervenir différentes caractéristiques des particules telles que le nombre, la composition, la forme, l'état physico-chimique de surface.

## Objectifs

Le projet Partox visait à développer, par une approche multidisciplinaire, un instrument spécifique et intégré de type 'Puce à cellules' dédié à la compréhension de l'impact des NPs sur la biologie cellulaire, afin de développer des outils d'évaluation standardisés sur cellules en culture à haut débit. Plus précisément, le projet comprenait deux volets,

- Approfondir la toxicologie des NPs les plus répandues sur le marché : les silices ultrafines, le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc ultrafins ; mettre en lien l'effet toxique avec leurs caractéristiques géométriques, structurales, physiques et chimiques.
- Développer une technologie permettant de caractériser la cytotoxicité des NPs par l'analyse du phénotype de cellules cultivées sur une lame de verre (Cell on Chip ou puces à cellules).

## Méthode

Au cours du projet, nous avons mis au point un nouveau dispositif permettant l'incorporation des NPs dans des matrices gélifiées et le dépôt des complexes NPs-matrice sur des lames supports au sein d'une configuration massivement parallèle (« biopuces nanos » sur le schéma). La culture de cellules sur ces plots est réalisée pour des durées variables. Elle permet d'étudier, par la suite, l'influence des NPs sur différents paramètres cellulaires par microscopie épifluorescente (cytotoxicité, prolifération, dommages à l'ADN).

Pour arriver à ces objectifs, le consortium coordonné par ARMINES-MINES ParisTech intègre des connaissances combinées en physique et chimie des nanoparticules (ARMINES/ CEP/SCPI et ARMINES/CdM), en biologie cellulaire et toxicologie (CEA/Laboratoire Biopuces) ainsi qu'en traitement d'image et analyse statistique de données (ARMINES/CMM et ARMINES/CBIO). PARTOX était un projet de 12 mois (Déc. 2007 à Déc. 2008, durée liée à une réduction significative du budget initialement demandé), financé par le programme SEST 2007 de l'ANR avec une aide de 348 956 € pour un coût global de l'ordre de 900 000 €.

## Principaux résultats

Les résultats obtenus dans la première partie, c'est-à-dire la synthèse et la caractérisation physicochimique des nanomatériaux commerciaux et élaborés par le consortium (avec des exemples de nanoparticules de SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> et ZnO), ont permis de constituer une bibliothèque d'une soixantaine de nanoparticules décrites selon leur nature par diffraction X, leur distribution de taille et morphologie par microscopie électronique en transmission, leur surface spécifique et leur potentiel zêta. Le modèle de « fiche technique » par nanoparticule que nous avons proposé, avec un tableau des caractéristiques détaillées, est un premier pas vers une standardisation dans la création de base de données de nanomatériaux.

Etant donné la durée très courte du projet, l'objectif de la deuxième partie, qui consistait au développement d'une technologie permettant de caractériser la cytotoxicité des nanoparticules par analyse du phénotype de cellules cultivées en lame de verre, a été limitée à une étude de la faisabilité de l'approche. Un nouveau projet ANR (Mesonnet, ANR P2N 2010-2014, coordonné par le

CEREGE) permet de développer le concept de la « biopuce nano » afin d'analyser l'effet de plusieurs NPs in vitro dans des cellules et in vivo dans des petits organismes rapporteurs d'écotoxicité.

a CMM, Centre de Morphologie Mathématique, MINES ParisTech ; [jesus.angulo@mines-paristech.fr](mailto:jesus.angulo@mines-paristech.fr)

b CEP, Centre d'Energétique et Procédés, MINES ParisTech ; {[jean-françois.hochepied](mailto:jean-françois.hochepied@mines-paristech.fr),[kinga.malinger](mailto:kinga.malinger@mines-paristech.fr)}@mines-paristech.fr

c CMAT, Centre de Matériaux, MINES ParisTech ; [alain.thorel@mines-paristech.fr](mailto:alain.thorel@mines-paristech.fr)

d CBIO, Centre de Bioinformatique, MINES ParisTech ; [christian.lajaunie@mines-paristech.fr](mailto:christian.lajaunie@mines-paristech.fr)

e Institut de Biologie Structurale, Grenoble ; [beatrice.schaack@ibs.fr](mailto:beatrice.schaack@ibs.fr)

## Recherche de signatures toxicologiques de l'exposition, *in vitro*, à des nanoparticules (SIGNANOTOX)

Mary-Line Jugan<sup>1</sup>, Nathalie Herlin-Boime<sup>2</sup>, Martine Mayne-L'Hermite<sup>2</sup>, Danielle Jaillard<sup>3</sup>, Stéphane Roux<sup>4</sup>, Sébastien Leuillet<sup>5</sup>, Thierry Douki<sup>6</sup> et Marie Carrière<sup>1,6</sup>

Les nanoparticules sont introduites dans de nombreux produits de la vie courante avec lesquels nous sommes en contact direct (cosmétiques, peintures, produits et emballages alimentaires...) alors que leur innocuité n'est pas scientifiquement démontrée. Les organes cibles sur lesquels les effets toxiques pourraient apparaître sont le poumon, la peau, les organes du système gastro-intestinal, mais également des organes cibles secondaires, le foie et le rein, exposés si les NP s'avèrent traverser les barrières physiologiques. L'objectif du projet SIGNANOTOX était de rechercher des signatures toxicologiques de l'exposition aux nanoparticules, qui pourraient être des marqueurs précoces ou a posteriori de l'exposition des travailleurs ou de la population.

### Méthode

Une approche *in vitro* a été employée, consistant à exposer des lignées cellulaires de poumon (A549), de foie (Hep-G2) et de rein (NRK-52<sup>E</sup> et HK-2), à un panel de nanoparticules choisies parmi les plus produites dans le monde (oxydes métalliques : TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, nanotubes de carbone, carbures de silicium, or, argent, silice et silicium). Une batterie de tests a été mise en œuvre, dans le but de caractériser l'accumulation et la répartition cellulaire de ces NP, leurs effets cytotoxiques, génotoxiques et oxydatifs, pour finalement identifier un profil de réponse cellulaire commun à toutes ces NP. Une approche globale, par transcriptomique, a également été appliquée pour comparer les modulations dans l'expression des gènes i) d'un même type cellulaire, exposé aux différentes nanoparticules et ii) des différents types cellulaires, exposés aux nanoparticules les plus réactives.

### Principaux résultats

Nos résultats montrent que les nanoparticules induisent des effets cytotoxiques modérés (< 30% de mortalité cellulaire après exposition à des doses massives), qu'elles génèrent un stress oxydant dans les cellules, mais qui n'entraîne pas de modification majeure dans l'activité antioxydante cellulaire. Certaines des NP testées induisent des dommages à l'ADN, cassures ou dommages oxydatifs. La recherche de gènes communs, modulés par toutes ces nanoparticules, montre qu'il ne semble pas exister de signature toxicologique commune à l'ensemble des nanoparticules, même si des tendances se dégagent.

<sup>1</sup>UMR3299 CEA-CNRS, Service Interdisciplinaire des Systèmes Moléculaires et Matériaux, Laboratoire Structure et Dynamique par Résonance Magnétique, CEA Saclay, Gif sur Yvette, [maryjugan@yahoo.fr](mailto:maryjugan@yahoo.fr)

<sup>2</sup>URA2453 CEA-CNRS, Service des Photons, Atomes et Molécules, Laboratoire Francis Perrin (LFP), CEA Saclay, Gif sur Yvette, [nathalie.herlin@cea.fr](mailto:nathalie.herlin@cea.fr), [martine.mayne@cea.fr](mailto:martine.mayne@cea.fr)

<sup>3</sup>CNRS UMR 8195, CCME, Université Paris-Sud XI, Orsay, [danielle.jaillard@u-psud.fr](mailto:danielle.jaillard@u-psud.fr)

<sup>4</sup>UMR CNRS 6213, équipe "Nanosciences, Membranes et Capteurs", Université de Franche-Comté, Besançon, [stephane.roux@univ-fcomte.fr](mailto:stephane.roux@univ-fcomte.fr)

<sup>5</sup>Centre International de Toxicologie (CIT), Evreux, [sebastien.leuillet@citox.fr](mailto:sebastien.leuillet@citox.fr)

<sup>6</sup>CEA, INAC, SCIB, UJF & CNRS, LCIB (UMR\_E 3 CEA-UJF and FRE 3200), Laboratoire Lésions des Acides Nucléiques, Grenoble [thierry.douki@cea.fr](mailto:thierry.douki@cea.fr), [marie.carriere@cea.fr](mailto:marie.carriere@cea.fr)

## CONSTRUCTION SOCIALE DE L'EXPERTISE ET CONTROVERSES

La reconnaissance des expositions et des liens de causalité entre une pathologie et des expositions est marquée à la fois par des incertitudes scientifiques et par des tensions entre les différents acteurs dont l'analyse est d'autant intéressante que ces incertitudes et ces tensions sont au centre de l'expérience des victimes et de l'action des pouvoirs publics.

Les projets financés dans l'édition 2007 abordent la dynamique des controverses dans le cas de l'impact sanitaire des essais nucléaires français et de l'expertise scientifique face aux problèmes des faibles doses.

- Une enquête auprès des vétérans des essais nucléaires sur l'impact sanitaire permet de comprendre la dynamique des controverses en santé environnementale et en santé au travail, lesquelles sont marquées par les incertitudes liées aux mécanismes causaux, par une période de latence entre l'exposition et par l'apparition des premiers symptômes de la maladie. Cette enquête permet aussi de mieux comprendre les ambivalences du statut de victime. (Y. Barthe)
- La question des effets des expositions aux faibles doses est un sujet de controverse qui se pose dans de nombreux dossiers dans le champ de l'environnement et de la santé. Les études conduites ont permis de mettre en évidence l'histoire des modèles scientifiques (relation dose-effet), les transformations des controverses entre experts, les mobilisations publiques et associatives, les modes de traitement médiatiques ainsi que les contraintes produites par les controverses et par les mobilisations sur la décision publique à partir de l'analyse comparée de trois grands dossiers : radioactivité, pesticides, nanoparticules. (S. Boudia)

## Des difficultés à devenir victime. Le cas de l'impact sanitaire des essais nucléaires français

Yannick BARTHE, chargé de recherche au CNRS, Centre de sociologie de l'innovation (CNRS/Mines ParisTech)

yannick.barthe@mines-paristech.fr

En prenant appui sur le travail d'enquête que nous avons mené sur le cas de l'impact sanitaire des essais nucléaires français, cette communication propose un cadre d'analyse général permettant de comprendre la dynamique des controverses en santé environnementale et santé au travail. Le cas des essais nucléaires peut en effet être rapproché de la plupart des situations d'incertitude qui caractérisent ces domaines. Cette incertitude est liée à des phénomènes de « déliaison temporelle ». En effet, en matière de santé environnementale l'identification des dangers et de leurs effets se heurte régulièrement à cet obstacle majeur que constitue la période de latence, c'est-à-dire la durée qui sépare le moment de l'exposition à un agent pathogène et celui de l'apparition des premiers symptômes des maladies qui peuvent en résulter entre une exposition et les dommages qui peuvent en résulter. Dans ces situations, l'incertitude ne porte plus seulement sur le mécanisme causal lui-même mais sur l'un ou l'autre des maillons de la chaîne de causalité : parfois c'est une cause qui est suspectée mais ses effets sont invisibles, parfois, à l'inverse, l'existence de victimes est suspectée mais on ignore les causes de leur état. On comprend alors toute la difficulté, dans ces circonstances, à « devenir victime », c'est-à-dire à faire reconnaître un lien de causalité en dépit de l'incertitude qui entoure ce dernier. Le cas de la mobilisation des vétérans des essais nucléaires de ces cas où la défense d'une cause impose d'en passer par une politique des causes, c'est-à-dire par l'établissement de chaînes de causalité qui permettent des mises en accusation et qui ouvrent sur la possibilité d'une réparation.

### Principaux résultats

Mais la difficulté à devenir victime ne tient pas seulement à l'incertitude qui caractérise le lien de causalité entre une cause et ses effets. Car, contrairement à une idée répandue, le statut de victime, s'il est souvent revendiqué par les groupes mobilisés dans les controverses en santé environnementale, et ici par les vétérans des essais nucléaires, peut être dans le même temps difficile à assumer et renvoyer à une position inconfortable. C'est un autre résultat de cette recherche que d'explorer cette ambivalence. Celle-ci se traduit en l'occurrence par une tension entre « victime de » et « victime pour » : ainsi, si la plupart des vétérans se disent victimes des retombées liées aux essais nucléaires, ils s'estiment tout autant victimes de la non reconnaissance par l'État du sacrifice qu'ils ont consenti pour que la France se dote d'une arme nucléaire lui assurant la paix et la sécurité. Émerge dès lors un collectif dont l'identité devient ambiguë puisqu'il se compose désormais d'individus « mi-victimes, mi-héros ». Cette définition contribue à reformuler la « cause des victimes » et notamment à émousser son potentiel critique, mais c'est elle qui permet sans doute d'aboutir à une loi d'indemnisation, justifiée précisément par le sacrifice consenti.

## Les cadres de l'expertise à l'épreuve des expositions aux faibles doses (FADO)

Soraya Boudia, Professeur, Université de Strasbourg, IRIST, soraya.boudia@unistra.fr  
Francis Chateauraynaud, Directeur d'étude, EHESS, GSPR, Paris, chateau@msh-paris.fr  
Nathalie Jas, Chargée de recherche classe 1, INRA, RiTME, Ivry sur Seine, jas@ivry.inra.fr

FADO est un projet de recherche interdisciplinaire en sciences sociales, mobilisant en particulier les approches et les outils de l'histoire et de la sociologie. Il a pour objectif principal l'analyse de l'expertise scientifique face au problème des expositions aux faibles doses de polluants. Son développement s'appuie sur un triple constat :

- Les alertes et les controverses qui se sont multipliées ces dernières d'années, autour de dossiers comme le nucléaire, l'amiante, les OGM, les pesticides ou les nanotechnologies témoignent de l'importance croissante et de l'élargissement des champs où les questions de risques sanitaires et environnementaux sont désormais posées. La multiplication du nombre de dossiers à risque a modifié durablement la place des sciences et des techniques dans l'espace public, renforçant ainsi le régime d'incertitude qui marque les sociétés contemporaines.
- Dans le déploiement public de ces controverses sanitaires et environnementales, comme dans les transformations des modalités de recherche et d'expertise scientifiques, le problème des risques liés aux expositions aux faibles doses n'a cessé de gagner en importance. Face aux multiples incertitudes qui subsistent dans de nombreux dossiers sur ce problème, des appréciations différentes sur les risques encourus sont possibles. Ces incertitudes ne sont donc pas endogènes à la communauté scientifique mais régulièrement questionnées, sollicitées et impulsées par le jeu social. En retour, leur mise en visibilité dans le cadre de débats entre experts est un facteur amplificateur de controverses et d'installation de l'incertitude dans l'espace public.
- En dépit de ces incertitudes, les pouvoirs publics sont appelés à agir dans différents domaines. Leurs décisions (ou non décisions) s'appuient sur des avis formulés par des groupes d'experts. Les scientifiques, en tant qu'experts au sein de comités nationaux et internationaux, ont généralement à faire tenir ensemble une série de considérations et de contraintes relevant tout à la fois de l'état des connaissances, de préoccupations économiques (développement de tel ou tel secteur industriel) et politiques (contestation et acceptabilité sociale d'un risque donné). L'expertise scientifique connaît ainsi des problèmes récurrents de positionnement, devenant dans bien des dossiers la cible de la critique.

### Objectifs

Sur la base de ces constats, le projet Fado a pour objectifs de retracer les trajectoires de long terme de la question des faibles doses et d'analyser les manières dont elle est traitée dans les cadres d'expertise existant ainsi que les modalités par lesquelles elle les a configuré. Fado s'appuie sur l'étude comparative de trois dossiers différents : radioactivité ; pesticides ; nanoparticules.

Pour chaque dossier, une étude est conduite selon trois axes de travail :

- L'histoire des modèles dose-effet ;
- L'expertise face aux faibles doses ;
- Contestations publiques autour des faibles doses.

L'ensemble de la recherche a été organisée selon trois modalités : collecte de données, constitution de séries archivistiques et documentaires ; entretiens ; constitution et analyse des corpus, ce qui a permis la reconstitution des trajectoires du problème des faibles doses, d'étudier le déplacement épistémologiques et politiques induits par les faibles doses, les difficultés de l'expertise scientifique face au problème des incertitudes multiples ainsi que l'analyse du problème des faibles doses dans les arènes publiques.

## **Principaux résultats**

Cette recherche a ainsi permis :

- Une clarification : des modèles épistémiques et des conflits politiques qu'engendrent les dossiers de faibles doses ; des contraintes produites par les controverses entre experts et par les mobilisations associatives sur la décision publique.
- Une analyse des modes de traitement médiatique des dossiers de faibles doses et du rôle des médias dans l'existence publique de ces dossiers.
- Constitution d'une base de corpus interrogeable dynamiquement avec la création d'un dispositif coopératif consacré aux faibles doses et aux questions santé-environnement, dispositif ouvert, à terme, à l'ensemble de la communauté des chercheurs.
- Le positionnement de manière décisive des chercheurs français en sciences sociales dans la constitution d'un champ d'étude du domaine santé-environnement, et leur visibilité à l'échelle internationale.

Retrouvez le document d'orientation scientifique SEST,  
ainsi que les papiers de synthèse sur les projets présentés lors du colloque sur



[www.agence-nationale-recherche.fr](http://www.agence-nationale-recherche.fr)



212 rue de Bercy - 75012 Paris France  
Tél. : +33 (0)1 78 09 80 00