

1^{er} colloque bilan
des projets financés dans le cadre
du programme SEST 2005

Colloque santé-environnement santé-travail

9-11 décembre 2009 - Paris
Couvent des Cordeliers, 21 rue de l'École de médecine

Sommaire

- Page 10** - Impact des pesticides sur le développement intra-utérin, étude épidémiologique PELAGIE en Bretagne.
- Page 11** - L'Observatoire épidémiologique de la fertilité en France (Obseff)
- Page 12** - PESTIMAT : matrice activité-exposition permettant de reconstituer l'historique d'utilisation des pesticides à des fins épidémiologiques
- Page 14** - Prévalence de la maladie de Parkinson et étude cas-témoin parmi les affiliés à la Mutualité Sociale Agricole de cinq départements
- Page 16** - Nourrir des souris avec un régime alimentaire contenant de la chair de poisson de Guyane française : un modèle de l'intoxication au mercure des amérindiens Wayanas.
- Page 19** - Apport des modèles murins de mésothéliome à la compréhension de l'oncogenèse mésothéliale.
- Page 21** - EGEA - Facteurs environnementaux et interactions gènes environnement dans l'asthme.
- Page 22** - Rôle de l'épithélium bronchique dans la fibrogenèse tissulaire dans l'asthme sévère.
- Page 24** - Interactions mastocyte - muscle lisse bronchique dans l'asthme.
- Page 25** - Pneumopathies d'hypersensibilité : interaction cellule-antigène et optimisation du diagnostic par le développement d'antigènes recombinants (PHS-ICAD)
- Page 27** - Marqueurs précoces de l'inflammation bronchique dans des métiers à risques d'asthme Professionnel. Incidence de l'hyperréactivité bronchique chez des apprentis exposés à des poussières de farine et des aérosols chimiques et changement des concentrations du monoxyde d'azote exhalé.
- Page 28** - Marqueurs de l'inflammation pulmonaire dans les condensats de l'air exhalé.
- Page 29** - Le transport dans le système aérien pulmonaire.
- Page 31** - Pollution atmosphérique au monoxyde de carbone et insuffisance cardiaque chez le rat : mécanismes physiopathologiques – rôle de l'activité physique.
- Page 33** - Toxicologie des Nanoparticules (NP) : Influence de la taille, de la composition chimique et de la réactivité de surface sur leurs effets pulmonaires et rénaux (NANOTOX).
- Page 35** - Caractérisation in situ de la surface des aérosols fins et ultrafins.
- Page 36** - Nouvelles méthodes d'imagerie des éléments traces en électrophorèse sur gel pour la spéciation multimodale des complexes métal-protéine.
- Page 38** - Effets des radicaux libres de l'environnement sur le vieillissement et la neurodégénérescence via la transcription erroné des lésions de l'ADN.
- Page 39** - Effets des rayonnements ionisants sur les kératinocytes souches de l'épiderme humain.
- Page 41** - MAALS (MAGnetic fields and ALS). Effet des champs magnétiques de 50 Hz sur un modèle animal de Sclérose Latérale Amyotrophique.
- Page 43** - Facteurs de risque professionnels des cancers du poumon et des voies aéro-digestives supérieures : l'étude Icare.

- Page 44** - Leucémies de l'enfant et environnement.
- Page 46** - Facteurs de risque environnementaux et professionnels des cancers du sein : l'étude CECILE.
- Page 47** - Déterminants contextuels des variations spatiales de morbidité cardiovasculaire : de l'analyse de données secondaires à la mise en place de la Cohorte RECORD.
- Page 49** - Quelles relations entre expositions environnementales, inégalités sociales et risque pour la santé ? Le projet PAISA (Pollution Atmosphérique et Inégalités Sociales face à l'Asthme).
- Page 53** - L'économie de la réparation. Les exemples croisés des accidents du travail et des accidents médicaux.
- Page 56** - Histoire(s) de la santé au travail (19e-20e s.).
- Page 58** - Quantifier la santé au travail en entreprise : Acteurs, conventions et usages.
- Page 60** - La production de connaissances en Santé au travail : regards croisés internationaux.
- Page 62** - Des risques sous contrôle : les effets d'inertie du dispositif de sécurité sanitaire.
- Page 65** - Marcher en ville : un nouveau style de vie.
- Page 67** - Le non-recours aux soins des actifs précaires.
- Page 70** - La gestion médicale de l'efficacité en situation d'abandon thérapeutique : Etude comparée franco-qubécoise de la mesure de la qualité de vie au sein de la relation malade-personnel soignant dans un cadre hospitalier de soins palliatifs.
Qualité de vie des patients et prévention des risques psychosociaux : enquêtes sur les pratiques de soins palliatifs en France et au Québec.
- Page 72** - La santé des soignants : conditions de travail et rapport aux risques professionnels des professionnels du soin.
- Page 75** - Etude pluridisciplinaire des facteurs participant à la charge de travail en situation de travail posté : analyse selon le moment du poste et selon le poste.
- Page 77** - Evaluation du coût du stress professionnel en France et perspectives pour une comparaison entre pays européens
- Page 79** - Les déterminants organisationnels et managériaux de la santé au travail : l'enjeu de la parole sur le travail.
- Page 82** - La gouvernance régionale des risques professionnels en question : entreprises, pouvoirs publics et partenaires sociaux.
- Page 86** - Bioscope Corse - Méditerranée : 5 ans d'exploration du vivant à l'interface homme-animal.
- Page 87** - Émergence des maladies infectieuses : quand des pathogènes cachés se révèlent. Un concept unificateur mis à l'épreuve sur des pathologies exemplaires.
- Page 89** - Interrelations entre environnement et émergence des maladies infectieuses : étude de cas en Guyane française.
- Page 91** - Biodiversité des Hantavirus et de leurs réservoirs en Asie du Sud-Est. Modélisation et cartographie des risques.

- Page 93** - Déterminants environnementaux de la répartition et de l'incidence de la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* en Afrique de l'Ouest et du Nord.
- Page 94** - EPI-DENGUE, l'émergence de la dengue dans des environnements en mutation : point sur l'acquisition des connaissances.
- Page 97** - MOREVOL : Evolution et gestion de la résistance des moustiques aux insecticides.
- Page 100** - Ecologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) chez les amérindiens Wayampi, les animaux sauvages et l'environnement à Trois-Sauts (Guyane).
- Page 102** - Impact du lagunage et de l'épandage de déchets organiques sur la diffusion et l'évolution de bactéries pathogènes de l'Homme.
- Page 104** - Projet ISNATOX : Production de standards internes de toxines d'origine naturelle uniformément enrichis par des isotopes stables.

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 auxquelles les recherches tentent d'apporter une réponse dans le cadre du programme « Santé-environnement et Santé-travail » de l'Agence Nationale de la Recherche.

La qualité des écosystèmes, 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 oeuvre des normes et des règles, 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, envisageaient le développement des connaissances et le développement de la recherche publique.

Organisation d'une vaste réflexion stratégique

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 a mis en oeuvre, avec le GIP ANR à l'automne 2003, une réflexion prospective associant largement les opérateurs de recherche (CEA, CEE, CNRS, CPU, INED, INRA, INSERM, Institut Pasteur, IRD) 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, 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, la dynamique scientifique 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.

- un séminaire, 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 « Santé-environnement Santé-travail » de l'ANR

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 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;
- 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;
- 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;
- connaître les impacts sur la santé et sur les grandes pathologies;
- décrire les dimensions sociales, économiques, des interactions entre santé et environnement ou santé et travail.

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, dont 49 en 2005, mobilisant 125 partenaires, dans les domaines des sciences biologiques et médicales, des sciences physiques et chimiques, des sciences humaines et sociales.

Objectifs du colloque

Ce colloque a pour objectifs de présenter les résultats des 49 projets financés lors de l'édition 2005 du programme et d'identifier de nouvelles perspectives de recherche.

Les présentations sont organisées en cinq grands chapitres :

- Impacts des déterminants environnementaux sur la santé (perturbateurs endocriniens et neurologiques; pathologies respiratoires; particules et nanoparticules - caractérisation; expositions et effets; effets des rayonnements)
- Expositions et facteurs de risques
- Organisations et pratiques sociales, savoirs, normes et représentations (transformation des catégories d'analyse et d'action, pratiques sociales ou professionnelles et santé)
- Sécurité et risques au travail : connaissance des déterminants et gouvernance
- Rôle de l'environnement dans la dynamique des pathogènes (émergence et réémergence des maladies infectieuses dans les environnements en mutation, résistances et transferts de gènes)

1. 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.

Comité scientifique

Annick Alperovitch, INSERM
Michel Aubier, INSERM
René Bally, CNRS
Alain Boudou, Université de Bordeaux I
Eliane Coeffier, Institut Pasteur
Bernard Charley, INRA
Bernard Delay, CNRS
Michel Fontes, Université de la Méditerranée
Denis Hémon, INSERM
Nicole Pasteur, Université de Montpellier 2
Véronique Plocq-Fichelet, SCOPE
Eric Quemeneur, CEA
Jean-Claude Rabier, ANR, Université Lyon 2
François Renaud, CNRS
Vincent Robert, IRD

Responsables ANR

Pierre Caumette, responsable des programmes SEST (Santé-Environnement et Santé-Travail) et CES (Contaminants Ecosystèmes Santé), département biologie santé, ANR, Professeur de Microbiologie, Université de Pau

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

Marie-Ange Folacci, responsable de la communication

Aline Tournier, chargée de communication

Impact des déterminants environnementaux sur la santé

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.

La connaissance de leurs impacts sur la santé humaine nécessite à la fois :

- d'analyser, voire de modéliser, de caractériser le rôle des déterminants environnementaux (agents physiques, chimiques et biologiques, modifications de l'environnement...), les transferts des polluants dans les différents milieux,
- et de mesurer les expositions humaines, de décrire les mécanismes d'action (moléculaires, cellulaires et tissulaires) et les effets biologiques ou physiopathologiques, les interactions entre expositions environnementales et caractéristiques individuelles, biologiques ou génétiques, et aussi de donner une explication causale.

Toutes les 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'investigation.

Les recherches portent également 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), la mise au point de nouveaux marqueurs d'exposition et d'effet, de la biodisponibilité des produits, risques liés à différents types d'expositions (chroniques à faibles doses, multiexpositions chroniques, effets à long terme, effets des agents émergents...).

Perturbateurs endocriniens et neurologiques

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 expositions, des modèles d'exposition aux polluants, et ainsi de contribuer à mieux comprendre les multiples facteurs qui interviennent dans les pathologies endocriniennes et neurologiques.

- Étude des niveaux d'exposition prénatales aux pesticides organoazotés (atrazine, alachlore, metolachlore), organophosphorés (parathion, terbufos, chlorpyrifos, chlormephos...) et organoétains (butylétains, phénylétains) et de leur impact sur le développement intra-utérin, grâce à une étude, auprès de 3500 femmes enceintes en début de grossesse dans trois départements bretons, permettant de rechercher les biomarqueurs d'exposition et de corrélérer des mesures indirectes d'exposition et des caractéristiques individuelles. (C. Chevrier)
- Élaboration de nouvelles méthodologies d'étude pour caractériser la fertilité de la population et sa sensibilité aux facteurs environnementaux à partir de la comparaison des principaux types d'études épidémiologiques de l'influence des polluants sur la fertilité des couples et de la prise en compte de la fertilité de la population générale. (R. Slama)
- Mise au point d'un outil permettant la reconstitution des expositions professionnelles aux pesticides prenant en compte la fréquence, la probabilité et l'intensité des expositions dans divers contextes agricoles français depuis les années 50 (vigne, du blé, orge, maïs, colza, pommes, tournesol...). (A. Blanc-Lapierre)
- Élaboration d'un outil d'étude de prévalence et de surveillance grâce à la prise en compte des multiples facteurs de la maladie de parkinson (lien avec l'exposition aux pesticides, - notamment organochlorés -, rôle de la susceptibilité génétique...), à partir d'une population issue des bases de l'assurance maladie, afin de développer un modèle prédictif incluant les variables démographiques, médicales et d'usage des médicaments. (A. Elbaz)
- Création d'un modèle pour étudier les effets de l'exposition au mercure des populations Amérindiennes de Wayanas, grâce à la mise en évidence des effets sur l'expression génétique, l'activité respiratoire mitochondriale, le comportement ou la densité des cellules cérébrales à partir de modèles animaux (souris). (JP. Bourdineaud)

Impact des pesticides sur le développement intra-utérin, étude épidémiologique PELAGIE en Bretagne.

*Cécile Chevrier (Chargée de recherche INSERM), Sylvaine Cordier (Directeur de Recherche INSERM)
U625 INSERM, Université de Rennes I,
cecile.chevrier@rennes.inserm.fr, sylvaine.cordier@rennes.inserm.fr*

Le rôle des expositions environnementales pendant la grossesse sur le développement intra-utérin et le développement postnatal est bien établi pour quelques toxiques (plomb, mercure), mais le nombre de produits potentiellement mis en cause s'accroît. Grâce à l'amélioration de la sensibilité des méthodes de mesure des expositions environnementales, et en particulier la mise au point de mesures biologiques, ces relations peuvent maintenant être étudiées de façon beaucoup plus fine. La critique des études existantes porte souvent sur le caractère rétrospectif des informations recueillies sur les expositions. Ces arguments sont en faveur de la mise en place d'études prospectives, déterminant toutes les conséquences d'une même exposition sur le développement.

La population bretonne, en raison d'une forte activité agricole dans la région et d'une consommation de produits de la mer supérieure à la moyenne nationale est particulièrement concernée par l'exposition aux pesticides. L'étude PÉLAGIE a été conçue pour étudier l'impact des pollutions de l'environnement en Bretagne sur le déroulement de la grossesse et la croissance intra-utérine.

Objectifs

L'objectif du présent projet est d'étudier les niveaux d'expositions prénatales aux pesticides organoazotés (atrazine, alachlore, metolachlore), organophosphorés (parathion, terbufos, chlorpyrifos, chlor-mephos...), et organoétains (butylétains, phénylétains) et leur impact sur le développement intra-utérin.

Méthode

L'étude PELAGIE a inclus près de 3500 femmes enceintes en début de grossesse entre 2002 et 2006 à partir de trois départements bretons (Ille et Vilaine, Finistère, Côtes d'Armor). Diverses informations et échantillons biologiques ont été collectés à l'inclusion, à la naissance et lors du suivi des enfants. Les prélèvements urinaires réalisés en début de grossesse ont été utilisés pour les dosages de métabolites urinaires des pesticides organoazotés et organophosphorés. Les niveaux d'imprégnation par les organoétains ont été déterminés dans les placentas. Les dosages chimiques ont été effectués respectivement à l'IDHESA (anciennement Pôle Analytique des Eaux, Brest) pour les organoazotés et organophosphorés et au BRGM (Orléans) pour les organoétains. Au sein de la cohorte PÉLAGIE, les biomarqueurs d'exposition ont été recherchés selon une stratégie cas-cohorte : i.e. sur une sous-cohorte de près de 600 individus et pour des groupes de naissances anormales (retards de croissance intra-utérins, malformations congénitales, interruptions de grossesse). Des mesures indirectes de l'exposition aux pesticides à partir des mesures environnementales (activités agricoles, cadastre d'émission de pesticides) et de caractéristiques individuelles (usage de pesticide à domicile, alimentation) ont été construites. Les premières analyses statistiques des données collectées ont permis de recueillir des résultats importants et originaux dont l'interprétation et l'analyse sont en cours.

L'Observatoire épidémiologique de la fertilité en France (Obseff)

*Rémy Slama*¹; *Aline Bohet*²; *Oluf Hansen*³; *Sébastien Bottagisi*¹; *Béatrice Ducot*²; *Niels Keiding*³; *Jean Bouyer*².

Une détérioration de la santé reproductive masculine a été décrite dans différents pays industrialisés. Cette détérioration pourrait être due à des facteurs environnementaux et pourrait avoir des répercussions en terme de fertilité des couples. Très peu d'études ont cherché à décrire la fertilité des couples de la population générale, ou ses évolutions temporelles. Par ailleurs, l'influence de facteurs environnementaux prévalents dans la population générale, tels que la pollution atmosphérique ou le tabagisme, sur la fertilité des couples, est mal connue.

Objectifs

Nos objectifs étaient 1) sur le plan méthodologique, identifier les intérêts et limites des principaux types d'études épidémiologiques proposés pour caractériser l'influence des polluants environnementaux sur la fertilité des couples ; 2) du point de vue de la santé publique, décrire les composantes de la fertilité de la population vivant en France au moment de l'étude ; 3) du point de vue étiologique : étudier l'influence de facteurs environnementaux sur la fertilité humaine.

Méthodes

L'objectif de comparaison de l'efficacité des principaux types d'études épidémiologiques sur la fertilité a reposé sur un modèle démographique théorique, dans lequel la vie reproductive d'une population de 100 000 femmes en âge de se reproduire a été simulée. Les 4 principaux types d'étude sur la fertilité des couples ont été appliqués à cette population fictive, et leurs estimations comparées aux valeurs théoriques implémentées dans le modèle. Les autres objectifs ont reposé sur le recrutement d'un échantillon aléatoire de couples n'utilisant pas de contraception, vivant en France métropolitaine, selon l'approche des durées en cours. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide d'un modèle proposé par Yamaguchi. L'exposition aux polluants atmosphériques a dans un premier temps été estimée à partir du réseau de surveillance de la qualité de l'air (stations les plus proches des domiciles des couples).

Résultats

Nos simulations ont montré que l'approche reposant sur les grossesses a tendance à surestimer le niveau de fertilité des populations (objectif 1). Nous avons contacté un échantillon aléatoire de 64 000 foyers, dont 15 900 comprenaient une femme de 18 à 44 ans acceptant de répondre à notre questionnaire d'éligibilité. Ceci a permis de recruter 997 couples n'utilisant pas de contraception. La proportion de couples restant sans contraception (n'ayant pas débuté de grossesse ou de traitement de l'infécondité) au bout de 6, 12 et 24 mois était estimée à 23% (intervalle de confiance à 95%, 10-34%), 12% (6-19%) et 6% (3-9%), respectivement. Le tabagisme actif de la femme n'était pas associé à la fertilité du couple. L'analyse des effets de la pollution atmosphérique est en cours.

Conclusion

Les résultats méthodologiques pourront servir de base à un choix rationnel du type d'étude lors de travaux futurs visant à caractériser la fertilité de la population générale, ou sa sensibilité aux facteurs environnementaux. Notre étude est la première à fournir une description de la fertilité des couples ne se limitant pas aux couples féconds ou à ceux choisissant de médicaliser leurs difficultés à concevoir.

PESTIMAT : matrice activité-exposition permettant de reconstituer l'historique d'utilisation des pesticides à des fins épidémiologiques

Isabelle Baldi¹, Audrey Blanc-Lapierre¹, Pascale Fabbro-Peray³, Clément Lavin-Cardo^{1, 2}, Marie Barrau¹, Elodie Niez², Elisa Boutet⁴, Michel Druet-Cabanac⁵, Jean-Marc Soulat⁴, Alain Garrigou¹.

Un nombre important d'études épidémiologiques, principalement menées en Amérique du Nord ou en Europe du Nord, ont retrouvé un lien entre l'activité professionnelle agricole et le développement de pathologies chroniques, notamment dans le domaine des cancers, des pathologies neurologiques et des troubles de la reproduction. L'exposition professionnelle, présente ou passée aux pesticides concerne en France une population très nombreuse, dépassant deux millions de personnes d'après le recensement agricole de 2000, sans compter le nombre de personnes concernées par des expositions environnementales (loisirs, jardinage, usage domestique). Cependant l'étude du rôle des pesticides dans la survenue des pathologies chroniques se heurte à un certain nombre de difficultés méthodologiques, expliquant certainement les contradictions entre les résultats des études existantes, et le faible nombre de conclusions statistiquement significatives. Parmi ces difficultés, la reconstitution rétrospective des expositions des individus aux pesticides occupe un rôle de premier plan, qui s'explique notamment par un ensemble de caractéristiques des produits pesticides : leur grande diversité - près de 1 000 matières actives mises sur le marché en France, commercialisées dans plus de 9 000 produits différents ; la variabilité de leur toxicité potentielle ; l'hétérogénéité des activités et pratiques agricoles ; la multiplicité des associations de matières actives, d'adjuvants, d'impuretés de fabrication.

Objectif de la matrice

L'objectif du projet PESTIMAT est d'établir une matrice activité agricole exposition reconstituant la fréquence, la probabilité et l'intensité des expositions aux pesticides dans divers contextes agricoles français depuis les années 50.

Ceci est réalisé en établissant des tables de correspondance par culture et par année (depuis 1950) entre les matières actives pesticides et la probabilité, la fréquence et l'intensité des expositions professionnelles. Ces paramètres seront utilisés dans des études épidémiologiques en milieu agricole sur les pathologies chroniques telles que les troubles neurologiques ou les cancers.

La première version de la matrice porte sur les cultures les plus fréquentes en France, à partir d'un nombre limité de régions, c'est-à-dire les grandes cultures, la viticulture et l'arboriculture, qui correspondent à plus de 90% des exploitations françaises (recensement agricole de 2000).

État d'avancement

A la fin de l'année 2009, la plupart des informations ont été extraites pour les cultures suivantes : vigne, blé, orge, maïs, colza, pommes, tournesol. Les données recueillies sont en voie d'homogénéisation et de confrontation entre les régions. Les premiers paramètres de la matrice sont en cours d'élaboration pour la viticulture. L'étape actuelle consiste à élaborer des probabilités, fréquences et intensités de l'exposition des individus à des matières actives ou des familles de pesticides données. Au cours de l'année 2008-2009, la démarche de consolidation des données a été menée à son terme pour l'ensemble des 50 matières actives qui constituent les organophosphorés. L'aboutissement de la démarche pour cette famille a permis de rédiger un protocole finalisé applicable aux autres familles de molécules. Une deuxième famille de pesticides, les organochlorés est également actuellement en cours de consolidation en vigne. Les paramètres obtenus pour les organophosphorés ont connu une première utilisation pour élaborer des index d'exposition dans une étude épidémiologique existante : la cohorte PHYTONER.

Afin de valider ces données, une démarche de consensus impliquant un panel d'experts du domaine est en cours de réalisation.

Retombées attendues

Ce projet doit permettre de mieux connaître les expositions aux pesticides dans le contexte de l'agriculture française, avec une description fine par culture et par zone géographique. Il permettra d'évaluer de façon fiable les expositions aux pesticides dans les études épidémiologiques étiologiques, telles que CERENAT et AGRICAN et donc d'apprécier la relation entre ces produits (globalement ou pour des familles spécifiques) et la survenue de certaines pathologies chroniques pour lesquelles des hypothèses vis-à-vis de ces expositions existent (certains cancers, pathologies neurodégénératives,...). Enfin, cette matrice permettra de mieux définir les expositions aux pesticides des individus présentant des pathologies professionnelles et facilitera leur éventuelle prise en charge et reconnaissance.

Ce projet est mené grâce au soutien financier de l'Agence Nationale de la Recherche et de l'Institut National du Cancer (Cancéropôle du Grand Sud Ouest).

1 Laboratoire Santé Travail Environnement, EA3672, ISPED, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 33076 Bordeaux

2 GRECAN, EA1772, Centre François Baclesse I 4076 Caen

3 DIM, CHU de Nîmes 30029 Nîmes

4 Laboratoire de Médecine du Travail, CHU Toulouse, INSERM U558, 31059 Toulouse

5 Registre des Cancers du Limousin, 87042 Limoges

Prévalence de la maladie de Parkinson et étude cas-témoin parmi les affiliés à la Mutualité Sociale Agricole de cinq départements

Alexis Elbaz, DR2, Inserm U708, Neuroépidémiologie, Paris ; alexis.elbaz@upmc.fr

Patrick Boiron, PR, UMR CNRS 5557 Ecologie Microbienne, Lyon ; boiron@univ-lyon1.fr

La maladie de Parkinson (MP) est considérée comme étant d'origine multifactorielle, impliquant des facteurs environnementaux et de susceptibilité génétique. Parmi les facteurs d'environnement, plusieurs études ont retrouvé une association avec l'exposition aux pesticides, sans qu'une catégorie de produits puisse être plus particulièrement impliquée.

Afin d'étudier cette relation plus en détail, nous nous sommes intéressés à des personnes fortement exposées aux pesticides, les affiliés à la Mutualité Sociale Agricole (MSA). Dans le cadre d'une étude précédente (Terre) et en utilisant une méthode d'expertise individuelle de l'exposition, nous avons observé une association entre la MP et l'exposition professionnelle aux pesticides, avec chez les hommes une relation plus particulièrement présente pour les insecticides et, parmi eux, pour les organochlorés; I nous avons également observé une interaction entre l'exposition aux pesticides et des polymorphismes génétiques (CYP2D6, MDR1). L'étude financée par l'ANR SEST 2005 a été réalisée parmi les affiliés MSA de 5 départements. Afin d'identifier les patients parkinsoniens, nous avons eu accès aux bases de remboursement de médicaments et d'ALD de la MSA. Nos objectifs ont été les suivants:

1- Etude de la relation entre la MP et l'exposition aux pesticides à travers deux approches différentes :

(i) prévalence de la MP en fonction des caractéristiques agricoles définies à partir du recensement agricole : 1659 cas ont été identifiés (prévalence standardisée=222/100000). La prévalence était plus élevée dans les cantons caractérisés par une densité élevée d'exploitations spécialisées dans la culture de fruits et de cultures permanentes. Ce résultat est compatible avec nos résultats antérieurs et avec des données toxicologiques sur le rôle des insecticides dans la MP, en raison de la très forte utilisation d'insecticides dans ces exploitations.

(ii) étude cas-témoin (Partage) : nous avons inclus (2/2007-12/2008) 331 cas (acceptation=90%) vérifiant les critères d'inclusions suivants : ALD ou traitement pour MP en 2006/07 ; diagnostic confirmé après examen neurologique ; âge de 18 à 80 ans ; durée d'évolution ≤ 15 ans ; sans ALD pour démence ou pathologie psychiatrique. Les cas ont été appariés à 660 témoins tirés au sort parmi les affiliés des 5 départements (acceptation=75%). Des renseignements détaillés ont été obtenus sur leur histoire professionnelles et permettent d'ores et déjà d'étudier la relation entre la MP et l'utilisation d'insecticides, fongicides et herbicides (en cours). Des analyses plus détaillées par familles de produits seront possibles lorsqu'une matrice « cultures-pesticides » en cours de développement au Département santé-travail de l'Institut de veille sanitaire (Matphyto) sera disponible (<http://www.invs.sante.fr/publications/2008/matphyto/index.html>).

2- Rôle de la susceptibilité génétique : de l'ADN a été extrait à partir de la salive pour 322 cas et 627 témoins et permettra de d'étudier dans deux études cas-témoin (Terre, Partage) le rôle de gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques à partir de puces dédiées (13000 SNP dans 1379 gènes) développées par l'unité 775 de l'Inserm. Ce projet a obtenu un financement ANR MNP en 2009.

3 - Identification des patients parkinsoniens à partir des bases de l'assurance maladie : à partir de 1114 personnes dont le diagnostic a été vérifié dans le cadre de Partage, nous avons développé un modèle prédictif du statut parkinsonien incluant des variables démographiques (âge, sexe), médicales (consultation neurologique, ALD) et médicamenteuses (type et dose des médicaments délivrés). Ce modèle prédit le statut parkinsonien avec une excellente sensibilité et spécificité (>90%) et peut être utilisé pour des études de prévalence ou de surveillance de la MP (article en préparation).

4 - Rôle du protéasome et des inhibiteurs de protéasome de *Nocardia* (P. Boiron) : le rôle de la bactérie *Nocardia* (retrouvée dans le sol) et des inhibiteurs du protéasome a été évoqué dans l'étiologie de la MP. Le travail réalisé a inclus plusieurs volets : (i) obtention d'un protéasome purifié et fonctionnel de *Nocardia cyriacigeorgica* GUH-2 et étude de sa fonctionnalité ; (ii) identification d'inhibiteurs du protéasome animal à partir de surnageant de culture de *N. cyriacigeorgica* GUH-2 ; (iii) isolement et typage de souches de *Nocardia* dans l'environnement des participants de Partage (2 cas et 2 témoins) (iv) identification des souches de *N. cyriacigeorgica* par PCR dans le sol.

5 - Autres résultats : les données disponibles nous ont permis d'aborder d'autres questions (articles en préparation) : (i) relation entre la MP et l'ovariectomie chez les femmes, (ii) relation entre la MP et un polymorphisme génétique dans le gène GLUT9, (iii) consommation de médicaments potentiellement inappropriés chez les patients parkinsoniens.

1- Elbaz A, Clavel J, Rathouz PJ, Moisan F, Galanaud JP, Delemotte B, Alperovitch A, Tzourio C. Professional exposure to pesticides and Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2009;DOI: 10.1002/ana.21717

2- Moisan F, Spinosi J, Dupupet JL, Mazurie JL, Goldberg M, Imbernon E, Tzourio C, Elbaz A. Prevalence of Parkinson's disease among agricultural workers in five French districts and its relation with type of farming. Soumis.

Nourrir des souris avec un régime alimentaire contenant de la chair de poisson de Guyane française : un modèle de l'intoxication au mercure des amérindiens Wayanas

Jean-Paul Bourdineaud¹, professeur à l'Université de Bordeaux 1, jp.bourdineaud@epoc.u-bordeaux1.fr

Magalie Baudrimont¹, maître de conférences à l'Université de Bordeaux 1, m.baudrimont@epoc.u-bordeaux1.fr

Daniel Brèthes², chargé de recherche au CNRS, daniel.brethes@ibgc.u-bordeaux2.fr

Masatake Fujimura², chef du service de pathologie au NMID, fujimura@nimd.go.jp

Patrice Gonzalez¹, chargé de recherche au CNRS, p.gonzalez@epoc.u-bordeaux1.fr

Muriel Laclau^{1, 2, 4}, ingénieur de recherche contractuelle

Aline Marighetto⁴, chargée de recherche au CNRS, a.marighetto@cnic.u-bordeaux1.fr

Régine Maury-Brachet¹, ingénieur de recherche, r.maury-brachet@epoc.u-bordeaux1.fr

Rodrigue Rossignol⁵, chargé de recherche à l'INSERM, rossig@u-bordeaux2.fr

William Rostène⁶, directeur de recherche à l'INSERM, william.rostene@inserm.fr

Masumi Sawada³, chercheur au NIMD, sawada@nimd.go.jp

Problématique et objectif

En 2005, 84% des amérindiens Wayanas vivant sur les berges du haut Maroni en Guyane française présentaient une concentration en mercure dans les cheveux dépassant la limite fixée par l'Organisation Mondiale de la Santé (10 µg/g). Afin de déterminer si cette contamination mercurielle était dangereuse pour leur santé, des souris ont été nourries avec une alimentation contenant du poisson contaminé au mercure et pêché en Guyane française.

Méthodologie

Un régime alimentaire fut préparé avec de la chair lyophilisée du poisson carnivore *Hoplias aimara* car cette espèce représente 27% de l'apport alimentaire en mercure des Wayanas et 11% du total de chair de poisson consommée. Ce régime contenait 0,15% de chair d'aimara, ce qui donnait une teneur des croquettes alimentaires en méthylmercure (MeHg) égale à 5 ng par g. Ceci conduisait donc à exercer une pression de contamination mercurielle de 1 ng de MeHg par jour et par gramme de masse corporelle, qui est précisément celle affectant les amérindiens Wayanas. En plus de ce régime à l'aimara, un régime contrôle (sans mercure organique) et un régime contenant 0,15% de chair de saumon d'élevage de Norvège (très pauvre en MeHg) furent donnés en parallèle à deux autres lots de souris pendant 14 mois avec un échantillonnage régulier.

Résultats

Pour les souris nourries avec le régime à l'aimara, la bioaccumulation de mercure était très nette dans tous les tissus dès le premier mois mais restait stable entre 1 et 7 mois avec une reprise d'augmentation de la concentration en mercure au mois 14. Le tissu accumulant le plus le mercure était le rein avec une concentration de 100 ng Hg/g entre 1 à 7 mois, et 500 ng/g à 14 mois. Le second tissu accumulateur était le foie avec une teneur de 7 à 11 ng Hg/g entre 1 et 7 mois et 77 ng Hg/g à 14 mois. La déméthylation du MeHg fut observée dès 3 mois dans les reins et le foie (30%) avec une augmentation de 40% de la teneur en métallothionéine dans les reins.

Dès 3 mois, l'analyse de l'expression génique montrait une expression différentielle nette de gènes impliqués dans la réponse au stress ainsi que plusieurs gènes de sous-unités de la chaîne respiratoire mitochondriale dans les reins, le foie, les muscles et le cerveau, chez les souris contaminées à l'aimara. L'étude de la bioénergétique mitochondriale montrait chez les souris contaminées à l'aimara des impacts dans les reins, muscles, cerveau et foie dès 3 mois avec une chute de la vitesse respiratoire à l'état 3, de l'activité de la cytochrome-c-oxydase, et de la synthèse d'ATP. Ces effets perduraient dans le foie

et les reins jusqu'à 14 mois. Les animaux nourris pendant 3 mois avec le régime à l'aimara présentaient une baisse significative de la densité cellulaire dans le cortex (entre 14 et 25% selon la localisation dans le cortex) ainsi qu'une baisse significative de la concentration de la chimiokine CCL2/MCP1 dans l'hypothalamus (78%) et dans les parties médiane et postérieure du cerveau (47% et 33 %, respectivement). Cet effet perdurait après 7 mois dans la partie antérieure du cerveau (32%). Le dosage des neurotransmetteurs cérébraux montrait, chez les animaux nourris à l'aimara pendant 3 mois, une diminution de la noradrénaline dans le cervelet et le mésencéphale, et de la dopamine dans le mésencéphale, et une augmentation de 5-hydroxyindole acetic acid (un métabolite de la sérotonine) dans l'hippocampe. Ces effets n'étaient plus observés après 7 mois.

L'étude comportementale a montré une chute de la prise de boisson (mais pas de la prise alimentaire) chez les souris nourries à l'aimara, effet perdurant jusqu'à 14 mois. Ces souris présentaient après 2 et 12 mois de contamination une détérioration accélérée de la mémoire de travail quand l'exigence cognitive de la tâche augmentait.

Conclusion

Un régime alimentaire végétarien contenant 0,15% de poisson contaminé au mercure est capable de déclencher chez la souris des désordres et dommages présentant toutes les caractéristiques d'une contamination mercurielle. De plus, il est apparu que les perturbations observées étaient les plus importantes à 3 mois de contamination, soulignant la plus grande sensibilité des jeunes animaux au MeHg. Originalité de l'étude et des résultats : l'originalité de l'étude tient d'abord dans l'ajout de chair de poisson dans l'alimentation et non pas de MeHg pur, puis dans la dose administrée qui est plus de mille fois inférieure à celles jusqu'alors utilisées chez la souris dans l'eau de boisson ou dans la nourriture. L'originalité des résultats réside en ceci que des perturbations touchant l'expression génétique, l'activité respiratoire mitochondriale, le comportement ou la densité des cellules cérébrales surviennent pour des doses de MeHg accumulées dans les tissus très faibles (de l'ordre de 100 ng/g dans les reins et de 10 ng/g dans le cerveau) ; à titre de comparaison, la teneur en Hg dans le cerveau des malades morts pendant la phase aiguë de l'empoisonnement au mercure à Minamata, avait pour valeur médiane 23,4 µg/g, soit 2340 fois plus que dans le cerveau de nos souris contaminées.

1 - Université de Bordeaux 1-CNRS, UMR 5805, Station Marine d'Arcachon, place du Docteur Peyneau, Arcachon, 33120, France,

2 - Institut de Biochimie et Génétique Cellulaires, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 1 rue Camille Saint-Saëns, Bordeaux, 33077 cedex, France,

3 - National Institute for Minamata Disease, Pathology Section, Department of Basic Medical Sciences, 4058-18 Hama, Minamata, Kumamoto 867-0008, Japan,

4 - Laboratoire de Neurosciences Cognitives, Université de Bordeaux 1-CNRS UMR 5106, Avenue des Facultés, Talence, 33405, France,

5 - Physiopathologie Mitochondriale, Université Victor Segalen Bordeaux2-INSERM U688, 146 rue Léo Saignat, Bordeaux, 33076 cedex, France,

6 - Centre de Recherches Saint-Antoine, INSERM U732, Hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, Paris, 75571 cedex 12, France

Pathologies respiratoires

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.

- Analyse des relations entre l'exposition à un cancérigène environnemental et professionnel (Amiante) et les caractéristiques associées à la transformation tumorale de cellules pulmonaires sensibles grâce au développement de modèles animaux, à leur comparaison avec des modèles humains pour l'étude des aspects génétiques et physiopathologiques afin d'élaborer des indicateurs d'exposition à l'amiante pour les cancers broncho-pulmonaires. (MC. Jaurand)
- Recherche de corrélation entre les marqueurs de l'allergie, la sévérité de l'asthme, les facteurs environnementaux négatif ou positifs (pollution atmosphérique, environnement rural), l'exposition au tabac passif, les facteurs génétiques, dans le cadre d'une étude longitudinale. (F. Kauffman)
- Renforcement de la connaissance des mécanismes physiologiques de l'asthme pour mieux comprendre les échecs des traitements avec des corticoïdes et trouver des traitements alternatifs pour les populations victimes d'asthme sévère, et identifier des cibles thérapeutiques innovantes dans l'asthme allergique. (M. Pretolani)
- Approfondissement de la connaissance des mécanismes de l'asthme allergique à travers l'interaction mastocyte - cellule lisse, chez l'homme et dans un modèle murin, et identification de cibles thérapeutiques innovantes. (R. Marthan)
- Contribution à la meilleure connaissance des mécanismes immuno-allergiques impliqués dans la pneumopathie d'hypersensibilité (maladie très invalidante, parfois létale qui se développe essentiellement en milieu professionnel lors de l'inhalation répétée d'antigènes issus de micro-organismes – activités agricoles, agroalimentaires...-) et à l'amélioration du diagnostic sérologique par le développement de techniques basées sur des antigènes recombinants. (L. Million).
- Élaboration d'outils de diagnostic précoce de l'hyperactivité bronchique dans les métiers à risques d'asthme professionnel (notamment chez les apprentis exposés à des poussières de farine et à des aérosols chimiques) basés sur la mesure de monoxyde d'azote exhalé. (D. Zmirou)
- Étude des biomarqueurs pour l'investigation de l'inflammation du poumon profond grâce à la méthode non invasive des condensats de l'air expiré. (A. Sobaszek)
- Compréhension des modes de transport (rythme, quantité) et de dépôt d'agents physico-chimiques (molécules, particules, sprays) dans le système pulmonaire et dans le sang, grâce à une approche interdisciplinaire (médecine, mathématique, technologies) : simulations numériques, expériences in vitro et études cliniques d'exploration respiratoire fonctionnelle. (M. Filoche).

Apport des modèles murins de mésothéliome à la compréhension de l'oncogénèse mésothéliale

de Gasté T.¹, Lecomte C.¹, Fleury-Feith J.^{1,4}, Galateau-Sallé F.⁵, Giovannini M.¹, Zucman-Rossi J.¹, Pairon J.C.³, Jaurand M.C.¹

Objectifs

Définir les relations entre l'exposition à un cancérogène environnemental et professionnel (amiante) et les caractéristiques associées à la transformation tumorale de cellules pulmonaires sensibles à ce cancérogène (cellules mésothéliales). Stratégie : (1) développement de modèles murins de mésothéliome malin (MM) ; (2) comparaison, sur le plan génétique et physio-pathologique des MM murins et des MM humains. (3) Retombées, chez l'Homme, pour l'étude de la variabilité biologique du MM, et pour l'identification d'indicateurs d'exposition à l'amiante dans le cancer broncho-pulmonaire (CBP).

Matériels et Méthodes

(1) Exposition de souris hémizygotés pour une mutation du gène *Nf2*, et des contreparties sauvages, à des fibres minérales (amiante, fibres de céramique réfractaires, RCF). (2) Détermination des anomalies génétiques des MM expérimentaux, et de 40 MM humains (mutations). (3) Définition de marqueurs d'évolution tumorale dans le MM humain (rôle de la protéine NF2 dans la régulation de la prolifération et l'apoptose ; indicateurs de résistance à l'apoptose). (4) Développement de modèles murins de MM « spontanés » in vivo, sans exposition à l'amiante (sélection de gènes candidats et mutation conditionnelle par action de la recombinaise Cre). (5) Etude comparative d'altérations moléculaires dans le CBP de patients exposés/non exposés à l'amiante.

Résultats

- Similitudes entre les MM murins induits par les fibres minérales et les MM humains, sur le plan pathologique, histologique et moléculaire (fréquence et type de mutation). Inactivation préférentielle de certains gènes suppresseurs de tumeur (locus INK4 comparativement à TP53)
- Une mutation sur un allèle du gène NF2 augmente l'incidence du MM, sans réduire le délai minimum de détection des tumeurs.
- Pas de mise en évidence d'un rôle majeur de la protéine NF2 dans la régulation de la prolifération ou survie des cellules de MM humain, mais rôle de la protéine c-Jun-NH2-terminal kinase (JNK) dans l'anoikis.
- Développement de MM spontanés chez des souris présentant une mutation hémizygote sur les gènes *Nf2* et *p16/Cdkn2a*, d'une fréquence modérée par rapport aux mésothéliomes induits.
- Dans le CBP humain, différence dans le type d'altération de gène *PI6/CDKN2A*, selon l'exposition à l'amiante (délétion : sujets exposés vs méthylation : sujets non exposés).
- Mise au point d'une méthode de culture de cellules de MM en agrégats, modélisant les micropapilles présentes dans les liquides pleuraux.

Conclusions, retombées et perspectives

L'oncogénèse mésothéliale peut progresser selon plusieurs voies. La voie majoritaire est retrouvée dans les MM expérimentaux résultant d'une exposition à l'amiante. Dans ce contexte, l'inactivation du gène *PI6/CDKN2A* par délétion peut être un indicateur de l'exposition à l'amiante. D'autres fibres (RCF) paraissent agir selon le même mécanisme mais ne sont connues, jusqu'ici, comme cancérogène avéré que chez l'animal. Le gène NF2 ne semble pas avoir un rôle majeur dans l'oncogénèse mésothéliale, mais il sensibilise au développement de MM. La co-inactivation, du moins chez la souris, des gènes *Nf2* et *PI6/*

Cdkn2a ne permet pas une initiation rapide de la transformation néoplasique des cellules mésothéliales, en accord avec un mécanisme de cancérogenèse nécessitant l'altération de davantage de gènes. Des analyses, en CGHa et transcriptome, des MM murins et humains, offriront la perspective de la découverte de nouveaux marqueurs de transformation néoplasique, et d'indicateurs d'exposition. Le modèle de micropapilles permettra des recherches pour lever la résistance à l'apoptose des cellules de MM humain.

Publications

Clinico-pathological features and somatic gene alterations in refractory ceramic fibre-induced murine mesothelioma reveal mineral fibre-induced mesothelioma identities. Andujar et al. *Carcinogenesis* 2007, 28:1599-1605.

p16INK4A inactivation mechanisms in non small-cell lung cancer patients occupationally exposed to asbestos. Andujar et al. *Lung Cancer* 2009, doi:10.1016/j.lungcan.2009.03.018

Malignant pleural mesothelioma cells resist anoikis as quiescent pluricellular aggregates. Daubriac et al. *Cell Death and Differentiation* 2009, doi:10.1038/cdd.2009.32

(1) INSERM, U674, Fondation Jean Dausset-CEPH, IFR105, Paris, F-75010 et Université Paris 7, Paris, F-75005. (2) AP-HP, GHU Ouest, Hôpital Européen Georges Pompidou, Service de chirurgie thoracique, Paris, F-75015. (3) Hôpital Intercommunal de Créteil, Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle et Université Paris 12, Faculté de Médecine, Créteil et INSERM, U955, Equipe 4, Créteil, F-94010. (4) Service d'Histologie, Biologie tumorale Hôpital Tenon, Paris F-75020. (5) INSERM, ERI 3, Caen, F-14000 et CHU Caen, Service d'Anatomo-Pathologie, Caen, F-14033.

EGEA – Facteurs environnementaux et interactions gènes environnement dans l'asthme

F Kauffmann¹, F Demenais², I Pin³

Email : Francine.kauffmann@inserm.fr

L'asthme est une maladie hétérogène, tant sur le plan phénotypique qu'étiologique. Elle dépend aux divers âges de la vie de facteurs environnementaux et génétiques différents. La présentation décrira à partir des résultats de l'étude longitudinale EGEA (Etude épidémiologique des facteurs génétiques et environnementaux de l'asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie) les principaux résultats portant sur les avancées obtenues grâce au contrat ANR-SEST 2005. Etude cas témoin et familiale entreprise en 1991-95, un suivi longitudinal a été réalisé en 2003-2007 qui a permis d'obtenir un bref questionnaire (étape 1) pour 92.2% des 2002 sujets non décédés, et un examen complet (étape 2) pour 77.1%. L'étude avec sa collection biologique diversifiée est certifiée ISO9001-2000 depuis 2006.

Les travaux réalisés ont porté sur les marqueurs de l'allergie, la sévérité et le contrôle de l'asthme [1-4], les facteurs environnementaux (pollution atmosphérique [5, 6], environnement rural [7], domestique [8], tabac passif [9], génétiques [10-14], interactions gènes environnement [7, 9, 10]. La présentation illustrera plus particulièrement les résultats obtenus sur la pollution atmosphérique (mise en évidence d'association avec le taux d'IgE et la sévérité de l'asthme), et les interactions gènes environnement mises en évidence d'une part avec le tabagisme passif, les expositions professionnelles aux irritants [15] (effets délétères) et d'autre part avec l'environnement rural (effet protecteur).

Les perspectives de l'étude incluent le développement de recherches approfondies sur des marqueurs biologiques (contrat ANR- CES BIO2NEA), sur les facteurs environnementaux, notamment au sein du consortium européen ESCAPE sur la pollution atmosphérique, et sur le plan génétique au sein du consortium européen GABRIEL. La mise en place d'études d'interaction gènes environnement approfondies sur les données françaises en collaboration avec des consortium internationaux représente un des défis de la période à venir.

Publications ayant bénéficié du contrat ANR-SEST 2005 : [1] Oryszczyn MP, et al. J Allergy Clin Immunol 2007 ; 117 : 57-63. [2] Rage E, et al. Eur Respir J 2009; 33 : 218-219. [3] Nadif R, et al. Thorax 2009; 64 : 374-80. [4] Siroux V, et al. J Allergy Clin Immunol 2009 Aug8 [ahead of print]. [5] Rage E, et al. Allergy 2009; 64 : 40-46. [6] Rage E, et al. Occup Environ Med 2009 ; 66 : 182-188. [7] Smit LAM, et al. Am J Respir Crit Care Med 2009; 179 : 363-368. [8] Oryszczyn MP, et al. Clin Experim Allergy 2009; 39 : 15151-1521. [9] Bouzigon E, et al. N Engl J Med 2008 ; 359 : 1985-9. [10] Dizier MH, et al. Hum Hered 2007 ; 63:162-167. [11] Bouzigon E, et al. Europ Respir J 2007 ; 30 : 253-259. [12] Aschard H, et al. BMC Proc 2007 ; 1 (Suppl1) : s134. [13] Siroux V, et al. Plos one 2008; 3:e2448. [14] Aschard H, et al. Genes and Immunity 2009; 10 : 559-565.

Communication [15] Smit LAM, et al. Eur Respir J 2009; 34 :46s

L'étude EGEA (<http://ifr69.vjf.inserm.fr/~egeanet>) a bénéficié depuis son démarrage en 1991 de nombreux contrats et les travaux décrits ci-dessus ont été financés, outre le contrat ANR-SEST par des contrats de l'AFSSET, ANR-CEBS, MSD, PHRC Ile de France et Grenoble, Ga2len (Global Allergy and Asthma European Network of Excellence), Gabriel (EU)

1. Inserm U780/Univ Paris Sud, Villejuif,

2. Inserm U946/CEPH/Univ Paris Diderot, Paris,

3. Inserm U823/CHU Grenoble/Univ J Fourier, Grenoble

Rôle de l'épithélium bronchique dans la fibrogenèse tissulaire dans l'asthme sévère

*Coordonnateur: Dr. Marina Pretolani, Directeur de Recherche à l'Inserm ; Directeur de l'Inserm U700
Laboratoire de Rattachement: Inserm U700 Physiopathologie et Epidémiologie de l'Insuffisance Respiratoire Université Denis Diderot, Paris 7 - Faculté de Médecine - Site Xavier Bichat - 16, rue Henri Huchard
75018 Paris - Tél. 01-57-27-75-86 - Fax. 01-57-27-75-51 - e-mail : marina.pretolani@inserm.fr*

L'asthme représente un problème de santé publique mondial. Il s'agit d'un syndrome multifactoriel à déterminisme génétique, mais de nombreuses autres composantes contribuent à sa pathogenèse, et notamment les facteurs de l'environnement, dont l'exposition aux allergènes et aux polluants atmosphériques. Une place prépondérante a été attribuée à l'inflammation des voies aériennes dans la pathogénie de cette maladie et, de ce fait, une large majorité de patients voient leurs symptômes s'améliorer suite à la prise d'anti-inflammatoires stéroïdiens. Cependant, une sous-population d'environ 10% d'asthmatiques présente une obstruction bronchique sévère et irréversible, et ce, malgré un traitement optimal avec des corticoïdes.

Ces patients sont responsables de la plus grande partie des coûts liés à l'asthme, qu'ils soient directs en rapport avec l'hospitalisation et le traitement médical, ou indirects et, dans ce cas, liés pour l'essentiel aux périodes d'absentéisme scolaire, ou professionnel. La survenue de cette dégradation fonctionnelle respiratoire serait la conséquence d'un épaissement progressif de la paroi bronchique attribuable à un processus de remodelage tissulaire, dont certains déterminants cellulaires et moléculaires sont peu ou pas sensibles aux corticoïdes. Ce remodelage inclut, entre autres, une fibrose sous-épithéliale, caractérisée par un épaissement de la membrane basale, un dépôt de protéines de la matrice extracellulaire et une augmentation du nombre de (myo)fibroblastes. Cette fibrose serait étroitement liée à des perturbations du processus de réparation de l'épithélium respiratoire en réponse aux agressions répétées par les aérocontaminants inhalés, notamment les allergènes. Ainsi, l'épithélium dans l'asthme n'est pas restitué ad integrum, mais il apparaît remanié et ce phénomène se traduirait, entre autres, par la libération de médiateurs fibrogéniques. L'objectif de notre travail a été de déterminer si l'épithélium respiratoire pouvait être source, ou cible de molécules impliquées dans la fibrose tissulaire dans l'asthme et d'en identifier la nature. Nous avons mené plusieurs travaux en utilisant des prélèvements humains (biopsies bronchiques de sujets témoins et asthmatiques, épithélium isolé par microdissection laser à partir de ces mêmes biopsies, cellules épithéliales bronchiques humaines en culture primaire) et un modèle d'asthme chez la souris. Notre projet s'est décliné en plusieurs axes. I) Nous avons montré que les asthmatiques sévères expriment des taux plus élevés des récepteurs aux rétinoïdes, RAR, RXR and RXR et du peptide fibrogénique, l'endothéline-1 dans l'épithélium bronchique (réfs. 1,2). In vitro, les rétinoïdes favorisent la migration et la réparation des cellules épithéliales bronchiques en induisant la synthèse d'un facteur fibrosant, le TGF- (réf. 1).

Résultats

Chez la souris, la stimulation des récepteurs RAR, par l'administration de l'acide rétinoïque all-trans, aggrave le remodelage bronchique et induit la synthèse locale de TGF- et de protéines de la matrice extracellulaire (réf. 3); II) parallèlement, nous avons mis en évidence la capacité des protéines cationiques granulaires des éosinophiles (MBP et EPO) à stimuler la synthèse de facteurs fibrogéniques par les cellules épithéliales bronchiques humaines et à induire une fibrose pulmonaire chez la souris (réf. 4); III) Enfin, nous avons montré une augmentation des taux de YKL-40, une glycoprotéine homologue des chitinases, dans le sérum et les voies aériennes d'asthmatiques sévères, en relation avec le remodelage et l'obstruction bronchiques (réf. 5). Cette glycoprotéine est surexprimée dans l'épithélium, où elle régulerait des étapes essentielles impliquées dans sa réparation (migration, différenciation et synthèse de facteurs fibrogéniques, de métalloprotéinases et de composants de la matrice extracellulaire).

Au total, les résultats que nous avons obtenus suggèrent que l'épithélium remanié contribue à la fibrose tissulaire chez les asthmatiques sévères en libérant des médiateurs fibrogéniques (ex. endothéline-1, TGF- β 1, MMP-9), des composants de la matrice extracellulaire et des métalloprotéinases en réponse à des stimuli pro-inflammatoires (protéines cationiques des éosinophiles), ou qui agissent sur l'homéostasie épithéliale (rétinoïdes) et dont l'expression serait anormalement élevée dans la paroi bronchique de ces patients. Normaliser la régénération épithéliale constituerait donc une stratégie intéressante pour inhiber le remodelage bronchique et améliorer la fonction respiratoire dans l'asthme sévère.

Publications issues de ces travaux

- 1) Druilhe et al., *Am. J. Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008;38:276-82 ;
- 2) Pégurier et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:1301-7 ;
- 3) Maret et al., *J Nutr.* 2007;137:2730-6 ;
- 4) Pégurier et al., *J Immunol.* 2006;177:4861-9 ; Chupp et al., *N Engl J Med.* 2007;357:2016-27.

Interactions mastocyte - muscle lisse bronchique dans l'asthme

R Marthan, P Berger, P.O. Girodet, M Tunon de Lara*

*Laboratoire de Physiologie Cellulaire Respiratoire, Inserm U 885, Université de Bordeaux,
146 rue Léo Saignat F- 33076 Bordeaux*

Pr. R Marthan : roger.marthan@u-bordeaux2.fr

L'infiltration mastocytaire au sein de la couche musculaire lisse de la paroi bronchique est une caractéristique d'identification récente de l'asthme allergique. Cette infiltration (micro-localisation) résulte d'un dialogue qui s'établit au cours de la sensibilisation entre le mastocyte et la cellule musculaire lisse bronchique aboutissant à la constitution d'une boucle d'auto activation. Ainsi l'objectif général de la proposition de recherche était d'analyser l'interaction mastocyte - cellule musculaire lisse chez l'homme et dans un modèle murin d'asthme par exposition chronique à l'allergène. Le projet associait des expérimentations in vitro sur cellules humaines, des expérimentations ex vivo sur prélèvements de tissus de patients asthmatiques et un volet d'expérimentation in vivo sur un modèle murin d'asthme allergique chronique.

En terme de mécanismes tout d'abord, il a été montré que la fractalkine produite par les cellules musculaires lisses bronchiques contribue, au même titre que le TGF- β 1 et le SCF, au recrutement des mastocytes au sein du muscle lisse bronchique et participe ainsi à l'organisation et à l'entretien de l'inflammation des voies aériennes dans la maladie asthmatique. De plus, la myosite mastocytaire observée chez les sujets asthmatiques est positivement corrélée avec l'expression de CD44 par le muscle lisse bronchique indiquant que CD44v6 et CD51 jouent un rôle clé dans l'adhérence mastocytes-CML via la matrice extracellulaire. Enfin, il a été mis en évidence que l'adhérence augmente la survie mastocytaire et augmente la prolifération musculaire lisse par coopération entre le SCF exprimé par la CML et l'IL6 et le CADM1 mastocytaire. De plus l'interaction favorise la dégranulation mastocytaire et se présente donc comme un mécanisme additionnel indépendant de la dégranulation allergénique.

Résultats

En terme de cibles thérapeutiques ensuite, une sous-population mastocytaire, les mastocytes CXCR3 positifs, apparaît particulièrement importante à cibler dans l'asthme. En effet ces mastocytes sont recrutés en priorité dans le muscle lisse de l'asthmatique sécrétant de fortes quantités de CXCL10 (IP10) et ils pourraient présenter des caractéristiques phénotypiques différentes. Au niveau des cellules musculaires lisses, la technique de l'interférence ARN qui permet d'inhiber l'expression du PAR-2 dans ces cellules bronchiques humaines s'accompagne d'une perte des réponses fonctionnelles médiées PAR-2. Une extinction de plus longue durée par vecteurs lentiviraux est mise au point et les résultats fonctionnels sont en cours d'investigation. Enfin, l'extinction des gènes codants pour les variants 6 et 7 de CD44 (animaux CD44 v6/v7-/-) bloque l'adhérence mastocytaire et diminue l'HRB et le remodelage bronchique dans le modèle murin.

Au total, les travaux réalisés ont permis, d'une part, d'approfondir les mécanismes de l'interaction mastocyte - cellule musculaire lisse et, d'autre part, d'identifier des cibles thérapeutiques innovantes dans l'asthme allergique.

Pneumopathies d'hypersensibilité : interaction cellule-antigène et optimisation du diagnostic par le développement d'antigènes recombinants (PHS-ICAD)

Laurence Millon^{1, 2}, Gabriel Reboux^{1, 2}, Sandrine Roussel¹, Bénédicte Rognon¹, Anne-Pauline Bellanger^{1, 2}, Frédéric Grenouillet^{1, 2}, Jean Charles Dalphin^{1, 3}, Isabelle Thaon^{1, 4}, Michel Monod⁵, JD Aubert⁶, JM Fellrath⁷, Françoise Botterel⁸, Stephane Bretagne⁸,

Les pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) sont des maladies respiratoires très invalidantes, parfois létales. Elles se développent essentiellement en milieu professionnel, lors de l'inhalation répétée d'antigènes issus de micro-organismes contaminant divers substrats (foins, fluides de coupe, fleur de saucisson...). Le diagnostic différentiel avec d'autres pneumopathies interstitielles diffuses est difficile. L'une des clés du diagnostic réside dans l'amélioration du diagnostic sérologique par la recherche d'anticorps spécifiques de la maladie. L'efficacité de la sérologie est altérée par la qualité fluctuante des antigènes et leur manque de spécificité. L'utilisation d'antigènes issus de micro-organismes isolés de l'environnement des patients a permis d'améliorer la spécificité et la sensibilité des techniques sérologiques. Ce processus d'amélioration reste cependant insuffisant, puisque de nombreux travailleurs exposés non malades développent des anticorps dirigés contre ce type d'antigène (précipitines). La physiopathologie de cette « allergie » semi-retardée particulière n'est pas clairement établie. La diversité des circonstances et des agents étiologiques, couplées au nombre limité d'observations pour chaque type de PHS, rendent difficile la détermination des voies immunologiques en jeu. L'apport de l'expérimentation animale n'a pas permis de progrès décisif.

Objectifs des méthodes

L'objectif des travaux de recherche effectués dans le cadre du projet PHS-ICAD était d'une part, d'améliorer le diagnostic sérologique des pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) par le développement d'antigènes recombinants, d'autre part, de contribuer à la meilleure connaissance des mécanismes immuno-allergiques impliqués dans ces maladies.

Le protocole de recrutement a permis d'inclure dans l'étude 25 patients atteints de maladie du poumon de fermier (PDF). Au total, 54 espèces fongiques et d'actinomycètes ont été isolées des 112 lots de fourrage prélevés dans les fermes des agriculteurs malades de Suisse et de France. *Eurotium amstelodami*, *Wallemia sebi*, et *Absidia corymbifera* sont les trois espèces fongiques les plus représentées dans les prélèvements environnementaux. Au cours de ce travail, il a été montré que l'antigène purifié issu de la forme sexuée d'*E. amstelodami* (ascospores) permet d'améliorer le diagnostic sérologique du PDF en apportant une meilleure discrimination entre les agriculteurs malades et non malades, par rapport aux autres formes du champignon (conidies issues de la forme asexuée ou filament).

Résultats

Le développement d'antigènes recombinants a été réalisé en plusieurs étapes. Des extraits protéiques purifiés ont été fabriqués à partir de *Eurotium amstelodami* et de *Neosartorya fischeri*, qui est un champignon proche, dont le génome est entièrement séquencé. Dix protéines antigéniques ont été identifiées par spectrométrie de masse (MALDI-TOF et LC-MS) après séparation par électrophorèse SDS PAGE bidimensionnelle et révélation en Western Blot avec le sérum d'un patient atteint de PDF. La séquence de ces protéines a été déduite par analogie avec le génome de *N. fischerii*. Ces protéines ont été synthétisées sous forme recombinante. Deux des 10 antigènes recombinants produits (Glutamate/phénylalanine/leucine/valine deshydrogénase et mannitol IP deshydrogénase) permettent une bonne discrimination des malades (analyses en courbe ROC, aire sous la courbe = 0,740 et 0,597 respectivement). Ils ont de plus comme avantage indéniable d'être toujours produit de façon rigoureusement identique, assurant ainsi un haut niveau de standardisation. L'expérience acquise a permis le développement de 6

antigènes recombinants issus de micro-organismes présents dans les fluides de coupe (*Mycobacterium immunogenum*), nécessaires pour le diagnostic sérologique des PHS survenant en milieu industriel (Poumon de Mécanicien).

Une étude de marché a été réalisée en fin de programme (décembre 2008) afin d'envisager la création d'une micro-entreprise ou le transfert de savoir vers une entreprise existante, permettant de commercialiser des antigènes et kits utilisables pour le diagnostic des PHS. Ce processus est en marche mais nécessitera encore des études comparatives avec les antigènes utilisés actuellement ainsi que des développements industriels et de marketing.

Les méthodes d'analyse de la production des ARNm des médiateurs de la réponse immune par PCR temps réel lors de l'inoculation de spores fongiques sur culture cellulaire ont été développées puis transposées à l'étude des mécanismes physiopathologiques des PHS. L'exposition in vitro des cellules épithéliales respiratoires avec l'extrait soluble total d'*A. corymbifera* a entraîné une augmentation de l'expression de l'IL-8 et de l'IL-13, démontrant le rôle d'*A. corymbifera* comme agent étiologique de la maladie du Poumon de Fermier. D'autres expérimentations ont montré le rôle de la forme filamenteuse d'*E. amstelodami* dans le processus immuno-allergique initial. Cette première étape ouvre la voie vers une étude physiopathologique plus globale, avec le développement d'un modèle cellulaire intégrant les cellules dendritiques, essentielles à la compréhension des mécanismes immunologiques au niveau alvéolaire.

La maîtrise de ces techniques, acquise grâce à la collaboration des trois équipes impliquées, sera mise à profit dans le cadre du projet SOPHIA (« Sérologie Optimisée des PHS Industrielle et Agricole » - Projet Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC national) – 2009/2011). L'objectif principal est de développer des techniques immuno-enzymatiques performantes et standardisées pour le diagnostic sérologique des PHS agricoles et industrielles, en utilisant des panels d'antigènes recombinants issus des micro-organismes isolés de l'environnement des patients. L'exploration des interactions cellules épithéliales/moisissures sera également poursuivie, avec l'idée de tester des micro-organismes issus d'autres environnements (industriel, domestique), ainsi que différentes fractions de ces micro-organismes (extraits protéiques, sucres) ou métabolites (mycotoxines). De nouvelles voies thérapeutiques pourraient être envisagées à partir d'une meilleure compréhension de ces mécanismes. L'ensemble de ces travaux doit également permettre de mettre à disposition de nouveaux outils pour la compréhension et le diagnostic d'autres maladies allergiques plus répandues comme l'asthme atopique.

1 - UMR CNRS 6249 «Chrono-Environnement»,

2 - Laboratoire de Parasitologie-Mycologie,

3 - Service de Pneumologie

4 - Service des Maladies Professionnelles, CHU Besançon, Université de Franche-Comté, France

5 - Laboratoire de Mycologie, Service de Dermatologie

6 - Service de Pneumologie, CHUV, Lausanne,

7 - Hôpital Pourtales, Neuchâtel, Suisse

8 - UMR BIPAR 956, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Henri Mondor, Université Paris-Est, Créteil, France

Marqueurs précoces de l'inflammation bronchique dans des métiers à risques d'asthme Professionnel

Incidence de l'hyperréactivité bronchique chez des apprentis exposés à des poussières de farine et des aérosols chimiques et changement des concentrations du monoxyde d'azote exhalé

Tossa P¹, Paris Ch^{1,2}, Demange V³, Wild P³, Acouetey S¹, Michaely JP¹, Remen T¹, Bohadana A¹, Zmirou-Navier D^{1,2,4}

*1-Inserm, U954, Nancy; 2-Université de Nancy, Faculté de Médecine; 3-INRS, Nancy; 4-EHESP Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes
denis.zmirou@nancy.inserm.fr*

La mesure du monoxyde d'azote exhalé (NOE), test simple, non invasif et reproductible, a été utilisée comme marqueur de l'inflammation des voies aériennes dans différentes études sur l'asthme. Son intérêt pour l'exploration de l'asthme professionnel et pour la détection d'une hyperréactivité bronchique apparue dans ce contexte reste à apprécier.

Méthodes

L'association entre la modification des concentrations du NOE depuis le début de l'exposition d'apprentis en boulangerie, pâtisserie et coiffure, et l'incidence d'une hyperréactivité bronchique a été étudiée au fil des 2 années de leur programme de formation. Respectivement à 3, 9, 15 et 18 mois, en moyenne, après le début de la formation, un test à la méthacholine et la mesure du NOE ont été effectués durant une visite médicale, en même temps qu'étaient remplis un questionnaire standardisé et réalisés des prick tests avec des allergènes communs et des allergènes spécifiques des expositions professionnelles considérées.

Résultats

Parmi les 441 apprentis inclus au début de l'étude, 351 sont arrivés jusqu'à son terme. Les valeurs de NOE dépendent du sexe (hommes>femmes), de l'atopie (atopiques>non atopiques), du tabagisme (non fumeurs> fumeurs). Une augmentation du NOE depuis le démarrage de l'exposition est associée à une incidence de l'hyperréactivité bronchique (OR = 2,00 [95%IC=1,21-3,32] par unité d'augmentation du NOE exprimée en log ppb), à la fois chez les volontaires atopiques et non atopiques, et ne dépend ni du tabagisme passé ou présent ni du sexe ou de la filière de formation. L'incidence de l'hyperréactivité bronchique est reliée à l'atopie chez les boulangers et les pâtisseries (OR = 2.37 [1.2-4.7] et à la sensibilisation cutanée aux persulfates alcalins chez les coiffeuses [OR = 4.3 [0.9-21.4]).

Conclusion

La mesure du NOE est un moyen pratique pour détecter de manière précoce une hyperréactivité bronchique dans des métiers à risque d'asthme professionnel. L'intérêt de ce test mériterait d'être également exploré pour la détection précoce d'une hyperréactivité bronchique dans un contexte environnemental non professionnel.

Marqueurs de l'inflammation pulmonaire dans les condensats de l'air exhalé

N. Chérot-Kornobis¹, J.L. Edmé¹, V. de Broucker², S.Hulo¹, R. Nevière², R. Matran², A. Sobaszek¹

L'étude des biomarqueurs recueillis par la méthode des condensats de l'air expiré (EBC) représente un moyen non invasif de l'étude spécifique de l'inflammation du poumon profond. Des substances endogènes comme les médiateurs de l'inflammation et du stress oxydant peuvent y être mesurées. Leur analyse, au travers des anomalies attendues reflétant les modifications biochimiques de l'inflammation et du stress oxydatif, apparaît prometteuse et complémentaire du NO expiré pour quantifier l'inflammation. Afin d'évaluer cette nouvelle exploration, nous avons réalisé une étude transversale dont l'objectif réside dans la caractérisation biochimique des médiateurs non gazeux de trois populations homogènes de sujets témoins fumeurs (n=18) et non fumeurs (n=20) d'asthmatiques (n=22) et de sujets BPCO (n=19).

Méthodologie.

Les condensats de l'air expiré sont collectés par le dispositif Ecoscreen® (Jaeger). Le volume recueilli correspondant à un volume expiré de 200L est en moyenne de 4mL. L'évaluation de la méthode prend en compte l'étude conjointe du NO expiré, des paramètres ventilatoires (débits et volumes). Les analyses biologiques sur les condensats sont le dosage des protéines totales - Nitrites totaux (NOx) - 8-isoprostane - H₂O₂ - MDA, et cytokines.

Résultats.

Le premier résultat est la standardisation du recueil des EBC, dans la technique employée, le matériel de recueil, le « coating » ou agents de recouvrement, le conditionnement et sa conservation (reproductibilité intra-assay et intra-individu). Différents marqueurs tels, à ce jour : les protéines, les NOx, les isoprostanes ont été mesurés après adaptations des techniques de dosage propres à ce substrat particulier qu'est le condensat, permettant une détectabilité très satisfaisante pour la quasi totalité des marqueurs. Le FeNO (50ml/s) est plus élevé significativement chez les asthmes [23.7 (2.4)ppb] par rapport aux témoins [10.8 (1.5)ppb] et aux BPCO [10.2 (2.2)ppb] (p<0.001). Les NOx sont significativement plus élevés chez les BPCO [(14.6 (2.2)µM] par rapport aux témoins [(9.2 (1.8)µM] (p=0.03) mettant en évidence l'état inflammatoire chez les BPCO au travers du stress nitrosant. Les NOx sont également élevés chez les asthmes [(13.5 (1.8)µM] (p=0.013).

Aucune différence n'est objectivée pour les isoprostanes entre les 3 populations mais si l'on considère les asthmes par classes GINA, les taux de 8-isoprostanes des asthmes légers persistants GINA2 sont significativement plus bas par rapport aux asthmes plus sévères GINA3 et 4 [6.9 vs 23.9pg/ml] (p=0.037).

L'originalité de l'étude réside d'une part dans l'effort de standardisation tant dans le recueil du condensat que dans l'analyse des biomarqueurs; ce qui correspond aux préoccupations scientifiques actuelles. D'autre part, l'équipe démontre sa capacité à mesurer les biomarqueurs de l'air exhalé tels que le FeNO, les protéines, les NOx et les 8-isoprostanes et étayent la pertinence de leur analyse chez les sujets asthmatiques et BPCO dans le diagnostic mais aussi dans la classification de la gravité pour l'asthme. Ceci doit cependant être conforté par la poursuite du travail sur des effectifs plus importants et des groupes pathologiques différents avec l'analyse d'autres biomarqueurs dont nous développons les techniques de dosage.

1 - Laboratoire universitaire de médecine du travail – EA 2690 - CHRU- Université Lille 2 Faculté de Médecine, 1 place de Verdun, 59045 Lille - jean-louis.edme@univ-lille2.fr; nathalie.cherot@univ-lille2.fr ; sebastien.hulo@univ-lille2.fr , annie.sobaszek@univ-lille2.fr; a-sobaszek@chru-lille.fr

2 - Département de physiologie - EA 2689 Université - Lille 2 Faculté de Médecine, 1 place de Verdun, 59045 Lille virginie.debroucker-2@univ-lille2.fr ; remi.neviere@univ-lille2.fr ; regis.matran@univ-lille2.fr

Le transport dans le système aérien pulmonaire

*Marcel FILOCHE, Directeur de recherche au CNRS,
Laboratoire Physique de la Matière Condensée, Ecole Polytechnique, UMR CNRS 7643
marcel.filoche@polytechnique.edu*

Objectifs

Ce projet de recherche a eu pour objectif d'apporter des réponses quantitatives à la problématique générale suivante : « Si l'on respire un mélange gazeux donné, contenant éventuellement des agents physico-chimiques sous la forme de molécules, de particules ou de sprays, à quel rythme et dans quelles proportions le système pulmonaire va-t-il les transporter jusque dans ses parties les plus profondes, voire les transférer vers le sang ? »

Méthodes

Etant donnée la complexité morphologique et physiologique du poumon, même si l'on se limite aux seules voies aériennes, nous avons choisi de subdiviser la question générale du transport en des problèmes plus clairement définis, les contacts entre les équipes permettant alors un partage des expertises acquises au fur et à mesure de l'avancement du projet. Nous avons ainsi plus particulièrement étudié les thèmes suivants :

- les propriétés de transport des particules dans les arborescences,
- le transport convectif et diffusif, ainsi que le transfert, des gaz dans les parties distales des voies aériennes pulmonaires,
- le transport des ponts liquides dans les voies bronchiques,
- l'analyse des propriétés dynamiques et en particulier chaotiques de la ventilation.

Dans une approche profondément interdisciplinaire mêlant physiciens, mathématiciens et médecins, les technologies et méthodes retenues ont été d'une part des simulations numériques d'autre part, des expériences in vitro ainsi que des études cliniques par exploration respiratoire fonctionnelle.

L'approche numérique s'est attachée à simuler d'une part le transport et le dépôt de particules, soit dans des géométries tridimensionnelles complexes de l'arbre trachéobronchique, soit dans des géométries plus simples mais changeantes au cours du temps, et d'autre part le transport convectif et diffusif de l'oxygène dans les parties distales du poumon (les acinus). L'approche expérimentale a consisté d'une part en des expériences de microfluidique sur le passage de ponts liquides dans des bifurcations, et d'autre part en des mesures cliniques sur des patients en ventilation mécanique.

Principaux résultats scientifiques

- Démonstration de la possibilité de calculer le dépôt d'une population entière de particules ou d'aérosol dans une arborescence par une approche simple et multiplicative.
- Mise au point d'un outil de simulation numérique du transport des particules et des sprays dans une géométrie et un flux oscillant au cours du temps.
- Elaboration d'un modèle dynamique permettant de calculer à partir des premiers principes le flux et la pression partielle d'oxygène dans les parties distales des voies aériennes pulmonaires.
- Etude expérimentale du passage de bifurcations par des ponts liquides. Mise au point d'un modèle des propriétés statistiques de la propagation d'une distribution de ponts liquides dans une structure branchée. Mise en évidence de l'origine neurologique du caractère chaotique de la ventilation.

Particules et nanoparticules : caractérisation, expositions et effets

Afin de contribuer à l'étude des effets des particules, nanomatériaux, nanotechnologies, nanoparticules sur la santé humaine, les études 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.

- Étude de l'effet d'une pollution chronique au monoxyde de carbone (CO), grâce à un modèle expérimental sain (rat) mettant en évidence les effets sur la morphologie et la fonction cardiaque. (S. Richard)
- Étude des effets des nanoparticules selon les types cellulaires (appareil respiratoire, cellules rénales), à travers les modalités d'accumulation, la cytotoxicité, le stress oxydatif, la réponse proinflammatoire, en fonction des caractéristiques physico-chimiques (taille, composition chimique et réactivité de surface) des nanoparticules. (A. Baeza)
- Établissement des bases scientifiques et techniques d'une méthode de mesure in situ et en temps réel de la surface particulaire par unité de volume, afin de contribuer à l'étude de l'impact sanitaire des aérosols et en particulier celui des particules fines et ultrafines, grâce à des approches optiques et de spectroscopie de masse. (C. Georges)
- Mise en place d'une approche analytique multimodale pour la spéciation des contaminants inorganiques afin de comprendre les mécanismes contrôlant la toxicité des expositions chroniques à faible doses, notamment à travers l'étude des interactions des métaux à l'état de traces ou d'ultra trace avec les protéines de systèmes vivants exposés au contaminants, grâce à des techniques d'imagerie et de caractérisation structurale. (R. Lobinski)

Pollution atmosphérique au monoxyde de carbone et insuffisance cardiaque chez le rat : mécanismes physiopathologiques – rôle de l'activité physique

André L.¹, Boissière J.^{1,2}, Reboul C.², Perrier R.¹, Zalvidea S.¹, Meyer G.², Thireau¹, Tanguy S.², Bideaux P.¹, Hayot M.³, Boucher F.⁴, Obert P.², Cazorla O.¹, Richard S.¹

Les études épidémiologiques relient la pollution atmosphérique au monoxyde de carbone (CO) de type urbain à des accidents cardiovasculaires et un risque accru de mortalité cardiaque, notamment chez des sujets fragilisés par une pathologie sous-jacente. Cependant, chez les sujets sains, les effets du CO sont mal cernés et les mécanismes cellulaires peu étudiés pour des raisons techniques. Notre objectif ici était d'évaluer les effets d'une pollution chronique au CO, de niveau cohérent avec certaines pollutions citadines, sur la fonction cardiaque dans un modèle expérimental sain (rat). Des rats Wistar ont ainsi été exposés pendant 4 semaines à de l'air sain (CO < 1 ppm ; groupe contrôle) ou de l'air enrichi en CO (30 ppm avec 5 pics à 100 ppm par période de 24 heures ; groupe CO) à un niveau reproduisant des conditions de pollution urbaine. La fonction myocardique des animaux a été évaluée par échocardiographie, par une analyse de l'électrocardiogramme de surface (ECG), et par la mesure in vitro de différents paramètres du couplage excitation-contraction de cardiomyocytes isolés du ventricule gauche.

Résultats

Les résultats montrent que la pollution chronique au CO conduit à des changements – modérés, mais significatifs - de la morphologie et de la fonction cardiaque. Les rats du groupe CO présentent une augmentation du rapport ventricule gauche (VG) / poids du corps. Chez ces animaux, on note, en particulier, une augmentation de la fibrose interstitielle et une fibrose périvasculaire au niveau du VG, ainsi que des signes de stress et de remodelage cardiaque localisés, avec une augmentation de l'épaisseur de la paroi ventriculaire postérieure. Au niveau cellulaire, les cardiomyocytes ne changent pas de dimension (pas d'hypertrophie cellulaire) mais leur raccourcissement est altéré, à la fois au niveau de la phase de contraction et de la phase de relaxation. Ces altérations sont corrélées à une diminution de l'amplitude du signal calcique transitoire et de la sensibilité des protéines contractiles au Ca²⁺ ; deux paramètres qui déterminent la force de la contraction.

L'exposition chronique au CO induit également une augmentation du Ca²⁺ intracellulaire diastolique qui est associée à une diminution du contenu en Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique (RS) (déterminée par un test de « vidange » calcique de ce compartiment par un test à la caféine, 10 mM) qui peut refléter une diminution du stockage du Ca²⁺ dans le RS via la pompe SERCA-2a ou/et une fuite de ce compartiment via les canaux de libération (récepteurs à la ryanodine : RyR2). Nous avons déterminé que cette élévation du Ca²⁺ diastolique est liée principalement à une diminution de l'expression de la SERCA-2a, mais aussi possiblement à une fuite via le RyR2 sujet à une hyperphosphorylation PKA-dépendante. Le niveau de phosphorylation de la protéine sarcomérique cTnI est également augmenté; ce qui participe à diminuer la sensibilité de la machinerie contractile au Ca²⁺ et montre que l'exposition chronique au CO altère plusieurs étages du couplage-excitation cellulaire. Ce phénomène d'hyperphosphorylation, ainsi que la diminution de différents paramètres mesurés in vivo et in vitro, suggèrent que les effets chroniques du CO pourraient impliquer un état « hyperadrénergique » modéré, connu pour son implication dans le développement de l'hypertrophie cardiaque et de la fibrose, de tachycardies, et les risques de mort subite cardiaque. Une élévation du Ca²⁺ diastolique, comme celle rapportée ici, est un facteur déclencheur d'arythmies cellulaires Ca²⁺-dépendantes, se traduisant, au niveau intégré, par la survenue d'extrasystoles ventriculaires, de tachycardies et d'évènements arythmiques malins. Nous avons pu vérifier que l'exposition chronique au CO induit bien une augmentation des extrasystoles ventriculaires. En conclusion,

l'exposition chronique au CO induit un phénotype pathologique au niveau cellulaire (cardiomyocytes) en l'absence de cardiopathie sous-jacente. Ce phénotype intègre des altérations observées dans l'insuffisance cardiaque. Le phénotype in vivo, moins sévère, suggère cependant un rôle de mécanismes compensateurs. Si nos résultats sont extrapolables à l'homme, cette étude suggère que les effets néfastes de la pollution au CO seraient difficiles à détecter par des investigations cliniques de routine (échocardiographie, enregistrements ECG courts). Il sera important de voir dans quelles conditions et après quelle durée d'exposition, les effets observés au niveau cellulaire entraînent des effets pathologiques in vivo plus sévères chez l'animal, puis chez l'homme. La pollution au CO dans nos villes est donc un facteur de risque important qui pourrait être majoré lors d'un stress additionnel (infarctus du myocarde par exemple).

Toxicologie des Nanoparticules (NP) : Influence de la taille, de la composition chimique et de la réactivité de surface sur leurs effets pulmonaires et rénaux (NANOTOX)

Francelyne Marano (coordinatrice), Armelle Baeza, Sonja Boland, Rodolphe Hamel, Salik Hussain, BFA CNRS EAC 7059 Université Paris Diderot

Roger Marthan, Arnaud Courtois, Isabelle Baudrimont, Laboratoire de Physiologie Cellulaire Respiratoire INSERM U 885 Université Bordeaux 2

Jorge Boczkowski, Sophie Lanone, INSERM U 955 Université Paris 12

Ghislaine Lacroix, Françoise Rogerieux INERIS

Jean Cambar, Béatrice LAzou, Patrick Brochard Laboratoire de Biologie Cellulaire, Groupe d'étude de physiologie et de physiopathologie rénales Bordeaux 2

Jean-Claude Pairon, Marie-Annick Billon-Galland, Laurent Martinon, Laurence Kheuang, Jocelyne Fleury, LEPI et Médecine et Santé au travail Université Paris 12

Jean-Michel Rossi, Jean-Jacques Sauvain, Ari Setyan Laboratoire de Pollution Atmosphérique et Sol (LPAS), Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (Suisse)

L'objectif de ce projet était d'étudier, en fonction des caractéristiques physico-chimiques des NP (taille, composition chimique et réactivité de surface), les capacités et les modalités de leur d'accumulation dans les principales cellules cibles de l'appareil respiratoire (épithéliums, endothélium, macrophages, fibroblastes pulmonaires), la réponse des cellules rénales chargées de leur élimination enfin leurs effets oxydatifs et inflammatoires susceptibles de conduire à des pathologies du poumon (asthme et bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)). Nous avons également évalué leurs effets sur la circulation pulmonaire. Les NP utilisées ont été des nanosuies spécialement générées et caractérisées pour cette étude (EPLF Lausanne) et comparées à des nanoparticules de noir de carbone commerciales largement utilisées, des NP métalliques d'oxyde de Titane et des NP fluorescentes pour une détection en microscopie confocale et cytométrie de flux. Les effets biologiques ont été étudiés à la fois in vivo chez des animaux normaux ou présentant des pathologies respiratoires (modèles de rats allergiques ou atteints de BPCO) et in vitro sur les différents types cellulaires cibles (cellules bronchiques, alvéolaires, fibroblastiques, endothéliales, rénales, mésangiales). Des études sur vaisseaux pulmonaires isolés ont été réalisées pour déterminer les effets sur la vasomotricité.

Résultats

Nous avons déterminés les mécanismes moléculaires responsables des réponses adaptatives ou pathologiques : activation de voies de signalisation, de facteurs de transcription et de gènes, en particulier proinflammatoires et proapoptotiques par une approche génomique et cellulaire, caractérisation et rôle du stress oxydant dans les réponses observées. Nous avons montré (1) l'importance de la taille et de la surface des NP dans la l'accumulation, la cytotoxicité, la production d'ERO et le stress oxydant, la réponse proinflammatoire (2) une différence importante dans les niveaux de sensibilité selon les types cellulaires (3) des capacités générales d'accumulation des NP dans les cellules cibles, épithéliums, endothélium, macrophages, cellules rénales ainsi que chez l'animal. Une méthode de quantification par cytométrie en flux a été mise au point et a permis de réaliser des cinétiques d'accumulation en comparant les NP. Cette méthode a également permis de mettre en évidence l'importance de la macro-pinocytose dans les processus d'internalisation. La MET a complété ces données en mettant en évidence qu'environ 80 à 90 % des cellules in vitro internalisaient les NP et que, selon leur nature, elles pouvaient se trouver exclusivement dans des vésicules ou parfois isolées dans le cytoplasme voire le noyau.

Aucune NP n'a été vue dans les mitochondries. Le dernier aspect étudié a été la recherche des effets pro-oxydants et pro-inflammatoires des NP ainsi que des effets potentiels des nanoparticules sur des pathologies inflammatoires du poumon, BPCO, asthme. Il a été montré :

- que les NP induisent bien l'augmentation intracellulaire d'ERO dans les différents modèles cellulaires testés et que plus elles sont petites, plus la réponse est forte. Cependant, alors que les NP de Noir de carbone peuvent produire des ERO en condition abiotique, ce n'est pas le cas des NP de TiO₂. Pourtant, après internalisation, la production d'ERO est similaire. Il existe donc des mécanismes moléculaires spécifiques pour chaque type de NP qui restent à déterminer.
- que la réponse pro-inflammatoire est variable selon le type cellulaire choisi et le type de cytokine mesuré (IL6, IL8, GM-CSF, TNF α). Un point important a été la mise en évidence d'une adsorption de ces protéines sur les NP, adsorption qui dépend du type de NP. Ceci rend les résultats des dosages dans le milieu difficiles à interpréter. Pour cette évaluation, il est préférable de mesurer la modulation de l'expression des gènes et/ou les cytokines intracellulaires.
- que certaines NP de noir de carbone jouent un rôle d'adjuvant dans la réponse à l'allergène.

Enfin des études non initialement programmées ont donné des résultats prometteurs qui doivent être approfondis : (1) l'effet anti fibrosant des NP de TiO₂ sur les fibroblastes humains pulmonaires (2) les effets des NP sur la vasomotricité pulmonaire : au contraire des NP TiO₂, les NP de carbone modifient le tonus vasculaire des artères intrapulmonaires chez le rat. Les résultats obtenus, à la fois au niveau des vaisseaux isolés et sur les cellules endothéliales, suggèrent que ces NP exercent un effet délétère sur

Caractérisation in situ de la surface des aérosols fins et ultrafins

*Christian GEORGE¹, Barbara D'ANNA¹, Karine SELLIGRI², Paolo LAJ², Alain MIFFRE³
et Patrick RAIROUX³*

Les aérosols sont au cœur de nombreux débats liés à l'impact de la pollution de l'air sur la santé humaine. En particulier, un certain nombre de travaux récents tendent à démontrer les limitations de la législation actuelle qui a pour objectif le suivi de la masse des aérosols en tant qu'indicateur du lien entre teneur et impact. Ainsi, il s'avèrera nécessaire dans un futur proche de pouvoir également être en mesure d'analyser d'autres paramètres.

La surface des aérosols est désormais reconnue comme étant potentiellement un élément crucial pouvant gouverner l'impact sanitaire des aérosols et en particulier celui des particules fines et ultrafines. Cependant, à l'heure actuelle, il n'existe pas de méthodes directes et simples d'emploi permettant de mesurer, de manière routinière, la teneur en surface particulaire par unité de volume de la phase gazeuse. Or ceci introduit et/ou va introduire de sérieuses limitations quant à notre habilité à établir un lien entre aérosols et impact sanitaire. C'est pourquoi, notre objectif était d'établir une méthodologie permettant un tel suivi routinier. Un tel développement est désormais possible du fait de récents progrès technologiques et scientifiques liés aux méthodes optiques pouvant être appliquées à de telle question.

Ainsi notre objectif était d'établir les bases scientifiques et techniques d'une méthode de mesure in situ et en temps réel de la surface exposée par des aérosols.

Résultats

L'expérience CASISURF a connu au cours de ces deux dernières années un fort développement expérimental tant sur le plan de la génération des nanoparticules, de l'utilisation de dispositifs d'analyse de leur taille (SMPS) que de l'adsorption du chromophore. La construction puis la validation expérimentale d'un détecteur de fluorescence induite par laser a été un point majeur des travaux d'optique menés au LASIM. La combinaison de l'approche chimique et de l'approche optique est en cours de finalisation. Les premiers signaux de fluorescence induite par laser obtenus après adsorption de chromophores à la surface du nano-objet étudié sont très prometteurs. Ce travail demande ainsi à être poursuivi dans le but d'en déduire la surface spécifique des nanoparticules étudiées. A cette fin la limite de détection optique devra être affinée pour permettre une mesure de fluorescence à de plus faible températures du gaz de chromophores et donc à de très faible pression partielle. Ceci devrait permettre d'approcher le phénomène d'adsorption sur une monocouche. D'autre part, l'accès aux constantes thermo-chimiques (paramètres de la relation d'Antoine) est nécessaire pour accéder à une évaluation quantitative de la surface effective. De telles données ne sont pas accessibles et leur mesure selon une approche optique basée sur le schéma actuelle est envisagée.

Pour conclure, le schéma proposé basé sur un approche optique et de spectroscopie de masse montre que l'accès à la mesure de la surface effective des particules de tailles nanométriques est rendue possible et ceci en exploitant d'une part la théorie BET et surtout en réalisant cette mesure dans des conditions thermodynamiques proches des conditions atmosphériques.

1 - Université de Lyon, Lyon, F-69626, France ; université Lyon 1, Lyon, F-69626, France ; CNRS, IRCELYON, Institut de recherches sur la catalyse et l'environnement de Lyon, Villeurbanne, F-69626, France

2 - Université Blaise Pascal, CNRS, LaMP, Laboratoire de Météorologie Physique, Clermont-Ferrand

3 - Université de Lyon, Lyon, F-69626, France ; université Lyon 1, Lyon, F-69626, France ; CNRS, LASIM, IRCELYON, Laboratoire de Spectrométrie Ionique et Moléculaire, Villeurbanne, F-69626, France

Nouvelles méthodes d'imagerie des éléments traces en électrophorèse sur gel pour la spéciation multimodale des complexes métal-protéine

Ryszard Lobinski (DR au CNRS), Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement, UMR 5234, Hélioparc, 2, av. pr. Angot, Pau. E-mail : ryszard.lobinski@univ-pau.fr

Richard Ortega (DR au CNRS), Laboratoire de Chimie Nucléaire Analytique Bioenvironnementale, UMR 5084, Gradignan. E-mail : ortega@cenbg.in2p3.fr

Régis Grimaud (MCF à l'UPPA), Laboratoire d'Ecologie Moléculaire, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau . E-mail : regis.grimaud@univ-pau.fr

Objectifs

L'objet du projet a été la mise en place d'une approche multimodale pour la spéciation des métaux liés aux protéines dans des modèles biologiques d'exposition aux contaminants inorganiques. Elle a impliqué le développement de techniques d'imagerie multiélémentaire et de caractérisation structurale à l'ordre local des éléments traces associés aux protéines séparées sur gels d'électrophorèses 2D.

Principaux résultats

1) Le développement d'un protocole d'analyse élémentaire des gels 1D par l'ablation laser femtoseconde à haute cadence permettant une augmentation de sensibilité d'un facteur de 40 par rapport aux protocoles existants. Ce développement a rendu possible la détection (sans l'utilisation de radioisotopes) de sélénoprotéines traces dans des échantillons d'une bactérie, *Desulfococcus multivorans*, avec détection comparable à l'autoradiographie ouvrant ainsi la voie à la sélénoprotéomique dans des échantillons cliniques.

2) Le développement d'un protocole d'imagerie élémentaire dans des gels 2D. Il permet la détection quantitative des métalloprotéines séparées dans des conditions non-dénaturantes dans des matrices complexes.

3) Le développement d'une méthode de spéciation directe de métalloprotéines, pour la première fois directement dans les gels, par spectroscopie d'absorption de rayons X produits par rayonnement synchrotron (EXAFS et XANES) La spectroscopie XANES a permis de mettre en évidence des différences d'état d'oxydation du Cu dans les isoformes de point isoélectrique de la superoxide dismutase sauvage. La spectroscopie EXAFS a révélé une différence de coordination du Cu entre la protéine sauvage et un mutant impliqué dans les formes familiales de sclérose latérale amyotrophique.

Effets des rayonnements

Dans le domaine de l'exposition aux rayonnements, les travaux apportent des éléments de compréhension de leurs effets sur le métabolisme et sur la réponse cellulaire.

- Développement d'un système biologique pour l'étude de l'effet de l'oxydation de l'ADN, due aux expositions aux agents génotoxiques, notamment radicaux libres de l'environnement naturel. (A. Sarasin).
- Caractérisation de la radiosensibilité des cellules à risques dans la cancérogenèse radio-induite cutanée (kératinocytes souches et progéniteurs de l'épiderme humain) et étude de la réponse de ces kératinocytes à une faible dose d'irradiation. (M. Martin)
- Détermination de l'effet de l'exposition à des champs électromagnétiques 50Hz du modèle transgénique de souris (SOD-1) qui développe des signes cliniques de sclérose latérale amyotrophique – maladie neurologique dégénérative atteignant les motoneurons –, et de la susceptibilité d'influence de la progression de la maladie. (S. Poulletier de Gannes)

Effets des radicaux libres de l'environnement sur le vieillissement et la neurodégénérescence via la transcription erronée des lésions de l'ADN

Alain Sarasin

Laboratoire « Génomes et Cancers », CNRS FRE2939 Institut Gustave Roussy, 94805 Villejuif

Damien Brégeon

Equipe GMT, CNRS UMR8621 Institut de Génétique et Microbiologie, Univ. Paris Sud, 91405 Orsay

sarasin@igr.fr

Nous sommes en contact permanent avec toute une série de polluants de l'environnement dont un grand nombre donne naissance à des radicaux libres et à l'oxydation du matériel biologique. Parmi celui-ci, l'ADN de nos cellules est très sensible à l'oxydation qui induit des lésions parmi lesquelles l'oxydation de la guanine (la 8-oxo-guanine) est la lésion majoritaire. L'absence de réparation de l'ADN endommagé est source de modifications génétiques majeures dans les cellules et d'apparition de maladies graves.

Résultats

Nous avons développé un système biologique original pour étudier l'effet de l'oxydation de l'ADN sur le métabolisme cellulaire et les conséquences possibles en terme de santé publique. La majorité des cellules exposées aux agents génotoxiques et notamment aux radicaux libres de notre environnement naturel sont dans un état quiescent et ne se répliquent pas ou peu. Par contre, elles sont obligées de transcrire une quantité importante de gènes pour la synthèse des différentes protéines nécessaires à leur survie. L'analyse de l'expression du gène de la luciférase, utilisé comme marqueur, à partir d'une matrice ADN contenant un des produits majeurs de l'altération de l'ADN par les radicaux libres, la 8-oxoguanine, à des positions définies dans le brin transcrit du gène indique que, dans des cellules de mammifères, cette lésion est capable d'induire une synthèse d'ARN messagers erronés in vivo qui est appelée ATILA pour Aberrations de Transcription Induites par une Lésion de l'ADN.

L'expression de ces constructions dans différentes lignées cellulaires plus ou moins compromises pour la réparation de l'ADN nous a permis de déterminer que les ATILA étaient grandement influencées par la capacité des cellules à réparer la 8-oxoguanine. Ainsi, les cellules déficientes pour la réparation par excision de bases présentent la plus forte quantité d'ATILA après transfection avec une construction contenant la 8-oxoguanine en vis-à-vis d'une cytosine. De manière plus surprenante, la quantité d'ATILA due à la 8-oxoguanine n'est pas plus importante dans des cellules issues de patients atteints du syndrome de Cockayne que dans des cellules issues d'individus sains. Ceci suggère donc qu'in vivo et dans ces conditions expérimentales, la 8-oxoguanine n'est pas réparée par le système de réparation couplée à la transcription. Grâce à l'utilisation de trois constructions où une 8-oxoguanine est placée en vis-à-vis d'une thymine, il a été observé que la quantité d'ATILA due à cette lésion, varie en fonction de sa position le long du gène de la luciférase. Ainsi, il semble que plus la 8-oxoguanine est éloignée du promoteur du gène, plus la quantité d'ATILA est importante. Le séquençage des ARN messagers de la luciférase a permis de mettre en évidence qu'in vivo l'ARN polymérase humaine insérait principalement une adénine et parfois une cytosine en face de la 8-oxoguanine. Les altérations non réparées de l'ADN dues aux radicaux libres affectent donc la fidélité de transcription in vivo et peuvent ainsi induire la production d'une forte quantité de protéines erronées. L'accumulation de ces protéines aberrantes dans des cellules ne se divisant pas pourrait avoir des conséquences néfastes pour l'organisme entier et expliquerait certains troubles, notamment neurologiques, observés lors du vieillissement ou bien lors de maladie neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer ou Parkinson.

Effets des rayonnements ionisants sur les kératinocytes souches de l'épiderme humain

Michèle Martin, Responsable du Laboratoire de Génomique et Radiobiologie de la Kératinopoièse, CEA, 2 rue G Crémieux, 91057 Evry France. tel 01 60 87 34 91 ; fax 01 60 87 34 98 ; coordinatrice du contrat ; michele.martin@cea.fr

Jérôme Lamartine, Centre de génétique moléculaire et cellulaire, CNRS-Université Lyon I UMR 5534 – EPST ; responsable du laboratoire ; jerome.lamartine@univ-lyon1.fr

Alain Favier, Lésion des acides nucléiques – Service de Chimie Inorganique et Biologique, Université Joseph Fourier – EPST ; CEA de Grenoble – EPIC ; responsable du laboratoire ; alain.favier@cea.fr

Objectifs et méthodes

Dans le projet BIRAD, nous avons proposé de caractériser la radiosensibilité des cellules qui sont à risque concernant la cancérogenèse radio-induite cutanée, c'est-à-dire les kératinocytes souches et progéniteurs de l'épiderme humain. Les cellules souches sont considérées comme la cible potentielle majeure, car elles ont une durée de vie élevée dans l'épiderme, ce facteur temps étant favorable à l'acquisition d'anomalies. Il a été proposé qu'elles soient à l'origine des carcinomes de type basocellulaire, un des types de cancers les plus fréquents dans l'espèce humaine. Concernant les kératinocytes progéniteurs, ils pourraient être une cible plus mineure car ils sont régulièrement éliminés par le processus physiologique de régénération de l'épiderme, qui intervient sur un cycle de 28 jours. Pourtant, il a été proposé qu'ils soient à l'origine des carcinomes de type spinocellulaire.

Bien que la CIPR ait désigné le kératinocyte humain comme la cellule cible pour la cancérogenèse cutanée en général, le processus de formation des carcinomes radio-induits a été très peu étudié. La radiosensibilité des cellules souches et progénitrices n'étant pas connue, il s'agissait dans un premier temps de la définir après une dose standard de 2 Gy par les outils de la biologie intégrative maîtrisés par les laboratoires impliqués dans le contrat. Dans un deuxième temps, nous avons proposé d'aborder la réponse de ces kératinocytes à une faible dose d'irradiation. Bien que la fréquence des expositions à des faibles doses de rayonnements ionisants augmente régulièrement dans l'ensemble de la population, notamment par le développement de l'imagerie médicale, le risque encouru après de telles expositions est toujours très largement débattu.

Résultats

Dans le projet BIRAD, nous avons posé les bases de la caractérisation de la radiosensibilité des cellules qui sont à risque concernant la cancérogenèse radio-induite, c'est-à-dire les kératinocytes souches et progéniteurs de l'épiderme humain. La radiosensibilité de ces cellules après une dose thérapeutique standard a été caractérisée par différentes approches. Les résultats obtenus après une dose d'intérêt thérapeutique (2 Gy) montrent :

- que les kératinocytes souches sont relativement radiorésistants. Ils développent un ensemble de mécanismes de protection vis-à-vis de l'exposition génotoxique, en particulier une réparation des lésions de l'ADN particulièrement performante. L'activation du facteur de croissance endogène FGF2 serait un des mécanismes de protection.
- que les kératinocytes progéniteurs sont radiosensibles et ont un potentiel limité de réparation des lésions de l'ADN. En conséquence, ils présentent à long terme une instabilité génomique qui peut favoriser l'acquisition des premières étapes de la cancérogenèse.

Ces résultats démontrent que l'ensemble des kératinocytes de la couche basale de l'épiderme peuvent être des cibles de la cancérogenèse. En effet, bien que très protégées, les cellules souches restent une cible

potentielle car leur durée de vie au sein de l'épiderme ne permet pas d'écarter l'acquisition d'anomalies. Quand aux progéniteurs, nos résultats sont en faveur d'un rôle potentiel important dans la cancérogénèse, soutenant donc les hypothèses de l'origine de carcinomes dans cette population.

Par ailleurs, les études de la réponse cellulaire à une très faible dose ont permis de conclure que :

- une très faible dose de 10 mGy est capable de provoquer une mort cellulaire et des cassures double brin de l'ADN dans la population de kératinocytes progéniteurs. Bien que ces lésions semblent réparées à 24 heures, connaître la fidélité de cette réparation serait un élément clé pour estimer le risque à long terme de cette exposition.
- le facteur de transcription GATA3 est un élément clé de la réponse biologique des kératinocytes humains à une faible dose. L'implication de ce facteur avait été montrée dans une première étude du transcriptome, elle est aujourd'hui confirmée par d'autres approches de génomique fonctionnelle.

Dans le cadre du nouveau contrat ANR LODORA, qui a commencé en janvier 2009, les données encore préliminaires obtenues après une très faible dose seront développées et l'étude du rôle de GATA3 sera poursuivie.

MAALS (MAGnetic fields and ALS)

Effet des champs magnétiques de 50 Hz sur un modèle animal de Sclérose Latérale Amyotrophique

Isabelle Lagroye^{1,3} (responsable du projet), *Florence Poulletier De Gannes*¹, *Gilles Ruffié*¹, *Murielle Taxile*¹, *Elodie Ladevèze*¹, *Annabelle Hurtier*¹, *Emmanuelle Haro*¹, *Sébastien Duleu*², *Renaud Charlet De Sauvage*¹, *Bernard Billaudel*¹, *Michel Geffard*^{1,2} & *Bernard Veyret*^{1,3}
E-mail : isabelle.lagroye@ims-bordeaux.fr

Objectifs

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurologique dégénérative qui atteint les motoneurons. L'issue de cette maladie est toujours fatale et les causes à l'origine de la SLA sont encore méconnues. Des études épidémiologiques suggèrent que des professionnels exposés à des champs électromagnétiques 50 Hz auraient un risque doublé de développer une SLA. L'objectif de notre étude a été de déterminer pour la première fois si l'exposition du modèle transgénique de souris SOD-1 (qui développent les signes cliniques de la SLA) à des champs magnétiques de 50 Hz est susceptible d'influencer la progression de la SLA.

Méthodologies et Résultats scientifiques

Sept souris SOD-1 par groupe ont été exposées à un champ 50 Hz à l'aide de bobines de Merritt (EDF, France). Deux niveaux d'exposition (100 et 1000 μ T) ont été choisis sur la base des recommandations européennes de limites d'exposition (100 μ T pour le public, 500 μ T pour les travailleurs). Les souris ont été placées dans des cages en PVC (25 x 20 cm) et laissées libres de leur mouvement au cours de chaque session d'exposition. L'exposition a commencé à l'âge de 10 semaines, avant l'apparition des symptômes. Les animaux ont été exposés 2 heures/jour, 5 jours/semaine pendant 7 semaines. Un groupe de souris exposées de manière factice (placées dans des bobines de Merritt non alimentées) a été inclus dans le protocole.

L'évolution de la maladie a été suivie classiquement en pesant les animaux une fois par semaine et en évaluant la coordination motrice à l'aide du test du rotarod (15 tpm, 180 s maximum) une fois par semaine. Les animaux ont été observés quotidiennement et euthanasiés lorsque, placés sur le dos, ils étaient incapables de se retourner au bout de 30 s. Le temps de survie a été considéré à partir de cette date.

Les résultats n'ont pas montré de différences significatives concernant le poids, la coordination motrice et la survie. Nos résultats n'apportent pas d'indication de l'existence d'un lien entre une exposition à un champ 50 Hz et la SLA chez la souris SOD-1. Notre étude, en complément des études épidémiologiques, doit apporter des éléments de réponse permettant d'évaluer le risque de maladie neurodégénérative lié à l'exposition professionnelle à des champs magnétiques. L'hypothèse que les chocs électriques puissent représenter un facteur de risque ne peut pas être écartée.

Ces travaux ont été présentés en congrès (3 affiches, 2 communications orales) et ont été publiés Poulletier de Gannes F. et al., Amyotrophic Lateral Sclerosis (2008), 1 : 1-4.

1 - Université de Bordeaux 1, Laboratoire IMS, groupe de Bioélectromagnétisme, ENSCPB, 16 Avenue Pey-Berland, Pessac, France,
2 - Gemacbio, Cenon, France, et 3 Laboratoire Bioélectromagnétisme, Ecole Pratique des Hautes Etudes, ENSCPB,
16 Avenue Pey-Berland, Pessac, France

Expositions et facteurs de risques

Analyse des facteurs de risques à partir de l'étude du rôle des différentes dimensions : expositions environnementales et professionnelles à différentes substances, caractéristiques socio-économiques et sanitaires des populations, déterminants spatiaux et urbains, comportements.

- Étude du rôle des facteurs de risque professionnel dans la survenue de cancers du poumon ou des voies aéro-digestives supérieures dans 10 départements en population générale, afin d'envisager les effets conjoints de plusieurs expositions professionnelles (examen d'une soixantaine de substances dont amiante, fibres minérales artificielles, formaldéhyde, hydrocarbures polycycliques, silice, solvants, acides forts...) et les interactions avec les consommations de tabac, d'alcool et les facteurs de susceptibilité génétique. (D. Luce)
- Estimation de l'impact des facteurs environnementaux (lignes à haute tension, trafic routier, pollution atmosphérique au benzène et aux hydrocarbures polycycliques aromatiques, proximité de sites nucléaires, de sites industriels classés Seveso ou de stations-service, concentration en radon) sur la survenue des cancers de l'enfant, notamment les leucémies, grâce à une étude cas-témoins auprès de 35 000 sujets qui permet de comparer les cas et les témoins, ainsi que les fréquences et niveaux d'expositions. (J. Clavel)
- Mise en évidence des facteurs de risques environnementaux des cancers du sein auprès de 1200 cas, à travers l'exploration du rôle de l'exposition à différents composés chimiques susceptibles d'entraîner un risque accru en terme de perturbation endocrinienne ou reconnus comme cancérogènes mammaires (pesticides organochlorés, polychlorobiphényles, dioxines, solvants organiques...), ceci en prenant en compte l'historique résidentiel et professionnel, l'alimentation et des prélèvements biologiques (sanguins). (P. Guenel)
- Étude approfondie de la distribution spatiale du risque coronarien à partir des caractéristiques économiques, urbaines, densité de population, comportement de santé des individus (notamment poids), en s'appuyant sur des données sociologiques, géographiques, statistiques, environnementales et épidémiologiques. (B. Chaix)
- Étude des relations entre le niveau socio-économique, l'exacerbation de l'asthme, la délivrance de médicament, et les niveaux de pollutions atmosphériques. (D. Bard)

Facteurs de risque professionnels des cancers du poumon et des voies aéro-digestives supérieures : l'étude Icare

Danièle Luce¹, Isabelle Stücker²

L'étude ICARE a été mise en place pour étudier le rôle des facteurs de risque professionnels dans la survenue de cancers du poumon ou des voies aéro-digestives supérieures (VADS).

Méthodes

L'étude est une étude cas-témoins multicentrique en population générale. Les cas ont été identifiés dans 10 départements comportant un registre des cancers. Les témoins ont été sélectionnés par tirage au sort de numéros de téléphone dans les mêmes départements que les cas. Les sujets ont été interrogés en face-à-face à l'aide d'un questionnaire standardisé, comportant notamment les consommations de tabac et d'alcool et une description précise de tous les emplois exercés pendant la vie active. Un recueil de cellules buccales pour la constitution d'une banque d'ADN a également été effectué. Au total, 3084 cas de cancer du poumon, 2639 cas de cancer des VADS et 3589 témoins ont été inclus dans l'étude. Des échantillons d'ADN ont été obtenus pour plus de 80% des cas et des témoins.

Résultats

Les résultats disponibles sont pour l'instant limités. Les premières analyses concernent les femmes. Le nombre important de femmes incluses dans l'étude (618 cas de cancer du poumon, 368 cas de cancer des VADS et 713 témoins) offre en effet une opportunité unique d'étudier les facteurs de risque professionnels des cancers respiratoires chez les femmes. Après ajustement sur les consommations de tabac et d'alcool, une augmentation significative du risque de cancer des VADS a été observée chez les femmes de ménage, les ouvrières du façonnage et de l'usinage des métaux, les ouvrières de l'électricité et de l'électronique et les ouvrières de l'alimentation et des boissons. Une analyse similaire sur les associations entre professions et risque de cancer du poumon chez les femmes a mis également en évidence un risque élevé de cancer du poumon chez les ouvrières du façonnage et de l'usinage des métaux et les ouvrières de l'électricité et de l'électronique, après ajustement sur le tabac. Ces résultats préliminaires supportent l'hypothèse d'un rôle des expositions professionnelles dans la survenue de cancers respiratoires chez les femmes, et doivent être confirmés par des analyses plus approfondies.

Conclusion

Les analyses sont en cours, et l'exploitation des données recueillies va se poursuivre pendant plusieurs années. Les expositions professionnelles à une soixantaine de substances seront examinées, dont notamment l'amiante, les fibres minérales artificielles, le formaldéhyde, les hydrocarbures polycycliques aromatiques, la silice, plusieurs poussières organiques, les solvants, les acides forts, les fluides de coupe, les fumées de diesel, les fumées de soudage. L'évaluation des expositions s'effectuera en collaboration avec des spécialistes en hygiène industrielle. L'étude Icare est sur le plan international la plus importante étude cas-témoins sur les facteurs de risque professionnels des cancers respiratoires, avec des données sur les expositions professionnelles particulièrement complètes et détaillées. Par ailleurs, des informations sur de nombreux facteurs de risque autres que les expositions professionnelles sont disponibles, ainsi que des échantillons d'ADN. Il s'agit donc d'une base de données extrêmement riche. Quatre thèses sont déjà en cours et de nombreux projets vont pouvoir s'appuyer sur les données de cette étude. Le nombre important de sujets devrait notamment permettre de mettre en évidence des expositions professionnelles associées à des augmentations modérées de risque, et d'évaluer les risques associés à des expositions peu fréquentes. Il sera possible d'étudier les effets conjoints de plusieurs expositions professionnelles, les interactions entre expositions professionnelles, tabac, alcool, et facteurs de susceptibilité génétique, et d'estimer en France la proportion de cas de cancers respiratoires attribuables à des facteurs de risque professionnels.

1. Inserm U687, Villejuif, France Daniele.Luce@inserm.fr

2. Inserm U754, Villejuif, France

Leucémies de l'enfant et environnement

*Jacqueline Clavel, Claire Faure et Denis Hémon, INSERM UMR-S 754,
Université Paris Sud II, Registre National des Hémopathies Malignes de l'Enfant
jacqueline.clavel@inserm.fr*

Plusieurs expositions de l'environnement général sont actuellement mises en cause dans la survenue des cancers de l'enfant. C'est particulièrement le cas des champs électriques et magnétiques à extrêmement basse fréquence (CEM-EBF), de la pollution atmosphérique liée au trafic routier et du radon résidentiel. Ces expositions ne peuvent pas être retracées de façon objective par l'interrogatoire des parents. Nous avons mis en place le projet GEOCAP pour estimer l'impact de l'environnement dans les cancers de l'enfant en utilisant la distance aux sources d'exposition et les caractéristiques générales de ces sources comme base d'estimation objective des expositions individuelles.

Le projet porte dans un premier temps sur les leucémies de l'enfant et cible plus particulièrement (1) les lignes à haute tension, à l'origine d'expositions aux CEM-EBF ; (2) le trafic routier, et la pollution atmosphérique au benzène et aux hydrocarbures polycycliques aromatiques ; (3) la proximité des sites nucléaires ; (4) la concentration locale en radon (5) la proximité de sites industriels classés Seveso ; (6) la proximité des stations-service.

Méthodes

GEOCAP est une étude cas-témoin. Les cas, issus du Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant, sont tous les enfants de moins de 15 ans résidant en France métropolitaine et atteints d'une leucémie depuis le 1/1/1990, soit 6 780 cas dont 1 400 sur 2002-2004. Les témoins sont 15 000 enfants de moins de 15 ans échantillonnés en 2002, 2003 et 2004. Les données recueillies chez les cas et les témoins sont l'âge, le sexe, l'adresse exacte et le nombre d'enfants au foyer.

Les principales étapes nécessaires à l'analyse ont été réalisées pour les 35 000 sujets de l'étude (cas de leucémies et de tumeurs solides, témoins) :

- Mise au point des procédures de transmission et d'anonymisation des informations recueillies pour les 15 000 témoins (collaboration technique et juridique avec l'INSEE),
- Recrutement des témoins et contrôle détaillé de leur représentativité de la population d'âge pédiatrique en termes d'âge, de taille du foyer et de caractéristiques sociodémographiques générales de leurs communes d'habitation (Collaboration avec l'Insee)
- Géocodage individuel précis des 35 000 sujets de l'étude (Collaboration avec Geocible et l'IGN)
- Estimation des distances entre les résidences des cas et des témoins et les sources d'exposition. Cette étape est pratiquement achevée pour les lignes à haute tension, le réseau routier et les sites nucléaires. L'estimation quantitative des expositions tenant compte des caractéristiques locales des expositions a commencé pour (1) les CEM-EBF (collaboration avec RTE – prise en compte des types de ligne et des niveaux de courant) ; (2) la pollution atmosphérique liée au trafic (Collaboration avec l'ADEME et AIRPARIF) ; (3) les radiations ionisantes liées au radon d'une part et à la proximité des sites nucléaires d'autre part (Collaboration avec l'IRSN).

Résultats

Les premières analyses comparent les cas et les témoins sur les fréquences et les niveaux d'exposition basés sur la distance. Les premiers résultats seront disponibles au second trimestre 2010. Elles utiliseront des modèles logistiques ajustés sur âge sexe et taille du foyer, et prendront en compte les caractéristiques sociodémographiques des communes de résidence. Elles permettront également de décrire et dénombrer les populations exposées.

GEOCAP a été amorcé fin 2005 grâce à un financement d'EDF-Appel d'offres Epidémiologie et poursuivi grâce au financement de l'ANR – Appel d'offres Environnement-Santé. Un financement complémentaire a été apporté par la fondation Wyeth et par l'Institut de Veille Sanitaire. Le projet bénéficie également d'une allocation de recherche de l'ARC.

GEOCAP est un projet de grande envergure, amené à se prolonger sur le long terme. L'exhaustivité du recrutement des cas, la représentativité de l'échantillon témoin, l'objectivité et la précision des données sur les expositions environnementales font de GEOCAP un outil innovant et évolutif de recherche en santé publique.

Facteurs de risque environnementaux et professionnels des cancers du sein : l'étude CECILE

*Pascal Guénel, Delphine Bachelet, Emilie Cordina, Sara Villeneuve, Antoinette Anger, Souad Mahboub
Inserm Unité 754, Villejuif (pascal.guenel@inserm.fr)*

Les facteurs de risque connus du cancer du sein ne permettent pas de rendre totalement compte du nombre élevé de femmes atteintes chaque année par cette pathologie, environ 50 000 en France. L'étude Cécile vise à mettre en évidence les facteurs de risque environnementaux des cancers du sein qui sont peu étudiés et mal connus. Elle explore le rôle de différents composés chimiques suspectés d'entraîner un risque accru de cancer du sein parmi les polluants environnementaux ayant des effets de perturbation endocrinienne ou reconnus comme cancérigènes mammaires en expérimentation animale. Différentes approches sont utilisées nous permettant d'étudier les expositions présentes dans l'environnement général ou en milieu de travail. Les principales expositions étudiées sont les pesticides organochlorés, les polychlorobiphényles, les dioxines, certains plastifiants, les solvants organiques et le travail de nuit. Le projet permettra par ailleurs d'étudier le rôle de certains facteurs de susceptibilité génétique et les interactions gène-environnement dans ce cancer.

Matériel et méthode

Une étude cas-témoins en population a été réalisée dans 2 départements français (Côte d'Or et Ille-et-Vilaine). Les cas ont été identifiés dans les principaux centres hospitaliers afin d'inclure, de façon aussi exhaustive que possible, les cas de cancer du sein survenus entre 2005 et 2007 chez les femmes résidant dans ces départements. Plus de 1200 cas ont ainsi été recrutés. Un nombre équivalent de femmes témoins appariées sur l'âge aux cas ce cancer a été contacté par téléphone dans ces mêmes départements en utilisant des quotas par catégorie socio-professionnelle. Un questionnaire en face-à-face a permis de recueillir des informations détaillées sur l'ensemble des facteurs de risque connus ou suspectés, l'histoire résidentiel, l'alimentation, et l'historique professionnel avec la description détaillée de chacun des emplois occupés. Un prélèvement sanguin a également été pratiqué. La mesure des expositions d'intérêt est pratiquée de différentes façon : réponses au questionnaire pour les horaires de travail par exemple; dosage de composés organochlorés persistants dans les prélèvements sanguins ; évaluation des expositions professionnelle par matrices emplois-expositions ou par expertise des questionnaires professionnels pour les solvants et d'autres œstrogènes environnementaux.

Travaux réalisés ou en cours

Les analyses effectuées confirment le rôle des facteurs de risque reproductifs, du poids, de l'allaitement, et des traitements hormonaux (publication en cours). Des développements méthodologiques concernant l'évaluation des expositions environnementales et professionnelles ont fait l'objet des principaux efforts à ce jour (mise au point sur nos données d'un modèle toxicocinétique dit PB-PK pour les composés organochlorés persistants, expertise des expositions professionnelles aux solvants) et seront poursuivis (détermination de scores d'exposition aux dioxines à partir d'un système d'information géographique). La banque d'ADN que nous avons constituée permettra de pratiquer le génotypage d'un grand nombre de polymorphismes sur les gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques, les gènes de la réparation et les gènes de l'inflammation par l'intermédiaire d'une puce dédiée permettant l'étude de 15000 SNP. L'ensemble des données génétiques et environnementales recueillie permettra également l'étude des interactions gène-environnement.

Les facteurs de risque bien établis du cancer du sein, de nature hormonale ou reproductive, ne sont généralement pas modifiables et n'offrent que peu de prise à la prévention. L'étude CECILE contribue à une meilleure connaissance des facteurs environnementaux et professionnels modifiables, et à terme à une meilleure prévention du cancer du sein.

Déterminants contextuels des variations spatiales de morbidité cardiovasculaire : de l'analyse de données secondaires à la mise en place de la Cohorte RECORD

Basile Chaix^{1, 2}, Pierre Chauvin^{1, 2}, Juan Merlo³, Nicolas Danchin⁴

Enjeux et problématiques

Cherchant à comprendre les mécanismes à l'origine des disparités sociales de troubles coronaires, un certain nombre d'études ont fait état d'un risque coronaire accru dans les quartiers défavorisés, au-delà des effets associés aux caractéristiques individuelles.

Toutefois après deux décennies de recherche, il subsiste des limites importantes dans ces travaux. En effet, les études (a) n'ont qu'imparfaitement décrit la distribution spatiale du risque coronaire ; (b) ont négligé de tenir compte d'un grand nombre de caractéristiques environnementales ; (c) ont défini les environnements résidentiels à partir de délimitations géographiques administratives ; et (d) ne se sont pas vraiment intéressées aux mécanismes médiateurs (comportements de santé, mécanismes psychosociaux, etc.) par lesquels l'environnement peut influencer sur le risque coronaire. Le but du présent projet est de contribuer à lever ces limites en faisant converger des acquis de la sociologie, de la géographie, des sciences environnementales, de la statistique et de l'épidémiologie des maladies cardiovasculaires.

Matériel et méthodes

Les analyses proposées se sont appuyées sur la base suédoise LOMAS de l'Université de Lund, sur la cohorte suédoise « Men born in 1914 », sur la cohorte GAZEL de l'Inserm U687 et sur la cohorte PRIME de l'Inserm U780. Le présent projet aboutit par ailleurs à la mise en place de la cohorte RECORD.

Résultats

Dans différents articles réalisés à partir de données suédoises, nous sommes parvenus aux résultats suivants : (a) dans le sud de la Suède, un fort effet du niveau socio-économique du quartier sur le risque de décès coronaire a été observé en milieu urbain, mais pas en milieu rural, après ajustement sur les caractéristiques des individus ; (b) nous avons trouvé que l'effet du niveau socio-économique du quartier sur la mortalité coronaire avait fortement augmenté en l'espace de 10 ans, suggérant un renforcement notable de l'influence du contexte socio-économique de résidence ; (c) après ajustement sur le niveau socio-économique, il est apparu que la létalité immédiate des événements coronaires était très fortement accrue, et la survie après infarctus était très notablement réduite dans les quartiers qui présentaient un fort niveau d'instabilité résidentielle (c'est-à-dire un fort taux de renouvellement de leur population, un facteur qui nuit à l'établissement et au maintien de réseaux de voisinage) ; (d) nous avons trouvé que le risque de mortalité coronaire était plus fort dans les quartiers à faible cohésion sociale ; et enfin (e) nous avons observé que le fait de ne bénéficier que d'un faible soutien de la part du voisinage était associé à une incidence et à une mortalité coronaires accrues.

Dans le contexte français, à partir de la cohorte PRIME, nous avons trouvé que la pression artérielle augmentait à mesure que le niveau socio-économique du quartier et la densité de population de la zone de résidence diminuaient ; près de 40% de l'association entre niveau socio-économique du quartier et pression artérielle était médié par l'indice de masse corporelle et le tour de taille des participants. Des analyses réalisées à partir de la Cohorte GAZEL nous ont permis de mettre en évidence une association indépendante entre caractéristiques socio-économiques de la zone de résidence et incidence de troubles coronaires.

Discussion et perspectives

Toutefois, chacune de ces études présentant des limites, il est apparu nécessaire de mettre en place une étude permettant de tenir compte à la fois des caractéristiques du contexte, du vécu des individus au sein de leur quartier, des facteurs de risque comportementaux, cliniques et biologiques et des troubles coronaires incidents. Un tel projet trouve son soubassement théorique dans un article que nous avons publié en 2009 dans la *Annual Review of Public Health*, et vise à avancer dans l'agenda de recherches empiriques et méthodologiques que cet article propose. Dans le contexte de l'étude RECORD (« Residential Environment and CORonary heart Disease »), 7293 participants de 112 communes d'Île-de-France ont été recrutés entre mars 2007 et février 2008 lors d'examens de santé. Après 3 ans de préparation, les analyses vont débuter en février 2009.

1 – Inserm U707, Paris, France

2 – UPMC, Paris, France

3 – Université de Lund, Malmö, Suède

4 – Centre IPC, Paris, France

Quelles relations entre expositions environnementales, inégalités sociales et risque pour la santé ? Le projet PAISA (Pollution Atmosphérique et Inégalités Sociales face à l'Asthme)

D. Bard¹, O. Laurent^{1, 2}, S. Havard^{1, 3}, S. Deguen¹, G. Pedrono⁴, L. Filleul⁵, C. Segala⁴, A. Lefranc⁶, C. Schillinger⁷, E. Rivière⁷

Les inégalités sociales de santé sont bien documentées dans les pays développés mais incomplètement expliquées. Dans le cadre du projet PAISA, nous avons étudié les relations entre le niveau socio-économique (NSE), une manifestation à faible temps de latence, l'exacerbation de l'asthme et les niveaux de pollution atmosphérique, sur une base écologique.

Méthodes

Nous avons examiné sur la Communauté Urbaine de Strasbourg (CUS) les relations entre les niveaux de pollution atmosphérique ambiants, le NSE et 1) les appels pour exacerbation de l'asthme aux services de médecine d'urgence (SOS-Médecins Strasbourg et SAMU 67, 2000-2005) ; 2) les délivrances de médicaments anti-asthmatiques (données des Caisses d'Assurance-Maladie, 2004). L'unité statistique est l'IRIS, la plus petite zone pour laquelle il est possible d'obtenir de l'INSEE des données socio-économiques. Les niveaux ambiants de PM10, O3, et NO2 au niveau de chaque IRIS ont été estimés sur une base horaire à partir des inventaires d'émissions et des mesures de l'Association pour la Surveillance et l'étude de la Pollution Atmosphérique en Alsace (ASPA), à l'aide du modèle déterministe de dispersion atmosphérique ADMS-Urban. L'analyse a été conduite selon une approche cas-croisés, en ajustant sur les épidémies de grippe, les concentrations aériennes de pollen et les facteurs météorologiques.

Résultats

Nous avons construit un index du NSE par analyse en composantes principales à partir des données du recensement (1999), appliqué à chaque IRIS de la CUS.

Les analyses cas-croisés (4677 cas) ajustées ont montré une association positive mais non significative entre les appels pour asthme et les niveaux de polluants : pour une augmentation de 10 µg/m³ des concentrations ambiantes, les odds ratio (OR) sont respectivement de 1,035 (intervalle de confiance à 95 % : 0,997-1,075) pour les PM10 et de 1,025 (0,990-1,062) pour le NO2. Il n'y avait pas d'association pour l'ozone (OR=0,998 ; 0,965-1,032). Le NSE n'apparaissait pas avoir d'influence significative sur ces associations. Pour 15.521 délivrances de médicaments β2-stimulants d'action brève chez les moins de 40 ans, nous avons observé, pour une augmentation de 10 µg/m³ des concentrations ambiantes, des accroissements du nombre de délivrances statistiquement significatifs, de 7,5 % (4-11,2%) pour les PM10 et de 8,4 % (5-11,9 %) pour le NO2, mais pas d'association pour l'O3. Il n'y avait pas non plus d'influence significative du NSE.

Conclusion

Notre approche écologique à très fine échelle, minimisant les erreurs de classification, est l'une des originalités de notre étude, par ailleurs la première de ce type en Europe. Nous avons observé des associations entre exacerbations de l'asthme et NSE d'une part, pollution de l'air d'autre part, cohérentes avec celles documentées par la littérature. En revanche, la seule étude comparable à la nôtre (Vancouver, Canada) conclut à l'existence d'un effet modificateur du NSE sur la relation entre pollution de l'air et exacerbations de l'asthme. Cette divergence de résultats peut avoir des raisons diverses, dont le poids des spécificités locales, socio-géographiques notamment.

- 1 - Département d'Epidémiologie et de Recherche Clinique, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes
 - 2 - LEPID, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire, Fontenay aux Roses
 - 3 - INSERM U 707, Paris
 - 4 - SEPIA Santé, Baud
 - 5- CIRE Aquitaine, Institut national de Veille Sanitaire, Bordeaux ; 6 DSE, Institut national de Veille Sanitaire, Saint Maurice
 - 7 - Association pour la Surveillance et l'Etude de la Pollution Atmosphérique en Alsace, Schiltigheim
- Contact : denis.bard@ehesp.fr

Organisation et pratiques sociales, savoirs, normes et représentations

La mise en évidence des liens entre santé et environnement, celle des modalités de prise en charge (ou d'absence de prise en charge), des risques environnementaux, sanitaires, professionnelles impliquent une meilleure connaissance de l'ensemble des processus. C'est en particulier le cas des évolutions des dispositifs de prévention, de gestion ou de réparation ; des régulations et des modalités de leur mise en œuvre ; du rôle des différents acteurs. Les conditions de production des normes et de leur transformation, la nature des faits et des preuves mobilisées suivant les problèmes, les passages entre savoirs et normes constituent également des enjeux de connaissance.

Comprendre le rôle des différents facteurs susceptibles d'avoir des effets nocifs ou bénéfiques sur la santé et la sécurité au travail nécessite l'analyse croisée : de l'activité (intensité du travail, charge de travail), des pratiques professionnelles et de prévention, des cadres techniques et normatifs, des déterminants organisationnels et managériaux, des savoirs et des expériences individuelles, du rôle des collectifs, mais aussi, des modes d'organisation de l'économie, voire des mutations macroéconomiques.

Transformation des catégories d'analyse et d'action

Les transformations des modalités de prise en charge de la santé au travail, des risques environnementaux, sanitaires ou médicaux peuvent être analysées à travers l'étude des modes de production des catégories d'analyses, des règles et des pratiques dans la reconnaissance des maladies professionnelles, du rôle des différents acteurs et du droit ; mais aussi à travers les évolutions des dispositifs destinés à assurer la réparation, les modalités de production des données et des savoirs.

- Étude des évolutions de la réparation des dommages liés aux risques professionnels, environnementaux, sanitaires et aux préjudices liés à l'activité médicale, du point de vue des dispositifs institués et de l'expérience des victimes : évolutions des mobilisations collectives autour de la réparation des accidents du travail et des maladies professionnelles; expériences et itinéraires des victimes de risques professionnels; socio-histoire des débats sur la réparation des accidents médicaux; expériences des victimes et dynamiques de mobilisation des collectifs (sang contaminé et hormone contaminée); itinéraires de la réparation. (N. Dodier)
- Analyse sur la longue durée - du 20ème siècle jusqu'à nos jours -, à partir des sources historiques (syndicales, patronales, entreprises), des évolutions du droit et de comparaisons internationales, des transformations des catégories de la santé au travail dans trois grands domaines : la construction de la connaissance et de la reconnaissance des maladies professionnelles ; le rôle des acteurs sociaux lors des négociations collectives, des revendications et des luttes y compris des instances internationales, et des organisations non professionnelles; la diversité des pratiques dans les entreprises et les organisations, dans les différentes instances, dans de nouveaux métiers, à travers le type d'intervention des salariés - droit d'alerte et de retrait - et selon le statut de l'entreprise. (N. Hatzfeld)
- Étude de divers dispositifs quantitatifs dans trois entreprises (secteur de l'aéronautique, de la recherche en chimie, de l'équipement pour l'aviation et l'automobile) à travers l'analyse des pratiques (caractéristiques des données, mode de construction et d'utilisation), des acteurs et des effets sociaux. (S. Volkoff)
- Analyse des transformations des modes de production des connaissances sur les atteintes liées au travail. (V. Daubas-Letourneux)
- Étude des conséquences de la mise en place du dispositif de sécurité sanitaire, à travers trois activités (incinérateurs d'ordures ménagères, pesticides et pollution atmosphérique urbaine), sur la régulation de ces activités et la prise en compte des préoccupations sanitaires : comparaison des indicateurs de mise sur agenda, analyse du lien avec le dispositif institutionnel de régulation des activités en cause, scientifiques concernés, nature des risques, types d'acteurs portant les alertes, médiatisation et configuration des coalitions soutenant l'idée d'un risque, modalités d'actions. (D. Salomon)

L'économie de la réparation.

Les exemples croisés des accidents du travail et des accidents médicaux

Nicolas Dodier, Directeur de recherche à l'INSERM et directeur d'études à l'EHESS, Groupe de sociologie politique et morale (Institut Marcel-Mauss), dodier@ehess.fr (responsable du programme) Janine Barbot, Chargée de recherche à l'INSERM, Centre de recherche médecine, sciences, santé et société, barbot@vjf.cnrs.fr. Damien de Blic, Maître de conférences à Paris8, Groupe de sociologie politique et morale (Institut Marcel-Mauss), damien.deblic@gmail.com.

Objectif général

On assiste depuis les années 1990 à des remaniements sensibles concernant la réparation des dommages liés aux risques sanitaires. De grandes affaires ont marqué les esprits, où la question de la réparation s'est avérée centrale (sang contaminé, hormone de croissance, amiante, affaire Perruche notamment). Des collectifs de victimes d'un genre nouveau sont apparus sur la scène publique. Un débat de longue haleine s'est cristallisé autour de la multiplication des procès. Des confrontations sont apparues autour du bien-fondé des dispositifs destinés aujourd'hui à assurer, dans plusieurs domaines, la réparation des dommages (risques professionnels, préjudices liés à l'activité médicale, risques environnementaux). L'économie de la réparation se transforme, tant du point de vue des victimes, que des institutions en charge de cette question. L'objectif de ce projet est d'étudier ces évolutions à partir de deux exemples clefs : le domaine santé-travail (accidents du travail et maladies professionnelles) ; les préjudices liés à l'activité médicale. Pour chacun des domaines, le programme articule deux axes de recherche : 1. une étude des transformations qui affectent les dispositifs institués de la réparation ; 2. une étude de l'expérience des victimes.

Opérations de recherches

I. Santé-Travail

1.1. Evolution des mobilisations collectives autour de la réparation des accidents du travail et des maladies professionnelles. Histoire de la Fédération Nationale des Accidentés du Travail et des Handicapés (FNATH) : travail d'archives (1920-2008), et d'éléments d'histoire orale recueillis auprès d'anciens militants. (Damien de Blic, RFAS, 2007)

Nous mettons en évidence trois périodes de mobilisations collectives : 1. 1920-1940 : construction d'une organisation chargée spécifiquement de la défense des droits des accidentés, critique des défaillances de la loi de 1898, influence des associations d'anciens combattants de la Première Guerre Mondiale ; 2. 1945-1980 : inclusion des dispositifs dans le régime de Sécurité sociale, frein de l'élan militant ; 3. 1980- : crise du dispositif de réparation des accidents du travail, nouveaux horizons d'action : résurgence de l'exigence de réparation intégrale, élargissement de la notion « santé au travail ».

Le mouvement revendique une différence avec le mouvement ouvrier (notamment les syndicats de travailleurs). Les inflexions de la mobilisation doivent être mises en relation avec l'émergence d'autres catégories de victimes : anciens combattants, invalides civils, handicapés, accidentés de la route, victimes d'accidents thérapeutiques.

1.2. Expériences et itinéraires des victimes de risques professionnels. Enquête par entretiens (n=40) auprès des usagers de la permanence juridique du Groupement Région Parisienne de la FNATH (tous secteurs d'activité confondus) ; observations lors des permanences.

(Joan Stavo-Debauge, Anne de Blic, Damien de Blic, en cours de publication)

Les victimes apparaissent dépassées par le droit et sans grande prise sur son déploiement (automaticité des indemnisations, choc de l'accident). Le dommage révèle une érosion antérieure des salariés et des troubles depuis longtemps à l'oeuvre de façon moins perceptible. Nous mettons en évidence la prégnance des auto-imputations de responsabilité. Les revendications portent non sur les conditions de travail, mais sur le licenciement (lorsque c'est le cas), ou sur l'insuffisance des indemnisations.

2. Préjudices liés à l'activité médicale

2.1. Socio-histoire des débats sur la réparation des accidents médicaux

. La réparation des accidents médicaux dans les médias (1936-2008). Enquête à partir d'un travail sur la presse, les débats parlementaires, les débats judiciaires. Première exploitation de l'analyse des médias (Inathèque).

(Janine Barbot, in : Le droit des malades et des usagers des systèmes de santé, Presses de Sciences Po, 2007)
Nous mettons en évidence quatre périodes. 1. Dans les années 1960 : transition vers la médecine moderne, les plaintes sont vues comme liées à l'héritage du passé. 2. Dans les années 1970, prise de conscience, dans les médias que les plaintes perdurent malgré le progrès. Les interrogations se multiplient sur les modes et les capacités d'auto-régulation du risque médical par la profession médicale (appels à une réforme des pratiques médicales et des instances disciplinaires, critiques radicales du pouvoir médical). 3. A partir du milieu années 80-2000, les victimes sont au centre des dispositifs télévisés. On assiste à l'entrée en lice des associations. Les victimes apparaissent comme confrontées à des « monstres froids » (médecine, justice, assurances). 4. Enfin, avec les années 2000, apparaît la critique des dérives compassionnelles de la justice à l'égard des victimes.

La réparation dans le secteur de la chirurgie esthétique. Ce secteur s'avère particulièrement intéressant pour faire travailler, en ses frontières, la question de la réparation des accidents médicaux. Le travail s'appuie sur un corpus d'émissions audiovisuelles (Inathèque) (1950-2008).

(Janine Barbot & Isabelle Cailbault, Politix, 2010)

Dans les années 1950-1960, la chirurgie esthétique est une chirurgie « correctrice » montrée dans son rôle social qui vise à réduire les incapacités et les handicaps (les « gueules cassées »). Les témoignages montrent des opérés reconnaissants. Ce schéma s'estompe ensuite pour laisser la place à une problématisation de la finalité de la chirurgie esthétique (les aides à la beauté vues simultanément comme futiles et essentielles, la recherche d'un bien être moral et social). Les années 1980 sont marquées par la démocratisation de la chirurgie esthétique et l'essor du marché. On s'interroge sur les dimensions pathologiques de la demande. Les victimes sont vues à travers la figure de la « consommatrice crédule » sur un marché sauvage. Avec les années 1990, émergent des figures de victimes vindicatives, mais également repentantes (auto-imputation de responsabilité). Enfin, au tournant des années 2000, la télévision comme dispositif intervient comme acteur dans des recours en justice.

2.2. Expériences des victimes et dynamiques de mobilisation des collectifs

- Perspective comparative sur deux affaires médicales (sang contaminé, hormone contaminée). Enquête par entretiens auprès de patients hémophiles, victimes d'une contamination à VIH par voie sanguine (n= 60). Enquête par entretiens auprès des victimes de l'hormone de croissance contaminée (n=40). (Janine Barbot et Emmanuelle Fillion, Sociologie & Sociétés, 2008)

Mise en évidence d'un schéma commun à ces deux mobilisations collectives. Les dynamiques associatives rassemblant les familles de malades sont impulsées initialement par des médecins, avec une profonde reconnaissance des familles pour ceux-ci, dans le cadre de la tradition clinique. Les mobilisations sont centrées sur la promotion des traitements. Face aux premières contaminations de ceux-ci, les associations concernées réagissent pour simultanément soutenir et contenir les victimes. On décrit ici la mise en place d'un « paternalisme associatif de crise ». Dans un deuxième temps, émerge chez les victimes une vive critique de cette posture, et l'apparition de collectifs de victimes vindicatives dédiés à la réparation du préjudice.

- Démocratie et solidarité au sein d'un collectif de victimes (hormone contaminée). En complément du travail sur les entretiens (supra), travail sur des archives associatives permettant un suivi du groupe sur plus de vingt ans (1979-1997).

(Barbot et Dodier, Terrain, à paraître en 2010)

Nous montrons, à partir de cet exemple, quelques propriétés centrales des collectifs de victimes. Tout d'abord concernant la démocratie interne. Nous dégageons deux types de démocratie propres à ces collectifs : 1. La construction du groupe sous l'aura d'un bienfaiteur externe ; 2. L'élaboration d'une forme spécifique de démocratie autoritaire. Nous montrons par ailleurs comment et jusqu'à quel point se construit, dans un groupe qui s'est constitué autour d'une première situation de violence (une pathologie), une forme de solidarité pour les victimes d'une deuxième situation de violence (un traitement iatrogène). Nous mettons

en évidence les éléments suivants : la difficulté dans le groupe à nommer la deuxième violence ; la nature des coûts associés à un recours en justice ; la difficulté à intégrer les nouvelles victimes, et les raisons pour lesquelles celles-ci en viennent à être écartées des postes de responsabilité.

- Nouvelle présence des victimes à l'audience pénale (cas du procès de l'hormone de croissance). Observation ethnographique du procès (4 mois, 47 audiences en 2008). Premiers résultats à partir notamment d'une analyse de 26 plaidoiries.

(Barbot et Dodier, in : Ethnographie du politique, Editions Peter Lang, à paraître en 2010).

Nous étudions comment se règle la relation aux victimes dans un dispositif caractérisé par une présence renouvelée de celles-ci à l'audience pénale (importance accordée aux témoignages des victimes, forte présence des parties civiles). Nous montrons comment le « moment compassionnel » (la longue série des témoignages des victimes) est retravaillé par les parties en présence : comme expérience partagée et comme test des qualités humaines des prévenus et des professionnels du droit. Nous montrons comment, dans ce contexte, se construisent des modèles de juriste « humain » : au travers de l'expérience et du refoulement de la compassion ; par l'identification et la mise à distance des dérives compassionnelles ; mais également par l'intégration des souffrances inéluctables comme prix de la vérité. Nous étudions enfin le travail autour des souffrances des victimes et des prévenus en vue de la construction d'une audience équitable.

2.3. Les itinéraires de la réparation dans un dispositif général. Une enquête a été mise en oeuvre après la conclusion d'un accord avec l'Office national d'indemnisation des accidents médicaux, des affections iatrogènes et des infections nosocomiales (ONIAM) pour encadrer l'accès aux données. Enquête statistique sur les 18 000 dossiers adressés au dispositif depuis sa création, puis sur un échantillon de 1.700 dossiers, pour analyser les profils sociaux des demandeurs et les itinéraires de leurs demandes de réparation. Analyse en cours.

(Janine Barbot, avec la collaboration de Isabelle Parizot, Chargée de recherche au CNRS- Centre Maurice Halbwachs, et Myriam Winance, Chargée de recherche à l'INSERM- CERMES).

Histoire(s) de la santé au travail (19e-20e s.)

Anne-Sophie Bruno, historienne, maître de conférences, Université de Paris 13, UFR LSHS, 99 avenue Jean-Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, anne-sophie.bruno@univ-paris13.fr

Eric Geerkens, historien, premier assistant, Université de Liège, Bibliothèque Léon Graulich, Boulevard du Rectorat, 7 bât B 31, B-4000 Liège, E.Geerkens@ulg.ac.be

Nicolas Hatzfeld, historien, maître de conférences à l'Université d'Evry, UFR SSG, 2 rue du Facteur Cheval, 91000 Evry, nicolas.hatzfeld@wanadoo.fr

Catherine Omnes, historienne, professeur à l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, UFR SSH, 47 Bd Vauban, 78047 Guyancourt Cedex, IDHE-Nanterre, catherine.omnes@gmail.com

L'histoire de la santé au travail s'affirme désormais comme un champs de recherche constitué. Les connaissances accumulées dans les pays anglo-saxons et en France permettent de dégager les grandes lignes de cohérence de l'histoire de la santé au travail à l'époque contemporaine : la notion de santé négociée apparaît comme une notion clé, qui permet de résoudre le hiatus entre l'image d'une conquête progressive du droit à la santé et à la sécurité au travail, depuis le tournant réformiste de la fin du 19e s., et les drames individuels et collectifs d'une santé mise en danger par le travail, dont le 20e s. a été le témoin. La nouvelle historiographie de la santé et des relations de travail invite en effet à remettre en cause une vision progressiste de l'histoire, qui a longtemps opposé un long 19e siècle, âge d'or du libéralisme sans entraves, à une phase de solidarité collective et de responsabilité partagée, initiée par le tournant réformiste. Le passage à l'âge assurantiel marque certes un tournant, puisque ce modèle devient très vite dominant, même dans les pays où la voie judiciaire subsiste, comme en Grande-Bretagne ou aux États-Unis. Mais la législation sociale de la fin du 19e siècle et l'entrée dans la société assurantielle constituent peut-être moins une conquête des travailleurs qu'une expression de l'inégalité de la relation salariale, désormais définie par la subordination du salarié à son employeur.

En instituant l'obligation de sécurité de l'employeur, le système assurantiel aboutit à cantonner la protection de la santé des travailleurs au monde du travail, et à l'entreprise en particulier. Cette caractéristique institutionnelle est sans doute pour beaucoup dans le cloisonnement, toujours de mise, entre santé au travail et santé publique. Puisque l'impératif du « safety first » relève désormais des entreprises et la réparation des compagnies d'assurances, la médecine du travail s'est avant tout constituée comme une médecine d'entreprise, axée sur la sécurité, l'examen d'embauche et le suivi des blessés.

Construit au départ pour répondre à la question des accidents du travail, le modèle assurantiel a réduit la visibilité de l'autre dimension du risque, celle des pathologies d'origine professionnelle. Le dispositif de prise en charge des maladies professionnelles s'est développé sur le modèle des accidents du travail, mais ces deux types d'atteintes ne répondaient pas à la même temporalité : en matière de maladies professionnelles, l'impératif de protection des travailleurs était beaucoup plus facile à contourner pour des employeurs souvent assurés d'échapper au coût engendré par des atteintes aux effets différés. À cet égard, si le modèle assurantiel a apporté une réponse relativement efficace à la question des accidents du travail, du moins si l'on en juge par la diminution du nombre de cas mortels, il a largement échoué à prendre en compte la santé globale des travailleurs.

Cette vision de la santé au travail comme relevant de la sphère privée de l'entreprise correspond ainsi à une forme de délégation par l'État des questions de santé aux acteurs de l'entreprise. Un tel choix s'est avéré durable puisqu'il a été encore renforcé par l'affirmation des logiques néo-corporatistes, jusqu'au cœur des systèmes de sécurité sociale qui se mettent en place dans la plupart des pays industrialisés autour de la Seconde Guerre mondiale. Pour une bonne part, les évolutions de la santé au travail dépendent donc essentiellement de la façon dont les acteurs du monde du travail se sont saisis de ces questions, sur le terrain. L'appréciation de la santé au travail est dès lors moins le fait d'experts scientifiques, médicaux en premier lieu, que le fruit de négociations collectives, souvent informelles, qui mettent en jeu

les employeurs, les salariés et leurs organisations syndicales, encadrés plus ou moins fermement par les pouvoirs publics, chacun de ces acteurs recourant, avec des fortunes diverses, à l'expertise scientifique.

Pour progresser dans la compréhension historique des questions de santé au travail, notre équipe a examiné, sur la longue durée, les stratégies de chacune de ces catégories d'acteurs — pouvoirs publics, employeurs, syndicats, professionnels de la gestion du risque, experts — sur les diverses scènes où s'élaborent les savoirs, les représentations, les normes protectrices et les pratiques, en replaçant les résultats de ces recherches dans le large ensemble d'études publiées en France et à l'étranger sur ce thème depuis le début des années 1980.

Quantifier la santé au travail en entreprise : Acteurs, conventions et usages

*Serge Volkoff Directeur de recherches au CEE (Centre d'Etudes de l'Emploi)
et directeur du CREAPT (Centre de Recherches et d'Etudes sur l'Age et les Populations au Travail)
Marion Gilles, Ingénieure d'études contractuelle à l'Université Lyon 2
MODYS (Mondes et Dynamiques des Sociétés)
volkoffs@enpc.fr*

Des travaux se sont intéressés aux statistiques nationales portant sur le travail, ses conditions et ses effets sur la santé des travailleurs : d'une part, ils explicitent les cadres sociaux et intellectuels qui ont façonné la constitution d'une approche quantitative des conditions de travail et des relations entre travail et santé et d'autre part, ils montrent de quelles manières ces dispositifs participent d'une meilleure visibilité sociale des enjeux de santé au travail. En revanche la production et les usages sociaux des chiffres en santé au travail dans les entreprises ont donné lieu à peu de travaux jusqu'ici. C'est précisément l'objet de cette recherche. Contribuer à une meilleure connaissance de ces processus de quantification et de leurs effets en entreprise nous paraît d'autant plus important que l'appel aux chiffres pour étudier, débattre des relations entre santé et travail est de plus en plus prégnant dans le débat social actuel.

Méthodes

Notre recherche repose sur l'étude de divers dispositifs quantitatifs déployés en entreprise : 1/ un dispositif de suivi statistique de certaines caractéristiques du travail et de la santé au sein d'un grand groupe de l'aéronautique (enquête par questionnaire auprès des salariés, suivi pluriannuel depuis 2001), 2/ une évaluation quantitative des facteurs de stress au travail (enquête par questionnaire auprès des salariés reconduite tous les 18 mois depuis 2003) dans un institut de recherche et développement, 3/ le développement d'indicateurs chiffrés de santé au travail lié à la mise en place d'un management de la santé-sécurité au travail chez un équipementier, 4/ le suivi statistique des accidents du travail dans deux PME utilisant les chiffres d'accidents comme unique référence chiffrée dans le champ de la santé au travail. Des entretiens ont été réalisés auprès des concepteurs de chiffres et de l'ensemble des acteurs intervenants dans les questions de santé au travail (médecins, infirmiers, directeurs d'établissement, responsables des ressources humaines, responsables prévention, cadres de production, membres CHSCT, délégués du personnel). Les analyses documentaires – données chiffrées et analyses produites, rapports annuels des médecins du travail, comptes-rendus de CHSCT et de CE, comptes-rendus de réunion de travail, articles et documents cités par les personnes ... – complètent le recueil des points de vue et expressions des personnes interrogées.

Résultats

La production des chiffres en santé au travail s'inscrit dans différents courants qui semblent se dévoiler sur deux registres.

Le premier a trait aux déterminants externes, c'est-à-dire des règles, des lois et des modèles qui, médiatisés par les pratiques des personnes, traversent les entreprises, contribuent au développement de données chiffrées sur la santé et le travail et orientent les usages. Ils expliquent pour partie les formes prises par les outils de mesure. Il s'agit notamment des connaissances scientifiques sur l'objectivation des conditions de travail ou des risques professionnels, des modèles d'analyse du stress, les courants de normalisation du champ de la santé au travail et de management de la santé et sécurité au travail, la législation sur l'évaluation des risques professionnels. L'histoire de ces divers courants montre la grande diversité des logiques dont ils sont porteurs et nous rappelle que la rencontre des chiffres avec la santé au travail n'est pas « évidente » et fait l'objet de multiples débats dont on retrouve quelques traces au

sein même des entreprises. Il apparaît ainsi tout à fait important de situer la production des chiffres en santé au travail dans le développement plus général du « désir » de quantification de ce champ au sein des entreprises.

Le second registre est lié au contexte social spécifique à chaque entreprise. Ces démarches quantitatives en santé au travail que nous avons observées ont en effet émergé dans des moments particuliers, dans des interactions et des confrontations entre acteurs de l'entreprise. Les compromis entre acteurs, négociations qui ont lieu tout au long du processus de quantification, expliquent pour partie les formes prises par les outils quantitatifs et les manières de construire puis d'utiliser les chiffres. Les chiffres, une fois construits et rendus publics, circulent au sein des entreprises, sont repris par certains acteurs, critiqués, dénoncés, oubliés par d'autres, changent de sens et prennent leur indépendance. En proposant des catégories de mesure, en faisant référence aux indicateurs, en les insérant dans des argumentaires, en prenant appui sur eux ou en les critiquant, les acteurs s'en servent pour délimiter leur périmètre d'action, qualifier leur position, (ré)affirmer une définition du phénomène mesuré, justifier des décisions ou au contraire s'y opposer. Nous observons ainsi que les chiffres n'ont pas d'effet par leur seule valeur de vérité ; leurs effets sont liés au réseau plus vaste d'énonciation et d'action dans lequel ils sont insérés.

Ces constats nous ont amené à interroger notre méthode d'enquête, basée essentiellement sur des entretiens et des analyses de documents. En effet, en observant diverses situations de production, d'usage ou de discussion des statistiques de santé au travail, on découvre les manières dont se confrontent les visions du monde, les logiques d'acteurs, les modes de raisonnements, les points de vue et leurs éventuelles évolutions concernant l'homme au travail et le concept de santé au travail. Cette perspective rend compte plus précisément de l'utilité pratique des chiffres en entreprise : elle permet de préciser leurs effets sur les manières d'appréhender les enjeux de santé au travail, d'éclairer les interactions entre descriptions chiffrées et actions.

Enfin, si nous avons observé une tendance dominante à un recours accru au chiffrage pour aborder les questions de santé au travail en entreprises, les approches quantitatives restent néanmoins variées et les attitudes face au processus de quantification diverses : adhésion, résistance, indifférence. Ces attitudes traduisent des enjeux et des oppositions concernant le positionnement des questions de santé au travail dans l'entreprise et les formes de légitimité des acteurs de ce champ. Il semble que la prise en compte des positions sociales et des parcours des personnes amène à mieux comprendre ces diverses positions.

La production de connaissances en Santé au travail : regards croisés internationaux

Annie Thébaud-Mony

Directrice de recherche INSERM, Laboratoire IRIS, Université Paris 13.

74, rue Marcel Cachin, 93017 Bobigny Cedex. E-mail : annie.thebaud-mony@wanadoo.fr

Nathalie Frigul - Chercheure, Université de Picardie.

Véronique Daubas-Letourneux - Chercheure, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guépin, Université de Nantes, Nantes.

Paul Jobin - Directeur de l'antenne de Taipei du CEFC, Maître de conférence à l'Université Paris Diderot

La production de connaissance sur les atteintes liées au travail est une construction sociale qui fait varier au fil du temps et selon les pays les frontières du visible et de l'invisible. Ces variations sont très étroitement liées à l'évolution des rapports sociaux, dans le travail et dans la société.

Le programme « Approches critiques de la production de connaissances en Santé au travail. Comparaisons internationales » s'est fondé sur quatre objectifs liés entre eux :

- passer de l'identification des « angles morts » de la connaissance des atteintes liées au travail à une démarche d'analyse des processus de construction de ces angles morts.
- Inscrire la santé au travail comme dimension à part entière de la santé publique, en articulation avec les enjeux de santé environnementale.
- Porter une attention particulière aux apports de la dimension pluridisciplinaire et pluri-institutionnelle de la production de connaissance à l'échelle locale, régionale ou nationale.
- Approfondir l'analyse du rôle joué par l'approche longitudinale dans la connaissance des atteintes liées au travail, à l'articulation de l'individuel et du collectif.

Principaux résultats

- Des études, notamment anglo-saxonnes, menées essentiellement dans une perspective historique ont permis de montrer que la connaissance théorique des atteintes liées au travail par les sciences comme la toxicologie, la biologie et l'épidémiologie ne suffit pas à entraîner leur prise en compte dans le cadre de politiques publiques ou de stratégies en matière de prévention. Le programme a permis d'appréhender différentes façons de mettre en évidence les effets sur la santé des produits toxiques, dans et hors des lieux de travail et d'explorer les rapports de pouvoir et de dépendance entre science et industrie.
- Le principal indicateur statistique (à l'échelle nationale et internationale) des blessures, des maladies, des handicaps et des morts liés au travail est le nombre annuel d'accidents du travail et de maladies professionnelles reconnus et indemnisés par les organismes qui en ont la charge. La circularité de la connaissance induite par ces statistiques (puisque ne sont connus que les accidents et maladies reconnus) est une de leurs limites et conduit à explorer d'autres sources de connaissance sur les AT/MP.
- Des travaux français et internationaux ont mis en évidence l'impact des transformations du travail et de l'emploi sur la construction sociale de l'invisibilité d'atteintes à la santé d'origine professionnelle. La prise en compte des parcours de vie permet d'étudier ce double lien travail-santé/santé-travail sous un angle renouvelé, en montrant notamment que cette méconnaissance est inscrite dans une histoire à la fois singulière et empreinte des choix structurels influant sur l'organisation du travail et de l'emploi (flexibilisation, précarisation, sous-traitance).
- L'évolution des rapports de production et des rapports sociaux joue un rôle dans la construction différentielle de la connaissance des atteintes à la santé liées au travail, tant au niveau des connaissances

expertes que des savoirs d'expérience. Dans le contexte d'une incessante intensification du travail liée aux choix d'organisation du travail, il apparaît nécessaire de questionner ces catégories de connaissance ainsi que les moyens de lutte pour la reconnaissance des atteintes et la préservation de la santé.

Conclusion

Un ouvrage collectif vient clore ce programme de recherche. Participent à cet ouvrage des auteurs sollicités dans le cadre des séminaires organisés dans le cadre du programme. Il s'agit de chercheurs ou de professionnels impliqués dans le champ de la santé au travail. Le croisement des échelles d'analyse, la diversité des postures d'observation, la complémentarité des approches disciplinaires et l'ouverture sur d'autres contextes nationaux contribuent à éclairer certaines zones d'opacité entourant les effets du travail sur la santé, et ouvrent ainsi de nouvelles perspectives de santé publique et de recherche pour l'action.

Des risques sous contrôle : les effets d'inertie du dispositif de sécurité sanitaire

*Olivier Borraz - Directeur de recherche au CNRS - Sciences Po - Centre de sociologie des Organisations
CNRS - o.borraz@cso.cnrs.fr*

*François Dedieu - chargé de recherche INRA - unité Sens-INRA de l'IFRIS (Institut Francilien Recherche
Innovation et Société) - f.dedieu@cso.cnrs.fr*

*Danielle Salomon - fondatrice Risques & Intelligence - chercheure associée - Sciences Po - Centre de
Sociologie des Organisations - CNRS - dsalomon@noos.fr*

La multiplication des risques dans les domaines de la santé et de l'environnement met en évidence les limites du dispositif de sécurité sanitaire (DSS), 10 ans après sa création. Ce dispositif avait été conçu, dans le prolongement des crises sanitaires, pour transformer les modes de régulation des secteurs d'activité à l'origine des crises. On attendait de lui qu'il promeuve les enjeux de santé publique au sein de ces secteurs d'activités, mais aussi qu'il contribue à ouvrir un processus décisionnel jugé trop clôt et opaque. Il pouvait notamment s'appuyer sur des agences produisant une expertise scientifique indépendante. Bref, le DSS était l'instrument de l'évolution du stade de la première à la deuxième modernité (selon les termes de U. Beck) : autrement dit d'un dispositif de régulation qui, reposant sur une vision partagée du progrès technique et de la connaissance scientifique, convertissait des incertitudes en des risques calculables, anticipables et contrôlables ; vers un dispositif de régulation qui ferait appel à d'autres formes de savoirs, s'ouvrirait aux différentes parties intéressées et adopterait une attitude plus réflexive pour prendre en charge des problèmes incertains.

A travers l'étude de trois risques sanitaires potentiels (pollution atmosphérique urbaine, pesticides, incinérateurs), il ressort qu'au final, le dispositif de sécurité sanitaire renforce le dispositif de régulation initial.

Résultats

- Le dispositif de sécurité sanitaire protège le dispositif de régulation initial contre toute mise en cause directe, en concentrant les controverses et les critiques sur les agences, en particulier lorsqu'il existe de multiples incertitudes;
- Il en reproduit les fondements, notamment le recours à une science « normale » et confinée, un fonctionnement bureaucratique et la croyance dans le progrès technique;
- Il lui permet d'évoluer et de se transformer à son rythme, en intégrant progressivement des enjeux de santé publique, sans que ceux-ci ne viennent perturber les équilibres pré-existants.

Cependant, en renforçant ainsi le dispositif de régulation initiale, le DSS se révèle vulnérable. La mise en risque au sein de ce dispositif s'apparente à un processus de normalisation qui, sous couvert d'une plus grande transparence et d'une expertise plus robuste, ne remet que partiellement en cause le contrôle qu'exerce le dispositif institutionnel initial sur les principales dimensions de l'évaluation et de la gestion des menaces incertaines. Ce faisant, le DSS se trouve fragilisé, ce que traduisent les fréquentes mises en cause et réformes dont il fait l'objet. Trois séries de résultats viennent étayer cette conclusion.

- Les risques collectifs n'émergent pas en dehors des systèmes en charge de leur régulation, mais sont le plus souvent un effet de ces systèmes. Autrement dit, les modalités d'organisation et de fonctionnement des régimes de régulation industriel, agricole, environnemental ou des transports sont autant de facteurs de risques. Or, le dispositif de sécurité sanitaire, s'il est le produit de ces dysfonctionnements,

et s'il peut le cas échéant contribuer à les révéler, n'est pas en mesure de les résoudre ni de permettre à d'autres d'engager les réformes nécessaires pour les résoudre. Il ne joue donc pas son rôle d'alerte (les alertes trouvent leur origine en dehors du DSS) ou de résolution (celle-ci relève souvent d'acteurs non-étatiques). Il peut même, dans certaines circonstances, amplifier les crises qu'il était censé résorber.

- En ne s'appuyant, pour évaluer les risques, que sur la seule science normale et confinée, le dispositif de sécurité sanitaire écarte l'ensemble des autres incertitudes qui ont pourtant contribué elles aussi à l'émergence des risques. Il écarte aussi des formes de savoir qui, sans être encore reconnues comme légitimes, n'en fournissent pas moins des connaissances et sont revendiquées par un nombre croissant d'acteurs disposant d'un accès privilégié aux médias ou à la justice.

- En écartant ces risques ou en les réduisant à leur seule dimension scientifique et sanitaire démontrée, il favorise du même coup, soit :

- leur débordement dans l'espace médiatique et alors la controverse rebondit en dehors des dispositifs institutionnels et se déplace vers l'espace médiatique, politique, associatif voire judiciaire. Un nouveau problème politique est à gérer par les pouvoirs publics, sans que ceux-ci ne puissent s'appuyer sur le dispositif de sécurité sanitaire pour les aider à trouver une solution : c'est le cas, outre les risques émergents comme la téléphonie mobile, des incinérateurs.

- soit leur reconfinement, qui concerne la pollution de l'air et les pesticides : on assiste alors à une clôture de la controverse, un cloisonnement de sa prise en charge entre différents secteurs, et une invisibilité sociale, qui permettent aux acteurs économiques de disposer du temps nécessaire pour trouver des solutions alternatives sans subir la pression d'un mouvement social structuré, ayant recours aux tribunaux. Du reste, les secteurs d'activité dont les intérêts sont directement impliqués par la régulation des risques participent à ces opérations de confinement. En conséquence, dans les cas de la pollution de l'air et des pesticides, les dangers sanitaires, bien que reconnus, ne font pas l'objet d'une prise en charge à la hauteur du risque qu'ils représentent pour la santé des populations – à l'image de l'amiante.

En conclusion, non seulement le dispositif de sécurité sanitaire ne permet pas de prendre en charge efficacement des problèmes de santé pourtant reconnus, a fortiori des risques émergents ; mais il reproduit certains traits qui ont conduit aux crises sanitaires passées.

Pratiques sociales ou professionnelles de santé

L'analyse des pratiques sociales et professionnelles est un élément important de la compréhension de la santé tant à travers l'étude des déterminants (individuels, collectifs et organisationnels, sociaux, économiques, urbains... ou encore en terme de connaissances disponibles) que des pratiques de prévention ou de soins.

- Observation des 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 ; comparaisons (France, Suisse), mobilisant des approches urbanistiques, des systèmes d'information géographique, des enquêtes. (S. Lavadinho)
- Analyse quantitative et qualitative du non recours aux soins des actifs précaires à partir du lien entre absence de suivi médical, ou renoncement aux soins, et facteurs économiques et sociaux (précarités d'emploi ou de revenus, protection sociale, isolement social, responsabilité familiale...). (C. Sass)
- Compréhension de la place prise par la notion de qualité de vie et par les procédures développées dans les pratiques des soignants dans la genèse des risques psychosociaux chez les soignants (notamment symptôme d'épuisement) : comparaison France-Quebec. (C. Edey Gamassou)
- Étude des modalités d'appropriation par les travailleurs des connaissances produites dans les enquêtes sur les conditions de travail et de leur impact en terme de mise en place d'actions d'amélioration des conditions de travail, sur trois types de risques (musculo-squelettiques, pression temporelle, « difficulté de travailler selon les règles du métier et de donner un sens positif à son activité ») en s'attachant aux normes et principes de fonctionnement, explicites ou implicites, qui ont cours dans les collectifs de travail. (JF. Caillard)

Marcher en ville : un nouveau style de vie

Lavadinho, Sonia, chargé de recherches, Laboratoire des Transports, EPFL ; mail : sl@bfluid.com

Thibaud, Jean-Paul, directeur de recherches, CNRS ; Laboratoire CRESSON (Grenoble) ;

mail : thibaud@grenoble.archi.fr

Winkin, Yves, professeur des universités, directeur adjoint, chargé de la recherche

et des relations internationales, ENS LSH ; mail : yves.winkin@ens-lsh.fr

Objectifs et méthodes

Explorer les articulations entre santé publique, urbanisme et SHS à propos de la marchabilité des villes européennes. Offrir des outils d'analyse des villes aux chercheurs intéressés par les questions de mobilité douce, tout particulièrement par la marche.

La recherche sur les liens entre l'environnement construit, l'activité physique et la santé n'est encore qu'à ses débuts. La plupart des recherches publiées dans la littérature scientifique concernent l'Amérique du Nord et l'Australie. La majorité des études sont des études observationnelles transversales. Peu de données longitudinales existent, ce qui limite les conclusions sur d'éventuels liens de causalité forts entre environnement construit et activité physique. A ce jour, peu de recherches ont été effectuées en Europe ; notre étude a voulu contribuer au savoir spécifique pour deux pays européens, la France et la Suisse.

L'hypothèse de travail initiale était que la morphologie d'un quartier donné a un impact sur le mouvement quotidien de ses habitants et usagers. Un urbanisme adéquat pourrait donc faciliter un changement comportemental en faveur de la marche, et permettre au quartier de se positionner en conformité avec les recommandations minimales de l'OMS quant au niveau d'activité physique requis pour être en bonne santé. Nous avons, pour les deux agglomérations de l'étude, Grenoble et Genève, choisi deux quartiers par ville. Le choix s'est fait à l'aide des urbanistes selon des critères de l'ordre qualitatif en cherchant chaque fois deux quartiers avec un caractère soit « sédentaire » soit « nomade » : un quartier sédentaire étant caractérisé par un ensemble de paramètres diminuant la pratique de la marche et un quartier nomade avec un effet contraire, stimulant la marche. Les quartiers nomades choisis pour notre étude sont Le Pommier-La Tour (Genève) et Europôle (Grenoble) et les quartiers sédentaires Cressy (Genève) et l'Île Verte (Grenoble). Nous avons pu constater que si cette distinction n'était pas aussi tranchée que nous l'avions pensé au départ, certaines caractéristiques de l'environnement construit diffèrent entre ces deux types de quartiers : les quartiers que nous avons appelé « nomades » suscitent une plus grande hétérogénéité du phénomène de la marche que ceux dits « sédentaires ».

Notre objectif initial était d'identifier des quartiers « marchables » (walkable neighbourhoods) en les situant selon une échelle de marchabilité en fonction des caractéristiques de leur environnement construit et des usages de la marche qui s'y pratiquent. Cette dichotomie n'est pas si nette et il n'existe pas, en tout cas dans nos cas d'étude retenus, de quartiers pas du tout marchables ou de quartiers tout à fait marchables. La marche s'effectue partout, même là où l'on s'y attend le moins. Donc placer les quartier sur une échelle qui mesure leur degré de marchabilité s'est révélé non seulement plus ardu qu'initialement prévu, mais peut-être même inadéquat comme raisonnement pour appréhender la marche au sein d'un quartier donné. Ce que nous avons pu déceler n'est pas tant une affaire de degré, qui se mesurerait en une « quantité » de marche donnée, mais plutôt une affaire de modalité qui s'attacherait à la « qualité » d'une marche toujours observée, mais appréhendée dans sa diversité, déclinée par des gradations plus subtiles qui retranscrivent les diverses formes que cette marche peut prendre. Ainsi, à la dichotomie marche vs. non-marche, nous avons substitué une palette de styles piétonniers renvoyant à chaque fois à une manière d'être spécifique. De ce point de vue, la « marchabilité (walkability) d'un espace ou d'un territoire urbain n'est pas seulement affaire de degré (est-il plus ou moins marchable ?) mais aussi de

modalité (quelles manières de marcher convoque-t-il ?).

Pour que la marche ait un effet significatif sur la santé il ne suffit pas de marcher. Les études épidémiologiques ont montré qu'il faut que l'allure soit plutôt rapide. A Grenoble, il a été observé plus de marche rapide dans le quartier Europole que dans le quartier de l'Île Verte et il est de même pour les quartiers genevois Les Pommiers et Cressy. Notre approche a permis par la suite, à l'aide des contrastes trouvés, d'esquisser des recommandations, au sein du volet santé, pour un environnement construit favorable à l'activité physique comme la marche.

Principaux résultats scientifiques

Analyse interdisciplinaire comparée de deux centres-villes, Genève et Grenoble, et de deux de leurs périphéries, du point de vue de leur marchabilité.

Originalité méthodologique et technologique de ces résultats :

- Mise au point d'un cadre conceptuel nouveau permettant de décrire différents types de marche ;
- Mise au point d'une méthode de collectes des données alliant simplicité et efficacité (« La marche aux trois personnes »);
- Articulation démarche ethnographique et démarche géomatique .

Le non-recours aux soins des actifs précaires

CNRS-PACTE/ODENORE : C. Chauveaud, A. Rode, P. Warin.

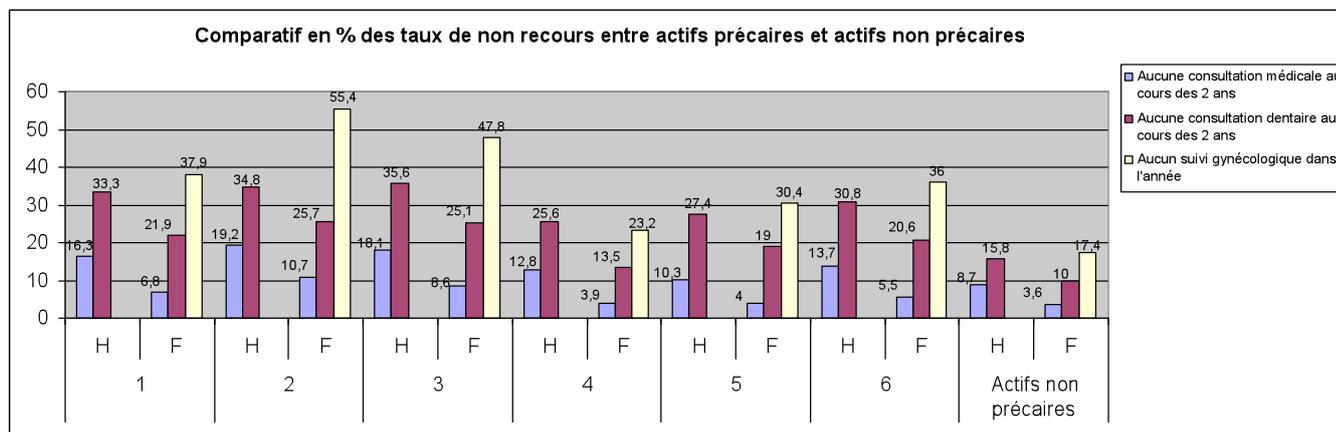
CETAF : C. Chatain, S. Gutton, E. Labbe, J.-J. Moulin, C. Sass.

Coordinateur : P. Warin.

L'objectif général de cette recherche est de développer une analyse quantitative et qualitative du non recours aux soins des actifs précaires. L'interrogation initiale porte sur les relations entre absences de suivi médical ou renoncements aux soins, et cumul de précarités d'emploi, de revenus, dans le travail et la protection sociale. La mise en œuvre de la recherche a demandé d'affiner ces termes et de définir à la fois la notion de non recours aux soins et celle d'actif précaire. L'étude des données des Centres d'examen de santé (CES) financés par l'Assurance Maladie est au cœur de cette recherche. Elle porte sur la base de données des CES gérée par le CETAF pour le compte de l'Assurance Maladie. Il s'agit d'une base de données sociales et médicales unique : plus de 600 000 consultants par an sur l'ensemble du territoire français. Cette étude a donné lieu à plusieurs travaux de nature statistique visant à décrire finement les profils des personnes en situation de non recours aux soins. Elle a été complétée par des travaux qualitatifs réalisés à un niveau régional, menés auprès de consultants de certains Centres d'examen de santé (150 entretiens semi directs).

Résultats

Le non recours aux soins (mesuré à partir de 3 variables : absence de consultation médicale au cours des 2 ans ; absence de consultation dentaire au cours des 2 ans ; absence de suivi gynécologique) n'est pas spécifique aux actifs précaires. Précaires ou non précaires, les populations actives sont toutes concernées, mais dans des proportions variables (cf. figure).



1 : Chômeurs de + 1 an n = 160 017

2 : Jeunes en insertion n = 84 088

3 : Bénéficiaires CMU-C n = 238 236

4 : Travailleurs emploi temps partiel ou non stable n = 134 591

5 : Travailleurs emploi stable temps plein avec problèmes financiers n = 57 005

6 : Chômeurs - 1 an et travailleurs précaires selon score Epices n = 162 985

Actifs non précaires n = 301 069

Le phénomène de non recours est globalement associé aux mêmes facteurs que celle que soit la population d'actifs considérée (cf. tableau). Dans l'ensemble, le non recours aux soins est fortement associé à l'absence de complémentaire santé et à des variables socioéconomiques liées aux conditions d'existence des individus. Ce résultat donne raison à l'approche systémique des inégalités sociales qui montre en particulier comment les inégalités face à la santé peuvent être la conséquence d'un faisceau d'inégalités. Cela a été clairement démontré par la littérature internationale. Mais il complète toutefois cette analyse générale dans la mesure où il indique que les inégalités de recours aux soins – l'un des déterminants des inégalités de santé – relèvent de multiples causes, qui ne proviennent pas seulement des conditions de travail, des revenus et des modes de vie, mais aussi de facteurs relatifs à l'environnement social. Deux facteurs mis en exergue par l'étude statistique et par les entretiens, l'isolement et la responsabilité familiale, indiquent que les inégalités de recours aux soins ont des déterminants autres que les variables habituellement remarquées en épidémiologie sociale, tel que le capital social des individus. Elle conduit notamment à tenir compte de dimensions d'ordre psychologique, dès lors qu'elle observe in fine que les individus « vivant seuls », sans support social et sans responsabilité d'autrui sont davantage vulnérables au non recours du fait d'un repli sur soi plus prononcé.

Analyse multivariée (OR) : les variables socio-économiques

(ajustée sur les variables de santé)	Non Recours au Médecin		Non recours au Dentiste		Non suivi Gynéco.
	H	F	H	F	F
Sans complémentaire santé	2.00	2.00	1.79	1.82	1.87
Bénéficiaires de la CMU	1.58	1.51	1.25	1.11	1.25
Les « sans diplômes » vs « licence »	1.81	2.52	1.26	ns	1.81
PCS « ouvriers » vs « cadres »	0.51	ns	1.40	2.00	3.24
Age « 20-29 ans » vs « 50-59 ans »	1.06	1.40	1.19	1.56	1.64
Ne pas vivre en couple	1.36	1.25	1.19	1.04	1.95
Pas de contact avec la famille	1.37	1.38	1.21	1.24	1.23
Pas d'hébergement en cas de besoin	1.17	1.30	1.16	1.19	1.04
Pas d'aide matérielle	1.07	1.07	1.11	1.07	1.11
Avoir des problèmes financiers	ns	0.85	1.17	1.19	ns
Durée de chômage ≥ 3 ans	1.15	ns	1.10	1.10	1.15
Avoir un lien avec un travailleur social	0.94	0.88	ns	ns	ns



OR supérieur à 1,5
OR entre 1,25 et 1,5
OR entre 1,10 et 1,25

OR inférieur à 1,10
OR inférieur à 1
Ns = OR non significatif

Réunion NOSAP – 04-12-07

Dans ces conditions, une action menée dans le but de réduire le phénomène de non recours aux soins ne peut pas s'attaquer à une cause unique. Certes, les conditions matérielles de vie des actifs précaires constituent bien une cible prioritaire pour améliorer l'accès à la santé et corriger ainsi des inégalités sociales. De ce point de vue, cette recherche démontre l'importance des difficultés financières liées à la précarité du travail et de l'emploi parmi les facteurs associés au non recours. Mais il n'en demeure pas moins que l'enjeu qui apparaît ici est aussi de (re)constituer la santé comme un bien individuel et collectif dans une société où à la fois la montée des précarités, la transformation des relations familiales et la progression du « vivre seul » bousculent vraisemblablement les mécanismes d'apprentissage ou de socialisa-

tion par lesquels la santé est transmise à la fois comme norme, valeur et croyance. Le matériau qualitatif accumulé pour cette recherche montre que ces termes interagissent fortement sur le non recours aux soins, qui apparaît alors comme une forme d'« abandon de soi ».

Cette recherche a conduit à la création d'un Outil de repérage du non recours aux soins (NORES). Cet outil a été élaboré à partir des variables socioéconomiques les plus liées aux non recours au médecin, au dentiste et au non suivi gynécologique dans des populations présentant diverses situations de précarité et/ou de vulnérabilité sociale. L'outil varie de 0 à 7, du risque le plus faible au risque le plus élevé de non recours aux soins. Des relations score-dépendantes sont observées entre l'indicateur NORES avec : le non recours au médecin, au dentiste et le non suivi gynécologique ; un mauvais état de santé perçue ; divers indicateurs de morbidité (en particulier : tabac, obésité, maigreur, hyperglycémie, anémie, présence de caries non traitées). Sont considérés à risque élevé de non recours aux soins, les individus avec un score supérieur à 4. L'outil est en cours de test, en particulier dans d'autres travaux menés par l'Observatoire des non recours aux droits et services (ODENORE).

La gestion médicale de l'efficacité en situation d'abandon thérapeutique : Etude comparée franco-qubécoise de la mesure de la qualité de vie au sein de la relation malade-personnel soignant dans un cadre hospitalier de soins palliatifs

Qualité de vie des patients et prévention des risques psychosociaux : enquêtes sur les pratiques de soins palliatifs en France et au Québec

Claire EDEY GAMASSOU (responsable du projet, maître de conférences en gestion à l'Université Paris Est/12 rattachée au laboratoire IRG, associée au laboratoire CERGORS – Université Paris 1 Panthéon Sorbonne). claire.edey-gamassou@orange.fr

Les soins palliatifs sont des « soins actifs, délivrés par une équipe multidisciplinaire, dans une approche globale de la personne atteinte d'une maladie grave, évolutive ou terminale (...) ayant pour but de préserver la meilleure qualité de vie possible jusqu'à la mort et doivent notamment permettre de soulager la douleur, apaiser la souffrance psychique, sauvegarder la dignité de la personne malade et soutenir son entourage»(programme de développement des soins palliatifs 2008-2012).

Notre étude visait à comprendre la place prise par la notion de qualité de vie (Quality Of Life, QOL) et par les procédures développées autour d'elle dans les pratiques des soignants ainsi qu'à approfondir la connaissance des risques psychosociaux chez les soignants. L'émergence du QOL a fait l'objet d'une revue de littérature par Virginie Tournay, chercheuse CNRS au PACTE Politique de Grenoble qui met en évidence la place croissante des échelles de QOL dans les publications en Palliative Care.

Méthodes

A travers des entretiens approfondis et des observations, nous avons appréhendé les pratiques des soignants et à l'appui d'un questionnaire, nous avons étudié les facteurs déterminants de l'apparition du syndrome de burnout (épuisement professionnel).

Vingt-trois entretiens ont été menés (12 auprès de chefs d'USP en structures essentiellement hospitalières ou maison de santé en France, 11 entretiens avec divers professionnels des Soins Palliatifs intervenant dans des structures variées au Québec) et quatre observations ont été réalisées (3 sur des sites en centres hospitaliers en France, 1 en Unité d'hospitalisation à Montréal), par Alexandra Auclair, doctorante à l'Université Lumière Lyon 2.

194 questionnaires ont été collectés auprès de soignants de 18 structures différentes de métropole, dont 14 structures hospitalières (3 CHU, 3 CH, 8 hôpitaux) et de soignants québécois (23) par Claire Edey Gamassou, maître de conférences à l'Université Paris Est.

Résultats

Nos résultats soutiennent l'idée de la nécessité de la diffusion de la culture palliative et de bonnes pratiques, et de la prévention des risques psychosociaux, et ce dans les intérêts convergents des patients et des soignants.

Les outils existants visant à standardiser les pratiques prennent une place différente au sein des équipes de soignants en raison du souci constant d'une capacité à s'adapter à la situation des patients, la dimension contingente dans la gestion de soins apportés aux patients en fin de vie étant essentielle et nécessitant la mise en œuvre de procédures qui dépendent des acteurs en présence. La qualité de vie du patient comme le bien être du soignant peuvent être améliorés par l'ensemble des efforts allant dans le sens des échanges, de la communication, de la formation de l'ensemble des acteurs sur les différentes pratiques de soins palliatifs,

ainsi que de la valorisation de leur activité. Néanmoins, une réelle politique de prévention des risques psychosociaux ne peut pas s'exonérer d'une attention particulière portée à la question des effectifs. La tendance au surengagement dans leur activité de certains soignants devraient aussi faire l'objet de la vigilance de la hiérarchie.

En termes de perspectives de recherche, il serait intéressant d'investiguer les relations entre professionnels salariés et bénévoles, soignants et proches de patients, ainsi qu'entre les acteurs identifiés des soins palliatifs et leurs collègues soignants non spécifiquement impliqués dans des soins de ce type.

La capacité d'une société à apporter à ces citoyens les soins dont ils ont besoin étant un indicateur de développement important, la portée potentielle des avancées scientifiques dans ces domaines semblent notoires.

La santé des soignants : conditions de travail et rapport aux risques professionnels des professionnels du soin

Charles Gadea, sociologue, Laboratoire Printemps, UMR CNRS 8085, Université de Versailles St Quentin-en-Yvelines, 47 Bd Vauban 78047 Guyancourt, Charles.Gadea@uvsq.fr

Jean-François Caillard, Responsable du service de médecine du travail et pathologie professionnelle, CHU de Rouen, Pavillon de l'Aubette, CHU Ch. Nicolle, 76031 Rouen, Jean-François.Caillard@chu-rouen.fr

Recherche réalisée avec Sid Abdelaoui (Université de Rouen), Sophie Divay (Matisse, Centre d'économie de la Sorbonne), Arnaud Elie (Centre Maurice Halbwachs), Maria Helena Gomes Pereira (Cnam), Marcel Laurel (Université de Rouen), Dominique Lhuillier (Cnam), Allison Mambourg (Université de Rouen), Maud Paltrier (Université de Rouen)

Cette opération de recherche pluridisciplinaire réunissait de spécialistes de la sociologie des groupes professionnels, de la psychologie clinique du travail, de la psychologie sociale et de la médecine du travail. Elle avait pour objectif d'observer la manière dont les travailleurs s'approprient les connaissances produites par les enquêtes sur les conditions de travail, et tentent le cas échéant de mettre en place des actions participatives d'amélioration des conditions de travail sur la base de ces connaissances. Il existe en effet une masse d'informations qui permettent de dresser un diagnostic précis des sources de risques professionnels et d'insatisfaction au travail, en situant clairement les populations concernées et leur degré d'exposition, mais elles ne permettent pas de comprendre ce que les professionnels savent de ces risques, ni de quelle manière ils réagissent à l'information au sujet de ces risques.

Partant du constat régulièrement vérifié (notamment dans l'enquête européenne PRESS-NEXT) que la qualité des relations au sein des équipes de travail et entre les professionnels et leurs encadrants joue un rôle crucial dans la perception des sources d'insatisfaction, et même dans la protection contre le risque, par exemple via le soutien psychologique, l'entraide pour les tâches physiques ou le partage des tâches entre collègues, nous avons orienté notre réflexion vers les normes et principes de fonctionnement, explicites ou implicites, qui ont cours dans les collectifs de travail. Nous inspirant de la théorie de la régulation sociale élaborée par Jean-Daniel Reynaud, nous avons voulu nous intéresser « à la régulation plutôt qu'aux règles » et nous avons fait varier les niveaux d'analyse sur lesquels portait l'observation, depuis les micro-régulations au sein de collectifs restreints, voire à l'échelle d'un seul individu, jusqu'aux méso-régulations au niveau régional, par exemple au sein de l'Agence régionale de l'hospitalisation (ARH). Pour circonscrire le champ d'observation, nous avons retenu trois types particuliers de risques : les risques musculo-squelettiques (notamment liés au transport de charges lourdes), la pression temporelle, la difficulté de travailler selon les règles du métier et de donner un sens positif à son activité.

Méthodes

Le protocole d'observation était centré autour de l'organisation de séances de restitution de résultats de l'enquête PRESS-NEXT par un des membres de l'équipe qui avait participé à cette recherche, restitution répétée à plusieurs reprises de façon à toucher le maximum de soignants dans trois sites différents : un service de maternité en CHU, un hôpital local, une clinique privée. Il incluait également le suivi d'un groupe de travail de l'ARH réunissant des cadres de santé impliqués dans des innovations relatives à la gestion des ressources humaines et l'amélioration des relations de travail, et le suivi d'un groupe d'analyse de la pratique professionnelle auprès de psychologues du CHU. Il a été fait appel à un répertoire varié de méthodes : observation participante prolongée dans une équipe de soignants en hôpital local, observation non participante en CHU et clinique privée, entretiens semi-directifs, questionnaires, participation aux réunions du groupe de l'ARH, intervention dans le groupe d'analyse de la pratique des psychologues...

Résultats

Le premier constat qui se dégage est que les professionnels du soin ne sont guère en mesure dans la situation actuelle de mettre en œuvre des actions participatives pour améliorer leurs conditions de travail. Soumis à une forte intensification du travail et à une réduction des moyens, notamment en personnel, liée à la mise en place de diverses réformes visant à propager la rationalisation managériale dans les établissements de santé, ils sont conduits à parer au plus pressé et à développer des stratégies d'adaptation à leur situation. Dans nombre de cas, ils ont parfaitement conscience des conséquences néfastes pour la santé de certaines de leurs postures ou activités, mais se sentent contraints par l'obligation de travailler dans l'urgence, par leur position précaire ou des contraintes familiales. Ces circonstances mettent à mal les dispositifs ordinaires de régulation et font naître de fortes tensions, notamment au sujet des cycles de travail et de la gestion des absences, qui rendent souvent problématiques les relations entre les cadres de santé les équipes de soignants, et qui rejaillissent également sur la vie hors travail. L'épuisement émotionnel et le stress, fortement répandus, ne sont pas toujours contrebalancés par les satisfactions ressenties au travail. Face à ce tableau assez pessimiste qui fait ressortir de manière générale une difficulté des professionnels à mettre en place des formes de régulation autonome permettant de mieux faire face aux contraintes de la rationalisation managériale, il s'avère cependant que des marges d'action non négligeables existent, mais au niveau régional et non à celui des établissements : issu lui aussi d'une présentation de résultats de l'enquête PRESS-NEXT, le groupe de travail a donné lieu à la mise en place et la valorisation de diverses initiatives visant à améliorer les conditions de travail.

Sécurité et risques au travail : connaissance des déterminants et gouvernance

Les déterminants organisationnels et managériaux de la santé au travail peuvent être appréhendés à travers l'impact des différents facteurs individuels et d'organisation sur la charge cognitive des agents ; les systèmes de régulation interne aux entreprises à travers le management de proximité, les espaces de discussion et la construction des compromis sur la réalisation de l'activité ; mais également en terme d'action collective impliquant des institutions, des entreprises, des connaissances ou encore à travers l'évaluation du coût économique du stress.

- Étude de l'impact des différentes conditions de travail sur la santé physique et mentale des salariées (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 dans le secteur du contrôle aérien ou satellite grâce à une approche originale mobilisant différentes disciplines (neurosciences, psychologie sociale, psychologie cognitive, ergonomie). (C. Mélan)
- Évaluation du coût des pathologies imputables au stress professionnel (maladies cardio-vasculaires, troubles de santé mentale - dépression, syndrome anxieux -, trouble musculo-squelettiques) grâce à une approche conjointe économie et épidémiologie et à des comparaisons européennes. (H. Sultan-Taieb)
- Exploration des déterminants organisationnels et managériaux sur la santé au travail (maux de dos, troubles musculo-squelettiques, tendinites...) grâce à 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, à partir d'une approche comparative sur 16 organisations appartenant à trois secteurs traversant des mutations profondes de leur système productif (industrie, services, santé). (M. Detchessahar)
- Analyse de la santé et de la sécurité au travail comme une action collective s'appuyant sur des institutions ou des dispositifs de prévention, des niveaux d'actions (local, national ou européen), l'élaboration de connaissances à travers une analyse de terrain en Provence Alpes Cote d'Azur, mettant en évidence les transformations de l'action publique, les modalités de prise en compte de la santé au travail dans les PME et les TPE et dans les formations professionnelles. (E. Verdier)

Étude pluridisciplinaire des facteurs participant à la charge de travail en situation de travail posté : analyse selon le moment du poste et selon le poste

Claudine Mélan, Nadine Cascino

Laboratoire CLLE-LTC, Université Toulouse 2, cmelan@univ-tlse2.fr; cascino@univ-tlse2.fr

L'objectif de ce projet de recherche pluridisciplinaire à visée préventive est de déterminer l'impact de certaines conditions environnementales sur la santé physique et mentale de salariés. Des contraintes environnementales de nature différente ont été étudiées :

- organisation du travail : le travail en horaires alternants et de nuit se heurte à la rythmicité chronobiologique des opérateurs. Celle-ci est déterminée par l'interaction de deux systèmes endogènes (systèmes circadien et homéostatique), relativement rigides, responsable d'une chute de vigilance et de l'efficacité cognitive entre 2 et 6 h du matin ;
- caractéristiques de l'environnement de travail : la perception d'un environnement de travail comme stressant dépend, selon les modèles, des demandes de la tâche, de la latitude décisionnelle, du soutien social professionnel et personnel, des récompenses reçues, ou encore du surinvestissement dans le travail
- interférences réciproques entre la vie au travail et la vie hors travail (vie de famille, associative...) : les conflits générés par de telles interférences suscitent des stress dans ces espaces de vie.

Méthodes

Nous avons posé l'hypothèse qu'une interaction complexe entre ces différents types de contraintes détermine la charge cognitive du salarié, et que celle-ci déterminerait son état de santé. L'examen de cette hypothèse a nécessité l'élaboration, au cours d'études préliminaires en laboratoire et en situation de travail, d'une méthodologie originale qui mobilise plusieurs champs disciplinaires (neurosciences, psychologie sociale, psychologie cognitive, ergonomie) et qui permet :

- l'évaluation globale de la situation de travail et de la santé (150 salariés) à partir d'un questionnaire de 30 pages, constitué notamment d'outils validés dans la littérature (Job Content Questionnaire, Stanford Shiftwork Index, Minnesota Satisfaction Questionnaire...),
- l'évaluation, en temps réel, au cours du poste (en début, milieu et fin de poste) d'indicateurs variées : activité de travail, mesures psychophysiologiques, mesure de la charge cognitive, mesures subjectives, perception des caractéristiques de travail du moment.

Résultats

Plusieurs résultats innovants peuvent être mis en avant.

1) L'évaluation expérimentale de la charge cognitive a révélé que la difficulté et la pression temporelle subie lors de la réalisation d'une tâche de mémoire de travail exercent une interaction additive affectant les différents indicateurs de charge (article soumis à Human Performance; communication Congrès EPIQUE, 2007).

2) En situation de travail posté, la rythmicité circadienne est maintenue seulement pour certains paramètres physiologiques et psychologiques (température du corps, vigilance subjective), tandis que d'autres paramètres (fréquence cardiaque, tension perçue) sont significativement supérieurs la première heure

après la prise de poste, probablement en raison d'une charge cognitive accrue durant cette phase du poste (article Chronobiology International 2008 ; posters Congrès Soc Neurosci, 2007 et Colloque Soc. Francophone Chronobiol, 2007).

3) Les caractéristiques des environnements de travail (demandes et contrôle) sont perçues différemment selon le statut professionnel (aide soignante, infirmière, cadre hospitalier) et ce, en interaction avec le moment du poste (communication congrès Soc Franç Psychol, 2008).

4) La perception de l'environnement de travail comme stressant dépend de l'activité de travail (contrôleurs satellites vs. contrôleurs aériens) et semblent avoir un effet sur la santé des salariés (communication congrès Eu Assoc Aviat Psychol, 2008).

Des résultats complémentaires, en cours d'analyse, vont permettre d'une part, d'affiner ces résultats et, d'autre part, d'examiner de nouvelles relations entre les différentes dimensions étudiées.

Evaluation du coût du stress professionnel en France et perspectives pour une comparaison entre pays européens

Hélène Sultan-Taïeb, économiste, enseignante-chercheure, Université de Bourgogne,

Laboratoire d'Economie Gestion (UMR CNRS 5118), helene.sultan@u-bourgogne.fr

Isabelle Niedhammer, épidémiologiste, chargée de recherche, INSERM U687 et UCD School of Public Health & Population Science, University College Dublin, Irlande, isabelle.niedhammer@inserm.fr

Damien Sauze, économiste, enseignant-chercheur, Université de Bourgogne, Laboratoire d'Economie Gestion (UMR CNRS 5118), damien.sauze@u-bourgogne.fr

Catherine Lejeune, économiste, INSERM, U866, Université de Bourgogne, catherine.lejeune@u-bourgogne.fr

Philippe Tessier, économiste, chercheur, ERSSCa (Equipe de Recherches en Sciences Humaines et Sociales appliquées à la Cancérologie) et Institut d'Économie et de Management de NANTES – IAE, Université de Nantes, philippe.tessier@univ-nantes.fr

Les facteurs de risque psychosociaux au travail ont des prévalences élevées et en augmentation depuis les années 90. Etant donné l'ampleur du phénomène de stress au travail et ses effets sur la santé, l'estimation des coûts inhérents à ce stress fournit des éléments utiles pour orienter les politiques de prévention en santé au travail, visant à limiter l'exposition à ce facteur de risque professionnel.

Objectifs

Evaluer le coût des pathologies imputables au stress professionnel. Le choix du modèle de Karasek comme modèle de stress professionnel (job strain) se justifie par le fait que ce modèle est le plus répandu dans la littérature. En outre, on dispose pour ce modèle de données étiologiques et de données d'exposition basées sur le Job Content Questionnaire (JCQ). Les pathologies incluses dans l'évaluation sont les maladies cardio-vasculaires (MCV), les troubles de santé mentale (dépression, syndrome anxieux), et les troubles musculo-squelettiques (TMS).

Méthodologie

Cette recherche est basée sur une étroite collaboration entre économie et épidémiologie.

Etape 1. Estimation des fractions de pathologies attribuables à l'exposition au job strain (méthode des fractions attribuables). Cette estimation a été réalisée sur la base d'une revue systématique de la littérature internationale en épidémiologie entre 1990-2008 pour l'estimation des risques relatifs. Les données de prévalence d'exposition sont issues des résultats de l'enquête nationale SUMER 2003.

Etape 2. Estimation de la prévalence d'exposition au stress au travail en France par rapport aux autres pays européens, mobilisant les données de la 4ème vague de l'enquête européenne sur les conditions de travail menée en 2005 (Eurofound). Cette estimation a été réalisée en construisant un proxy du job strain, qui a fait l'objet d'une validation psychométrique.

Etape 3. Analyse de deux méthodes alternatives d'estimation des coûts indirects d'une pathologie (méthode du capital humain, méthode des coûts de friction) dans l'objectif de formuler des recommandations méthodologiques sur la mesure des pertes de production (coût des absences au travail) liées à un facteur de risque selon les types d'études (coût-efficacité, coût-utilité, coût-bénéfice et coût de la maladie).

Etape 4. Revue de la littérature économique du coût des trois pathologies incluses dans le projet (MCV,

troubles de santé mentale, TMS). Le coût des pathologies comprend le coût de la prise en charge médicale des pathologies (consommations de soins), le coût des absences au travail, et le coût des années de vie perdues liées aux décès (coûts indirects). L'application des fractions attribuables, calculées en étape 1, au coût des pathologies produit le coût des pathologies imputables à l'exposition au job strain.

Principaux résultats

(pour les articles en cours de soumission, les résultats chiffrés ne seront pas présentés) :

1. Les fractions de pathologies attribuables au job strain sont élevées, en particulier pour les troubles de santé mentale où la part attribuable atteint 30%. Les estimations ont été calculées pour les hommes et les femmes séparément (article soumis).

2. La France a un taux d'exposition au job strain dont le niveau est intermédiaire au sein des pays européens, les pays caractérisés par un taux d'exposition significativement plus faible que l'ensemble des pays européens étant la Suède, le Danemark, les Pays-Bas, la Lettonie, et l'Irlande. Les pays ayant un taux significativement plus élevé sont la République Tchèque, la Grèce, l'Italie, la Slovénie et Chypre. Une analyse économétrique permettra de formuler des hypothèses sur les variables explicatives des différences de taux d'exposition entre les pays (résultats préliminaires publiés dans une contribution à ouvrage collectif, article en cours de finalisation).

3. L'analyse méthodologique de l'évaluation des coûts indirects nous permet de justifier l'utilisation de la méthode du capital humain (calcul basé sur le salaire net) dans le cas d'une étude coût de la maladie (article publié dans la Revue Economique 2009 n°2, article en anglais en cours de finalisation).

4. Estimation du coût du stress professionnel. La revue de la littérature sur le coût des pathologies incluses dans le projet souligne une hétérogénéité des estimations et peu de données récentes disponibles pour la France. L'actualisation des données a été effectuée sur la base d'hypothèses sur l'évolution de l'incidence et du coût de la prise en charge médicale. L'application des fractions attribuables à ces données de coûts et de nombre de cas met en lumière le poids économique que représente l'exposition au job strain en France, en distinguant le point de vue de l'Assurance Maladie du point de vue de la collectivité.

Conclusion

- Ces résultats sont originaux dans la mesure où aucune estimation basée sur des données aussi fines et sur une définition stricte du facteur de risque (job strain) n'a été réalisée en France ni dans un autre pays à notre connaissance.
- Ce travail souligne la richesse d'un regard croisé entre économie et épidémiologie pour la compréhension et l'analyse des problématiques en santé au travail.
- Les retombées de ce projet sont nombreuses, à la fois pour l'orientation des politiques publiques (groupe de travail sur « Santé mentale et bien-être » du Centre d'Analyse Stratégique, participation à une revue de littérature sur les estimations de risque relatif lié au job strain pour le Collège des Experts sur les Risques Psychosociaux au Travail), pour la synthèse des connaissances scientifiques sur le stress au travail (groupe d'expertise INSERM sur « Le stress des travailleurs indépendants » commanditée par le RSI), et pour le développement de collaborations internationales (partenaire d'un contrat européen du 7ème PCRD sur les indicateurs de la santé au travail, collaboration avec l'équipe du CAPRIT à Montréal).

Les déterminants organisationnels et managériaux de la santé au travail : l'enjeu de la parole sur le travail

Laetitia Pihel, Maître de conférences en Gestion, Institut d'Économie et de Management, Université de Nantes,

Mathieu Detchessahar, professeur à l'Institut d'Économie et de Management, Université de Nantes (coordinateur) Mathieu.Detchessahar@univ-nantes.fr

Guy Minguet, professeur de Sociologie, École des Mines de Nantes

Nombre de pays post-industrialisés rencontrent, depuis le début des années 90 une épidémie énigmatique : expansion rapide des maux de dos, des TMS, des tendinites, etc. La tertiarisation de l'économie, la robotisation et l'informatisation accrue, devait libérer en partie l'homme de la pénibilité du travail. Or, la progression rapide des formes subjectives de plaintes et de stress procède désormais d'une reconnaissance médicale, d'une couverture sociale, d'une désignation de fait. Il importe de saisir la question de la santé dans sa dynamique organisationnelle et dans sa dynamique subjective.

Les recherches concernant les articulations entre configurations structurelles, modes de management et effets sur la santé et les conditions de travail s'ordonnent autour de trois perspectives théoriques majeures :

- Une approche par les configurations organisationnelles : rapprochement entre la mise en place de nouvelles formes d'organisation et l'évolution de la santé au travail, à travers notamment la place laissée au degré d'autonomie des salariés ;
- Une approche centrée sur la question de l'intensification du travail, à partir d'une reconstitution des transformations récentes de l'économie et des modèles productifs ;
- Une approche plus « micro » qui s'intéresse aux modes d'animation du travail et aborde l'activité à travers les arbitrages entre les acteurs, les coordinations, la production d'accords locaux et révisables. Lever les contradictions perçues par les salariés, suppose l'existence d'espaces au sein desquels ces contradictions s'expriment, se discutent et se dépassent.

Le projet « Santé, organisation et gestion des ressources humaines » propose d'étudier les dynamiques communicationnelles qui se donnent le travail comme objet et ses modes de réalisation comme horizon ; ceci à travers notamment l'émergence et le fonctionnement des espaces de discussion au sein des organisations. Il s'agit ainsi d'étudier des figures concrètes de la régulation conjointe et d'interroger ses conditions de possibilités.

Méthodologie et terrains

Afin de saisir les interactions entre les nouveaux dispositifs d'organisation et les dispositifs managériaux d'accompagnement de ces derniers, une méthodologie en trois étapes a été définie :

- 1) Caractérisation de l'état de santé des personnels des entreprises étudiées ;
- 2) mise à jour des tensions issues du déploiement de nouveaux dispositifs d'organisation, caractérisation de leur « réception – appropriation » par les personnels et leurs effets sur le travail quotidien ;
- 3) étude des dispositifs prenant en charge ces tensions et notamment des « lieux » qui peuvent permettre de les expliciter et de les résoudre.

L'échantillon se compose de 16 organisations différentes appartenant à trois secteurs d'activité qui traversent des mutations profondes de leur modèle productif (industrie – équipementier automobile, blanchisserie, alimentaire, thermique/énergie... - ; services – télémarketing, la poste, services à domicile ; santé). La recherche s'inspire de l'esprit des recherches intervention.

Principaux résultats : quand le management n'est pas le problème mais la solution ...

Les études réalisées montrent que la construction de la santé au travail dépend de la qualité des dynamiques communicationnelles autour du travail (vu sous l'angle de ses conditions réelles de réalisation) qui sont susceptibles d'alimenter un cercle vertueux de mise en visibilité du travail, d'explicitation des contraintes et de fabrique de compromis d'action collective.

Traditionnellement, la communication sert à diffuser auprès des salariés les nouveaux objectifs et contenus de travail qui demeurent très largement conçus en dehors d'eux. Elle est envisagée dans une perspective exclusivement monologique et instrumentale, censée assurer la promotion du changement et susciter l'adhésion. Elle vise alors à choisir les canaux les plus appropriés et à construire des messages différenciés en fonction des cibles.

Les études conduites montrent que la mise en discussion des contradictions appelle une toute autre conception de la place de la communication dans les organisations, et particulièrement dans les phases de changement. Ouvrir aux acteurs des possibilités d'énonciation des contradictions et de construction de compromis revient à placer les processus communicationnels au cœur du changement, et à reconnaître le travail d'organisation qui s'effectue au niveau local. Dans cette perspective dialogique, la communication revêt une fonction plus politique de construction collective des solutions et règles productives. C'est ce type de communication que nous appelons discussion.

Dans sa dimension représentationnelle ou expressive, la discussion permet à l'individu de rendre public, sa représentation du travail et de l'activité. Ces représentations discursives (symboles, mots...) sont les produits des représentations cognitives des individus qu'elles aident dans le même temps à préciser, à structurer... Dans sa dimension relationnelle ou sociale, la discussion permet l'argumentation critique des opinions, suscite la justification des opinions rendues publiques et favorise l'établissement de compromis de sens et de perspectives communes sur le travail.

Les études mettent en évidence que les travailleurs ont quelque chose à dire au management sur la meilleure manière d'exercer leur activité et que la régulation autonome peut être source de solutions pertinentes, sans estimer que cela rentrera forcément en contradiction avec les objectifs de rentabilité de l'organisation. Dans la mise en discussion du travail les managers de proximité jouent un rôle clef d'animation de la discussion et de remontée de ses produits.

C'est au sein des organisations dans lesquelles la direction est défaillante ou le travail de régulation du management de proximité est empêché que la santé est la plus dégradée. Paradoxalement, les salariés souffrent beaucoup plus de l'absence de management que de sa trop grande présence.

Accompagner la modernisation gestionnaire suppose certainement de ré-instaurer des espaces de confrontation et des médiations entre les acteurs. Il s'agit ici d'une institutionnalisation des espaces de la discussion qui, d'une entreprise à une autre, peut prendre différentes formes et s'incarner dans différents dispositifs.

Toutefois, l'ouverture de tels espaces est éminemment problématique et suppose.

- de faire l'ingénierie des espaces de discussion tant il est vrai que la discussion loin appelle au contraire des outils de gestion d'un type nouveau, moins orientés vers la conformation des comportements que vers le soutien du travail discursif d'exploration du nouveau.
- de connecter ces différents espaces de manière à ce que les produits des discussions trouvent des déclinaisons concrètes dans les modes d'organisation.

Comme le montrent les monographies réalisées, l'ouverture d'espaces de discussion ne suppose pas l'effacement de la régulation de contrôle, ce qui serait certainement porteur de nombreux effets pervers (sentiment d'abandon, ajustements permanents, problèmes irrésolus...), mais une régulation de contrôle pensée sur de nouvelles bases. Cette régulation de contrôle n'aurait plus comme objectif d'imposer des comportements conçus en amont de l'action et de réduire les marges de manœuvre, mais de soutenir la communication des acteurs et de se saisir de ses produits. Il est dès lors possible de faire apparaître quelques points clefs ayant trait au design des espaces de discussion : focalisation sur le travail et sur l'acti-

tivité concrète ; fréquence ; implication des cadres pouvant aider le groupe à progresser vers des solutions communes et porter ces solutions vers l'encadrement supérieur de l'organisation ; appui sur des outils de gestion utilisés dans une logique de pilotage, de mémorisation et de diffusion des produits ; inscription dans le long terme et dans la confiance.

Finalement, concevoir et animer ces espaces de discussion, qu'est-ce d'autre que faire du management, c'est-à-dire piloter et animer une action collective finalisée ? Or, parmi nos études de cas, celles qui montrent les tableaux de santé les plus dégradées se signalent précisément par une désertion du terrain du management et des équipes laissées seules face aux contraintes, tensions et contradictions dont on sait qu'elles tissent l'activité de travail. Dans ces situations, c'est à un retour du manager et du management qu'appellent les salariés. Paradoxalement, par l'expression de leur plainte, ces salariés confirment les dirigeants dans un rôle d'autorité légitime de gestion et de traduction des contraintes permettant des constructions identitaires.

La gouvernance régionale des risques professionnels en question : entreprises, pouvoirs publics et partenaires sociaux

Responsable scientifique : Eric Verdier

Equipe : Cathel Kornig, Philippe Mossé, Michel Setbon,

Laboratoire d'Economie et de Sociologie du Travail UMR 6123 (Aix en Provence)

eric.verdier@univmed.fr

A partir du cas des « Réseaux de Veille et de Prévention » des risques professionnels (RVP) mis en place en Provence-Alpes-Côte d'Azur au début des années 2000 dans le cadre du Contrat de Plan Etat-Région 2000-2006, cette recherche s'est efforcé de comprendre comment s'organisait et innovait l'action publique en matière de prévention des risques professionnels.

1. La difficile marche vers une gouvernance territoriale des risques du travail

Reprenant les RVP et adopté dès 2005, le Plan régional Santé Travail (PRST) est censé concrétiser un paradigme « épidémiologique » qui, dans une logique de santé publique, vise à décloisonner les différentes composantes de l'action sanitaire. Soucieuse de préserver son autonomie d'action ainsi que le bien fondé d'une régulation tripartite impliquant les partenaires sociaux, la direction régionale du travail (DRTEFP) s'appuie sur la promotion d'un paradigme, alternatif et complémentaire, qualifié d'ergonomique : les atteintes à la santé doivent être mises en relation avec les conditions organisationnelles de l'activité des personnes. Avec ce 2ème paradigme, cette administration de l'Etat redonne du sens à une initiative de la Région, à savoir les accords cadres tripartites de branche couvrant la formation, l'emploi et les conditions de travail. La conclusion et la mise en œuvre de nouveaux accords cadres dans la métallurgie et la chimie-plasturgie, tout comme le renouvellement d'accords antérieurs dans des secteurs clés, tels que le BTP et l'hôtellerie-restauration, constituent des tests probants d'une part, de la capacité de coopération entre acteurs publics et d'autre part, de l'aptitude de ces derniers à mettre sur pied des dispositifs qui puissent intégrer la gouvernance des divers risques du travail (versant emploi : exposition au chômage, obsolescence des qualifications ; versant santé au travail : exposition aux accidents et maladies professionnelles) pour produire plus d'efficacité dans les gestions publiques et privées de ces risques.

2. Action collective et appropriation des démarches préventives par de (très) petites entreprises

La finalité de l'action collective étudiée, laquelle relevait initialement des RVP, était double : d'une part, mettre à disposition des entreprises un guide pour l'élaboration du document unique relatif à l'évaluation des risques et, d'autre part, enclencher une action de formation permettant aux entreprises de s'approprier la démarche pour faire de la prévention un investissement durable. Au total, à l'échelle des deux professions –Hôtellerie-restauration, réparation automobile- dans les Alpes Maritimes, l'impact de la démarche reste limité ; d'ailleurs, les entreprises – non touchées par l'action collective - ne semblent pas plus éloignées de la prévention des risques. L'appropriation durable de la méthode d'évaluation des risques par les artisans et leurs employés requiert un service d'accompagnement et de suivi plus conséquent. Cette appropriation est très dépendante des types d'entreprises concernées. On identifie – en prenant l'exemple de la réparation automobile - trois configurations qui dessinent des relations à la main d'œuvre spécifiques et aux normes légales en matière de prévention : la TPE « indépendante » et traditionnelle ; la TPE « managériale » avec un mode de gestion plus industriel, la TPE « entrepreneuriale » qui s'appuie sur une haute maîtrise technique et des prestations annexes de qualité. Plus l'entreprise s'apparente au modèle de l'entreprise indépendante traditionnelle, plus elle met à distance la prévention. Il en ressort qu'une démarche d'intermédiation doit échapper au « confort » d'une approche standardisée des entreprises si elle veut s'adapter à la pluralité des logiques de fonctionnement des TPE visées.

3. La formation à la prévention des risques, une composante de la qualification professionnelle ?

Depuis 15 ans, l'investissement politique et cognitif sur l'enseignement à la prévention des risques professionnels en formation initiale a été important. L'objectif est de faire de cet enseignement une dimension reconnue comme telle de la formation professionnelle des jeunes. Au vu des quelques CFA et lycées professionnels visités, nombre de facteurs convergent pour rendre assez abstraite la formation à la prévention des risques. Entreprises et établissements de formation ne coopèrent pas assez pour faire de la prévention une composante reconnue de la qualification professionnelle.

Rôle de l'environnement dans la dynamique des pathogènes

L'augmentation des activités anthropiques et les perturbations écologiques qu'elles entraînent affectent l'émergence ou la ré-émergence de micro-organismes pathogènes, ainsi que la diffusion et l'apparition de maladies infectieuses.

Il est nécessaire de renforcer les connaissances de l'impact des modifications de l'environnement (abiotique et biotique) sur l'émergence ou la dynamique des agents infectieux, quel que soit le milieu : hospitalier, urbain, péri-urbain, industriel ou agricole...

De nombreuses questions peuvent être examinées : l'origine des agents pathogènes ; leur niche écologique (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, bio-géographique des modifications environnementales ou bioclimatiques.

Ces différentes questions appellent des collaborations interdisciplinaires qui permettent des analyses intégratives : de la biodiversité des agents infectieux, des réservoirs et des vecteurs dans les écosystèmes, de la circulation des agents infectieux et des processus de franchissement de la barrière d'espèces (leurs diversités géniques et leurs différentiels d'expressions phénotypiques) aux échelles spatiales et temporelles ; des processus d'adaptation des organismes aux biocides, vaccins, aux mécanismes de défense de l'hôte (évolution des virulences et des résistances, gestion durable des résistances, réduction des impacts sur l'environnement et sur la santé humaine, nouveaux biocides) ; des caractéristiques des écosystèmes et des pratiques de gestion ; des caractéristiques démographiques, sociales et sanitaires des populations ; des modes d'organisations des sociétés, y compris systèmes de soins, politiques publiques ; des modes de vie et de gestion de l'espace.

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, de la résistance et des stratégies de lutte.

De nombreuses maladies sévissant en zone tropicale ont un impact considérable en terme de santé publique pour les populations concernées. Elles constituent aussi des bons modèles pour le développement d'approches intégrées et de modélisation ; certaines d'entre elles peuvent concerner de fait ou potentiellement, les pays du Nord. 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 ou des méthodes prophylactiques, ainsi que des différents moyens de lutte (antivectorielle, méthodes de prophylaxies sanitaires et vaccinales) compatibles avec l'environnement et la santé humaine.

Émergence et réémergence des maladies infectieuses dans des environnements en mutation

Analyse des mécanismes d'émergence et de diffusion des maladies infectieuses, à travers le rôle des changements de l'environnement, 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.

- Mise en évidence des mécanismes d'émergence dans les situations qui ne sont pas caractérisées par l'arrivée d'un nouvel agent infectieux, mais par une nouvelle expression d'un agent déjà présent chez l'hôte, à partir de recueil de données et de modélisation mathématique : la modification de l'intensité de circulation des pathogènes peut changer le risque d'exposition, mais aussi les symptômes de la maladie chez les individus infectés. (D. Pontier)
- Analyse des interrelations entre environnement (taux de forestation, urbanisation, pluviométrie, assèchement des mares...) et émergence des épidémies en Guyane française sur 3 maladies (dengue, paludisme, ulcère de Buruli) : une approche intégrée (analyse spatiale, télédétection, biologie, épidémiologie, géographie, génétique des populations, modélisation) permet de contribuer à déterminer comment démarre une épidémie, ses déterminants environnementaux, la naissance du foyer épidémique, comment les activités humaines modifient le fonctionnement des foyers, l'interaction entre les paramètres environnementaux et les déterminants génétiques responsables de l'émergence (pathogènes, réservoirs hôte et/ou vecteur). (JM. Fotsing).
- Étude comparée (Asie/Europe) de l'émergence des maladies roboviroses à hantavirus en termes de dynamique d'évolution, de biodiversité et de distribution des agents pathogènes, grâce à des approches en terme d'écologie évolutive pour caractériser les assemblages hôte/pathogène, l'environnement et l'histoire évolutive des espèces (génétique des populations, épidémiologie moléculaire, phylogénétique des communautés). (JP. Hugot)
- Cartographie de la répartition des tiques ornithodores en Afrique de l'ouest et au Maroc, pour rechercher la présence de *Borrelia* chez les tiques et les mammifères sauvages et permettre un typage génétique des populations afin de contribuer à la compréhension des dynamiques d'extension de la borreliose (fièvre transmise par les tiques). (JF. Trape)
- Élaboration d'un modèle spatialisé d'émergence et de diffusion de la dengue à partir de l'étude comparée de deux situations épidémiologiques (Cameroun et Bolivie) grâce : à l'identification des espaces à risques par la mise en relation des systèmes éco-géographiques et de la variabilité de l'expression de la dengue débouchant sur des indicateurs opérationnels de risque (Cameroun) ; à l'élaboration d'une typologie de l'espace urbain – flux de personnes, marchandises, caractérisation des écosystèmes... - (Bolivie) et des données médicales. (C. Paupy)

Bioscope Corse - Méditerranée : 5 ans d'exploration du vivant à l'interface homme-animal

Antoine Flahault, professeur, épidémiologiste, directeur EHESP, Rennes ; Jean-pierre Amoros, Responsable réseau Sentinelles-Corse, Université de Corse ; Thierry Blanchon, Responsable réseau Sentinelles-France, Inserm ; Laurent Varesi, professeur, Responsable du laboratoire de virologie, université de Corte ; Laurent Andreoletti, Professeur de virologie à l'Université de Reims ; Xavier de Lamballerie, médecin, PU-PH en bactériologie, faculté de médecine de l'Université de la Méditerranée ; Ducrot C, unité d'épidémiologie animale, Inra, Thiais ; Gilles Aumont, Inra, Tours
antoine.flahault@ehesp.fr

Le projet « Bioscope – Corse – Méditerranée » a reposé sur la mise en place d'un système de recueil épidémiologique, le réseau sentinelle Bioscope, suivant des cas incidents et prévalents de pathologies humaines et animales choisies (notamment la grippe), et pathologies spécifiques au milieu méditerranéen et sur d'autres zones de la Méditerranée occidentale (Camargue). La coordination des travaux de recherche réalisés au sein de ce projet a été assurée par deux laboratoires : un de l'Inserm et un de l'INRA.

Pour mettre en place cet « observatoire du vivant », le projet Bioscope s'est organisé sur la base de trois « rampes d'observation » et deux « sondes d'exploration ». L'observation se fait à partir d'une infrastructure d'observation de la santé humaine (la rampe EpiDEM) et de la santé animale (la rampe EpiZOO), et une rampe de prélèvements biologiques chez les oiseaux basée en Camargue (la rampe « MiGrAV »). Les « sondes » réalisent des travaux de recherche théoriques et se nourrissent en parallèle des données acquises par les rampes d'observation : « EvolEmerg » s'intéresse à l'évolution des agents pathogènes et aux phénomènes liés à la diversité virale, la sonde « Colvert » à la transmission inter-élevages d'épizooties et aux dynamiques épidémiques multi-souches et la sonde « ComPris », en sciences sociales, à la perception et la communication sur les risques.

La coordination des actions des différentes rampes et sondes a été faite sur la base de réunions périodiques entre tous les partenaires du consortium. Du point de vue opérationnel, en raison du budget finalement assigné, le projet a dû se concentrer principalement sur le suivi de la grippe chez l'homme et chez les animaux. Le rythme d'installation des plateformes d'observation en santé humaine (EpiDem) et en santé animale (EpiZoo) n'a pas été le même, ce qui posa certaines difficultés à l'interaction entre les deux volets. L'acquisition des données est en cours, mais la plateforme en santé animale ayant commencé plus tard son recueil, on ne dispose pas encore des données permettant de comparer les souches virales circulantes chez l'homme et chez l'animal. En revanche, le recueil des données en Camargue chez les oiseaux est très avancé, ce qui a permis d'avoir des données minimisant la vraisemblance des hypothèses de passage de virus des oiseaux sauvages vers l'homme, proposées par quelques chercheurs en pleine montée médiatique du sujet.

Un rôle très important dans la mise en place de toute cette infrastructure d'observation a été joué par la sonde « Compris ». En effet, la médiatisation de la possibilité d'une pandémie grippale d'origine aviaire a joué un rôle non négligeable dans les difficultés rencontrées lors de l'installation des différentes rampes d'observation. La collaboration avec des experts en gestion du risque en communication ayant suivi de près les médias et ayant réalisé des études de perception de la crise de la grippe aviaire, ont permis d'éviter plusieurs problèmes de communication vis-à-vis de la population.

Cette plateforme, par son interdisciplinarité, et par la complémentarité de l'observation chez l'homme et chez l'animal, constitue un outil indispensable, non seulement pour la veille sanitaire, mais aussi pour des activités de recherche ayant pour but une meilleure compréhension des multiples facteurs impliqués dans les dynamiques épidémiques et leurs interactions.

Émergence des maladies infectieuses : quand des pathogènes cachés se révèlent. Un concept unificateur mis à l'épreuve sur des pathologies exemplaires

N. Bahi-Jaber¹, (Chercheur), P. Barbazan² (Chercheur), A. Ben Sallah¹ (Chercheur), S. Bertagnoli³ (Maître de Conférence), K. Dellagi^{1,4}, (chercheur, Directeur du CRVOI), D. Fouchet⁵ (Maître de Conférences), J.-P. Gonzalez² (Directeur de recherche), M. Guiserix⁵ (Doctorante), J.-S. Guilton⁶ (Ingénieur), P. Kittayapong⁷ (Professeur), G. Le Gall-Reculé⁸ (Chercheur), H. Louzir¹ (Chercheur, Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis), S. Marchandeu⁶ (Ingénieur de recherche), D. Pontier⁵ (Professeur, porteur du projet), F. Sauvage⁵ (Maître de Conférence), M. Souris² (Chercheur)

Objectifs

Les perturbations écologiques augmentent parallèlement avec les activités anthropiques, et affectent la diffusion et l'apparition des maladies infectieuses. Cependant, la cascade des événements depuis la perturbation initiale jusqu'à l'apparition de la maladie est encore mal comprise. L'étude des nouvelles maladies infectieuses part généralement du postulat que le pathogène est nouveau pour la population d'hôtes, ou au moins présente de nouveaux traits d'histoire de vie (virulence, transmission). Les émergences sont alors classiquement expliquées par des perturbations écologiques qui, soit favorisent les interactions entre espèces hôtes et, par conséquent, leur exposition à de nouveaux agents pathogènes, soit modifient les pressions de sélection qui s'exercent sur les agents infectieux, avec des implications potentielles sur des traits importants comme la virulence ou la capacité d'infecter une nouvelle espèce hôte. L'objectif de ce projet est de révéler, en nous appuyant à la fois sur le recueil de données et la modélisation mathématique de ces systèmes exemplaires, des mécanismes d'émergence alternatifs à ceux classiquement considérés, i.e. dans le cas où l'émergence n'est pas provoquée par l'arrivée d'un nouvel agent infectieux mais où elle correspond à une nouvelle expression d'un agent déjà présent chez l'hôte. Ce projet propose une vision du phénomène d'émergence élargie à la communauté, des hôtes aussi bien que des agents infectieux. Cette approche repose sur le concept de pathocénose, ensemble des agents infectieux circulant à un instant donné dans une population ou communauté d'hôtes. Intégrer l'ensemble de ces acteurs dans l'étude des maladies infectieuses et de leur émergence nécessite au préalable une bonne compréhension des interactions hôtes/parasites décryptées à partir de systèmes modèles (e.g., myxomatose et maladie hémorragique chez le lapin, hantavirose chez le campagnol et l'homme ou encore dengue, leishmaniose, et encéphalite japonaise chez l'homme).

Principaux résultats scientifiques

Tout au long de ce projet nous avons eu affaire à plusieurs systèmes dans lequel l'émergence était précédée de la circulation non détectée de la maladie (maladie hémorragique du lapin, syndrome du lièvre brun européen, maladie de Carré chez le lion, dengue, encéphalite japonaise, leishmanioses). L'explication de ces émergences par l'apparition de souches plus virulentes est très largement acceptée, le plus souvent sans preuve tangible. Les exemples que nous avons traités montrent des mécanismes alternatifs, plus parcimonieux, qui permettent d'expliquer ces phénomènes de façon au moins aussi convaincante. Nos résultats ont notamment permis de saisir à quel point une modification de l'intensité de circulation des pathogènes peut changer non seulement le risque d'exposition, mais aussi les symptômes de la maladie chez les individus infectés. La réduction, voire une rupture de la circulation des agents infectieux, retarde l'âge de lère infection, et peut donc conduire à l'apparition d'une maladie plus sévère lorsque la gravité des symptômes augmente avec l'âge. Par conséquent la fragmentation des habitats de nombreuses espèces et l'émergence de nombreuses maladies infectieuses sont peut-être deux phénomènes liés. A l'inverse, dans le cas de la leishmaniose cutanée, alors qu'une faible exposition permet l'acquisition d'une immunité sans signe clinique, une fréquence élevée de piqûres infectantes, i.e., une exposition intense,

peut provoquer le développement de la maladie en raison du débordement du système immunitaire. Au final, l'ensemble de nos résultats suggèrent i) qu'il est fondamental de faire la distinction entre exposition à un agent infectieux et expression de l'infection; ii) qu'il est indispensable d'identifier les facteurs agissant sur la gravité des symptômes (e.g. âge, sexe, stress) et iii) de mettre en place des plans d'action cohérents avec ces facteurs et les mécanismes associés (e.g. une réduction du taux d'exposition pourrait être contre-productive si la sévérité d'une maladie augmente avec l'âge).

Originalité

Notre travail apporte une vision des relations hôtes-parasites différente de la vision classique, qui ne tient pas compte de la diversité des formes que peut revêtir l'infection par un même agent. Le cas extrême est celui des infections asymptomatiques, dont on ne sait pratiquement rien, puisqu'elles n'intéressent pas la santé publique ou vétérinaire. La question du rôle épidémiologique de ces infections inapparentes s'est posée de façon très nette tout au long de ce projet, dans lequel nous avons largement étudié les mécanismes qui expliquent le passage de ces infections inapparentes à l'émergence des maladies sévères. De ce point de vue, l'interaction entre agents infectieux, qu'elle soit de type synergique ou antagoniste, peut jouer un rôle essentiel dans la manifestation des diverses maladies atteignant une population hôte. En particulier, un agent considéré comme non pathogène peut subitement provoquer des maladies, suite à l'apparition ou la disparition d'un agent avec lequel il interagit. Dans ce contexte, la pathocénose, originellement définie par Grmek (1969) comme l'ensemble des pathologies à l'échelle d'une population, doit prendre en compte l'ensemble des agents infectieux, que l'infection causée soit visible ou non. Ainsi, notre travail illustre comment l'intégration des concepts écologiques, incluant une recherche au niveau de la communauté des hôtes et agents infectieux, doit faciliter une ré-estimation du risque d'apparition de la maladie et susciter une réévaluation des mesures couramment mises en place pour le contrôle et la prévention des maladies infectieuses.

- 1 - Institut Pasteur de Tunis, 13, place Pasteur B.P. 74 1002 Tunis Belvédère, Tunisie - narges.bahijaber@gmail.com; hechmi.louzir@pasteur.rns.tn;
- 2 - Institut de Recherche pour le Développement, Emerging Viral Pathologies Research Unit (UMR 190 IRD - Marseille Univ.), Center of Excellence for Vector & Vector Borne Diseases, Faculty of Sciences, Mahidol University Sciences bldg. 1-2, MU Salaya, 999 Phuthamonthon 4, Nakhonpathom 73170, Thailand - jean-paul.gonzalez@ird.fr; marc.souris@ird.fr;
- 3 - Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 Chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse Cedex 03 - s.bertagnoli@envt.fr;
- 4 - Centre de Recherche et de Veille sur les Maladies Emergentes dans l'océan Indien, Plateforme Technologique, 2 rue M. Rivière, 97490 Sainte Clotilde Cedex - koussay.dellagi@ird.fr;
- 5 - UMR-CNRS 5558 « Biométrie et Biologie évolutive », Université de Lyon, Université Lyon 1, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex - fouchet@biomserv.univ-lyon1.fr; guiserix@biomserv.univ-lyon1.fr; dpontier@biomserv.univ-lyon1.fr; sauvage@biomserv.univ-lyon1.fr;
- 6 - Office national de la chasse et de la faune sauvage, Direction des études et de la recherche, 39 Bd Albert Einstein, CS 42355, F-44323 Nantes Cedex 3 - jean-sebastien.guitton@oncfs.gouv.fr; stephane.marchandeau@oncfs.gouv.fr;
- 7 - Faculty of Sciences, Mahidol University Sciences bldg. 1-2, MU Salaya, 999 Phuthamonthon 4, Nakhonpathom 73170, Thailand.
- 8 - Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), LERAPP, Unité de Virologie, Immunologie, Parasitologie Aviaires et Cunicoles, Zoopôle-Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan - g.legal@ploufragan.afssa.fr;

Interrelations entre environnement et émergence des maladies infectieuses : étude de cas en Guyane française

JM Fotsing (Coordonnateur), JF Guegan², P. Coupié³, A. Spigel⁴ et al.

Le projet EREMIBA (Environnement et (ré)émergence de maladies infectieuses en bassin amazonien) se propose de mettre en évidence les interrelations entre environnement et émergence des épidémies en Guyane française. Trois modèles de maladies ont été retenus sur les critères de qualité de leur suivi chez l'homme et de complémentarité dans la problématique d'émergence. Il s'agit de maladies pour lesquelles une forte empreinte environnementale a été déterminée être à l'origine de l'émergence, de la réémergence, du maintien dans l'environnement et/ou de la diffusion spatiale : la dengue, l'ulcère de Buruli ou infection à *Mycobacterium ulcerans*, le paludisme à *P. vivax* et *P. falciparum*. Ce projet de recherche s'interroge principalement sur l'impact des modifications de l'environnement sur l'émergence ou la réémergence des épidémies. Les questions sous-jacentes à cette question centrale sont les suivantes : Comment démarre une émergence/épidémie ? Quels sont ses déterminants environnementaux ? Comment évoluent ces paramètres écologiques et/ou environnementaux ? Comment naît et évolue un foyer épidémique ? Comment interagissent les déterminants environnementaux et les déterminants génétiques responsables de l'émergence d'une épidémie (pathogène, réservoirs, hôte et/ou vecteur) ? Comment les activités humaines et les modifications environnementales modifient-elles le fonctionnement de ces foyers ?

Méthodes

Pour y répondre, les chercheurs et spécialistes issus de disciplines diverses ont mis en œuvre une approche intégrée et multi-scalaire faisant appel à l'analyse spatiale, la télédétection, la biologie, l'épidémiologie, l'entomologie, la géographie, la génétique des populations, la modélisation... Les résultats obtenus permettent de jeter les bases d'un observatoire régional de santé pour une meilleure surveillance des épidémies. Ces résultats peuvent être classés en quatre rubriques en conformité avec l'organisation des équipes et les trois maladies modèles retenues : ulcère de Buruli, dengue, paludisme et spatialisation & intégration des données.

Résultats

S'agissant de l'ulcère de Buruli dont le régime est plutôt de type endémique avec des zones géographiques préférentielles où serait contracté l'agent pathogène, la localisation des cas et les premiers croisements avec les informations environnementales et notamment les paramètres météorologiques montrent une relation statistique entre les déficits en pluies (juin) et la recrudescence du nombre de cas notamment dans la localité de Cayenne. Ceci confirme l'hypothèse actuellement admise selon laquelle la mycobactérie *M. ulcerans* serait persistante dans les environnements aquatiques d'eau douce et les conditions d'assèchement de mares avec phénomène d'hydroxie.

Pour les épidémies de dengue, les analyses menées à l'échelle d'une épidémie (à travers l'exemple de l'épidémie atypique de DEN-2 en 2006) et à l'échelle de la Guyane et des 16 dernières années de circulation de dengue, montrent que l'épidémie de 2006 démarre à Maripasoula alors que toutes les épidémies précédentes démarraient dans l'île de Cayenne. La dengue étant une maladie typiquement urbaine, on s'interroge sur le démarrage de l'épidémie 2006 dans une zone isolée et peu peuplée sur la bordure ouest de la Guyane, le long du fleuve Maroni et dans laquelle la dengue n'avait jamais été signalée. Les modifications environnementales apporteront des éléments de réponse.

S'agissant du fonctionnement des foyers du paludisme, les trois principales régions à risques hébergent des populations de vecteurs différentes, et dont le fonctionnement démographique diffère au moins entre les deux fleuves frontaliers. Ce résultat est intéressant à rapprocher des différences épidémiologiques observées de manière récurrente entre le Maroni et l'Oyapock. Une différenciation génétique de ce parasite entre les foyers du fleuve Maroni et ceux de l'Oyapock remet en cause l'hypothèse d'une forte dispersion de *P. falciparum* promue par les mouvements humains au sein de la Guyane. Les facteurs

environnementaux apportent d'autres éléments d'explication.

La spatialisation au travers des données de télédétection apporte quelques éléments d'explication et d'analyse. A l'échelle locale, la caractérisation fine de l'environnement guyanais notamment à Cacao permet d'identifier des faciès de déforestation et un gradient paysager pour l'installation des fosses de capture des moustiques ; Dans l'ouest guyanais, une cartographie de niveau intermédiaire donne des résultats similaires sur le bas et le haut Maroni autour de Saint Laurent. La base de données images et le SIG élaborés à l'échelle locale sur les rizières de l'ouest guyanais permet d'affiner l'analyse des paramètres écologiques enjeu pour une meilleure caractérisation des zones potentiellement favorables pour l'ulcère de Buruli. Le système d'information géographique développé sur Cacao, intégrant les transformations récentes du couvert forestier permettent d'établir une relation entre les taux de déforestation et les populations de moustiques vecteurs du paludisme. Ce SIG permet de jeter les bases d'un observatoire du paludisme en guyane.

*1- Professeur, Directeur de recherche à l'IRD, Unité SI 40 ESPACE
Coordonnateur du projet EREMIBA,
275 route de Montabo, BP 165, 97323 Cayenne cedex
Tél : 05 94 29 92 93 Fax : 05 94 31 98 55
E-mail : Jean-marie.fotsing@ird.fr*

*2- Directeur de recherche à l'IRD, UMR CNRS
UMR GEMI 2724 CNRS-IRD
Centre IDR 911 avenue Agropolis BP 64501 Montpellier
Tél : 04 67 41 62 05 Fax : 04 67 41 62 99
E-mail : Jean-francois.guegan@ird.fr*

*3- Docteur en médecine, PhD, HDR, Chef du service de Dermatologie
EA 3593 UAG-CHC
Centre hospitalier de Cayenne, Avenue des flamboyants, 97300 Cayenne
Tél : 05 94 39 53 59 Fax : 05 94 39 52 83
E-mail : couple.pierre@voila.fr*

*4- Professeur, Directeur de l'Institut Pasteur de la Guyane
Institut Pasteur de la Guyane
23 Avenue Pasteur, BP 6010, 97 300 Cayenne cedex
Tél : 05 94 29 26 01 Fax : 05 94 30 94 16
E-mail : spigel@pasteur-cayenne.fr*

Biodiversité des Hantavirus et de leurs réservoirs en Asie du Sud-Est. Modélisation et cartographie des risques

Jean-Pierre HUGOT, Origine, Structure et

Evolution de la Biodiversité, UMR 5202 du CNRS / USM 601, 55, rue Buffon, 75231

Paris cedex 05. hugot@mnhn.fr

L'idée fondatrice de ce projet était d'aborder l'étude de l'émergence des maladies en termes de dynamique d'évolution, de biodiversité et de distribution des agents pathogènes dans un contexte spatio-temporel connu. Les méthodes et les approches utilisées sont celles de la biologie de l'évolution : taxonomie, génétique, phylogénétique, écologie et modélisation. Cette approche transdisciplinaire étant appliquée à l'éco-épidémiologie comparée des hantaviroses (maladies transmises par des rongeurs), en Europe et en Asie. La partie européenne faisant déjà l'objet de plusieurs programmes et de financements, les moyens que nous avons demandés étaient destinés : à l'acquisition en Asie (Thaïlande) de données de terrain équivalentes à celles collectées en Europe. Au cours des discussions qui ont précédé la rédaction du projet, il a été décidé d'étudier en parallèle d'autres maladies transmises en Asie par des rongeurs : leptospirose, scrub typhus, typhus murin, en particulier.

Ce programme a permis de recruter pendant 20 mois un étudiant français, Vincent Herbreteau, dont la thèse de géographie humaine : « Géographie des zoonoses en Thaïlande : de la distribution des rongeurs, vecteurs et hôtes, aux risques de transmission » a été soutenue avec succès le 10 décembre 2007.

Le projet basé sur les concepts et méthodes de l'écologie évolutive s'est attaché à caractériser les processus vraisemblables qui contribuent aux patrons observés des assemblages hôtes-pathogènes, prenant en compte l'environnement (utilisation de l'imagerie satellitaire et de systèmes d'information géographique) et de l'histoire évolutive des espèces en interaction (utilisation de la génétique des populations, de l'épidémiologie moléculaire et de la phylogénétique des communautés).

Objectifs

Objectif 1. Systématique, génétique des populations et distribution des rongeurs réservoirs ; diversité des hantavirus ; cophylogéographie des rongeurs et des virus.

- Révision de la taxonomie des Murinae de Thaïlande, à l'aide de données phénotypiques, morphométrique, cytogénétiques et moléculaires.
- Construction d'une clef de détermination de ces rongeurs.
- Constitution d'une collection de référence.
- Recherche et identification des pathogènes et parasites hébergés par ces rongeurs.

Objectif 2. Cartographie des données distributionnelles. Caractérisation des milieux et des paysages. Modélisation des probabilités de contamination, entre réservoirs et les populations humaines.

Objectif 3. Constitution de base de données épidémiologiques informatisées. Croisement des données de terrain avec les données SIG. Définition et standardisation d'une carte des risques.

Principaux résultats

- a) Biodiversité des Rongeurs Muridae sud-est asiatiques.
- b) Études cytogénétiques.
- c) Étude de gènes sous sélection, associés au système immunitaire
- d) Étude de gènes non associés au système immunitaire
- e) Recherche de virus pathogènes véhiculés par les rongeurs.
- f) Recherche de bactéries pathogènes véhiculés par les rongeurs.
- g) Études parasitologiques.

Déterminants environnementaux de la répartition et de l'incidence de la borréliose à tiques à *Borrelia crociduræ* en Afrique de l'Ouest et du Nord

Jean-François Trape¹, Georges Diatta¹, Jean-Marc Duplantier², Laurent Granjon²,
Patrick Durand³ & François Renaud³

La fièvre récurrente à tiques à *Borrelia crociduræ*, maladie émergente méconnue, constitue après le paludisme la première cause de morbidité par maladie infectieuse dans plusieurs régions d'Afrique de l'Ouest soudano-sahélienne et saharienne. Au Sénégal, de 5% à 25% de la population rurale résidant dans la moitié nord du pays contracte chaque année cette maladie qui ne procure pas d'immunité protectrice durable. Elle est classiquement transmise par la piqûre de la tique *Ornithodoros sonrai*, espèce jadis limitée aux régions sahariennes et sahéliennes, mais qui présente depuis le début des années 70 une forte extension géographique en zone de savane soudanienne du fait de la persistance de la sécheresse. Cette tique, qui vit habituellement dans les terriers des petits mammifères, réservoir animal de la borréliose, pique occasionnellement l'homme et lui transmet ainsi la maladie, notamment lorsque des terriers débouchent à l'intérieur des habitations ou dans les cours de concessions, ce qui est très souvent le cas en zone rurale. La présence du vecteur et de la maladie a été signalée dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest et au Maghreb, mais peu de données sont disponibles sur la répartition géographique précise d'*O. sonrai*, les espèces animales réservoir de la maladie, la fréquence de l'infection chez le vecteur et le réservoir animal, l'incidence de la maladie chez l'homme ainsi que l'ensemble des paramètres environnementaux gouvernant la répartition et l'épidémiologie de la maladie.

Nous avons entrepris de cartographier systématiquement au demi-degré carré la répartition des tiques ornithodores en Afrique de l'Ouest et au Maroc, de rechercher la présence de borrélioses chez les tiques et les mammifères sauvages et de typer génétiquement les populations de vecteurs et de borrélioses collectées. L'étude de 8 000 terriers de rongeurs dans 200 sites de 14 pays africains montre que les ornithodores vecteurs de borréliose sont massivement distribués au nord de l'isohyète 750 mm dans la moitié ouest de l'Afrique occidentale (Sénégal, Gambie, Mauritanie et Mali) et qu'il existe une continuité dans la répartition géographique des vecteurs entre le Maroc et l'Afrique de l'Ouest à travers la Mauritanie et le Sahara Occidental. Sept populations génétiquement distinctes de tiques ornithodores vectrices de borréliose ont pu être identifiées pour la première fois, dont quatre en Afrique de l'Ouest et quatre au Maroc, une étant commune au Maroc et à l'Afrique de l'Ouest. Quatre espèces de borrélioses ont été identifiées chez les ornithodores, les rongeurs et/ou des malades fébriles : *Borrelia crociduræ* en Afrique de l'Ouest au Maroc, *B. hispanica* et *B. merionesi* au Maroc, et *B. garini* trouvé pour la première fois dans trois pays d'Afrique de l'Ouest.

1 - Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses Tropicales Emergentes (URMITE), Institut de Recherche pour le Développement, BP 1386, Dakar, Sénégal. E-mail : trape@ird.sn, diatta@ird.sn

2 - Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP), Institut de Recherche pour le Développement, BP 1386, Dakar, Sénégal. E-mail : duplantier@ird.sn, granjon@ird.sn

3 - Laboratoire de Génétique et Évolution des Maladies Infectieuses (GEMI), UMR IRD-CNRS 2724, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France. E-mail : francois.renaud@ird.fr, patrick.durand@ird.fr

EPI-DENGUE, l'émergence de la dengue dans des environnements en mutation : point sur l'acquisition des connaissances

Paupy Christophe (1) et Hervé Jean-Pierre (2)

Les maladies virales émergentes vectorisées constituent un des problèmes majeur de santé publique pour les prochaines années à cause, entre autre, de la capacité adaptative des virus à des situations nouvelles. La dengue, dont l'incidence annuelle avoisine les 80 millions de cas, constitue le modèle le plus abouti en matière de mondialisation d'arbovirus. A l'origine transmis de singe à singe, en Asie et en Afrique, par des moustiques du genre *Aedes*, ce virus s'est adapté à l'homme et à son principal vecteur urbain et domestique, *Aedes aegypti* (également vecteur de la fièvre jaune), avant de se disperser à travers le monde grâce aux moyens de communication rapides et modernes.

Les 4 sérotypes du virus de la dengue comportent chacun plusieurs topotypes et sont transmis par des moustiques (essentiellement *Ae. aegypti*, et dans une moindre mesure, *Ae. albopictus*) qui, dans la réalité, comprennent de nombreuses formes géographiques dont la capacité vectorielle est variable. Le fonctionnement de chaque système vectoriel « *Aedes aegypti* – dengue » est étroitement liée à l'environnement physique, climatique mais aussi socio-économique du fait des relations très étroites qu'entretiennent les populations de vecteur (et de virus) avec l'homme. A chaque système vectoriel correspond une situation épidémiologique différente.

Objectifs et méthodes

Le projet EPIDENGUE s'est fixé comme objectif de modéliser les risques d'émergence et d'épidémisation de la dengue grâce à l'étude comparative de deux situations épidémiologiques différentes, respectivement en Afrique et en Amérique du sud (le Cameroun et la Bolivie). L'approche pluridisciplinaire, qui constitue une des originalités du programme, permet de mettre en relation les facteurs impliqués dans la transmission, relevant de disciplines différentes. Ainsi, dans chacune des deux zones d'étude, les variables mesurées ont-elles été relevées conjointement, sur le même terrain et sur les mêmes individus, par l'ensemble des disciplines concernées : Virologie-Epidémiologie, Entomologie, Géographie, Ethno-démographie, Modélisation.

Résultats

En Bolivie, trois sérotypes (DEN-1, DEN-2 et DEN-3) sont responsables des épidémies. Ils appartiennent chacun à un seul génotype qui s'est maintenu plusieurs années dans le pays. La transmission verticale observée dans les conditions naturelles chez *Ae. aegypti*, les résultats de la séroneutralisation ainsi que la présence simultanée de plusieurs sérotypes dans une même localité, confirment l'endémisation de la dengue, même si un nouveau génotype de DEN-1 a été introduit en 2008 et si la dengue IV semble encore absente du pays.

Une population d'*Ae. aegypti*, uniquement présente dans le sud du pays, se différencie très nettement de celles du reste de la Bolivie. Il s'agit probablement, d'une population résiduelle dont l'origine est antérieure aux populations vectrices de dengue présentes dans le reste du pays. Aucune structuration génotypique n'a, par contre, été observée à Santa Cruz, ville du centre du pays où ont eu lieu les épidémies les plus importantes.

L'écologie du vecteur, étudiée à Santa Cruz, est en faveur d'une transmission domiciliaire certainement à cause du comportement du moustique pour le moins opportuniste. Les femelles, très anthropophiles (taux d'anthropophilie de l'ordre de 99%), sont à la fois exophiles et endophiles. Leur agressivité est à la fois nocturne et diurne. Leur longévité est moyenne, mais semble fonction de la nature des gîtes larvaires dont sont issues les adultes.

Au Cameroun, où les virus DEN-1 et DEN-2 ont été mis en évidence grâce à la séroneutralisation, la compétence des populations d'*Ae. aegypti* pour la dengue est globalement plus faible que celles des po-

pulations originaires d'Asie ou d'Amérique du Sud. Elle reste cependant plus élevée que celle observée chez les *Ae. albopictus* camerounais. Cette dernière espèce, absente de Bolivie, est d'introduction récente au Cameroun.

Elle pourrait, en conséquence être le vecteur épidémique de la dengue, à cause de son comportement peut-être plus favorable à la transmission que celui d'*Aedes aegypti*. Deux populations d'*Ae. Aegypti* (Yaoundé et Buéa) se différencient très nettement des autres. L'approche géographique de la dengue avait pour objectif d'identifier les espaces en risques en mettant en relation les systèmes éco-géographiques et la variabilité de l'expression de la dengue. Au Cameroun, cette approche a été réalisée sur la base de l'échantillon commun. Les facteurs identifiés ont permis de typer les familles selon une hiérarchie d'exposition mais l'absence de données couvrantes fiables ne nous permet pas à l'heure actuelle de transcrire ce risque socio-spatial à l'échelle des villes étudiées (Garoua, Yaoundé, Douala). En revanche nous disposons désormais d'un corpus d'indicateur opérationnel qui pourra être appliqué aux résultats des prochains recensements généraux de population dans un but de prévention et de surveillance.

En Bolivie, cette approche a permis de créer une typologie de l'espace urbain de Santa Cruz en fonction des caractéristiques couvrantes disponibles dans diverses sources de données (bases de données statistiques, images satellitaires, cartographie). A partir de ces informations, les disparités spatiales ont été identifiées selon plusieurs échelles (notamment UV et manzanos) et mises en relation avec les données IgM et IgG dengue issues des consultations. Les cartographies multi-échelles des espaces à risques réalisés ont permis de délimiter les zones d'action prioritaires en termes d'aménagement et de vigilance épidémiologique tandis que la prise en compte des mobilités a permis d'identifier les espaces parcourus en fonction du potentiel épidémique de la population. La hiérarchie des structures de soins dans la détection de la dengue a été réalisée à partir d'une analyse spatiale à l'échelle de la ville.

La diffusion de la dengue a été mise en évidence à l'échelle du pays en mettant en relation la hiérarchie des systèmes de villes, la variabilité des flux de personnes et de marchandises et l'extension des cas de dengue en fonction des écosystèmes favorables aux vecteurs. Cette approche devra encore être précisée par rapport aux sérotypes pour mieux cerner les flux en cause et les hiérarchiser dans le temps et l'espace. Les enquêtes sur les gîtes larvaires au niveau des ménages ont concerné la gestion des déchets. Plusieurs facteurs sont susceptibles d'expliquer l'hétérogénéité au niveau des quartiers : une différence de structuration de l'espace, une différence dans les infrastructures et enfin une différence dans les comportements individuels. Les structures non résidentielles (hôtels, écoles, marchés, etc...) pourraient jouer un rôle dans la dispersion interurbaine du virus.

Le développement des modèles spatialisés de la dengue, permettant de représenter des agglomérations et des régions de façon réaliste s'est poursuivi. Au plus bas niveau (village), les modèles sont individu-centrés, et intègrent le suivi des individus et de leur déplacements, ainsi que le suivi des moustiques.

Il a été montré qu'une expression analytique dépendant d'un petit nombre de paramètres peut reproduire avec fidélité la dynamique épidémique d'un village ou d'un quartier, tant celle exhibée dans la réalité, que la sortie du modèle. Cette expression analytique a donc été utilisée en chaque nœud de réseaux représentant un niveau hiérarchique plus élevé (ville ou région).

Parallèlement à ces recherches directement liées au terrain de nouveaux marqueurs spécifiques d'exposition (anticorps anti-salive d'*Aedes*) vis à vis des piqûres des vecteurs de la Dengue ont été mis au point. La réponse IgG spécifique aux extraits de glandes salivaires d'*Aedes aegypti* a été évaluée à Santa Cruz par ELISA chez une population ($n=1049 - 2$ à 70 ans) exposée au risque de dengue. Il existe une association positive et significative entre le niveau de réponse Ac IgG anti-salive d'*Ae. aegypti* chez des individus exposés et le degré potentiel d'exposition au vecteur (perspective d'un nouvel outil immuno-épidémiologique, biomarqueur de l'exposition aux piqûres et ainsi un indicateur potentiel des risques de transmission de Dengue).

(1) Chargé de Recherche à l'IRD, UR016 (Caractérisation et contrôle des populations de vecteurs)

Courriel : christophe.paupy@ird.fr - Centre International de Recherche Médicale de Franceville (CIRMF) BP 769, Franceville, Gabon

(2) Directeur de Recherche à l'IRD, UR016 (CCPV) - Courriel : jean-pierre.herve@ird.fr

UR 016 (CCPV) - IRD, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

Pascal Handschumacher (IRD), Marc Dubois (CEA) et Franck Remoué (IRD) ont également collaboré à la rédaction de ce résumé.

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 des la mise au point d'outil et sur de nouvelles pratiques ou stratégies de lutte.

- Exploration de l'évolution de la résistance aux insecticides pour comprendre les facteurs adaptatifs concernés : étude du déterminisme génétique chez les diptères (drosophile, mouche domestique); identification des mutations de la résistance aux insecticides en populations naturelles et mesure de leur effet sur la valeur adaptative ; compréhension des contraintes évolutives responsables de la sélection ; proposition de stratégies de lutte adaptées grâce à la mise au point de nouvelles molécules insecticides plus efficaces sur les moustiques résistants que sur les moustiques sensibles. (M.Weil)
- Étude des conditions de dissémination de la résistance des bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) aux antibiotiques à partir d'observation d'une population d'un village amazonien (Guyane), du recueil de prélèvements biologiques chez les humains et chez les animaux domestiques et sauvages. (A.Andremont)
- Étude des sources environnementales des populations pathogènes, des conditions et milieux favorisant leur survie, leur multiplication, leur diffusion et leurs mécanismes adaptatifs : à partir de l'étude de bactéries présentes 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. (B. Courmoyer)
- Mise au point de mycotoxines enrichies par des isotopes stables pouvant être utilisées comme standard pour le mesurage de la qualité tout au long de la chaîne des matières premières du secteur agricole aux produits finis, ou encore le contrôle de produits importés, l'environnement intérieur (M. Delaforge)

MOREVOL : Evolution et gestion de la résistance des moustiques aux insecticides

Mylène Weill (Coordinatrice) Directrice de Recherche à l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM), UMR CNRS 5554, Université Montpellier 2, C.C.065, 34095 Montpellier. mylene.weill@univ-montp2.fr

Pierrick Labbé, ISEM, Montpellier. pierrick.labbe@univ-montp2.fr

Haoues Alout, ISEM, Montpellier. haoues.alout@univ-montp2.fr

Thomas Lenormand, CEFÉ, Montpellier. thomas.lenormand@cefe.cnrs.fr

Arnaud Berthomieu, ISEM, Montpellier. arnaud.berthomieu@univ-montp2.fr

Luc Djogbénou, CREC/IRD, Cotonou, Bénin. luc.Djogbenou@ird.fr

Nicole Pasteur, ISEM, Montpellier. nicole.pasteur@univ-montp2.fr

Chuan-Ling Qiao, Institute of Zoology, Beijing, China. qiaocl@ioz.ac.cn

Pascale Marchot, ToxCiM-CRN2M. Marseille. pascale.marchot@univmed.fr

Yves Bourne, AFMB, Marseille. Yves.Bourne@afmb.univ-mrs.fr

L'objectif de ce programme était d'étudier l'évolution de la résistance aux insecticides liée à l'insensibilité de la cible acétylcholinestérase (AChE) pour comprendre les facteurs adaptatifs qui influencent sa sélection et dégager les stratégies de lutte les plus adaptées.

Ce projet était organisé en trois parties complémentaires :

I/ Etudier le déterminisme génétique de la résistance de l'AChE chez les diptères et l'élargir aux autres insectes nuisibles.

Le déterminisme génétique de l'AChE dessine un patron très original dans l'ordre des diptères. La famille des Culicidae possède deux gènes ace : ace-1 qui code pour la principale AChE1 synaptique, cible des insecticides de types OP et carbamate, et ace-2 qui code pour l'AChE2 dont la fonction est inconnue. Chez certains diptères, comme par exemple la drosophile et la mouche domestique, le gène ace-1 a été perdu et sa fonction physiologique, bien que vitale, remplacée par ace-2 au cours de l'évolution (Weill et al., 2002). Nous avons recherché systématiquement les gènes ace-1 et ace-2 chez 78 espèces de Diptères représentant 50 familles. Cette analyse a montré que la perte du gène ace-1 affecte probablement tout le large groupe monophylétique des Cyclorhaphes au sein des Diptères (Huchard et al., 2006). Par contre, chez tous les insectes étudiés à ce jour qui possèdent deux gènes ace, comme les moustiques, c'est le gène ace-1 qui code l'AChE1 synaptique cible des insecticides.

II/ Identifier les mutations de l'AChE responsables de la résistance aux insecticides en populations naturelles. Mesurer leur effet sur la valeur adaptative et comprendre les contraintes évolutives responsables de leur sélection.

Ces recherches ont été réalisées dans de nombreux pays et sur plusieurs espèces de moustiques. Trois mutations d'AChE1 (G119S, F290V et F331W) ont été observées en populations naturelles. L'expression de mutants d'AChE1 recombinantes, in vitro en cellules d'insectes a permis de mesurer le rôle de ces mutations dans la résistance et leur caractérisation biochimique (Weill et al., 2003 ; Alout et al., 2007a, b). La mutation F290V n'a été observée que chez *C. pipiens* et la mutation F331W uniquement chez *C. tritaeniorhynchus* alors que la mutation G119S est observée chez plusieurs espèces de moustiques des genres *Anopheles* et *Culex* (Weill et al., 2003 ; Cui et al., 2006 ; Alout et al., 2007a). La mutation G119S qui est la plus fréquente en populations naturelles confère une résistance à un plus large spectre d'insecticides (Alout & Weill, 2008). Nous avons mis au point des tests biochimiques et moléculaires pour caractériser rapidement ces mutations en populations naturelles.

D'autre part, la comparaison des AChEI de *C. pipiens* et d'*A. gambiae* a montré que ces enzymes sont très proches en séquence et que la mutation G119S confère des niveaux de résistance similaires dans ces deux espèces (Alout et al., 2008). L'étude de la mutation G119S chez *A. gambiae* d'Afrique de l'ouest montre qu'elle progresse et qu'elle s'est répandue dans les deux formes moléculaires de ce vecteur par introgression génétique (Djogbénou et al., 2008). Enfin, de nombreuses duplications du gène ace-1 associant une copie sensible et une copie résistante (G119S ou F290V) ont été mises en évidence dans les populations de *C. pipiens* (Labbé et al., 2007 ; Alout et al., soumis) ainsi que chez *A. gambiae* (Djogbénou et al., 2008). Les individus possédant une duplication semblent présenter une meilleure valeur adaptative. Cependant l'étude de ces duplications chez *C. pipiens* dans la région de Montpellier a permis de montrer qu'elles entraînent parfois des effets génétiques délétères (Labbé et al., 2008).

Pour estimer l'impact de la résistance sur l'efficacité de moustiquaires bi-traitées avec deux classes différentes d'insecticide, nous avons déterminé la valeur sélective de moustiques porteurs de deux allèles de résistance (ace-1 G119S et la mutation dans le canal sodium, « kdr »). La comparaison de souches à fond génétique homogène a montré que ces moustiques multi-résistants ont une valeur sélective meilleure que celle des simples mutants (Berticat et al., 2008). Dans la mesure où la faible valeur sélective associée à la résistance est un allié de la lutte anti-vectorielle, ces résultats sont inquiétants, notamment pour les *A. gambiae* d'Afrique qui présentent de plus en plus souvent ces deux mutations.

III/ Proposer des stratégies de lutte contre la résistance.

Afin de limiter la propagation de la résistance, nous avons cherché à mettre au point de nouvelles molécules insecticides qui soient plus efficaces sur les moustiques résistants que sur les moustiques sensibles et, autant que possible, inefficaces sur les AChEs d'autres espèces. 28 molécules au moins deux fois plus efficace pour inhiber l'AChEI G119S résistante que l'AChEI sensible ont été obtenues à la suite d'un criblage d'une banque chimique commerciale criblée sur l'activité AChEI. Ces molécules présentent également une meilleure toxicité sur les larves résistantes.

Nous avons entrepris d'optimiser l'efficacité insecticide et la spécificité de ces molécules via une approche de biologie structurale. Cet objectif requiert la résolution de la structure tridimensionnelle de l'AChEI résistante, puis celle de complexes entre cette AChEI et les molécules insecticides les plus prometteuses. A défaut, la structure de l'AChEI sensible, associée à une approche de « docking » in silico, représente une alternative satisfaisante.

En pratique, la production in vitro et la purification de l'enzyme sensible ont été mises au point. Ce succès nous a permis de soumettre cette AChEI à de nombreux (plusieurs centaines) essais de cristallisation et d'obtenir des petits cristaux de protéine, hélas dotés d'un trop faible pouvoir de diffraction aux rayons-x. En parallèle, nous avons caractérisé les paramètres enzymatiques de AChEI vis à vis du substrat physiologique, et l'avons trouvée plus de 2 fois plus efficace que l'AChE de souris et 2 fois moins que celle de gymnote. Enfin, nous avons généré in silico un modèle 3D, l'avons analysé et avons émis des hypothèses mécanistiques.

La très faible solubilité de l'AChEI sensible recombinante après purification est un handicap sérieux mais nous continuons à tenter d'optimiser nos cristaux afin de parvenir à collecter des données cristallographiques exploitables.

Publications issues de ce programme de recherche :

- Cui F., M. Raymond, A. Berthomieu, H. Alout, M. Weill and C. L. Qiao. Recent emergence of insensitive acetylcholinesterase in chinese populations of the mosquito *Culex pipiens*. 2006. J. Med. Entomol. 43:878-883
- Huchard E., M. Martinez, H. Alout, E. J. P. Douzery, G. Lutfalla, A. Berthomieu, C. Berticat, M. Raymond and M. Weill. Acetylcholinesterase genes within the Diptera: takeover and loss in true flies. 2006. Proc. R. Soc. Lond. B. 273: 2595-2604
- Alout H., A. Berthomieu, A. Hadjivassilis and M. Weill. A new amino-acid substitution in acetylcholinesterase I confers insecticide resistance to *Culex pipiens* mosquitoes from Cyprus. 2007. Insect Biochem. Molec. 37:41-47
- Labbe P., A. Berthomieu, C. Berticat, H. Alout, M. Raymond, T. Lenormand and M. Weill. High Duplication Rate in an Insecticide Resistance Gene in the Mosquito *Culex pipiens*. 2007. Mol. Biol. Evol. 24(4):1056-1067.
- Alout H., A. Berthomieu, F. Cui, Y. Tan, C. Berticat, C. L. Qiao and M. Weill. Different amino-acid substitutions confer insecticide resistance through acetylcholinesterase I insensitivity in *Culex vishnui* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) mosquitoes from China. 2007. J. Med. Entomol. 44: 463-469.
- Labbe P., Berticat C., Berthomieu A., Unal S., Bernard C., Weill M., Lenormand T. Forty years of erratic insecticide resistance evolution in the Mosquito *Culex pipiens*. 2007. PLOS Genet. 3(11):2190-2199.

Ben Cheikh R., Berticat C., Berthomieu A., Pasteur N., Ben Cheikh R., Weill M. Characterization of a novel high-activity esterase in Tunisian Populations of the mosquito *Culex pipiens*. 2008. *J. Econ. Entomol.* 101(2):484-491.

Berticat C., Bonnet J., Duchon S., Agnew P., Weill M., Corbel V. Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. 2008. *BMC Evol. Biol.* 8: 8

Alout H., L. Djogbenou, C. Berticat, F. Chandre and M. Weill. Comparison of *Anopheles gambiae* and *Culex pipiens* Acetylcholinesterase I biochemical properties. 2008. *Comp. Biochem. Phys. B:* 150(3):271-277.

Alout H. and M. Weill. Amino-acid substitutions in acetylcholinesterase I involved in insecticide resistance in mosquitoes. 2008. *Chem-Biol Interact.* 175(1-3): 138-141

Djogbénu L., Chandre F., Berthomieu A., Dabiré R., Koffi A., Alout H. and Weill M. Evidence of introgression of the ace-1 (R) mutation and of the ace-1 duplication in West African *Anopheles gambiae* s. s. 2008. *PLoS ONE.* 3(5):e2172.

Ben Cheikh R., Berticat C., Berthomieu A., Pasteur N., Ben Cheikh H. and Weill M. Genes conferring resistance to organophosphorus insecticides in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia. 2009. *J. Med. Entomol.* 46(3): 523-530.

Djogbenou, L., Labbe, P., Chandre, F., Pasteur, N. and Weill, M. Ace-1 duplication in *Anopheles gambiae*: a challenge for malaria control. 2009. *Malaria J.* 8:70.

Ecologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) chez les amérindiens Wayampi, les animaux sauvages et l'environnement à Trois-Sauts (Guyane)

Antoine Andreumont (antoine.andreumont@bch.aphp.fr, Univ. Paris7), Erick Denamur (INSERM et Univ Paris7), Félix Djossou (Hop. Cayenne), François Rousset (CNRS), François Catzleffis (CNRS), Marie-Elisabeth Bougnoux (Univ. Paris 5 et IP), Didier Guillemot (INSERM et IP), François Vandenesch INSERM et Univ. Lyon2).

Le projet ERAES est destiné à obtenir des informations sur les conditions de dissémination de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Il se situe dans le contexte de l'augmentation rapide de ces résistances au sein des bactéries pathogènes, augmentation qui, jointe à l'absence de découverte de nouvelles molécules antibiotiques, aboutit à des situations inquiétantes où les cliniciens peuvent manquer de moyens thérapeutiques. Le projet ERAES étudie un maillon essentiel de la dissémination de la résistance qui est celui du rôle des flores commensales dans ce processus.

Méthodologie

Des arguments indirects suggèrent que le niveau et les caractéristiques de la résistance bactérienne au sein des flores commensales est fonction de la distance à la source de pression de sélection et à son intensité. Toutefois, l'analyse de ces phénomènes est rendu difficile expérimentalement en raison de la multiplicité des sources antibiotiques sur le terrain (usages multiples, humains, animaux, et en agriculture de ces produits).

Le projet ERAES tire avantage de ce qu'il existe à l'extrême sud-est de la Guyane, au cœur de la forêt amazonienne, un village très isolé (Trois-Sauts) où vivent de façon encore traditionnelle une population sédentaire et ethniquement très homogène d'un peu plus de 500 amérindiens Wayampis. L'accès au village est difficile en raison de la distance au bourg le plus proche (deux jours de pirogues) et des restrictions administratives pour pénétrer dans la zone. Les contacts avec l'extérieur existent donc mais ils sont limités. L'unique source de pression de sélection antibiotique est constituée par les prescriptions des infirmiers qui résident de façon permanente au dispensaire du village pour assurer la santé de la population. Tous leurs actes sont soigneusement répertoriés.

Nous avons réalisé deux campagnes d'échantillonnage à Trois-Sauts, en Juin 2006 et en Octobre 2008. Des prélèvements de nez (pour l'analyse des populations de staphylocoques), de selles (pour celles des populations d'entérobactéries et de levures) et de salive (pour l'analyse du polymorphisme de l'ADN humain) ont été réalisés chez 164 adultes volontaires (rémunérés), ainsi que chez des animaux domestiques du village et chez des rongeurs et petits marsupiaux sauvages piégés à des distances précises du village (0 à 3000 m) le long d'un layon que nous avons tracé en forêt primaire non anthropisée. Des données épidémiologiques extensives sur les habitants ont en outre été recueillies ainsi que leurs antécédents médicaux et de prises de médicaments.

Résultats

Les résultats obtenus sont nombreux, hautement originaux (comme attendus) et, pour certains, encore en cours d'analyse. Au niveau nasal, nous décrivons une colonisation très importante à *S. aureus*, faite pour une large part de souches appartenant à un clone ancestral exceptionnellement retrouvé ailleurs dans le monde. Aucun facteur épidémiologique ou d'antécédent individuel n'est associé à ce portage qui apparaît en revanche associé à certains polymorphismes de l'ADN humain.

Au niveau intestinal, nous observons une émergence rapide de la résistance aux céphalosporines de troisième génération qui permet de décrire de façon privilégiée la circulation et le maintien, au sein

d'une population, de clones d'introduction récente. La résistance décroît de façon rapide chez les animaux avec la distance au village, fournissant un matériel de choix d'analyse de la structuration génétique de la résistance en fonction de la pression de sélection environnante.

Enfin la colonisation à levures des amérindiens est très spécifique par rapport à l'Europe, faite d'espèces retrouvées également chez les animaux domestiques et piégés.

Conclusion

Au total, la richesse des résultats en cours a incité à déposer une demande pour la réalisation de deux campagnes supplémentaires de prélèvements à Trois-sauts.

Ces deux aspects sont couverts par le projet SPOMESA en associant les compétences de deux départements de l'Onera : le DMPH (Département Mesures Physiques) et le DMSC (Département des Matériaux et Systèmes Composites). Plus particulièrement, l'Unité SLM (Source Laser et Métrologie) du DMPH prend en charge les développements optiques alors que l'activité de l'Unité CTF (Composites Thermostructuraux et Fonctionnels) du DMSC se concentre sur la synthèse et la croissance des matériaux.

Les travaux proposés couvrent une période de deux années avec pour objectif central de réaliser et valider les sources OPO à base de deux matériaux non linéaire infrarouge prometteurs : ZnGeP₂ et de AgGaGeS₄.

Après avoir introduit les objectifs de l'étude, l'exposé abordera la démarche suivie et détaillera les résultats obtenus au cours des premiers mois d'activité.

Impact du lagunage et de l'épandage de déchets organiques sur la diffusion et l'évolution de bactéries pathogènes de l'Homme

1- S. Nazaret, S. Favre-Bonté, Y. Richard, V. Rodriguez-Nava, R. Lavenir, C. Colinon, M. Neto, C. Pino, A. Graindorge, E. Brothier, E. Borges, F. Maurin, C. Monnez, L. Villard, et B. Cournoyer.

UMR5557 Ecologie Microbienne, Université Lyon 1, CNRS, et Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,

2- P. Piveteau, E. Lyautey, JP. Lemaître, M. Lemunier, D. Garmyn, B. Pivato, G. Depret, et A. Hartmann. UMR 1229 Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA et Université de Bourgogne,

3- G. Bodineau, J.N. Rampon, et S. Houot. UMR 1091 INRA-AgroParisTech « Environnement et Grandes Cultures »

Les bactéries pathogènes représentent une préoccupation constante en infectiologie. Malgré les précautions prises pour limiter leur transmission notamment en milieu hospitalier, les infections nosocomiales (c'est-à-dire acquise à l'hôpital) ou communautaires (c'est-à-dire extrahospitalière ou de ville) provoquées par les bactéries continuent leur progression. Peu d'études s'intéressent aux sources environnementales de ces bactéries pathogènes, aux milieux et conditions favorisant leur survie et leur diffusion, ainsi qu'aux mécanismes adaptatifs leur permettant de coloniser différentes niches écologiques. Pourtant, la phase environnementale du cycle de transmission de ces bactéries à l'homme représente une source d'exposition majeure.

Objectifs

(1) Evaluer l'influence de deux pratiques de gestion des déchets (épandage de déchets organiques agricoles et urbains sur les terres agricoles, et le lagunage des eaux usées domestiques) sur la survie, la multiplication et la diffusion de bactéries pathogènes dans l'environnement. (2) Comparer la diversité génétique et métabolique des souches de ces agents pathogènes, issues de l'environnement, avec celle observée chez les souches cliniques communautaires ou de l'environnement hospitalier. Une attention particulière a été portée aux potentiels de virulence et de résistance aux antibiotiques.

Principaux résultats

L'étude des deux pratiques de gestion des déchets – (1) épandage de déchets compostés dans les sols agricoles, et (2) lagunage des eaux usées - ont apporté de multiples éléments à la compréhension des facteurs influençant la dissémination des agents pathogènes dans l'environnement. Pour illustrer le point 1, nous avons pu observer une absence de populations significatives des formes cultivables de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Burkholderia* du complexe *cepacia* (Bcc) et d'*Aeromonas caviae* dans les sols sous culture d'orge et de maïs pour le site agricole de l'étude, en opposition à une forte abondance de l'espèce *Stenotrophomonas maltophilia*, et à une détection d'espèces pathogènes de *Nocardia* et de *Listeria monocytogenes* dont des souches présentant un sérotype identique à celui de souches responsables de cas de listériose. Les composts et fumiers épandus sur le site agricole de cette étude présentaient des concentrations en entérocoques intestinaux et *Escherichia coli* proches des maxima réglementaires. Cependant, outre ces bactéries, le fumier de bovins présentait également une concentration significative de *S. maltophilia*. Les épandages de composts d'ordures ménagères grises semblent avoir favorisé transitoirement une augmentation des effectifs de *S. maltophilia*, et ceux de fumier de bovins une augmentation des *Nocardia* spp. dans les sols cultivés mais ces résultats nécessiteront des validations par des approches plus fines telles que la PCR quantitative. Les composantes du sol sembleraient être à l'origine de la contre-sélection de certaines espèces pathogènes.

En ce qui concerne le point 2, les effets du lagunage des eaux usées sur les agents pathogènes bactériens, nous avons observé une bonne survie des espèces *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila*, et d'espèces du Bcc dans ces systèmes. Les souches de lagunes d'*A. caviae* et *P. aeruginosa* ont montré des niveaux élevés de diversité infra-spécifique tandis que la diversité chez les Bcc a été jugée faible, suggérant une capacité d'acclimatation moindre à ce milieu. Le lagunage semble avoir un effet sur la sélection de certains variants génétiques de *P. aeruginosa*, et pourrait favoriser les transferts horizontaux d'ADN et les réarrangements génétiques au sein de cette espèce.

Les analyses comparatives de la diversité génétique des souches environnementales et cliniques ont permis d'observer des clones communs aux deux milieux, lagune et hôpital, confirmant les dangers associés aux souches environnementales.

Remerciements : Nous remercions M. Poitrenaud et P. Gourland du Centre de Recherche sur la Propreté - Veolia Environnement, pour les aides apportées au maintien du site Qualiagro de Feucherolles.

Projet ISNATOX : Production de standards internes de toxines d'origine naturelle uniformément enrichis par des isotopes stables

Marcel DELAFORGE, CEA Saclay, iBiTec-S SB2SM marcel.delaforge@cea.fr

Michel PEAN, CEA Cadarache, DEVM/GRAP michel.pean@cea.fr

Olivier PUEL, INRA Toulouse opuel@toulouse.inra.fr

Objectifs

L'objet du projet était de préparer spécifiquement des mycotoxines enrichies par des isotopes stables et contenant moins de 0.01% de composé entièrement ^{12}C ; ces composés pouvant être utilisés comme standard interne permettant ainsi des mesurages précis dans des matrices complexes.

Résultats

Il est possible de produire des métabolites secondaires d'origine fongique à des taux d'enrichissement isotopiques élevés allant de 40 à 100% et contribuant à moins de 0.01% du signal de la masse nominale du composé en spectrométrie de masse. Les quantités produites lors des cultures fongiques sur support végétal solide sont comparables à celles obtenues dans les cultures réalisées sur milieu liquide.

Il existe cependant lors de la phase de culture des végétaux (blé Cap Horn) sous atmosphère confinée une remobilisation de la matière organique. Ceci se traduit par un passage de la matière organique des tiges et feuilles vers les grains en formation et donc une variation possible du taux d'enrichissement isotopique final (^{13}C et ^{15}N).

Cette biomasse végétale isotopiquement enrichie est ensuite utilisée comme nutriment pour des champignons filamenteux. Aucun effet isotopique n'a été observé lors de la production par *Penicillium brevicompactum*, de l'acide mycophénolique, un médicament, alors qu'un faible effet isotopique (préférence de l'isotope ^{13}C) a été observé lors de la production par *Fusarium graminearum* de zéaralénone, un perturbateur endocrinien. Il n'a cependant pas été possible de déterminer si cet effet dépendait de la souche fongique ou de l'utilisation de différents nutriments provenant de la biomasse végétale. De même aucun effet isotopique n'a été observé lors des études métaboliques de ces mycotoxines en utilisant des préparations subcellulaires hépatiques humaines ou animales.

Ces molécules produites sont aisément analysables par les méthodes classiques séparatives (HPLC, Chromatographie Liquide Haute Performance), d'identification et de quantification (spectrométrie de masse) permettant leur utilisation comme standard interne et leur suivi dans des matrices complexes. Ces molécules ont permis d'initier de nouvelles études focalisées sur les effets de mélange de composés et de leurs effets sur les enzymes de détoxification des mammifères.

Débouchés

Un marché potentiel de fourniture de ces mycotoxines enrichies (et plus généralement des produits d'origine naturelle) existe que ce soit au niveau dosage mais aussi pour étudier leur devenir chez l'homme ou l'animal. Il concerne :

- le secteur Agro-alimentaire depuis la matière première (céréales, arachides, fruits secs,) aux produits finis (semoules, farine, pizza, pain, céréales petit-déjeuner);
- le contrôle des produits d'importations, les services des fraudes;
- les analyses fines pour l'utilisation comme Standard Interne ou dans des études pharmaco ou toxico-cinétique ;
- les médicaments d'origine naturelle et les études pharmacologiques du composé parental et des métabolites ;
- l'environnement (lieux contaminés par des moisissures, y compris lieux de travail), la meunerie, les fermes, l'habitat rural ou urbain.

Savoirs faire acquis et licenciables

- Les cultures de végétaux sous atmosphère contrôlée durant tout le cycle végétatif (plusieurs mois), cultures hors-sol (support vermiculite et contrôle des apports de carbone, d'azote, O₂,...);
- Le suivi fin des conditions de cultures (température, hygrométrie, gaz, nutriments azotés, incorporation carbone, ...);
- Les cultures de micro-organismes (champignons, bactéries) sur biomasse organique solide (grains, tige, papier peint, ...), plusieurs centaines de souches sont disponibles;
- La caractérisation des souches et des micro-organismes produits;
- La caractérisation des mycotoxines et métabolites secondaires produits dans des matrices complexes;
- Les études métaboliques et de transport de ces composés dans des cellules animales, utilisation des systèmes cellulaires ou acellulaires d'origine humaine ou animale.

Le document d'orientation scientifique
« Santé-environnement et santé-travail –
Nouvelles perspectives de recherche »,
rédigé en mars 2005, ainsi que les papiers
de synthèse sur les différents projets
présentés lors du colloque des 9, 10 et
11 décembre 2009 sont disponibles sur :

www.agence-nationale-recherche.fr

CONTACT :

colloqueSEST@agencerecherche.fr