

Contaminants et environnements : constater, diffuser, décider

Les Cahiers de l'ANR - n°6

décembre 2012



Les Cahiers de l'ANR traitent de questions thématiques transverses aux différents appels à projets financés par l'ANR. Cette collection met en perspective les recherches, les innovations et les avancées technologiques en cours dans un domaine spécifique. Quels sont les enjeux technologiques, sociétaux, économiques, prospectifs ? Quelles sont les actions de l'ANR ?

Sans prétention d'exhaustivité, l'objectif est d'explicitier les grandes problématiques. Il est fait référence aux différents projets de recherche financés par l'ANR. Une présentation synthétique des projets est proposée.

Chaque Cahier permet donc d'approfondir la connaissance scientifique du domaine choisi. Il s'adresse aux chercheurs, aux décideurs mais aussi à un large public. L'importance et la diversité des projets de recherche et des équipes scientifiques sont ainsi mises en lumière.

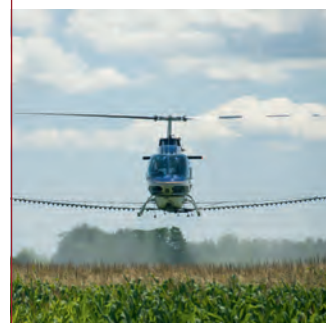
Les Cahiers de l'ANR sont également téléchargeables en ligne : www.agence-nationale-recherche.fr



**Ce Cahier n°6 a été conçu par
Pierre Caumette, Catherine Mouneyrac
et André Guillouzo avec le concours
d'Edith Hourcade et Aline Tournier.**

Nous remercions l'ensemble des contributeurs et plus particulièrement Michel Griffon, Robert Barouki, Jean-Michel Heard et Maurice Héral.

Photos couverture - © : SBBA et Pierre Caumette



avant-propos

L'activité productive des sociétés a toujours été accompagnée de conséquences inattendues que l'on qualifie aujourd'hui « d'effets externes » : par exemple très tôt dans l'histoire par l'utilisation du plomb, plus généralement par les concentrations d'éléments polluants et leurs effets sanitaires. La révolution industrielle a constitué un pas important dans l'anthropisation de la planète et de la biosphère par l'utilisation de réserves énergétiques fossiles et ses conséquences environnementales. L'avènement de l'industrie chimique a fait franchir un pas encore plus significatif par l'invention de molécules nouvelles quelquefois faiblement biodégradables.

Chaque concentration d'éléments, chaque nouvelle molécule introduit des changements dans le fonctionnement des écosystèmes. Beaucoup sont, semble-t-il, limités et sans conséquences avérées. Certains changements peuvent tout au contraire être dangereux pour l'environnement, pour la santé animale et humaine, un cas extrême ayant été celui des Chlorofluorocarbones et leur effet sur l'Ozone stratosphérique. On découvre certains de ces dangers au fil du temps, souvent avec un long décalage entre la contamination et ses effets avérés et démontrés. Et avec le temps, les sociétés supportent de moins en moins ces effets environnementaux et pathogènes, au point que chaque nouvelle découverte d'un de ces effets délétères devient potentiellement un « scandale » sanitaire. Ceux-ci sont de plus en plus nombreux et leur accumulation constitue un des faits sociaux les plus significatifs de l'époque moderne.

Aussi, est-il permis de penser que, parmi les dizaines de milliers de molécules inventées depuis la révolution industrielle, il est vrai-

semblable que certaines d'entre elles ont des pouvoirs pathogènes non encore identifiés. En conséquence, les analyses préalables à la mise en marché de molécules nouvelles ont été renforcées, particulièrement dans le domaine des produits phytosanitaires. L'Europe a réagi avec la procédure REACH (règlement sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques). Cette réglementation réduit le champ des risques mais ne les élimine pas. L'interaction des contaminants avec la biosphère revêt un si grand nombre de formes possibles qu'il est sans doute impossible de prévoir avec précision les effets de telle ou telle invention chimique.

Dès lors, il était nécessaire d'investir dans la connaissance des mécanismes écologiques et sanitaires qui caractérisent les contaminants : leur stabilité et leur rémanence, leur devenir dans les écosystèmes (transformation, métabolisation), leur mode d'action (directe ou indirecte, action spécifique ou action combinée par effet « cocktail »), leurs effets physiques, chimiques, biologiques sur la biosphère (microbes, flore, faune, humains). A partir de 2007, cette perspective « écosystémique » et intégrative innovante, partagée par l'AFSSA et l'ANR, a guidé la rédaction des appels à projets, incitant les différentes disciplines à collaborer afin d'avoir une vision plus large des problématiques et plus pertinente des voies d'action qui résultent des analyses.

Ce cahier de synthèse sur les contaminants et l'environnement s'inscrit dans cette perspective innovante.

Michel Griffon

Conseiller scientifique de l'ANR

Le grand écart

Observer une mine faisant vivre plusieurs villages, identifier les métaux contaminant la terre, les aliments et les cours d'eau, analyser l'exposition des ouvriers à ces contaminants, étudier le développement neurocognitif des enfants des ouvrières et des ouvriers, rechercher des marqueurs biologiques de la contamination par des techniques « omiques » et les intégrer grâce à la biologie des systèmes, comprendre comment les cellules sont affectées par les contaminants et envisager des voies thérapeutiques ou préventives, comprendre le comportement des villageois ballotés entre le besoin économique et les craintes de contamination : ces exemples nous donnent une idée du grand écart que l'étude de la toxicité des contaminants impose aux chercheurs. En voici d'autres : étudier les voies d'élimination des médicaments, observer la contamination des écosystèmes par des molécules diverses et particulièrement actives, rechercher les effets sanitaires des eaux contaminées ; observer la contamination de la Baltique par les dioxines et les PCB, le degré de contaminations des saumons, étudier la population de pêcheurs dont l'alimentation est très enrichie en saumon, étudier leurs effets sur le développement des enfants, etc. La liste est longue et illustre le continuum que constitue l'étude des effets de la pollution sur la santé des écosystèmes et la santé humaine.

Les disciplines

Plusieurs disciplines sont concernées par le domaine santé-environnement et c'est bien la difficulté mais aussi l'intérêt de ce domaine que de nécessiter ces apports multiples et complémentaires. Une vision globale des effets de la pollution nécessite des analyses allant de la structure chimique et physique du contaminant, à sa diffusion dans les milieux inertes et vivants, à ses effets sur les écosystèmes et sur les populations humaines. Il n'est pas nécessaire que chaque étude comporte une analyse exhaustive de l'ensemble de ces paramètres, mais il est souhaitable qu'elles s'intègrent dans une vision d'ensemble. En ce sens là, le domaine santé-environnement est particulier et ses difficultés intrinsèques engagent à valoriser de multiples compétences.

Les orientations

Le grand écart n'est pas seulement celui que l'on doit faire entre différentes disciplines, il réside également au sein de chacune d'elles entre les approches fondamentales cognitives et celles à visée opérationnelle, voire réglementaires. En effet, toxicologie et écotoxicologie ont longtemps été considérées

comme des sciences appliquées visant à définir des tests à vocation réglementaires. C'est un objectif noble qui peut être revendiqué, mais il est très partiel et réducteur. La réalité est qu'il s'agit d'étudier les interactions entre un organisme vivant et son environnement, lesquelles sont une condition essentielle de la vie. Des mécanismes d'adaptation sophistiqués (ou stress) sont mis en jeu pour assurer la survie des organismes confrontés à une agression chimique, biologique et physique. Il en est de même des équilibres des écosystèmes. La toxicité s'exprime lorsque l'adaptation est mise en défaut ou lorsqu'elle est sollicitée de manière excessive. Les activités humaines ont considérablement augmenté qualitativement et quantitativement le poids et la diversité des menaces, et mis à rude épreuve les mécanismes adaptatifs, ce qui a conduit à un accroissement des phénomènes toxiques. Pour bien comprendre les effets des contaminants, il est nécessaire de bien connaître les stress qu'ils induisent dans le système cible, que ce soit un organisme vivant ou un écosystème complet. Les stress permettent de répondre aux menaces, mais sont eux-mêmes générateurs de toxicité à long terme. C'est en s'appuyant sur ces connaissances très fondamentales qu'une meilleure connaissance des mécanismes toxiques peut être acquise, et de nouveaux

tests proposés. Les tests réglementaires doivent régulièrement se nourrir des données fondamentales. Les approches fondamentales et réglementaires sont distinctes et doivent le rester, mais elles sont intimement liées.

L'espace

La prise en compte de l'espace s'impose quand on considère les écosystèmes et la diffusion des polluants à travers différentes matrices. Elle s'impose également pour la contamination humaine, l'espace de diffusion d'un polluant étant la base sur laquelle des travaux peuvent être entrepris. Cette notion est d'autant plus pertinente que nous réfléchissons désormais en termes de mélanges de contaminants. Or ces contaminants peuvent être véhiculés simultanément par l'air, par l'eau et par les aliments. Une vision très intégrée est donc nécessaire.

L'étude des toxicités s'appuie de plus en plus sur les données des études dites « omiques » et leur modélisation par la biologie de systèmes. C'est par ces approches méthodologiques que l'étude des mélanges pourra être rationalisée. Mais il est nécessaire d'aller plus loin et d'ajouter ce nouvel « ome » qu'est l'exposome qui englobe l'ensemble des expositions, leurs combinaisons et leur évolution au cours du temps. C'est un nouveau défi pour les années à venir.

Le temps

Nous avons évoqué l'intrication de l'adaptation et de la toxicité que ce soit pour les écosystèmes ou pour les organismes vivants. Selon les organismes, l'adaptation peut être rapide (élimination ou dégradation du contaminant) ou longue avec la mise en jeu de facteurs génétiques ou épigénétiques. Aujourd'hui de nombreux chercheurs pensent que les effets à long terme des contaminants, toxiques ou adaptatifs, sont les plus importants, et qu'ils pourraient expliquer la forte augmentation de la prévalence de certaines maladies métaboliques, de certains cancers ou de certains troubles cognitifs. De nombreux mécanismes pourraient expliquer les effets à long terme. Parmi eux, une attention particulière est donnée

aux mécanismes épigénétiques, lesquels pourraient rendre compte de la vulnérabilité à certains stades du développement et de l'apparition de toxicités différées à distance de l'exposition. Ainsi, dans certains cas, une exposition à un contaminant pendant la période foetale ne pourrait se traduire cliniquement qu'à l'âge adulte. Des mécanismes de toxicité transgénérationnels ont aussi été proposés, et observés dans certains modèles. Pour ces raisons, le concept d'exposome comporte une notion temporelle qui vise à intégrer l'ensemble des expositions non pas seulement à un moment donné, mais sur la totalité de la vie (voire au-delà si les mécanismes transgénérationnels sont avérés). La notion de temps est essentielle au concept de cycle de vie des contaminants afin d'intégrer l'ensemble des événements allant de leur production à leurs effets biologiques.

Ces quelques réflexions montrent à quel point le domaine santé-environnement doit intégrer des disciplines, des approches et des points de vue multiples, différents et complémentaires. Encore une fois, il n'est pas nécessaire que chaque étude inclue ces différentes dimensions, mais il est utile que des projets complémentaires soient organisés dans des programmes ou sous-programmes cohérents afin de produire une vision d'ensemble. Les exemples des interactions entre les organismes vivants et les ondes électromagnétiques, les nanoparticules, ou les perturbateurs endocriniens montrent que ce domaine est aussi l'objet de nombreuses controverses souvent liées à la crainte que le progrès technologique soit principalement orienté vers l'innovation et la performance, sans se préoccuper suffisamment de la sécurité des produits. Or la sécurité est un gage de durabilité et d'ailleurs, la créativité peut aussi s'exercer dans ce sens là. Il est clair que nos concitoyens sont préoccupés par ces questions et attendent les réponses des scientifiques. C'est un défi à relever. Un grand écart peut être difficile et douloureux ; celui-là est indispensable et salutaire.

Robert Barouki

*Professeur de Toxicologie
Université Paris Descartes, INSERM
Président du Comité
d'évaluation du programme ANR CESA*

résumé

Les différentes activités humaines et les développements technologiques qui y sont associés génèrent une diversité et des quantités toujours croissantes d'agents physiques ou chimiques ayant un pouvoir contaminant et des risques potentiels sur la santé humaine, animale et/ou végétale.

Afin de mieux évaluer et de prévenir ces risques, comme d'y remédier, il est nécessaire d'amplifier nos connaissances conjointement sur la caractérisation et le devenir des contaminants physiques, chimiques ou biologiques et de leurs produits de transformation dans l'environnement, sur leurs effets potentiels sur la santé humaine, animale et végétale en fonction des expositions, ainsi que sur l'équilibre et la santé des écosystèmes.

Depuis sa création en 2005, l'ANR a souhaité soutenir des recherches fondamentales et appliquées dans le domaine de la santé environnementale et notamment dans les thèmes suivants :

- ◆ Effets des stress environnementaux sur la santé humaine ;
- ◆ Effets des contaminants chimiques sur la santé au niveau des écosystèmes, des plantes, des animaux et des hommes ;
- ◆ Impacts des contaminants physiques, chimiques et biologiques sur la santé humaine : maladies respiratoires, perturbations endocriniennes, cancers, maladies neurodégénératives.

3 programmes ont été mis en œuvre par l'ANR depuis 2005 : Santé-Environnement et Santé-Travail (2005-2007), Contaminants Ecosystèmes et Santé (2008-2010) et Contaminants Environnements, Santé, Adaptabilité et Usages (2011-2013). Ces programmes contribuent ainsi à la mise en œuvre du volet recherche du plan Cancer 2009-2013, du Plan National Santé Environnement (PNSE 2), des Plans de santé environnementale « chlordécone 2011-2013 » et « Résidus des médicaments dans les eaux 2010-2013 » et du Plan National de Réduction des Pesticides (Ecophyto 2018).

A noter qu'au-delà de l'acquisition de connaissances, la mise en place de nouveaux règlements nationaux (Directive Cadre sur l'Eau) et internationaux, tel que le règlement « REACH » (Registration, Evaluation and Authorization of CHemicals), imposent la mise au point et le développement de nouvelles méthodes alternatives pour la mesure, la modélisation et la caractérisation des contaminants physiques ou chimiques et de leur effets.

Ces programmes ont pour objectif premier d'apporter une meilleure connaissance fondamentale sur les contaminants afin d'identifier les mesures de prévention adaptées pour réduire leurs effets potentiellement nocifs sur les écosystèmes et la santé humaine, animale et végétale. Les questions plus particulièrement nécessaires à approfondir concernent les distributions et les transformations des contaminants ainsi que leurs transferts entre les différents compartiments des écosystèmes. Elles concernent également leurs utilisations et in fine leurs effets sur la santé humaine animale et végétale, sur la santé environnementale et l'équilibre des écosystèmes et les risques sur les populations à travers des études de physiopathologie,

de biologie fonctionnelle et moléculaire, d'épigénomique, et d'épidémiologie, que ce soit dans des environnements ruraux, urbains ou industriels.

Ces programmes ont eu également pour objectif de contribuer à la structuration de communautés scientifiques pluridisciplinaires afin de développer des méthodes innovantes de mesure analytique (métrologie), de nouvelles techniques de détection des contaminants et de leurs produits de transformation, et de nouveaux outils d'écotoxicologie et de toxicologie.

Le présent cahier propose une présentation des travaux issus des projets de recherche qui ont été financés dans les appels à projets issus de ces 3 programmes de recherche. Ces travaux sont présentés sous formes de fiches par projets regroupées selon les thèmes des appels à projets. Quelques travaux relevant de la même problématique dans d'autres appels à projets sont aussi présentés dans ce cahier.

Partie 1
Contaminants et environnements : constater, diffuser, décider



Partie 2
85 projets financés par l'ANR

Est présentée ici une liste non exhaustive de 85 projets financés depuis 2005



sommaire

PARTIE 1 : Constat, diffuser, décider

1. Contaminants :	
Historique, anthropisation, production de contaminants, définition de contaminants, contaminants émergents	8
• Définition et historique	8
• Les différents types de contaminants	9
• Éléments essentiels et éléments toxiques	14
• Production de contaminants	14
• Contaminants émergents	15
2. Contamination :	16
Métrologie (détection, analyses traces, nouveaux outils) utilisation et dispersion (dans les 4 compartiments) ; environnement naturels vs environnement urbain et industriels cocktails	
3. Interactions avec l'environnement	19
• Impacts des contaminants sur l'environnement, perturbations biologiques	19
• Devenir des contaminants dans l'environnement	23
4. Effets sur la santé humaine	33
• Approches et mécanismes	33
• Contaminants et effets toxiques	36
• Principales pathologies humaines causées par des contaminants	46
Bilan des programmes ANR	50

PARTIE 2 : 85 projets financés par l'ANR

1. Devenir des contaminants	57
2. Contaminants et écosystèmes	84
3. Contaminants et santé	102
Bibliographie	156

Partie 1

Constater, diffuser, décider

Les différentes activités humaines et les développements technologiques qui y sont associés génèrent une diversité et des quantités toujours croissantes d'agents physiques, chimiques ou biologiques ayant un pouvoir contaminant et présentant des risques potentiels sur la santé humaine, animale et/ou, végétale et sur les écosystèmes.

Afin de mieux évaluer et de prévenir ces risques, voire d'y remédier, il est nécessaire d'élargir nos connaissances sur la caractérisation et le devenir dans l'environnement de ces contaminants et de leurs produits de transformation, ainsi que sur leurs effets sur la santé humaine, animale et végétale et sur les écosystèmes, y compris sur la biodiversité.

Il est donc important d'amplifier les recherches sur :

- ◆ l'optimisation de l'utilisation des ressources et des activités de production et de services en tenant compte des dangers et des risques sur les écosystèmes et la santé humaine, animale et végétale ;

- ◆ la prévention des éventuels impacts négatifs des contaminants de l'environnement sur la santé humaine et animale, et l'élaboration de mesures pour la réduction des expositions ;

- ◆ le développement de méthodes d'étude des mécanismes d'action des contaminants seuls ou en mélange au cours d'expositions courtes ou prolongées ;

le développement de méthodes innovantes et de pratiques dans les domaines de la prévention, la substitution, la réduction des expositions, la remédiation, et la restauration des environnements contaminés... qui prennent en compte les effets sur les écosystèmes et sur la santé humaine, animale et végétale. De nombreuses questions peuvent ainsi

être posées quant à la détection et la caractérisation de ces contaminants dans l'environnement, leur devenir et leurs effets sur les écosystèmes, leur impact sur la santé des organismes ou des populations exposés en général à des mélanges, le plus souvent à faibles doses et de façon chronique. Ces questions et ces préoccupations sont à l'origine de la mise en place des volets recherche des plans nationaux de Santé et Environnement (PNSE), de santé environnementale (plan chlordécone et résidus médicamenteux), du plan de réduction des pesticides, par les ministères concernés de la santé et de l'environnement. De plus, des directives nationales (directive cadre sur l'eau) ou européennes (directive REACH) imposent aujourd'hui la caractérisation des contaminants chimiques et physiques et de leurs effets toxicologiques et écotoxicologiques. Il est ainsi nécessaire de renforcer les recherches en toxicologie et écotoxicologie pour mieux définir et comprendre les effets potentiels de ces agents sur la santé, notamment lors d'expositions à doses réa-

listes. Depuis quelques années, plusieurs programmes de recherche (ministère chargé de l'environnement, ANR ...) ont été ouverts pour répondre à ces préoccupations.

Trois programmes de recherche, thématiques et spécifiques, relatifs aux contaminants dans l'environnement et leurs effets sur la santé ont permis de financer 197 projets, réunissant environ 500 équipes de recherche depuis 2005. Le programme SEST (Santé Environnement et Santé Travail) de 2005 à 2007, le programme CES (Contaminants, Ecosystèmes et Santé) de 2008 à 2010 et le programme CESA (Contaminants, Environnements, Santé, Adaptabilité et usages) depuis 2011. En plus de ces programmes, plusieurs projets relatifs à ces thématiques ont été financés dans le programme non thématique ou dans des programmes plus spécifiques sur les nanoparticules ou l'alimentation.

Ce cahier présente des travaux réalisés dans le cadre de ces programmes de recherche. De nombreux projets sont encore en cours de réalisation ; aussi, ce cahier ne réunit qu'une partie des projets financés.

1 CONTAMINANTS : HISTORIQUE, ANTHROPISATION, PRODUCTION DE CONTAMINANTS, DÉFINITION DE CONTAMINANTS, CONTAMINANTS ÉMERGENTS

DÉFINITION ET HISTORIQUE

La pollution résulte directement ou indirectement de l'activité humaine mais également de phénomènes naturels tels que les éruptions volcaniques. Cette pollution correspond à une dégradation de l'environnement par l'introduction dans l'air, le milieu aquatique ou les sols et sédiments de matières dites polluantes non présentes naturellement dans le milieu.

Le polluant a pour définition la plus souvent retenue : un perturbateur biologique, physique ou chimique, qui au-delà d'un certain seuil, et parfois dans certaines conditions, développe des impacts négatifs sur tout ou partie d'un organisme vivant, d'un écosystème ou de l'environnement en général. Ceci revient à définir le polluant comme un contaminant ou un agent néfaste d'un ou plusieurs compartiments des écosystèmes (air, eau, sol), et/ou d'un organisme (végétal, animal et homme). Les polluants peuvent être classés selon leur nature (substance matérielle, solide, liquide ou gazeuse, d'origine minérale ou organique, ou rayonnement), selon leurs cibles dans l'environnement (plantes, animaux, homme), selon leurs cibles internes à un organisme (neurotoxique, perturbateur endocrinien, etc.),

selon les compartiments de l'écosystème qu'ils affectent (polluants de l'eau, de l'air, des sols), selon leur mode d'action (directe, indirecte en synergie, etc.) ainsi que selon la durabilité de leurs effets (devenir dans l'environnement, demi-vie, dose-effet, etc.). Les produits de dégradation ou de transformation des polluants dans l'environnement (résidus ou métabolites) peuvent aussi être des polluants, avec parfois un pouvoir toxique plus élevé que le produit d'origine (substance mère).

LES DIFFÉRENTS TYPES DE CONTAMINANTS

Contaminants physiques

Ondes électromagnétiques (ondes EM)

Depuis son origine, l'homme sur la Terre vit dans un environnement électromagnétique naturel issu du champ magnétique terrestre. L'environnement électromagnétique naturel dans lequel l'homme baigne depuis toujours résulte des interactions entre le champ magnétique terrestre et le vent solaire (composé de radiations et de particules chargées issues du soleil).

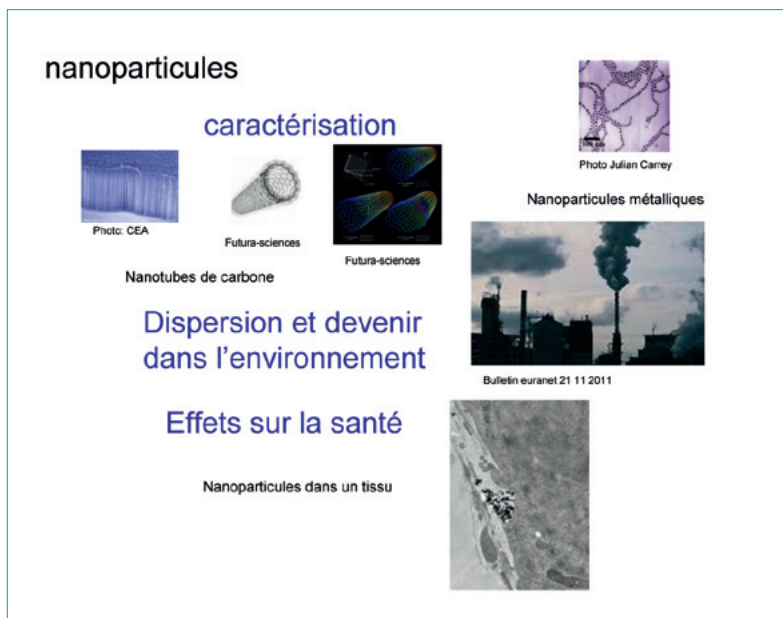
Depuis quelques dizaines d'années, de très nombreux appareils de consommation courante ont été produits et génèrent des ondes EM. On peut citer les téléphones mobiles et les antennes relais, les postes de radio, les écrans de TV, les plaques à induction, les fours à micro ondes, les radiateurs électriques, ainsi que les activités de radiothérapie et les lignes à haute tension. Une onde électromagnétique est la combinaison de deux «perturbations», l'une est électrique, l'autre est magnétique. Ces deux perturbations, qui oscillent en même temps mais dans deux plans perpendiculaires, se déplacent à la vitesse de la lumière. Pour générer un champ électromagnétique, il suf-



Certains contaminants chimiques sont à l'origine de perturbations endocrines agissant essentiellement sur la fertilité et la glande thyroïde
© : Magazine de l'Université de Lausanne, 27 octobre 2003

fit à la fois de produire un champ électrique par la présence de charges électriques et un champ magnétique en provoquant le déplacement de ces mêmes charges électriques. Les ondes EM ne sont alors que la propagation couplée de ces deux champs ainsi créés.

Les ondes EM interagissent avec la matière selon la quantité d'énergie qu'elles transportent. Les ondes de très haute fréquence qui transportent beaucoup d'énergie sont dites ionisantes et peuvent altérer l'ADN de la cellule et provoquer des cancers. Ce sont par exemple les rayonnements ultraviolets, les rayons X. Les ondes de plus faible fréquence ne sont pas ionisantes (micro-ondes, téléphones mobiles, etc.). Leurs effets sur la santé sont beaucoup plus difficiles à évaluer. Dans ce domaine, la relation entre environnement et santé est très difficile à établir : comment affirmer que tel ou tel symptôme a pour origine une exposition électromagnétique ? Il existe une multitude d'études réalisées sur les effets des ondes électromagnétiques, dont les premières ont parfois plus de 20 ans. Dans de nombreux cas, les travaux sont réalisés de façon mo-



nodisciplinaire : épidémiologie, études en milieu professionnel, toxicologiques...

Plusieurs études expérimentales sur des cellules ont mis en évidence la survenue d'altérations fonctionnelles telles qu'une modification du transfert des ions Ca^{++} du cytoplasme vers les membranes cellulaires.

Radiations et radioéléments

Radiations non ionisantes : le photon (en matérialisant l'onde par le photon) transporte peu d'énergie (il s'agit des radiations de fréquence inférieure aux UV) et ne peut donc interagir avec le corps que par diffusion. Il transfère son énergie à la matière en énergie cinétique dont la conséquence est une élévation de la température. En effet, on peut trouver plusieurs exemples de radiations «chauffantes» : le soleil (radiations du visible), le radiateur (radiations infrarouges), même le corps humain (rayonne de l'énergie sous forme d'infrarouges). Cette énergie chauffante est non ionisante, elle n'attaque pas la structure de la matière si ce n'est, dans les cas extrêmes, en causant des brûlures.

Radiations ionisantes : les rayonnements chauffants existent quel que soit le type d'ondes EM, mais lorsque l'énergie transportée est supérieure à 13eV, il se produit un autre phénomène. En effet, quand le rayonnement est supérieur à quelques dizaines d'eV, les ondes arrachent les électrons des atomes de la matière ; elles modifient ainsi les molécules. Dans l'eau, il se forme des radicaux libres qui peuvent se fixer sur l'ADN, et induire une cassure sur les brins d'ADN. L'information génétique est donc atteinte, et ceci peut induire une modification du fonctionnement de la cellule et générer des cellules tumorales ou cancéreuses.

Micro- et nanoparticules

Les micro-particules sont des particules insolubles minérales, organiques ou métalliques dont le diamètre est supérieur à 100 nm et se situe en général dans la fourchette du micromètre voire plusieurs dizaines de micromètres. On peut citer par exemple les microparticules d'amiante ou bien les poussières de charbon dans les mines, ou autres poussières fines atmosphériques. Les nanoparticules comprennent les particules ultrafines et les nanomatériaux issus de l'industrie. La littérature scientifique est relativement riche d'informations sur la toxicité des particules ultrafines, qui sont définies comme ayant un diamètre aérodynamique inférieur à 100 nm. Ces particules ultrafines sont souvent reliées à la pollution atmosphérique et proviennent alors principalement des produits indésirables formés lors de procédés de combustion, souvent à travers des procédés industriels. Les émissions de moteurs diesels, les fumées de soudage et les cendres volantes en sont des exemples. Les informations sur la toxicité de ces produits de combustion, souvent de mêmes dimensions que les nanoparti-

cules, sont beaucoup plus nombreuses que sur les nouvelles nanoparticules produites intentionnellement (nanotubes de carbone, fullerènes, nanoparticules métalliques, etc) dont la taille varie entre quelques nanomètres et plusieurs dizaines de nanomètres. Pour ces nanoparticules, des recherches sur leur détection, leurs qualités physiques et chimiques dans l'environnement ainsi que sur leur rôle potentiel toxicologique ou écotoxicologique, doivent être développées.

Contaminants chimiques

Contaminants et xénobiotiques

Le terme de xénobiotique regroupe l'ensemble des produits chimiques de synthèse qui n'existent pas naturellement et qui sont liés à l'activité humaine. Les plus importants en terme de risque pour l'environnement sont les Poly-ChloroBiphényles (PCB), les chlorophénols, les pesticides, les solvants chlorés, les hydrocarbures aliphatiques chlorés, les plastiques, les munitions, etc. Les PCB et les hydrocarbures représentent parmi toutes les molécules xénobiotiques, celles qui ont le plus fort impact sur les écosystèmes, à la fois par l'utilisation extensive qui en est faite et par leur toxicité.

Substances organiques

Les substances organiques considérées comme des contaminants/polluants sont essentiellement les pesticides (ou produits phyto-sanitaires), les hydrocarbures, les plastifiants et les médicaments ou résidus médicamenteux déversés dans l'environnement et qui peuvent avoir un effet indésirable voire toxique sur les organismes exposés. Le terme pesticide est une appellation générique qui désigne les substances naturelles ou de synthèse destinées à éliminer les organismes dits nuisibles en agricul-

ture mais aussi dans l'habitat ou en santé publique. Il existe 5 grandes catégories de pesticides : les insecticides et acaricides utilisés dans la lutte contre les insectes et les acariens ; les fongicides et algicides utilisés contre les micro-organismes, les algues et les champignons, les rodenticides employés contre les rongeurs, les nématicides contre les vers et les herbicides contre les herbes dites nuisibles ou « mauvaises » en agriculture et dans les jardins. En fonction de nature chimique, on distingue des composés organo-chlorés, des organo-phosphorés, etc.

Les hydrocarbures

Les hydrocarbures qui sont, au sens strict, des composés exclusivement constitués d'hydrogène et de carbone peuvent être classés en composés saturés, insaturés et aromatiques. Les hydrocarbures saturés sont regroupés en trois familles : les alcanes linéaires, les alcanes ramifiés et les cycloalcanes. Les cycloalcanes (également appe-



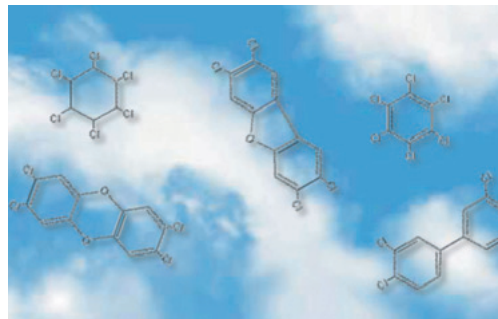
Exemple d'un milieu lagunaire ayant reçu une contamination chimique entraînant la mortalité des organismes vivant dans cet écosystème - © : Pierre Caumette

lés hydrocarbures alicycliques ou naph-
tènes), comportent un cycle saturé et sont
principalement constitués de dérivés alkylés
du cyclopentane et du cyclohexane. Les
hydrocarbures insaturés sont constitués
de deux grandes classes de composés :
les alcènes qui possèdent une à plusieurs
double(s) liaison(s), et les alcynes compor-
tant une ou plusieurs triple(s) liaison(s). Les
hydrocarbures aromatiques comportent
un ou plusieurs cycles aromatiques : les
composés monoaromatiques (benzènes et
autres BTEX) ou polyaromatiques, ces der-
niers étant désignés par l'acronyme HAP
(naphtalène, benzopyrène, etc.).

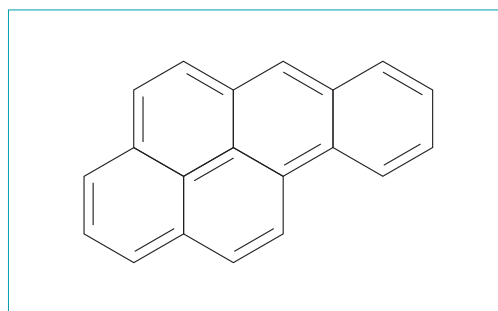
Des quantités énormes d'hydrocarbures
(principalement pétroliers) sont utilisées
annuellement. Le raffinage industriel du
pétrole consiste à fractionner le pétrole brut
en coupes légères, moyennes et lourdes
tout en séparant les gaz des essences. Les
produits pétroliers finis obtenus, des plus
légers aux plus lourds, sont les suivants :
Gaz de Pétrole Liquéfié (GPL), supercar-
burants, naphta (distillat du pétrole, inter-
médiaire entre le supercarburant et le kéro-
sène), « white spirit » contenant moins de 5
% de benzène), pétrole lampant, kérosène,
gazole, fioul domestique, lubrifiants, cires,
paraffines, fioul lourd, bitumes, etc. Un cer-
tain nombre de bases chimiques (oléfines,
aromatiques, etc.) sont également pro-
duites et servent de réactifs initiaux à toute
la pétrochimie pour produire notamment les
matières plastiques (Bertand et al, 2012).

Les plastifiants

Les phtalates sont un groupe de produits
chimiques dérivés (sels ou esters) de l'acide
phtalique. Ils sont donc composés d'un
noyau benzénique et de deux groupements
carboxylates placés en ortho et dont la taille
de la chaîne alkyle peut varier. Les phtalates



Les composés aromatiques et polyaromatiques
se retrouvent dans l'atmosphère



Les hydrocarbures polyaromatiques sont des contaminants
organiques persistants

sont couramment utilisés comme plasti-
fiants des matières plastiques (en particulier
du PVC, pour former par exemple des plas-
tisolés) pour les rendre souples.

La libération des phtalates dans l'environne-
ment est possible en raison d'une migration
au sein de la matrice (due à une incompati-
bilité avec celle-ci) suivie d'une exsudation,
et d'une faible volatilité (qui varie en sens
inverse avec la masse molaire). En toxicolo-
gie, quatre types d'exposition sont souvent
étudiés : par inhalation, par ingestion, intra-
veineuse ou cutanée.

L'inhalation de phtalate n'est pas prépondé-
rante car ces composés sont très peu vola-
tils, il faut tout de même considérer le risque
dû aux aérosols dans les cosmétiques (par-
fums, déodorants) et aux colles (Fromme et
al., 2002).

L'exposition via l'ingestion de phtalates
est déjà nettement plus critique. Dans les
pays où les phtalates sont encore admis
dans les matériaux plastiques au contact

des aliments, les phtalates migrent vers les aliments riches en graisses tels le fromage ou la viande. La valeur moyenne ingérée de cette manière est de 0,25 mg/jour. Malgré cela, des chercheurs de l'Institut National de Santé Publique du Québec (INSPQ) ont déclaré que 12 % des individus dépasseraient la dose tolérée pour le di (2-ethylhexyl) phtalate (DEHP) d'après la directive de la communauté européenne (soit 0,037 mg/kg de poids corporel/jour).

Les phtalates sont présents dans tous les types d'emballages plastiques qui peuvent être au contact de produits biologiques, dans les jouets, et peuvent ainsi migrer facilement dans le corps humain par ingestion lors de contacts avec la salive (Liao et al., 2006 ; Wilkinson et Lamb., 1999). La présence de phtalates dans les produits cosmétiques est aussi une source d'exposition car la migration des phtalates dans les graisses du corps humain se fait directement par contact cutané (Koo et Lee, 2004). Les phtalates pourraient aussi être transmis via le lait maternel.

Lorsque toutes ces expositions sont combinées, il peut y avoir des risques mais les quantités présentes dans l'environnement ne sont pas assez importantes pour être dangereuses outre mesure. De plus, il ne se produit en général pas de bioamplification en remontant dans la chaîne alimentaire, si le temps est assez long pour permettre aux phtalates de se dégrader.

La toxicité du phtalate, comme celle du bisphénol A, dépend principalement de sa capacité à migrer du plastique dans le corps humain. Autrement dit, tout plastique n'est pas toxique du fait qu'il contient des phtalates. Le risque qui porte de façon plus certaine sur la reproduction humaine, varie selon la masse corporelle, l'âge (surtout pour les fonctions de reproduction), la durée



Rejets de produits chimiques et d'hydrocarbures dans un milieu lagunaire
© : Pierre Caumette

d'exposition, la nature du plastique, l'altération subie par le matériau et, bien sûr, la nature du phtalate.

Les résidus médicamenteux

Antibiotiques, hormones, antidouleurs, antidépresseurs, bêta-bloquants ou contraceptifs sont autant de substances rejetées quotidiennement dans les milieux aquatiques. Ces résidus sont soupçonnés d'être à l'origine de diminutions importantes de la faune aquatique et d'une féminisation de certaines populations. Si la communauté scientifique travaille depuis plusieurs années sur la question des risques sanitaires, leur dégradabilité, leur persistance ou leur réaction dans le milieu sont encore peu connues. Les médicaments sont en effet des substances biologiquement actives qui se caractérisent par une grande diversité de structures chimiques.

Une grande partie de ces concentrations est due aux rejets des stations d'épuration qui ne constituent pas une barrière significative. Les résidus de médicaments, lorsqu'ils ne sont pas totalement dégradés dans l'organisme,



Les phtalates et le bisphénol A sont des composés présents dans les matières plastiques. Depuis 2011, le bisphénol A est interdit dans les plastiques alimentaires et notamment les biberons
© : SBBA

sont excrétés dans les selles et les urines sous leur forme initiale ou sous la forme d'un ou plusieurs métabolites.

Un plan national de maîtrise des résidus médicamenteux dans l'eau a été lancé dans le cadre du Plan National Santé Environnement 2 (PNSE2) 2009-2013, co-piloté par les ministères de l'Ecologie et de la Santé. L'objectif de ce plan est justement d'améliorer les connaissances et de réduire les risques liés à ces rejets de médicaments dans l'environnement, alors qu'il n'existe actuellement pas de seuil limite pour ces résidus dans les réglementations européenne et française.

Métaux et substances organo-métalliques

(Éléments-Traces Métalliques ou ETM)

La notion d'ETM tend à remplacer celle de métaux lourds qui a été et qui reste un concept mal défini car associant des métaux toxiques réellement lourds à d'autres étant moins. Une partie des ETM est toxique, ou toxique au delà d'un certain seuil ou radioactive (radionucléides). Selon les éléments et le contexte (acidité du milieu, synergies entre ETM ou entre ETM

et d'autres polluants, spéciation...), ils sont plus ou moins bioassimilables et peuvent être bioconcentrés par la chaîne alimentaire. Par confusion, compte tenu du caractère potentiellement toxique de certains métaux ou de leurs formes organométalliques (mercure, plomb, cadmium en particulier), certains éléments toxiques comme l'arsenic (métalloïde), y sont associés ainsi que les composés organométalliques. Il s'agit alors d'« éléments traces ».

ÉLÉMENTS ESSENTIELS ET ÉLÉMENTS TOXIQUES

Beaucoup d'ETM ont une utilité dans le processus biologique : par exemple le fer est un composant essentiel de l'hémoglobine, l'argent, le cuivre et d'autres métaux et métalloïdes, sont des oligo-éléments indispensables. Le cobalt, le zinc, le cuivre et d'autres métaux sont des cofacteurs de nombreuses protéines. En ce sens ils sont essentiels à la vie, mais ne peuvent être absorbés et utilisés dans le métabolisme qu'à doses extrêmement faibles (éléments traces), au-delà desquelles ils deviennent toxiques et dangereux pour l'organisme.

PRODUCTION DE CONTAMINANTS

Depuis longtemps, les activités humaines ont produits des matériaux ou des substances à usage agricole ou industriel dans lesquels divers types de contaminants chimiques étaient intégrés.

En ce qui concerne les éléments-traces métalliques, leur présence est naturelle à l'état de traces dans le sol, toutefois les activités humaines les ont produits et utilisés sans prendre en compte les risques de contamination lors des expositions.

Le plomb (Pb) produit pour les canalisations d'eau depuis l'époque romaine est un grand contaminant responsable du saturnisme et est encore très utilisé pour les batteries d'accumulateurs (en particulier pour les automobiles), les tuyauteries, les soudures, les peintures anti-corrosion (minium) et les munitions ; le mercure (Hg) est utilisé pour de très nombreux usages dont les amalgames dentaires et les piles électriques ; le cuivre (Cu), dans le domaine de l'électronique ainsi que comme fongicide (sulfate de cuivre, notamment utilisé lors du traitement des vignes) ; le cadmium (Cd) utilisé entre autres dans les accumulateurs électriques (« piles » rechargeables) et l'alliage Ni-Cd en tant que cadmiage anti corrosion dans l'aéronautique ; l'argent (Ag) utilisé pour la bijouterie et l'argenterie, la photographie argentique, les miroirs, de nombreux usages industriels (en particulier électriques et électroniques), les monnaies et médailles ; le zinc (Zn) pour la galvanisation de l'acier, et pour des pièces moulées utilisées dans l'automobile.

Les contaminants organiques utilisés en agriculture entrent dans la composition des produits pesticides (algicides, fongicides, insecticides, etc.) et sont surtout des composés organochlorés ou organophosphorés. Ces composés sont aussi massivement utilisés en milieu urbain, dans l'habitat et dans les collectivités (insecticides, rodenticides, etc.) exposant ainsi régulièrement les populations humaines.

Les phtalates et les bisphénols, reconnus comme perturbateurs endocriniens, sont surtout produits comme stabilisants des matières plastiques, composés de certains types de peintures, etc. et sont donc très utilisés dans la vie courante (emballages, plastiques ménagers, alimentaires, jouets, etc).

CONTAMINANTS ÉMERGENTS

Si de nombreux polluants organiques sont déjà connus pour leur toxicité, comme par exemple leurs propriétés de perturbateurs endocriniens tels que le bisphénol A ou les phtalates, de nouveaux produits arrivent sur le marché depuis quelques années et il est important de développer des recherches concernant leur toxicité potentielle vis-à-vis des organismes ou des écosystèmes. Il s'agit notamment des ondes électromagnétiques générées par de nombreux appareils utilisables quotidiennement dans la vie courante, des nanoparticules introduites dans de nombreux matériaux, textiles, cosmétiques, peintures, etc., ainsi que des résidus médicamenteux dont les rejets dans l'environnement sont de plus en plus importants. Les recherches sur la détection, la caractérisation de ces contaminants ainsi que sur leurs effets sur la santé via l'environnement doivent être développées. De même, il apparaît aujourd'hui de plus en plus de liens entre des contaminants déjà connus pour leurs effets perturbateurs endocriniens ou cancérigènes, comme certains pesticides, et des maladies neurodégénératives. Les recherches sur des liens entre certains pesticides et les maladies neurodégénératives (Parkinson ou Alzheimer, par exemple) doivent être renforcées et sont essentielles pour comprendre et prévenir ces effets.

2 CONTAMINATION : MÉTROLOGIE (DÉTECTION, ANALYSES TRACES, NOUVEAUX OUTILS) UTILISATION ET DISPERSION DANS L'ENVIRONNEMENT NATUREL VS ENVIRONNEMENT URBAIN ET COCKTAILS INDUSTRIELS

Face à l'introduction continue et permanente de contaminants de classes chimiques et d'origines très diverses dans les différents compartiments de l'environnement (air, eau, sols/sédiments), il est devenu indispensable de développer des méthodologies fiables permettant leur détection et leur quantification pour une surveillance efficace du milieu. Parmi ces contaminants, on retrouve les dioxines, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les polychloro-biphenyls (PCBs), les métaux traces ou encore les pesticides organochlorés pour lesquels les méthodologies analytiques sont relativement bien établies. Cependant, à l'heure actuelle de nouveaux enjeux sont liés à l'utilisation croissante de produits pharmaceutiques, de cosmétiques et de produits d'hygiène corporelle, de stéroïdes et d'hormones, d'émulsifiants, de retardateurs de flamme et de nanomatériaux. Ces contaminants sont définis comme contaminants émergents, car ce sont des composés dont la présence et le devenir dans l'environnement n'ont été que très peu étudiés du fait des difficultés analytiques pour mesurer leur

présence à de faibles concentrations dans les milieux. Dans l'objectif d'une évaluation de la qualité chimique de l'environnement et face à la diversité des contaminants rencontrés dans l'environnement se pose le problème de savoir quelles substances surveiller et comment les surveiller. La directive européenne sur l'Eau (DCE) a partiellement répondu au problème en définissant une liste de substances prioritaires. De plus, la nouvelle réglementation Européenne des substances chimiques (REACH) va contribuer à l'apport de connaissances permettant d'améliorer l'évaluation des risques dus, en particulier, aux contaminants émergents. Cependant, compte tenu des milliers de substances présentes dans l'environnement (cocktail de pollution), le plus souvent à de faibles concentrations, se pose clairement la question de l'évaluation du risque associé aux expositions chroniques à de faibles doses et des mélanges. A cette diversité des contaminants s'ajoute celle de leurs produits de transformation dans l'environnement qui est aujourd'hui encore difficile à appréhender. Les recherches en chimie analytique sont donc nécessaires pour la mise au point de techniques (e.g. méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse) pour mesurer nombre de ces molécules à l'état de trace avec des seuils de sensibilité très performants.

La compréhension et la quantification de la pollution atmosphérique, en particulier pour les grandes agglomérations nécessitent la compréhension des processus d'émission et de formation de particules (e.g. particules carbonées), ainsi que leur quantification afin de permettre une évaluation complète de l'impact des différentes sources de pollution sur la qualité de l'air et sur la santé.

Les milieux aquatiques représentent le réceptacle de l'ensemble des contaminants issus des diverses activités domestiques et industrielles, mais également de l'imprégnation de l'environnement par des pollutions diffuses. La détermination ponctuelle de la concentration d'un contaminant dans ces milieux n'est absolument pas représentative de la réalité de la contamination des milieux, et des prélèvements ponctuels très nombreux et répétitifs s'avèrent nécessaires mais difficiles et coûteux. Aussi, à l'heure actuelle les recherches s'orientent vers de nouveaux outils que sont les échantillonneurs/capteurs passifs qui permettent une intégration de la mesure dans le temps (et l'espace) et permettent donc une meilleure approche de la concentration des contaminants dans les milieux visés. De plus, ce genre d'outils permet d'abaisser les seuils de détection des composés grâce à l'effet de concentration dans l'échantillonneur. Ils représentent ainsi de nouveaux outils fiables pour répondre notamment aux attentes de la Directive européenne Cadre sur l'Eau. Ces capteurs passifs introduits dans le milieu pendant une durée plus ou moins longue, sont composés d'une phase adsorbante ou absorbante qui va capter les composés présents dans l'eau. Selon la classe de contaminants visés, différents capteurs passifs sont proposés : i) composés organiques hydrophobes : les SPMD (Semi Permeable Membrane Devices), ii) les métaux : les DGT (Diffusive Gradient in Thin Films), iii) les composés organiques non polaires et polaires (pesticides, produits pharmaceutiques et vétérinaires, retardateurs de flamme, alkylphénols ...) les POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) et les Chemcatcher. Ces derniers ayant été développés plus récemment.

L'accumulation des toxiques dans les diffé-

rentes matrices biologiques (fluides internes, cellules, tissus, organes) dépend principalement des facteurs physico-chimiques (dispersion, dégradation, amplification) et des facteurs biologiques (assimilation, métabolisation, excrétion). La caractérisation de la disponibilité biologique des contaminants chimiques est une étape primordiale dans le contexte de l'évaluation des risques environnementaux. L'estimation de la biodisponibilité d'un xénobiotique permet de définir sa capacité à interagir avec les organismes vivants (pénétration, assimilation, métabolisation, excrétion ...). La biodisponibilité des contaminants dépend non seulement de leurs propriétés (par exemple : hydrophobicité, spéciation physico-chimique) mais également des caractéristiques du milieu (par exemple : pH, dureté, salinité, turbidité) et de la physiologie des organismes (par exemple : capacité à réguler et/ou détoxifier les contaminants) (Pelletier & Campbell, 2008 ; Palais, 2011).

En ce qui concerne les perturbateurs endocriniens, la majorité sont lipophiles et sont présents en très faibles concentrations dans la colonne d'eau. Ils vont avoir tendance à se lier à la matière organique en suspension dans la colonne d'eau et à la matière organique dans les sédiments. Ils peuvent être détectés dans les échantillons environnementaux par analyse chimique mais aussi par leurs activités biologiques en utilisant des bioessais. Ces derniers sont des modèles cellulaires pouvant exprimer le récepteur aux oestrogènes, le récepteur aux androgènes, ou encore le récepteur aryl hydrocarbure qui permettent de détecter l'activité globale d'un mélange de contaminants. Ces bioessais présentent donc l'avantage de détecter la présence de contaminants non recherchés lors des analyses chimiques.

Ainsi, face à la diversité croissante tant qualitative que quantitative des contaminants présents dans l'environnement, dont pour un grand nombre d'entre eux, on ne connaît ni la structure chimique, ni les effets, les recherches actuelles s'orientent vers des méthodes de "screening" moléculaire sans sélection a priori, mais en se basant sur des études préalables visant à estimer la toxicité de mélanges et ensuite en identifiant les composés responsables de cette toxicité au moyen de techniques analytiques performantes. Il s'agit de l'approche appelée "Toxicity Identification Evaluation (TIE) couplant des analyses chimiques à des procédures de fractionnement suivies de tests toxicologiques. Ce couplage chimie-biologie présente un fort potentiel qui devrait permettre d'identifier dans le milieu naturel de nouveaux contaminants responsables des effets toxiques recherchés.

Récemment, les nanomatériaux sont apparus comme de nouveaux contaminants environnementaux. Les nanomatériaux et nanoparticules sont déjà présents dans de nombreux produits manufacturés et couvrent un large champ d'application (médecine, cosmétique, chimie, matériaux de pointe, produits alimentaires...). La dispersion généralisée de ces particules dans l'environnement par l'intermédiaire des effluents industriels et des déchets ménagers courants (produits d'hygiène corporelle) ou encore d'autres produits largement utilisés (catalyseurs de carburant) nécessite des études sur les mécanismes qui gouvernent le comportement et le devenir environnemental de ces composés. Cependant, les méthodologies actuelles ne permettent pas leur détection dans des matrices complexes comme les sols et les sédiments ou encore les fluides biologiques. Les données

concernant la surveillance de l'environnement font donc défaut et les conséquences pour la santé humaine et l'environnement sont des préoccupations actuelles majeures en toxicologie et écotoxicologie. Une autre préoccupation majeure est que la toxicité de ces particules est liée à leurs propriétés physico-chimiques. Or, celles-ci n'ont pas été suffisamment caractérisées dans les recherches menées depuis quelques années sur la toxicité des nanoparticules. Dans l'environnement aquatique, les nanoparticules sont susceptibles d'être rejetées en suspension dans la colonne d'eau, mais un dépôt sur les surfaces sédimentaires et les organismes est probable. La biodisponibilité et les quantités biodisponibles pour les organismes sont ainsi susceptibles d'être très variées. De plus, les risques toxiques de ces particules peuvent être liés non seulement aux propriétés nanoparticulaires mais aussi, en particulier pour les nanoparticules métalliques, à une libération dans le milieu des métaux les constituant.

3 INTERACTIONS AVEC L'ENVIRONNEMENT

IMPACTS DES CONTAMINANTS SUR L'ENVIRONNEMENT, (BIODIVERSITÉ, BIOACCUMULATION (CHAÎNE TROPHIQUE), PERTURBATIONS BIOLOGIQUES (DÉFENSES, DOMMAGES, TOLÉRANCE, MODIFICATIONS DES TRAITES DE VIE, PERTURBATION DES CYCLES BIOGÉOCHIMIQUES, EFFETS SUR LA SANTÉ ANIMALE)



Un exemple de dégradation de l'environnement
© : SBBA

Les activités anthropiques, qu'elles soient industrielles, chimiques, agricoles, domestiques, sont responsables de dégradations de l'environnement. Il est courant de constater que les manifestations les plus spectaculaires de la contamination des milieux naturels par des substances toxiques font fréquemment la «une» des médias. On peut citer par exemple les marées noires, les accidents de transport routier ou ferroviaire, les catastrophes survenant sur un site de production ou de stockage etc... Ces catastrophes symbolisent des effets toxiques que l'on pourrait qualifier «d'aigus». Cependant, des situations de contamination plurifactorielle à faibles doses et répétées (contamination chronique) mais souvent très graves à long terme, représentent un réel risque de dégradation de l'environnement.

Un profond déséquilibre des cycles biogéochimiques globaux est généré par l'expansion démographique et les activités anthropiques (combustion des énergies fossiles, utilisation intensive des sols...). Une augmentation significative des concentrations de composés atmosphériques à impact radiatif (CO_2 , CH_4 , N_2O , O_3 , aérosols) a un impact direct sur le climat, les écosystèmes marins et continentaux. Aussi l'étude des cycles biogéochimiques nécessite le suivi de l'évolution temporelle de l'atmosphère, de l'océan, de la biosphère et la compréhension des modifications de la géochimie de ces grands réservoirs.

Bien que la surveillance chimique fournisse des informations sur la contamination des milieux par les xénobiotiques recherchés, elle ne permet pas d'étudier les effets biologiques et les conséquences écologiques qui en découlent (Vasseur et Cossu-Lequille, 2003). Les effets des polluants sont



Préserver la biodiversité - © : SBBA

susceptibles d'affecter tous les niveaux de l'intégration biologique (sub-individuel, individuel, population, communauté, écosystème). Les délais de réponse et la signification écologique des paramètres mesurés dépendront du positionnement de ces derniers dans la hiérarchie biologique : les réponses mesurées au niveau de l'organisme renseignent sur le mode d'action des xénobiotiques et apparaissent rapidement après un stress, mais ne permettent pas de prédire précisément les risques réellement encourus par la biocénose. Les réponses au niveau des populations et des communautés ont une forte signification écologique mais témoignent tardivement d'une atteinte sévère à l'intégrité de l'écosystème.

La démarche actuellement préconisée au niveau international pour déterminer dans quelle mesure les stress naturels et chimiques peuvent affecter l'intégrité des populations est basée sur le contrôle des biomarqueurs de défense ou de dommage au sein des populations exposées. Depledge a proposé en 1994 une définition qui fait toujours autorité : « un biomarqueur est défini comme étant toutes les variations biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementales qui peuvent être mesurées dans les tissus ou les fluides corporels ou au niveau des organismes entiers qui

rèvent de l'exposition et/ou des effets de l'un ou plusieurs polluants chimiques (et/ou des radiations) ». Plusieurs biomarqueurs moléculaires, cellulaires, biochimiques, physiologiques et comportementaux ont été proposés. Un diagnostic complet de la qualité de l'environnement ne peut reposer sur une seule variable biologique. Les informations fournies par différents biomarqueurs sont ainsi complémentaires et l'approche « multi-marqueurs » est dorénavant préconisée et employée par tous les spécialistes de l'écotoxicologie pour la biosurveillance des milieux (Amiard et Amiard-Triquet, 2008). Les espèces exposées pendant de longues périodes à des facteurs de stress naturels (température, salinité...) et/ou chimiques dans leur environnement ont développé des phénomènes de tolérance vis-à-vis de ces agents. Ces phénomènes de tolérance correspondent à une acclimatation physiologique ou une adaptation génétique, cette dernière étant transmissible à la descendance. De nombreux cas de tolérance ont été décrits dans la littérature chez différentes espèces bactériennes, végétales ou animales (Amiard-Triquet et al., 2011). Ces phénomènes de tolérance ne sont pas sans impact sur la biodiversité. En effet, ces phénomènes de tolérance permettent à ces espèces de perdurer dans des environnements contaminés et contribuer ainsi à la diversité des espèces mais également au fonctionnement normal (subnormal) de l'écosystème, notamment pour leur contribution aux cycles biogéochimiques des nutriments (et des contaminants) et du transfert de matière et d'énergie dans les chaînes trophiques. Dans certains cas, la tolérance peut ne pas œuvrer au bénéfice de la biodiversité puisque les espèces invasives sont souvent plus capables de résister face à un stress que les autochtones.



Pollution atmosphérique due aux microparticules émises par des fumées
© : SBBA



Épandage de pesticides agricoles
© : SBBA



Pollution d'une rivière par des contaminants chimiques
© : SBBA

Depuis quelques années, une attention grandissante est apportée aux « perturbateurs endocriniens (PE) ». Ces PE regroupent des substances chimiques pouvant entraîner des troubles de la reproduction, du développement et du comportement ou des effets néoplasiques, mais aussi des modifications asymptomatiques de l'homéostasie hormonale. Des effets PE sont rapportés tant chez les vertébrés que chez les invertébrés. Les effets biologiques induits par ces contaminants sont donc complexes et peuvent mettre en péril, à terme, le maintien de la population, de la communauté et de l'écosystème. De plus, beaucoup de ces composés présentent la caractéristique de se bioamplifier dans le réseau alimentaire, atteignant leurs concentrations les plus élevées dans les poissons prédateurs, et constituant ainsi un risque pour le consommateur. *In situ*, la plupart des études qui ont mis en évidence des effets des PE ont été observées chez des animaux sauvages peuplant des milieux exposés à des rejets importants des STEP (Jobling et al., 2003; Noaksson et al., 2001). Plus de 550 substances naturelles ou de synthèse ont été identifiées comme PE avérés ou potentiels parmi l'ensemble des produits chimiques susceptibles d'être présents dans l'environnement selon le rapport de la commission des communau-

tés européennes (CCE, 2001). Parmi ces substances on dénombre les œstrogènes de synthèse, les phyto-œstrogènes (mycotoxines, lignines...) et un certain nombre de xéno-œstrogènes de natures différentes : des biocides (pesticides, fongicides, herbicides), les alkyphénols et les PCBs. Chez les vertébrés, les perturbateurs endocriniens les plus puissants sont les stéroïdes sexuels des vertébrés eux-mêmes, mais aussi leurs dérivés et analogues synthétiques car ils interagissent avec les récepteurs nucléaires impliqués dans l'activation des gènes sous contrôle hormonal (Depledge, 1999). Chez les bivalves l'effet des PE peut se manifester par l'altération des fonctions endocriniennes, la perturbation de la production gonadique et la structure des gamètes et dans des cas plus aigus, le dysfonctionnement du dimorphisme sexuel et l'apparition de certains caractères sexuels inversés (imposex et intersex) (Ketata et al., 2008). L'implication des PE sur la fertilité des espèces menace d'un point de vue théorique l'équilibre total des peuplements et les recherches sur ce type de contaminants se sont avérées capitales ces dernières années (Oekten et al., 2004 ; Sumpter et Johnson, 2005, Ketata et al., 2008). Pour mettre en évidence les effets des PE sur les organismes exposés, plusieurs biomarqueurs d'exposition à ce

type de substances ont été développés. Le TBT (tributylétain), substance biocide utilisée dans les peintures antisalissures des bateaux est connu pour son pouvoir tératogène provoquant le développement d'un pseudopenis non fonctionnel chez de nombreux gastéropodes femelles, parmi lesquelles l'espèce la plus sensible est *Nucella lapillus*. Ce phénomène est appelé imposex ou encore « pseudohermaphrodisme » (Smith, 1971 ; Gibbs & Bryan, 1986 ; Gibbs et al., 1991 ; Mouneyrac et Amiard-Triquet, in press). Ce phénomène de masculinisation est spécifique au TBT et son intensité est proportionnelle au degré de contamination (Axiak et al., 2003). D'où son utilisation comme biomarqueur de dommage spécifique du TBT notamment chez *N. lapillus* en raison de son extrême sensibilité, des concentrations de 0.3 ng.L⁻¹, difficilement détectables par des analyses chimiques étant capables d'induire les premiers signes d'imposex (Huet et al., 2009). La vitellogénine (Vtg), lipoprotéine précurseur de la synthèse du vitellus, est hautement impliquée dans le processus de la reproduction. Sa mise en évidence chez les mâles et les femelles immatures est considérée comme un signe d'une exposition à des substances à caractère oestrogénique (Wheeler et al. 2005). En effet, la Vtg est induite chez les individus par la présence d'oestrogènes ou de substances qui miment l'action des oestrogènes, comme les phytoestrogènes ou les hormones de synthèse (Roméo et Giambérini, 2008). Ainsi, l'induction de la Vtg chez les poissons mâles est largement utilisée pour détecter leur exposition à des composés oestrogéniques (Wheeler et al. 2005).

En ce qui concerne les nanoparticules, leur adsorption à la surface des micro-orga-

nismes comme les bactéries et la génération de substances réactives à l'oxygène peuvent endommager les membranes cellulaires facilitant ainsi l'entrée de nanoparticules à l'intérieur de la cellule responsables de la toxicité. Récemment, Nogueira et al. (2012) ont pu observer une réduction de la diversité et des modifications de la structure des communautés bactériennes du sol exposées à des nanoparticules d'or, de dioxyde de titane (TiO₂). Les vertébrés aquatiques comme les poissons peuvent être exposés aux nanoparticules par ingestion directe ou par l'entrée des nanoparticules à travers les cellules épithéliales de la peau et des branchies. Les organismes du sol comme les vers sont également exposés par contact direct et/ou ingestion de particules du sol. La destinée environnementale et l'écotoxicité des nanoparticules sont influencées par un grand nombre de facteurs comme la taille des particules et leur distribution, la solubilité, l'état d'agrégation, la nature chimique ou minéralogique, la cristallinité, la surface spécifique, la charge de surface, la concentration (masse et nombre), la structure ou encore la présence d'impuretés (Tiede et al., 2009). Une caractérisation des nanoparticules dans les milieux d'exposition est indispensable à la compréhension des mécanismes toxiques observés.

Les travaux de la littérature rapportent des effets écotoxicologiques variés de ces contaminants chez différentes espèces bactériennes, végétales, animales, terrestres ou aquatiques (Afsset, 2010). Toutefois, l'effet des nanoparticules le plus souvent observé est la génération de stress oxydant et les effets en cascade qui peuvent en découler tels que la génotoxicité, l'apoptose, les perturbations du comportement et de la reproduction.

Des effets positifs de l'exposition des organismes à des nanoparticules ont également été rapportés dans la littérature. Par exemple, le TiO_2 induit la germination et la croissance de certaines plantes (Zheng et al., 2005). Ces effets positifs pourraient être dus aux propriétés antimicrobiennes des NP qui augmenteraient la résistance des plantes au stress. De plus, les NP pourraient aussi séquestrer les nutriments à leur surface et servir ainsi de « réservoir de nourriture » pour les organismes. Les algues vivant dans des environnements extrêmes présentent la capacité d'accumuler des éléments minéraux à la surface de leur paroi indispensables à leur survie dans des milieux de faible disponibilité alimentaire (Luetz-Meindl and Luetz 2006). Ainsi les nanoparticules contenant des éléments essentiels comme le Cu ou le Zinc semblent particulièrement appropriées pour suppléer un manque de nutriments.

DEVENIR DES CONTAMINANTS DANS L'ENVIRONNEMENT : BIOTRANSFORMATION, BIODÉGRADATION PARTIELLE ET TOTALE, MÉTABOLITES, BIOREMÉDIATION, TRANSFORMATION ET DÉGRADATION, SÉQUESTRATION, MODIFICATIONS PHYSICO-CHIMIQUES

Adaptation des micro-organismes aux xénobiotiques

De nombreux contaminants chimiques sont des xénobiotiques issus de la chimie de synthèse et n'existent pas naturelle-

ment dans l'environnement. Les micro-organismes ont donc été confrontés à ces nouvelles molécules qui n'avaient pas existé au cours des ères géologiques. En dépit de cette situation, il apparaît que les micro-organismes sont potentiellement capables d'attaquer la plupart de ces composés, mais parfois les processus de biodégradation sont extrêmement lents et demandent plusieurs années.

L'adaptation des micro-organismes à la dégradation de composés xénobiotiques repose essentiellement sur une grande diversité des « outils » enzymatiques des communautés microbiennes naturelles, associée à une grande plasticité de leurs génomes susceptibles de faire apparaître des combinaisons nouvelles adaptées à un environnement chimique nouveau. Il est possible qu'une voie de dégradation potentielle d'un composé xénobiotique préexiste, distribuée « par lots » au sein de la communauté microbienne et que seule l'intervention combinée, sinon coordonnée, des différents micro-organismes hôtes est indispensable pour assurer les relais biochimiques nécessaires au bon déroulement du processus de dégradation. Ainsi, il est connu depuis longtemps que la biodégradabilité intrinsèque d'un composé xénobiotique s'apprécie mieux lorsque ce produit est introduit dans des milieux à forte diversité microbienne, cultures mixtes ou écosystèmes naturels tels que sols ou boues de station d'épuration (Bertrand et al, 2012). Pour mieux assurer une biodégradation, les micro-organismes résistants peuvent transférer tout ou partie de leur matériel génétique et recombinaison des fonctions pour acquérir des compétences métaboliques nouvelles (Berger et al., 2012).

Biotransformation, biodégradation, bio remédiation

LES PESTICIDES

Au cours des 60 dernières années, les pays industriels ont développé des pratiques culturales reposant largement sur une utilisation toujours plus abondante des produits phytosanitaires qui ont largement contribué à l'amélioration de la qualité et du rendement des récoltes, mais aussi à la dispersion et l'accumulation de ces pesticides dans l'environnement, et notamment dans les sols et les eaux. En surface comme en profondeur, les réserves en eau contiennent, à de rares exceptions près, des résidus de produits phytosanitaires qui constituent un danger potentiel pour la santé humaine. Heureusement, ces résidus transitent majoritairement par le sol dont le pouvoir épurateur, lié à la présence de micro-organismes abondants et actifs, contribue à en réduire la concentration. Les progrès de la connaissance des processus physiologiques et biochimiques de la dégradation microbienne des produits phytosanitaires sont nécessaires à la fois pour définir des molécules plus adaptées à la sauvegarde de l'environnement, et pour élaborer des stratégies de réhabilitation de sites contaminés.

Présence dans l'environnement

L'agriculture française disposait en 2008 de 536 substances actives pour environ 2 500 spécialités commerciales (Bertrand et al., 2012). La France occupe le 3^e rang européen avec 5,4 kg.ha⁻¹.an⁻¹, soit une consommation de 70 000 tonnes par an au total. Depuis 1999, on observe une diminution moyenne de l'utilisation des pesticides. Cette tendance doit cependant être interprétée avec précaution. En effet, l'interdiction d'utiliser d'anciennes molécules

appliquées à fortes doses, la réduction des doses d'application pour d'autres, ainsi que l'apparition de nouvelles molécules actives à de très faibles doses, y ont probablement autant contribué que les différentes mesures mises en oeuvre visant à réduire les usages. Il est estimé toutefois que seulement 5 % des pesticides appliqués atteindraient leur cible, l'excédent étant dispersé dans les différents compartiments de l'environnement (air, sol, eau, sédiments, etc.) ainsi que dans les denrées alimentaires. Ils peuvent présenter, en sus de leurs effets intentionnels sur les parasites ou organismes visés, des dangers très variables pour l'homme et les écosystèmes, avec un impact immédiat ou sur le long terme. Si les données concernant la pollution des sols restent encore relativement anecdotiques, difficiles à collecter et sans valeur de représentativité, il n'en est pas de même de celles concernant les milieux aquatiques. En effet, depuis 1998, l'Institut Français de l'Environnement (Ifen), service du Ministère en charge de l'environnement, établit régulièrement un bilan de la contamination des eaux par les pesticides. Ainsi, pour les eaux superficielles, sur les 459 substances recherchées, 229 substances différentes ont été détectées au moins une fois, comme par exemple le glyphosate et son produit de dégradation, l'acide amino méthyl phosphorique (AAMP), l'atrazine et ses métabolites, le diuron, l'isoproturon et l'aminotriazole.

Biodégradation par les micro-organismes

De nombreuses souches microbiennes parmi lesquelles *Bacterium globiforme* ont été isolées de sols agricoles. En règle générale, il s'agit de bactéries appartenant à des espèces ou des genres différents plutôt que de *Fungi*. Certaines d'entre elles montrent

des capacités limitées de transformation qui ne leur permettent pas de parvenir à une biodégradation totale. Ce constat est important, car il montre que la stabilisation chimique d'un motif moléculaire facilement biodégradable se traduit chez certaines espèces microbiennes par l'apparition d'impasses métaboliques (Bertrand et al, 2012).

Bio remédiation

Les approches et techniques de bioremédiation résultent du constat que la dégradation des pesticides dans les sols et autres environnements naturels est majoritairement le résultat de l'activité des microorganismes. Lorsque la présence de microorganismes dégradants n'est pas le facteur limitant, la solution peut consister soit à augmenter l'accessibilité biologique du produit par des apports de différents agents mouillants ou tensioactifs tel que cela se pratique avec les produits pétroliers, soit à stimuler l'activité biologique des micro-organismes par des apports de différents substrats carbonés et énergétiques. Des techniques de phytoremédiation peuvent aussi être utilisées pour épurer les sols par absorption des éléments-trace métalliques. Leurs possibilités d'accumulation et de transformation en présence de divers pesticides commencent à être exploitées. Quelles qu'elles soient, ces différentes techniques peuvent être appliquées *in situ* directement sur le site contaminé ou *ex situ*, après excavation et traitement délocalisé du sol contaminé, sur des aires spécialement aménagées ou des réacteurs-pilotes.



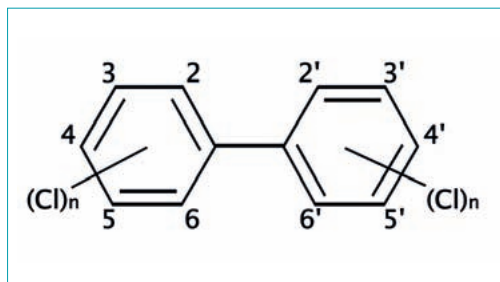
Traitement des eaux polluées
dans les bassins plantés de macrophytes
© : Pierre Caumette



Exemple de non-conformité des «Bonnes Pratiques Agricoles»:
bidons de pesticides jetés dans la nature
© : Oliver Kaske, UFZ , Leipzig

LES COMPOSÉS ORGANOCHLORÉS

Les PCBs



Les polychlorobiphényles (PCB) sont des composés aromatiques organochlorés dérivés du biphenyle. Ils sont industriellement synthétisés, et chimiquement proches des polychloroterphényles, polychlorodibenzofuranes et des dioxines. Grâce à leur inertie chimique, ils sont peu sensibles aux acides, bases et oxydants. Ils peuvent dissoudre ou ramollir certains caoutchoucs et matières plastiques.

Le succès des PCB, qui a entraîné leur utilisation intensive, s'explique notamment par la simplicité de leur synthèse et le grand intérêt industriel de leurs propriétés physico-chimiques. Ils ont été universellement utilisés dans les condensateurs et les transformateurs électriques, en tant que fluides hydrauliques, et fluides caloporteurs (échangeurs). Par ailleurs, ils ont été largement utilisés dans différentes formulations industrielles telles que les huiles de coupe (travail des métaux) et, dans une moindre mesure, en tant qu'additifs dans des formulations d'insecticides, de bactéricides, d'agents plastifiants, d'adhésifs, d'encres, de colorants, etc.

Le nombre et la position des atomes de chlore sur la molécule déterminent à la fois leurs propriétés physico-chimiques et leur écotoxicité. Les produits commerciaux, caractérisés par une teneur en chlore moyenne variant généralement entre 30 et 70 %, sont

des mélanges complexes de plusieurs dizaines de dérivés et portent des noms différents en fonction du pays producteur : Aroclor (USA), Clophen (Allemagne), Kanechlor (Japon), Fenclor (Italie), Pyralène (France), Soval (U.R.S.S.) (Bertrand et al., 2012).

Présence dans l'environnement

La convention internationale de Stockholm a interdit totalement la production de PCBs en 2001. Avant cette interdiction, la contamination des écosystèmes était liée à des accidents intervenant lors du transport, de fuites dans les installations, lors d'explosions de transformateurs, etc. ; les déchets contenant ces xénobiotiques étaient souvent enterrés, provoquant ainsi une contamination importante des sols, des aquifères et des sédiments. Aujourd'hui, des PCBs sont retrouvés dans l'air, l'eau, les sédiments, le sol, les aliments (coquillages et poissons en particulier) ; la contamination perdure, notamment par lessivage des sols contaminés, provoquant une pollution des fleuves et des rivières, suivie d'un déversement en mer où les PCBs seront concentrés plus particulièrement dans les zones estuariennes. Dilués et emportés par les grands courants marins, ils sont encore détectés dans des sites très éloignés de leur point d'émission et sont maintenant présents dans tous les écosystèmes, de l'Arctique à l'Antarctique. Du fait de leur très grande stabilité chimique, ils sont très difficilement dégradés et vont donc persister dans l'environnement pendant des décennies, en particulier dans les sols et les sédiments où ils sont très fortement adsorbés sur la matière organique.

Biodégradation

La biodégradation par les micro-organismes fonctionne selon deux voies dis-

tinctes et complémentaires : la voie réductrice anaérobie et la voie oxydative aérobie (Bertrand et al., 2012). Certains produits du catabolisme des PCB peuvent aussi avoir un effet inhibiteur s'ils ne sont pas éliminés. La biodégradation en anaérobiose conduit à l'élimination des atomes de chlore des PCB fortement chlorés qui sont ensuite susceptibles d'être minéralisés dans des conditions aérobies où seuls les congénères faiblement chlorés sont attaqués. En effet, ceux-ci sont des substrats pour les bactéries aérobies qui sont alors capables d'ouvrir le cycle benzénique concerné. La biodégradation anaérobie implique une déchloration réductrice au cours de laquelle le composé halogéné sert d'accepteur d'électrons et se trouve remplacé par de l'hydrogène. Au cours de cette réaction, seul le nombre d'atomes de chlore portés par le noyau biphényle est modifié, le squelette aromatique n'étant pas attaqué. De nombreuses souches capables d'effectuer la déchloration des PCB en anaérobiose ont été isolées (Dehalococcoides Desulfovibrio sp.) qui peuvent réaliser une déchloration importante des Aroclor. De plus, de nombreuses preuves ont été obtenues concernant l'élimination anaérobie des PCB dans l'environnement (sédiments et sols anoxiques) (Bertrand et al., 2012).

En biodégradation aérobie, les congénères « faiblement chlorés » issus de la déchloration des congénères « hautement chlorés » sont des substrats pour des bactéries aérobies à Gram négatif (telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, etc.) et à Gram positif (*Rhodococcus*, *Corynebacterium*, etc.). Les PCB sont également métabolisés par diverses souches de moisissures (pourriture blanche). La tendance générale est une minéralisation des PCB qui diminue quand le nombre de chlore augmente (Bertrand et al., 2012).

Bio remédiation

L'incinération est souvent utilisée, mais elle est onéreuse et source de produits dangereux tels que les polychlorodibenzofuranes et les polychlorodibenzodioxines qui apparaissent à la suite d'une combustion incomplète des PCB. Dans ces conditions, des recherches sur des traitements alternatifs faisant appel aux capacités de dégradation des PCB des micro-organismes, ont été envisagées, toutefois, la décontamination par voie biologique est le plus souvent au stade de développement ; les preuves de son efficacité et de sa rentabilité à grande échelle sont limitées. Cependant, des résultats encourageants ont également été obtenus sur des sols contaminés traités par compostage. Les congénères les plus facilement dégradés contenaient 1 à 3 atomes de chlore ; par contre, au-delà de 4 atomes de chlore aucune altération significative n'a été observée, ce qui est en accord avec les processus de biodégradation aérobie décrits précédemment (Bertrand et al., 2012).

CAS DE LA CHLORDÉCONE

Le cas de la chlordécone est un problème particulier. La chlordécone est un produit antiparasitaire qui a longtemps été utilisé en Martinique et en Guadeloupe pour lutter contre le charançon du bananier. Cette substance très stable a été détectée dans les sols et peut contaminer certaines denrées végétales et animales ainsi que les eaux de certains captages (voir rapport de l'OPECST par Jean-Yves Le Déaut et Catherine Procaccia, 2009). Une telle contamination constitue une préoccupation sanitaire, environnementale, agricole, économique et sociale. Prise en compte dans le Plan national santé environnement (PNSE) adopté en 2004, elle a mobilisé l'Etat et ses opérateurs, au sein de plans locaux lancés

par les préfets dès 1999. Le « plan d'action Chlordécone 2008-2010 en Martinique et Guadeloupe » a été annoncé par le Premier ministre lors de son déplacement aux Antilles les 4 et 5 janvier 2008 afin de renforcer les actions et mesures concernant cette contamination. Un deuxième plan Chlordécone a été lancé en 2011.

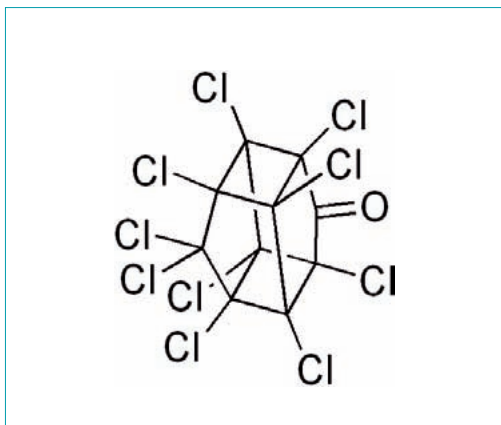
La chlordécone a été découverte en 1951 et commercialisée à partir de 1958 (sous le nom de Képone) aux Etats Unis. 1600 tonnes ont été produites avant son interdiction aux USA en 1976 suite à la mise en évidence d'un ensemble de symptômes dus à des expositions aiguës (syndrome du Képone : atteintes neurologiques et testiculaires) observés chez les ouvriers des usines de production et les habitants proches. Elle a été principalement utilisée comme pesticide agricole mais aussi de façon moindre comme insecticide urbain et comme produit retardateur de flamme dans les incendies. En France, elle a été principalement utilisée aux Antilles dans la protection phytosanitaire des bananeraies de façon massive jusqu'en 1991, date de son interdiction, sous la forme d'un autre produit commercial dérivé (le Curlone), le Képone étant interdit depuis 1981. Le Curlone a été toutefois utilisé aux Antilles jusqu'en 1993, au-delà de la date limite, les planteurs étant autorisés à utiliser le reliquat des stocks. Entre 1981 et 1991, la France a produit 4000 t de Curlone. 90 % du produit ont été utilisés aux Antilles ; les 10 % restants au Cameroun et en Côte d'Ivoire. Le produit a été répandu au pied des plantes, jamais par épandage aérien.

Depuis son interdiction, la chlordécone est présente dans les sols antillais, du fait de sa faible voire nulle biodégradabilité. Il s'agit d'un polluant organique persistant ; la structure de la molécule (organo-chloré avec 10

atomes de chlore) rend le produit très stable et très toxique. Elle est très difficilement biodégradable par les communautés microbiennes des sols. Le produit est très peu soluble dans l'eau, très peu volatil et présente une forte affinité pour la matière organique ; elle est très fortement concentrée dans les sols organiques et très fortement bioaccumulée dans les organismes des sols et des milieux aquatiques contaminés (algues, mollusques, poissons, crustacés, etc.).

Biodégradation

La molécule de chlordécone, dont les 10 atomes de carbone sont encagés dans 10 atomes de chlore, est très difficilement biodégradable. De ce fait, elle s'accumule dans les sols agricoles où elle a été utilisée, particulièrement dans les sols des bananeraies aux Antilles. Elle peut être piégée dans les sols argileux et ensuite être dispersée dans les bassins versants en fonction du régime des pluies et du lessivage des sols. De ce fait, plusieurs études du BRGM, de l'IRD, du CEMAGREF et de l'IFREMER ont montré l'ubiquité de la molécule dans divers types de sols et dans le réseau hydrographique. Le milieu marin côtier est aussi touché et la molécule s'accumule dans les zones d'apports terrigènes aux débouchés des rivières. La molécule étant très lipophile, elle est bioaccumulée dans le réseau trophique et notamment dans les crustacés et les poissons en rivières et dans la zone côtière, surtout les espèces détritivores. Dans les sols agricoles réutilisés pour d'autres cultures, il a été observé un transfert vers les plantes variable selon le type de plantes et de sols. D'après les études réalisées par des chercheurs universitaires, de l'INRA et du CEMAGREF, la présence de la chlordécone dans les sols contaminés serait de très long terme, allant de 100 ans à 7 siècles, compte tenu de sa faible biodégradabilité.



La molécule de chlordécone a une structure très résistante aux biodégradations

La biodégradation aérobie de la chlordécone a été observée par Orndorff et Colwell (1980) qui ont obtenu une faible métabolisation par une souche de *Pseudomonas* sp., mais dont les métabolites produits n'ont pas été identifiés ni testés du point de vue de leur toxicité. La biodégradation anaérobie apparaît apporter de meilleurs résultats avec une biodégradation à 85 % de la molécule pour une bactérie thermophile (50°C) et production de métabolites déchlorés (Jablonski et al., 1996). Ces résultats ont été récemment confirmés par une équipe de scientifiques de l'Université des Antilles Guyane. Dans tous les cas, la biodégradation est très lente et toujours incomplète.

Biorémédiation

Compte tenu de la faible biodégradabilité de la molécule, d'autres techniques de rémédiation doivent être employées en complément de la biorémédiation.

La phytoremédiation a souvent été employée avec succès dans la réhabilitation de friches industrielles et ce type de méthode s'est avéré concluant pour l'élimination de composés organochlorés. Il peut s'agir de phytoremédiation directe dans des sols contaminés, ou de phytoépuration pour des eaux contaminées dans des bassins plan-

tés de macrophytes.

La rémédiation physicochimique peut aussi être envisagée en utilisant des métaux (fer) pour piéger la molécule, ou des composés superoxydants.

Toutes ces méthodes en complément de la bioremédiation devront être testées pour vérifier leur efficacité en fonction des sols ou des milieux à décontaminer.

LES HYDROCARBURES ET LES PRODUITS PÉTROLIERS

Les hydrocarbures rencontrés dans l'environnement peuvent avoir une origine naturelle ou anthropique. Les hydrocarbures d'origine naturelle sont synthétisés ou produits par les organismes vivants (algues, cyanobactéries, phytoplancton ou végétaux supérieurs) dont la structure chimique (alcanes, alcènes, isoprénoides, etc.) varie souvent en fonction des organismes qui les ont synthétisés. Il s'agit d'hydrocarbures linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés. Il existe aussi des hydrocarbures provenant des suintements naturels libérés via des failles de l'écorce terrestre, aussi bien au niveau de la croûte continentale qu'océanique, ainsi que des hydrocarbures d'origine pyrolytique, dégagés dans l'atmosphère en grandes quantités lors des feux de forêts (Bertrand et al., 2012).

L'utilisation des produits pétroliers par l'homme est la cause d'une contamination importante de l'environnement et deux types d'apports participent à cette contamination. D'une part, les apports chroniques avec notamment les rejets dans les réseaux des zones urbaines ou industrielles, les apports liés aux activités d'exploitation et de production pétrolière et de transports. D'autre part, les apports accidentels susceptibles d'intervenir à chaque étape de la production et de l'exploitation représentent un risque de contamination. Les plus spectaculaires sont



Impact d'une marée noire sur le rivage marin
© : Wikipédia - Marée noire

les accidents de tête de puits, les accidents liés au stockage, les ruptures d'oléoducs, les naufrages de tankers et de méthaniers. De même, les processus industriels (aciéries) influent fortement sur la quantité et la structure des composés émis, notamment celles des HAP.

Biodégradation

Les hydrocarbures sont dégradés par de nombreux micro-organismes, qualifiés d'hydrocarbonoclastes (Bertrand et al., 2012). Les réactions initiales de transformation des hydrocarbures font intervenir une grande diversité d'enzymes spécifiques des bactéries hydrocarbonoclastes. Les micro-organismes qui dégradent en aérobiose les hydrocarbures sont ubiquistes, mais appartiennent majoritairement aux protéobactéries : (tels que les genres *Alcanivorax*, *Pseudomonas*, *Marinobacter*, *Bulkholderia*, *Sphingomonas*, etc.) ; aux Firmicutes (genres *Bacillus*, *Geobacillus*). Certains microorganismes eucaryotes (genres *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium*, etc.) sont également capables de dégrader les hydrocarbures. Les mécanismes de la biodégradation, aboutissant à la minéralisation

de l'hydrocarbure, ont fait l'objet de nombreux travaux de synthèse (cf. Bertrand et al., 2012). Les alcanes sont des molécules relativement inertes d'un point de vue chimique. Pour pouvoir être dégradés, ils doivent être activés avant de subir d'autres étapes métaboliques. En conditions aérobies, dans la plupart des cas, les n-alcanes sont oxydés pour former l'alcool primaire correspondant par des mono-oxygénases/hydroxylases. Dans le cas des composés aromatiques, deux étapes clés interviennent dans la biodégradation aérobique des hydrocarbures aromatiques mono- ou polycycliques. La première consiste en l'activation des noyaux benzéniques stables, par incorporation d'un ou de deux atomes d'oxygène, respectivement grâce à des mono-oxygénases et des dioxygénases. L'ensemble de ces réactions enzymatiques, dont la complexité varie en fonction du nombre de cycles aromatiques de l'hydrocarbure, entraîne la formation d'un nombre restreint de métabolites (ex : catéchol, acide protocatéchoïque, acide gentisique, hydroquinone) qui seront ultérieurement métabolisés.

Les différentes classes d'hydrocarbures ne sont pas dégradées avec la même efficacité. La dégradation débute par l'attaque des n-alcanes, suivie successivement par celles des alcanes ramifiés, des aromatiques à faible poids moléculaire, des alcanes acycliques, des aromatiques de haut poids moléculaire et des cycloalcanes (stéranes, hopanes) (Bertrand et al., 2012).

De nombreux hydrocarbures, essentiellement aromatiques, mais également des alcanes et des alcènes, peuvent être dégradés en conditions anaérobies dégradés par des bactéries qui appartiennent essentiellement aux protéobactéries qui utilisent le nitrate, le sulfate, voire le fer, comme accepteur terminal d'électrons (Widdel et Rabus, 2001 ;

cf. Bertrand et al., 2012). La liste des composés aromatiques utilisés est importante : benzène, alkylbenzènes (toluène, xylènes, éthylbenzène, propylbenzène, éthyltoluène, cymène), naphthalène, 2-méthyl-naphthalène, etc. La biodégradation des alcanes a été décrite pour des longueurs de chaîne carbonée comprise entre C3 et C20, alors que celle des alcènes intervient entre C7 et C23 (Grossi et al., 2008). Comme dans le cas de la biodégradation aérobie, l'oxydation primaire de l'hydrocarbure est l'étape essentielle. En ce qui concerne les n-alcanes, la réaction initiale de dégradation se fait soit par addition de fumarate, soit par carboxylation. Pour les composés aromatiques, elle s'effectue soit par l'addition de fumarate, soit par déshydrogénation ou par carboxylation (cf. Bertrand et al., 2012).

Bioremédiation

Les traitements susceptibles d'être mis en œuvre sont fonction de la nature des produits pétroliers déversés en mer ; ils s'appuient sur les capacités métaboliques des micro-organismes hydrocarbonoclastes. Les stratégies de biostimulation et de bio-augmentation qui ont été développées pour la biorestauration des zones côtières sont très difficiles à mettre en œuvre en pleine mer, où il est pratiquement impossible de maintenir des nutriments en contact avec la nappe de pétrole, et où les concentrations en bactéries hydrocarbonoclastes sont extrêmement faibles. Les micro-organismes hydrocarbonoclastes sont, dans l'environnement, ubiquistes. Cette propriété est mise à profit dans les techniques de biostimulation afin de stimuler les capacités de biodégradation des hydrocarbures par les micro-organismes déjà présents dans le site soumis à une pollution. En effet, il a été observé qu'après un apport massif de pétrole, la biomasse des communautés micro-

biennes hydrocarbonoclastes est considérablement augmentée (Bertrand et al., 2012).

Dans les sols, les hydrocarbures sont soumis à un ensemble de processus physico-chimiques (dissolution, évaporation, adsorption, dispersion, etc.) et biologiques (biodégradation) comparables à ceux intervenant dans les écosystèmes marins. À côté des traitements physico-chimiques (incinération, désorption thermique, etc.), ont été également développés des traitements basés sur les capacités de biodégradation des micro-organismes par voie microbiologique. Les traitements *in situ* sont mis en œuvre quand les zones polluées occupent de grandes surfaces et/ou sont situées en profondeur ; dans ces conditions, l'excavation n'est pas envisageable. La biostimulation *in situ* de l'activité des communautés hydrocarbonoclastes autochtones peut être obtenue par bioventilation ou biobarbotage : injection d'air pour la biodégradation aérobie et d'accepteurs d'électrons autres que le dioxygène si le site est en conditions anoxiques (apport de nitrate, sulfate, fer). Une deuxième approche consiste à traiter le sol pollué dans des biotertres. Afin de stimuler la biodégradation, le sol peut être enrichi en nutriments (azote, phosphore) (cf. Bertrand et al., 2012).

LES MÉTAUX

Les métaux et métalloïdes sont présents dans les sols, les sédiments et, à plus faibles concentrations, dans les eaux. Ils proviennent naturellement de l'altération des roches, mais des concentrations plus importantes peuvent avoir des origines anthropiques telles que l'exploitation minière, le stockage, l'incinération de déchets ou l'activité industrielle (fonderies). Dans le cas de l'exploitation minière, les micro-organismes sont utilisés pour la récupération de métaux d'intérêt par l'inter-

médiaire des processus de biolixiviation. Ces processus tendent à augmenter les teneurs en métaux disponibles dans l'écosystème, mais peuvent également être utilisés pour l'extraction des métaux contenus dans les minerais ou leur élimination dans des sols ou des sédiments pollués. La toxicité, la disponibilité et le transport des métaux dans l'environnement sont fonction de leur spéciation chimique, c'est-à-dire de la forme chimique sous laquelle ils se trouvent. Les micro-organismes peuvent intervenir dans cette spéciation et donc influencer sur leur devenir dans un écosystème. Cette modification de forme chimique peut être liée à des métabolismes énergétiques où les métaux servent de donneurs ou d'accepteurs d'électrons. Ainsi, les processus de réduction des métaux qui conduisent le plus souvent à une réduction de leur solubilité et de leur toxicité peuvent être appliqués dans le traitement des sites pollués. L'élimination d'un métal, d'un écosystème ou d'un déchet, peut également faire appel à des processus de piégeage ou d'immobilisation à plus ou moins long terme. Dans ce cas, interviennent des processus physico-chimiques et biologiques : adsorption, immobilisation grâce à des agents chélateurs, précipitation indirecte ou accumulation (Bertrand et al, 2012).

Biotransformation et biominéralisation

Les micro-organismes interviennent sur la disponibilité des métaux en modifiant leur spéciation et notamment leur degré d'oxydation. Ainsi, certains micro-organismes vont réduire les métaux et contribuer à une diminution de la solubilité et donc de la disponibilité et, par voie de conséquence, de la toxicité de ces éléments. La liste des métaux que les micro-organismes sont susceptibles de réduire directement (métabolisme respiratoire) ou indirectement est très longue et

comprend aussi les métaux issus de la filière nucléaire ainsi que des métalloïdes (arsenic, sélénium et tellurium). Cette réduction peut se faire en conditions oxydiques ou anoxydiques. Dans ce dernier cas, les rôles des micro-organismes sulfato-réducteurs et des bactéries du genre *Geobacter* sont les plus étudiés. Enfin, certains métaux peuvent être réduits par l'intermédiaire de mécanismes de détoxification comme c'est le cas du mercure.

La toxicité des métaux dépend de leur biodisponibilité, c'est-à-dire de leur fraction soluble et accessible. Elle dépend de la spéciation du métal, des conditions physico-chimiques de l'environnement considéré (notamment le pH, la salinité), mais également de la fraction immobilisée par adsorption sur des particules organiques, minérales ou colloïdales. Les micro-organismes n'interviennent pas uniquement en tant que capteurs passifs de métaux et métalloïdes, car ils sont capables de s'adapter pour améliorer ce piégeage. Ainsi, certains exsudats microbiens peuvent jouer un rôle non négligeable dans les phénomènes de piégeage des métaux. Ils agissent soit en tant qu'agents de résistance, soit en tant qu'agents chélateurs d'oligo-éléments métalliques indispensables pour la cellule, comme c'est le cas des sidérophores, connus pour leur capacité à capter le fer. D'autres micro-organismes vont au contraire favoriser la pénétration des métaux dans la cellule, entraînant leur séquestration intracellulaire, ce qui nécessite un transport dans la cellule qui peut être actif, passif ou facilité. Les métaux seront stockés à l'intérieur de la cellule sous la forme de granules. Cette capacité à accumuler directement les métaux favorise leur bioconcentration et peut être exploitée en vue de leur récupération, retraitement ou élimination.

4

EFFETS SUR LA SANTÉ HUMAINE

APPROCHES EXPÉRIMENTALES ET MÉCANISMES DE TOXICITÉ

La bio-accumulation (séquestration extracellulaire passive ou active, séquestration intracellulaire) peut être utilisée dans la bioremédiation de sites pollués (Bertrand et al., 2012). Ce type de traitement est très avantageux par rapport à des traitements chimiques parfois coûteux. En effet, de grandes quantités de biomasse bactérienne, algale ou fongique, issues des filières de traitement des déchets et des filières agroalimentaires, peuvent être disponibles pour réaliser ce traitement. Le plus souvent, ce dernier complète des traitements physico-chimiques (floculation) qui éliminent la plus grande partie de la pollution. L'intérêt économique de la bio-accumulation a également été démontré dans le cadre de la décontamination de sites pollués par des radionucléides. Aujourd'hui, elle tend à être développée et améliorée par l'intermédiaire de la modification génétique de souches bactériennes visant à accroître leur capacité à complexer les métaux d'intérêt (cf. Bertrand et al., 2012).

L'efficacité de la biominéralisation par les micro-organismes a été démontrée sur l'élimination de métaux à partir de lixiviats acides. Dans ce cadre, l'élimination de plusieurs types de métaux tels que le zinc, l'aluminium, le cuivre, le fer et le manganèse pouvait atteindre 95 %. Le traitement est réalisé en deux phases. La première phase permet la production de sulfures par les micro-organismes sulfato-réducteurs ; alors qu'au cours de la deuxième phase, l'hydrogène sulfuré produit sert à la précipitation des métaux qui pourront être récupérés. Les sulfures produits en excès sont par la suite oxydés à nouveau par des micro-organismes chimiolithotrophes aérobies qui vont produire du soufre élémentaire (cf. Bertrand et al., 2012).

L'exposition humaine à des contaminants physiques, chimiques ou biologiques est virtuellement inévitable. Des composés chimiques sont constamment retrouvés dans l'air, l'eau et les aliments. Cependant, l'évaluation de leur impact sur la santé humaine reste souvent limitée en raison de l'absence ou de l'insuffisance de données permettant de quantifier les expositions sur l'ensemble de la vie des populations exposées et de préciser les co-expositions. Elle repose sur des études épidémiologiques et des études expérimentales *in vivo* et *in vitro*.

Diverses pathologies non cancéreuses et différents cancers sont attribués à des contaminants sur la base d'études épidémiologiques qui ont mis en évidence une incidence accrue dans certains milieux professionnels ou domestiques, ou associée à certaines habitudes alimentaires. Des études chez l'animal et/ou *in vitro* ont aussi montré que de nombreux contaminants peuvent être cytotoxiques, mutagènes et/ou cancérogènes. Il est aujourd'hui bien acquis que diverses pathologies peuvent être imputées de manière indiscutable à des expositions courtes ou prolongées à des contaminants. On peut notamment citer des perturbations de la fertilité, des pathologies respiratoires, cardiovasculaires et neurologiques et des cancers. Certaines populations sont particulièrement à risque : les travailleurs dans certains milieux professionnels, les femmes enceintes, les enfants



en bas-âge et les sujets âgés. Néanmoins, une corrélation directe entre une étude épidémiologique et une pathologie reste souvent difficile à établir. En effet, l'évaluation de l'impact des contaminants sur la santé humaine soulève souvent de nombreuses interrogations concernant notamment la pertinence des approches expérimentales et des tests utilisés.

Les approches expérimentales

Si de nombreuses études épidémiologiques (cohortes, cas-témoins) portent sur l'impact sanitaire des contaminants sur la santé humaine beaucoup d'entre elles ont un intérêt limité en raison d'un trop petit nombre d'individus testés, de protocoles expérimentaux trop imprécis ou encore en raison d'une durée d'étude trop courte. Dans certains cas, les limites peuvent cependant être compensées par la réalisation de méta-analyses.

De nombreuses études font appel à l'expérimentation animale ; elles ont permis dans de nombreux cas de reproduire des pathologies observées chez l'homme et d'appréhender les mécanismes impliqués mais les condi-

tions expérimentales utilisées sont souvent bien éloignées des conditions d'exposition humaine et ne peuvent mimer la variabilité de réponse interindividuelle chez l'homme.

Quant aux modèles *in vitro* (cultures primaires et lignées cellulaires notamment) ils sont largement utilisés pour évaluer le potentiel cytotoxique et génotoxique des contaminants. Toutefois, les modèles et les méthodes d'étude utilisés interrogent souvent sur la validité de l'extrapolation des résultats à la situation *in vivo*. Ainsi, concernant la génotoxicité des produits chimiques il existe bien une banque de données importante et plusieurs tests *in vitro* sont reconnus par les Agences réglementaires depuis une trentaine d'années et font l'objet de directives nationales et internationales. C'est le cas des tests les plus communs pour la mise en évidence de mutations génétiques que sont le test de Ames sur bactéries *Salmonelle* et le test sur cellules de lymphome de souris, et pour les mutations chromosomiques, le test du micronoyau et le test des aberrations chromosomiques. Toutefois, si la sensibilité de cette batterie de tests est élevée, leur spécificité (pourcentage de composés non cancérogènes reconnus négatifs) est très faible, étant inférieure à 45 % pour les tests sur cellules de mammifères (Kirkland et al., 2007). L'absence de capacité métabolique représente une des limites majeures de ces modèles cellulaires dans la mesure où de nombreux produits chimiques ne sont toxiques qu'après bio-activation, principalement via leur métabolisme par des systèmes enzymatiques. De plus, il ne s'agit habituellement que d'expositions de courte durée, qui ne miment donc pas l'exposition humaine. Cette situation a conduit certains auteurs à affirmer qu'il était nécessaire de complètement revoir l'évaluation des composés génotoxiques (Sutter, 2006).

Le manque de connaissances sur la toxicité de la majorité des produits industriels a conduit l'Union Européenne à mettre en place le règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of CHemicals) qui vise à évaluer la toxicité d'environ 30 000 molécules, synthétisées en grandes quantités (> une tonne par an). Mais quelles approches utiliser ? S'il n'était fait appel qu'à l'expérimentation animale il faudrait (selon certaines estimations) environ 4 millions d'animaux et cela coûterait 2.8 milliards d'euros. Il est clair qu'il existe un besoin très fort de nouvelles approches et de nouveaux concepts pour étudier les contaminants.

La diversité des voies potentielles de toxicité des contaminants a conduit le U-S National Research Council (NRC) à lancer en 2007 le programme US TOXCAST dans le but de remplacer l'expérimentation animale par des cellules humaines et le criblage à haut débit afin de caractériser les perturbations induites par ces molécules et réaliser une cartographie complète des voies de toxicité (Andersen et al., 2010). Les premières études révèlent l'ampleur de la tâche et les difficultés rencontrées pour l'analyse d'un grand nombre de données.

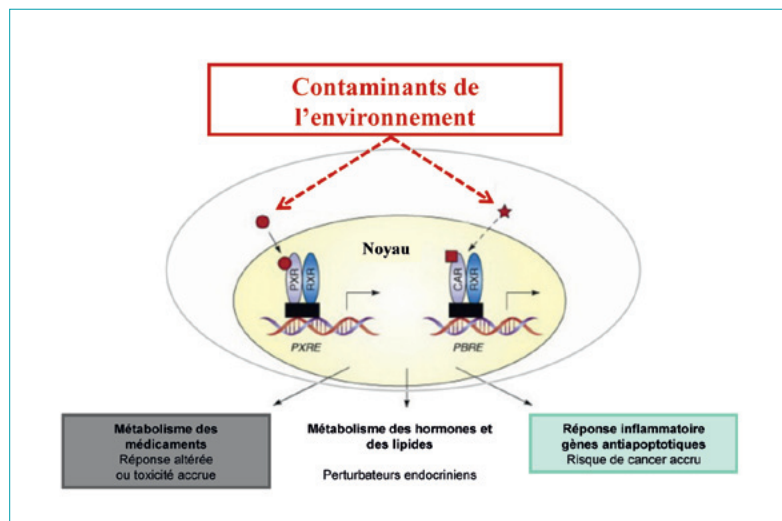
Les mécanismes de toxicité

Une large variété de mécanismes peut être impliquée dans la toxicité des contaminants qui peuvent agir de manière directe ou indirecte, par exemple via l'induction d'un stress oxydant. De nombreux contaminants induisent des dommages à l'ADN ou la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). D'autres peuvent perturber des voies de signalisation, déréguler une fonction métabolique ou agir spécifiquement sur une protéine cible particulière, enzymatique ou non. Ainsi, les nanoparticules (particules fines atmos-

phériques et nanomatériaux), certains métaux (arsenic,...) et divers produits chimiques sont reconnus pour pouvoir endommager l'ADN et /ou induire un stress oxydant.

S'agissant des nanoparticules (NP), c'est principalement après avoir pénétré à l'intérieur des cellules par divers mécanismes (phagocytose, macropinocytose, endocytose, transport passif), qu'elles exerceraient leurs effets toxiques, notamment via un stress oxydant de manière directe ou indirecte (les ERO pouvant interagir dans la cellule avec les lipides, les protéines ou l'ADN) et l'induction d'une réaction inflammatoire. Les ERO peuvent perturber la prolifération cellulaire, provoquer des dommages à l'ADN et être responsables de la mort cellulaire ou de mutations. Par exemple, les NP de dioxyde de titane peuvent produire sous l'action de rayonnements ultra-violets, des anions peroxyde et des radicaux hydroxyle. Ces NP peuvent également induire indirectement la formation d'ERO, après interaction avec des constituants cellulaires, par exemple des mitochondries, ce qui va entraîner une perturbation de la chaîne respiratoire (Lewinski et al., 2008, Afsset, 2010). La réponse va dépendre du niveau du stress oxydant. De nombreuses études ont montré que les NP manufacturées (fullerènes, dioxyde de titane, oxyde de zinc,...) peuvent induire une réaction inflammatoire. Celle-ci dépend de leurs propriétés physico-chimiques. Des dommages à l'ADN peuvent résulter d'une interaction directe avec une NP ou via la formation d'ERO. Les NP peuvent en outre induire des modifications épigénétiques (altérations de la méthylation des gènes, de l'acétylation des histones et/ou de l'expression des miRNA).

La cancérogénèse chimique est un processus multi-étapes impliquant diverses altérations génétiques. Des modifications épigéné-



Activation de récepteurs nucléaires par des contaminants et conséquences
© : Jean-Marc Pascussi, CNRS, Montpellier

tiques peuvent jouer les mêmes rôles (Jones et Baylin, 2007) et sont considérées comme étant à l'origine des cancers induits par des cancérigènes non génotoxiques. La prédiction du potentiel cancérigène des composés non génotoxiques repose sur le test de cancérogénèse de 2 ans chez le rongeur, recommandé par les agences d'enregistrement. Un test *in vitro* devrait également prochainement faire l'objet d'une directive de l'OCDE ; il s'agit du test de transformation des cellules embryonnaires de hamster syrien (traitement de 7 jours) (Maire et al., 2012) mais ce test a aussi des limites, liées notamment à l'absence de capacité de biotransformation des cellules et leur origine animale. Les mécanismes, notamment initiaux, impliqués dans la cancérogénèse chimio-induite restent mal connus.

En ce qui concerne les éléments métalliques traces (ETM), la toxicité des métaux dépend du métal considéré et de sa spéciation. Par exemple, l'arsenic est plus toxique que l'arséniate ; il génère des ERO et induit des dommages à l'ADN. Quant au cadmium il est peu mutagène ; des mécanismes indirects et

épigénétiques seraient à l'origine de son pouvoir cancérigène (par exemple une activation d'oncogènes ou une inhibition de l'apoptose).

Enfin, de nombreux contaminants de l'environnement sont des perturbateurs endocriniens (PE). Citons par exemple la dioxine, le bisphenol A, les phtalates, les pesticides organochlorés. En effet les récepteurs hormonaux sont susceptibles d'être modulés par des polluants, tels les récepteurs à l'oestradiol par les pesticides organochlorés. De nombreuses études montrent une grande diversité d'altérations métaboliques et de lésions induites par les PE.

CONTAMINANTS ET EFFETS TOXIQUES

Ondes et radiations

Quelques études épidémiologiques concernant les ondes électro-magnétiques ont été effectuées chez des enfants, des adultes de la population générale ou des personnes plus exposées. Le mode opératoire de telles études est purement statistique dans la prévalence de certains cancers (cancers du cerveau, lymphomes, leucémies...) ou certaines affections du cerveau (migraines, vertiges,...).

Des cohortes ont permis de suivre durant une longue période un grand nombre de personnes initialement saines et exposées aux ondes (par exemple des abonnés de portables). Dès 1999, une étude américaine a suivi 250 000 abonnés pendant 1 an et une étude danoise (2000) 420 000 abonnés pendant 3 ans. Aucune conclusion n'a pu être tirée de ces travaux. Des études cas-témoins se sont attachées à établir si les mobiles (ou les lignes électriques...)

sont la cause de tumeurs observées chez des patients dont les cancers ont été diagnostiqués.

Une étude à plus long terme (7 ans), l'étude internationale Interphone (13 pays), lancée en 2000 et portant sur la recherche d'un lien entre téléphone portable et risque de tumeurs cérébrales, montre une diminution du risque de tumeurs cérébrales chez les utilisateurs réguliers et une légère augmentation chez les très gros utilisateurs (Swerdlow et al., 2011).

Le CIRC (Centre International de Recherches sur le Cancer) a classé, en mai 2011, les champs électro-magnétiques de radiofréquences comme pouvant être cancérigènes pour l'homme sur la base d'un risque accru de gliomes associés à l'utilisation du téléphone portable rapporté dans certaines études. Mais les données publiées jusqu'ici ne sont pas suffisamment concluantes pour prendre des mesures réglementaires, compte-tenu des méthodologies utilisées, du recul encore insuffisant et du manque de données chez l'enfant. Aucune étude n'a pour le moment identifié clairement un mécanisme biologique sous-tendant un effet cancérigène des champs de radio-fréquences.

Particules fines, nanoparticules et nanomatériaux

Les particules fines, ultra-fines et les nanoparticules atmosphériques

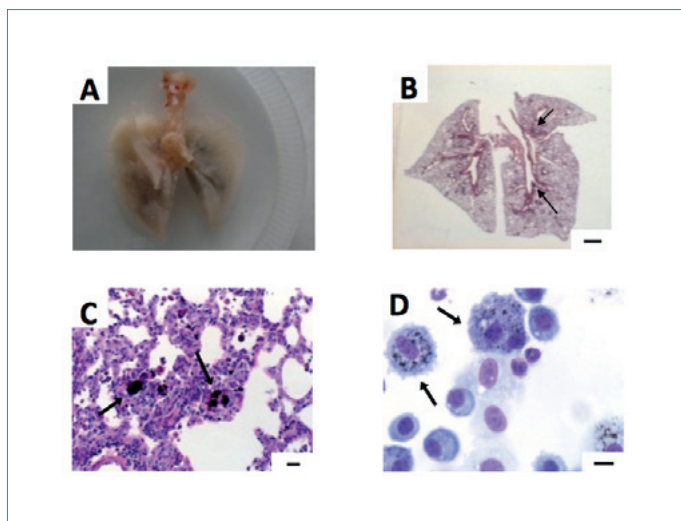
Les particules atmosphériques inhalées sont classées selon leur taille. Les particules ultrafines sont principalement émises par les moteurs diesel (de l'ordre de 20 % pouvant atteindre 40 % en milieu urbain), le chauffage au bois et les activités industrielles. Du point de vue sanitaire, on s'intéresse particulièrement aux particules de 10

(PM10) et 2,5 (PM2,5) microns car les particules inférieures à 10 μ peuvent pénétrer dans les poumons et celles dont le diamètre est inférieur à 2,5 μ peuvent atteindre et s'accumuler dans les alvéoles. La pollution atmosphérique contribue à la survenue de nombreuses maladies respiratoires et allergiques. Elle est l'un des facteurs environnementaux responsables de la sensibilisation aux aéro-allergènes qui se manifeste souvent dès la prime enfance (asthme, rhinite). Parmi les multiples composants de la pollution urbaine les poussières métalliques portées par les particules fines retiennent l'attention sur la base d'arguments épidémiologiques et expérimentaux. Ainsi, la prévalence de symptômes asthmatiques est doublée chez des enfants vivant dans des zones polluées par des émissions industrielles de métaux lourds. Les particules fines auraient aussi des effets sur la croissance fœtale via l'induction d'un stress oxydant et une inflammation au niveau placentaire. Une méta-analyse de 10 études a également mis en avant les risques d'anomalies cardiaques congénitales liés à l'exposition maternelle aux polluants atmosphériques (Vrijheid et al., 2011).

Les sujets âgés apparaissent également plus vulnérables à la pollution atmosphérique. Des effets délétères de la pollution atmosphérique d'origine autoroutière (mesure quotidienne des concentrations carbone/suie dans une zone urbaine de Boston) ont été montrés chez les sujets les plus âgés (Power et al., 2011).

Les nanomatériaux

La production de nanomatériaux et leurs multiples applications sont en constante augmentation. Elle a été estimée annuellement à plus de 2 000 tonnes au cours



Accumulation de nanotubes de carbone dans le poumon de souris
© : Françoise Pons, CNRS, Strasbourg

des dernières années pour un montant atteignant les 1 000 milliards d'euros (Ref : cahiers de l'ANR, les nanotechnologies : un nouveau paradigme). L'exploitation croissante des nanotechnologies et leur utilisation commerciale entraînent une augmentation de l'exposition de la population, qui concerne en premier lieu les employés de l'industrie et des laboratoires pour lesquels la possibilité de contact avec les nanomatériaux est élevée. La question de leur développement et de leur régulation reste un vrai débat de société. La toxicité de ces particules est étroitement liée à leurs propriétés physico-chimiques (par exemple : surface, charge, forme, composition, solubilité, agrégation dans les milieux biologiques) mais également pour les nanoparticules métalliques, à une libération dans le milieu des métaux les constituant.

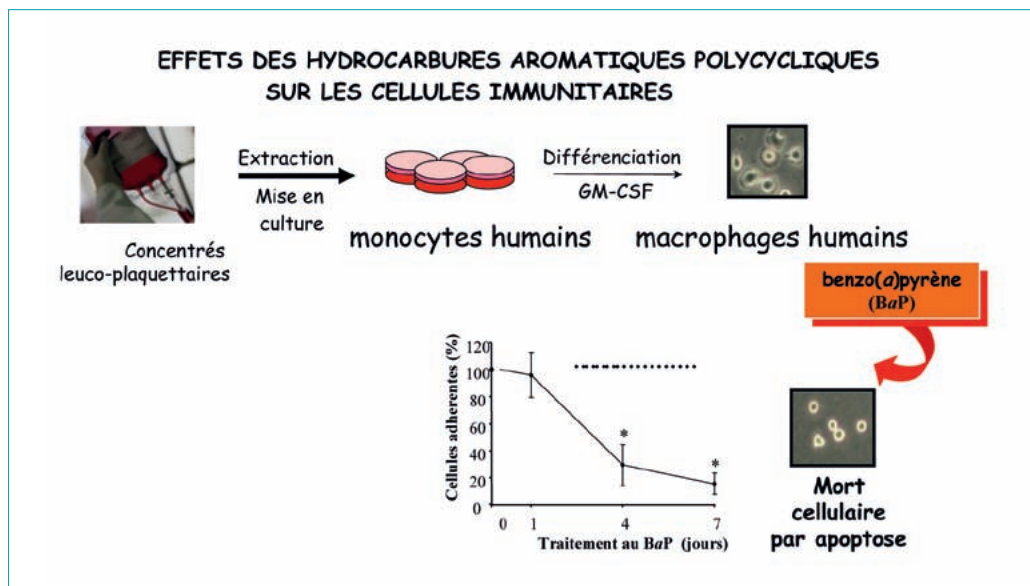
Plusieurs voies d'exposition à ces contaminants peuvent être distinguées : l'inhalation, le contact cutané et l'ingestion. Les données disponibles à ce jour montrent que certaines nanoparticules peuvent franchir les barrières de protection, se distribuer

dans l'organisme et s'accumuler dans plusieurs organes (par exemple les poumons et le foie). Si des connaissances sur leurs effets au niveau cellulaire ont été apportées, leur impact sur la santé humaine demeure encore mal connu.

Contaminants chimiques

De nombreuses études concernent les effets toxiques des contaminants chimiques. Ces effets sont certainement plus importants à certaines périodes de la vie, notamment au cours de la vie fœtale. Aussi, l'imprégnation des femmes enceintes par des substances chimiques fait l'objet d'une surveillance accrue dans plusieurs pays. Une étude américaine de bio-surveillance a caractérisé l'exposition de femmes enceintes à 163 substances chimiques de 12 classes chimiques différentes (National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004). Huit des 12 classes chimiques ont été retrouvées chez quasiment toutes les femmes enceintes : PFC, PBDE, PCB, pesticides, organochlorés, phénols, phtalates, HAP et perchlorate. Les valeurs étaient similaires ou inférieures à celles mesurées chez les femmes non enceintes (Woodruff et al., 2011). Des données de même type devraient être prochainement obtenues en France à partir de l'étude Elfe mise en place par l'InVs dans le cadre du plan PNSE2.

Dans une étude publiée en 2006 portant sur l'examen de données publiques disponibles sur la toxicité chimique, il est apparu que 202 produits chimiques industriels, incluant des métaux, peuvent endommager le cerveau humain. Pourtant, près de la moitié de ces substances chimiques connues pour leur toxicité sur le cerveau sont encore couramment utilisées. C'est le cas du plomb,



Toxicité du benzo(a)pyrène sur les cellules immunitaires humaines
© : Lydie Sparfel, INSERM, Rennes

première substance chimique identifiée comme ayant des effets toxiques sur le développement du cerveau dans les premières années de vie. Mais si le plomb et le mercure font partie des quelques substances contrôlées ce n'est pas le cas des 200 autres substances connues pour leur toxicité sur le cerveau humain (Grandjean et Landrigan, 2006).

LES POLYCHLOROBIPHÉNYLES (PCB)

Molécules largement répandues dans l'environnement et persistantes, les PCB sont toxiques pour l'homme. Leur toxicité varie selon leur poids moléculaire (nombre d'atomes de chlore) et leur configuration spatiale. L'alimentation est la première source d'exposition aux PCB (90 % de l'exposition totale), surtout via des produits d'origine animale : poisson, viande, œufs et produits laitiers. En effet, très liposolubles, ils sont facilement bio-accumulables dans les tissus gras, incluant le lait maternel dont ils sont parmi les principaux polluants, notamment dans les pays industrialisés.

Toutefois, ce sont des intoxications collectives qui ont d'abord révélé la toxicité des PCB chez l'homme. Ainsi, en 1968, à Yūshō (Japon), environ 1 800 personnes ont été victimes d'une contamination d'une huile alimentaire par des PCB provenant de la fuite d'un compresseur dans des proportions de 2000 ppm (soit 0,2 %), qui a provoqué l'apparition d'éruptions cutanées, des troubles digestifs et oculaires, des engourdissements de membres,.... Ces réactions ainsi que d'autres atteintes, notamment hépatiques et neurologiques, ont également été rapportées au cours d'intoxications professionnelles ou accidentelles avec des doses de 800 à 1 000 mg·kg⁻¹ de PCB (Rogan et al., 1988 ; Chen et al., 1992).

L'exposition in utero, de l'enfant ou du jeune adolescent à des PCB, a été associée à des perturbations endocriniennes qui peuvent se traduire par l'altération du système reproducteur mâle, jusqu'à éventuellement l'infertilité (Foster et al., 1996 ; Jacobson et al., 1990).

Les PCB sont plus susceptibles d'agir en synergie avec d'autres toxiques ou perturbateurs endocriniens, tels que des polybromobiphényles (PBB) et avec le dichloro diphényle trichloroéthane (DDT).

Dans les années 1980, de solides arguments ont été apportés en faveur de la reprotoxicité des PCB. Des anomalies congénitales (peau, muqueuse et phanères) sont apparues chez des enfants exposés in utero à des PCB provenant d'une huile contaminée (Chen et al., 1992).

Les effets toxiques d'une exposition prénatale ont été confirmés en mesurant la taille, le poids et l'âge gestationnel du nouveau-né, et en montrant un retard dans le développement du très jeune enfant. De plus, à des teneurs légèrement supérieures à celles auxquelles la population générale est exposée, une contamination in utero peut être responsable de séquelles neurologiques (se traduisant notamment par un retard mental et du développement observés chez le jeune enfant) (Jacobson et al., 1990; Gray et al., 2005, Ribas-Fito et al., 2001). Ces différentes observations sur les effets différés des PCB sur le développement confirment des données obtenues chez le singe et le rat, montrant des périodes-clé de vulnérabilité in utero (Levin et al., 1988). Cependant, des déficits cognitifs chez de jeunes enfants, ont aussi été corrélés avec des contaminations aux PCB lors de l'allaitement.

L'exposition aux PCB aurait également des effets délétères chez le sujet âgé. Une équipe suédoise a conclu que certaines de ces molécules augmenteraient le risque d'artériosclérose, en comparant l'épaisseur de la carotide de 1 016 personnes âgées de 70 ans avec l'imprégnation de 23 PCB. Selon cette étude, les PCB les plus chlo-

rés (PCB 194, 206 et 209) auraient le plus fort impact, principalement sur l'échogénicité (capacité à renvoyer un écho) de l'intima-media de la paroi carotidienne ; cette mesure étant utilisée comme marqueur précoce de l'artériosclérose (Lind et al., 2012).

Les PCB sont également potentiellement cancérigènes. Ils sont classés comme « cancérigènes probables » (groupe 2A du CIRC) pour les cancers hépatobiliaires (cancer du foie, cancer des voies biliaires, cancer du pancréas), et le PCB 126 est classé cancérigène certain.

LES PERFLUORÉS

Principalement représentés par le sulfonate de perfluorooctane (PFOS) et l'acide perfluorooctanique (PFOA), fabriqués depuis les années 50, ils sont également suspectés d'induire des effets délétères chez le fœtus. Ces composés qui ont de nombreuses applications, peuvent traverser la barrière placentaire et la barrière hémato-encéphalique fœtale, ce qui peut avoir des impacts sur le développement fœtal. Cette hypothèse basée sur une étude chez le rat montrant la survenue d'anomalies persistantes du comportement, n'a cependant pas été confirmée dans une étude danoise sur des enfants exposés pendant la période périnatale et suivis pendant 7 ans. Les doses d'exposition beaucoup plus élevées utilisées chez l'animal (2 à 600 fois les concentrations retrouvées chez les enfants) expliquent sans doute les différences (Fei & Olsen, 2011).

LES POLYBROMODIPHÉNYLES ÉTHERS (PBDE)

Ces composés bromés, notamment utilisés comme retardateurs de flammes pour les meubles, les textiles, les équipements électroniques, sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens ; ils seraient

également responsables de troubles de développement du système nerveux (autisme, hyperactivité, déficit d'attention, trouble de comportement...). Herbstman et al. (2010) ont analysé les taux d'exposition prénatale aux PBDE en mesurant leur concentration dans le sang du cordon ombilical à la naissance. Ils ont ensuite suivi le développement cérébral des enfants entre 1 et 4 ans puis à l'âge de 6 ans. Les enfants présentant à la naissance les concentrations en PBDE les plus élevées dans le sang du cordon ombilical, avaient les résultats les plus bas aux tests de développement physique et mental réalisés entre 1 et 6 ans. Ces effets sur le développement étaient particulièrement remarquables à l'âge de 4 ans. Les résultats des tests de QI et de langage étaient réduits de 5,5 à 8,0 points pour rapport à ceux qui avaient eu la plus forte exposition prénatale.

LES PESTICIDES

Plus de 300 substances réglementées sont actuellement sur le marché. En 2010 l'European Food Safety Authority (www.efsa.europa.eu) a fait rechercher des résidus de pesticides dans 67 887 échantillons alimentaires à-travers l'Union Européenne ; ils ont été détectés dans 46,7 % des échantillons analysés, avec au moins 2 résidus dans 26,7 % (> 4 dans un tiers). Le risque de mélanges et la nécessité de les évaluer sont reconnus par la Commission Européenne. Toutefois, les données sur les risques sanitaires liés à ces contaminations restent trop parcellaires pour pouvoir être prises en compte dans la définition de seuils dans différents milieux.

Plusieurs études épidémiologiques ont été entreprises afin d'estimer les effets à long-terme des pesticides. Elles concernent principalement les agriculteurs et elles ont majoritairement été menées aux US et au Canada

et pour l'Europe, dans les pays scandinaves et l'Italie. L'analyse des données provenant des cohortes est cependant compliquée par la nécessité de considérer plusieurs facteurs : dose de pesticide, durée d'exposition ; mélanges ; facteurs génétiques ; taille des cohortes. La cohorte AHS (Agricultural Health Study), mise en place en 1994 par le NCI, regroupe plus de 50 000 agriculteurs de l'Iowa et la Caroline du Nord, plus de 30 000 conjoints et près de 5 000 applicateurs professionnels. La cohorte AGRICAN, d'abord établie dans le Calvados en 1995 à partir des affiliés à la Mutualité Sociale Agricole, a inclus près de 180 000 personnes. Elle fait aujourd'hui partie d'un regroupement de cohortes agricoles réparties dans 6 pays (Canada, Corée du Sud, France, Norvège, Nouvelle-Zélande, US). En France, 1 à 2 millions de personnes du monde agricole sont concernées par des expositions aux pesticides.

Les expositions professionnelles aux pesticides ont été particulièrement mises en cause dans les hémopathies malignes lymphoïdes. Chez les agriculteurs leur implication dans les tumeurs cérébrales et les cancers hormono-dépendants (prostate, sein, testicules, ovaire) a été avancée. Des méta-analyses ont confirmé des localisations tumorales en excès : cancers hématologiques, prostate, cerveau, lèvres, tandis qu'une plus faible incidence a été mise en évidence pour certains cancers : cancers du poumon, de la vessie et de l'œsophage.

L'association entre pesticides et risque de cancer reste, néanmoins, difficile à documenter compte-tenu du nombre et de l'évolution des produits utilisés au cours du temps ainsi que la nature et les quantités de pesticides utilisés selon le type d'agriculture. Toutefois,

plusieurs pesticides organiques sont actuellement classés par le CIRC comme cancérigènes certains (arsenic), possibles (catafol et dibromure d'éthylène) ou probables (18 molécules dont le DDT).

D'autres effets ont été mis en évidence. Ainsi, l'étude Phytoneer lancée en 1997, qui avait pour objectif d'évaluer les effets d'une exposition professionnelle aux pesticides chez les ouvriers viticoles girondins, a montré chez ceux-ci une réduction des capacités cognitives. 929 personnes âgées de 42 à 57 ans ont été suivies pendant au moins 12 ans. Parmi elles, 784 ouvriers étaient directement ou indirectement exposés aux pesticides. Les autres, non exposés professionnellement, constituaient le groupe témoin. Les personnes exposées présentaient des performances altérées aux tests neurocomportementaux. Les altérations concernaient plus particulièrement les fonctions les plus fines de la cognition qui permettent au cerveau de gérer les liens entre les informations entrantes et sortantes. Quatre ans plus tard, les tests ont été répétés sur 614 ouvriers encore disponibles. Les résultats ont confirmé les conclusions précédentes : les personnes exposées aux pesticides présentaient des performances moindres à l'ensemble des tests. Mais les résultats étaient plus inquiétants car les personnes ayant les scores les moins bas au départ de l'étude présentaient le risque de baisse des performances le plus élevé. Pour Isabelle Baldi, auteur principal de cette étude, ces résultats suggèrent qu'une exposition prolongée aux pesticides peut réduire les capacités de réserve cognitive (Baldi et al., 2011). Déjà en 1998, une étude avait montré que des populations d'enfants âgés de 4 à 5 ans exposés à des pesticides, avaient une coordination motrice, une mémoire à trente minutes et une aptitude à dessiner moins bonnes (Guillette et al., 1998).

Plus récemment, en 2010, une équipe de chercheurs des Universités de Harvard et de Montréal, a découvert que l'exposition aux pesticides pouvait être associée à l'apparition d'un trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention (THADA) chez les enfants (Bouchard et al., 2010). Cette conclusion a résulté de la mesure des concentrations de pesticides présentes dans les urines de 1 139 enfants vivant aux États-Unis. Selon les auteurs, l'exposition au malathion (un organophosphoré utilisé comme insecticide et acaricide), aux concentrations fréquemment observées chez les enfants américains, pourrait contribuer au diagnostic de THADA. L'exposition aux organophosphorés pendant l'enfance pourrait ainsi avoir des effets persistants sur le système nerveux et provoquer des troubles de l'attention et un déficit cognitif.

Certains pesticides ont fait l'objet d'études individuelles. Ainsi, des données américaines récentes montrent que le chlorpyrifos, un pesticide organo-phosphoré très utilisé à-travers le monde, provoque des anomalies cérébrales chez l'enfant exposé in utero (Rauh et al., 2012). Les taux de chlorpyrifos ont été mesurés dans le sang du cordon ombilical d'une cohorte de 369 nouveau-nés et 20 enfants qui avaient été exposés à des taux élevés (> 4,39 pg/g) ont été comparés à des enfants moins exposés, entre 5,9 et 11,2 ans. Ceux qui ont été fortement exposés présentaient plusieurs types d'anomalies cérébrales caractérisés en imagerie, notamment un élargissement de certaines régions associées à de moins bonnes performances aux tests cognitifs ainsi qu'une diminution de l'épaisseur du cortex frontal et pariétal. De plus, ils ne montraient pas les différences sexuelles attendues au niveau du lobe pariétal inférieur.

droit. Cette étude ne repose que sur un petit nombre de patients mais une extension est en cours. Ce pesticide agirait en inhibant l'acétyl-choline estérase, ce qui aurait pour conséquence une augmentation de l'acétyl-choline dans le cerveau.

Plusieurs travaux ont porté sur la chlordécone et montré des rapports directs entre sa concentration chez les sujets exposés et des cancers de la prostate mais cette molécule apparaît également susceptible d'induire d'autres effets. Une étude épidémiologique récente a montré un léger déficit cognitif et moteur chez des enfants de 7 mois après contamination in utero et via l'allaitement à la chlordécone (Dallaire et al., 2012).

LES PHTALATES

La toxicité des phtalates les plus employés, tel le DEHP, est assez bien connue chez les animaux de laboratoire. Elle varie d'un phtalate à un autre. La dose journalière tolérable (NOAEL) pour les rats se situe entre 50 et 600 mg/kg/jour et la dose la plus basse à laquelle aucun effet toxique n'est observé chez l'animal est de 50 mg/kg/jour. A des doses relativement élevées, on observe une baisse de la fertilité, une atrophie testiculaire, une réduction du poids des fœtus, une mortalité fœtale et des malformations. Certains phtalates possèdent également un effet perturbateur endocrinien et peuvent provoquer des anomalies du développement sexuel chez le jeune rat mâle exposé in utero. Des perturbations au niveau du foie, des reins et du système reproducteur mâle ont également été enregistrées. Les phtalates peuvent induire des tumeurs hépatiques chez des rongeurs mais apparemment pas chez l'homme, car les mécanismes d'action sont différents.

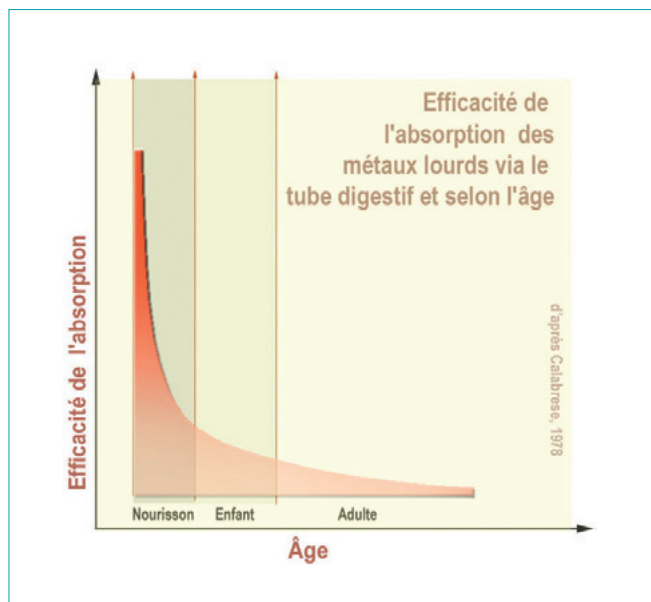
Les métaux ou ETM

De manière générale, d'abord l'embryon et le fœtus et ensuite les nourrissons puis les enfants sont beaucoup plus sensibles et plus exposés aux ETM que les adultes. En effet, ils les absorbent beaucoup plus que les adultes, tant par ingestion, que par inhalation ou passage percutané.

L'impact toxicologique des ETM dépend de leur forme chimique (« espèce chimique »), de leur concentration, du contexte environnemental, de leur biodisponibilité et de la possibilité de passage dans la chaîne du vivant (le réseau trophique).

On distingue en particulier trois métaux, mercure, plomb, cadmium, pour lesquels il n'a pas été mis en évidence de rôle positif sur l'activité biologique, et qui peuvent être à l'origine d'intoxications ou de maladies graves. Une intoxication au plomb se traduit par des manifestations rénales, neurologiques et nerveuses qui sont considérées comme des signes cliniques importants dans le dépistage. Le plomb provoque le saturnisme, affection particulièrement grave chez l'enfant. Le cadmium affecte les reins et induit des lésions hépatiques ; le mercure est un puissant neurotoxique. Rappelons que l'aluminium est aussi reconnu comme neuro-toxique.

A l'inverse, les métaux considérés comme biocompatibles et utilisés en chirurgie ou dentisterie, comme le titane et l'or, ou des métaux communs comme le fer, ne peuvent être mis sur le même plan que le mercure, le plomb ou le cadmium. D'autres métaux peuvent être très toxiques sous certaines formes (chrome VI, cuivre oxydé (vert de gris)...). L'utilisation de certains ETM est donc stric-



MÉTAUX	EFFETS SUR LA SANTÉ
Plomb	Neurotoxique puissant, responsable de saturnisme, potentiellement cancérigène
Mercure	Neurotoxique et néphrotoxique (toxique pour les reins)
Cadmium	Cancérigène, troubles du développement cérébral, de la reproduction et du système immunitaire, toxique pour les reins
Chrome	Cancérigène, mutagène, cause des inflammations, perturbe le système reproducteur
Arsenic	Neurotoxique, affecte la peau, les poumons, trouble de la reproduction, cancérigène
Aluminium	Neurotoxique, suspecté de contribuer à la maladie d'Alzheimer, Parkinson, démence et autres troubles neurologiques
Vanadium	Irritation des poumons, de la gorge des yeux et des cavités nasales, troubles digestifs

tement réglementée, voire interdite dans certaines applications.

Hormis des maladies telles que le saturnisme, la myofasciite à macrophages, l'hydrargyrie ou maladie Itai-itai, directement causées par un seul métal, les pathologies induites par les métaux sont probablement le plus souvent multifactorielles, plusieurs métaux pouvant agir en synergie (positive ou négative) et aussi interagir avec d'autres toxiques ou substances naturellement chélatrices ou protectrices. Il a été rapporté à partir d'une étude prospective, qu'une exposition intra-utérine au plomb augmenterait le risque ultérieur de sensibilisation aux allergènes respiratoires communs (Jedrychowski et al., 2011).

Les perturbateurs endocriniens (PE)

Selon la communauté européenne un PE est défini comme étant « une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et induisant donc des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou de sous-populations ». Il agit en mimant l'action des hormones et en interférant avec la production, la libération, le transport, le métabolisme ou l'action des hormones responsables du maintien de l'homéostasie, de la régulation ou du développement d'un organisme. Il peut avoir des effets directs ou indirects sur un organisme et/ou sur sa descendance. Les PE appartiennent à différentes familles chimiques qui incluent des plastifiants (phtalates), des composés organiques aromatiques (bisphenol A), des pesticides (chlordécone), des organochlorés (PCB), les parabènes, certains métaux et composés organométalliques (cadmium, tributylétain, méthylmercure). Produits en grandes quantités depuis un siècle, ils sont

présents dans tous les environnements et dans les produits de consommation courante (plastiques, emballages, produits ménagers, cosmétiques, produits industriels du bâtiment, etc.). On peut donc les retrouver dans l'eau, le sol, l'air, les habitats, mais aussi dans les aliments.

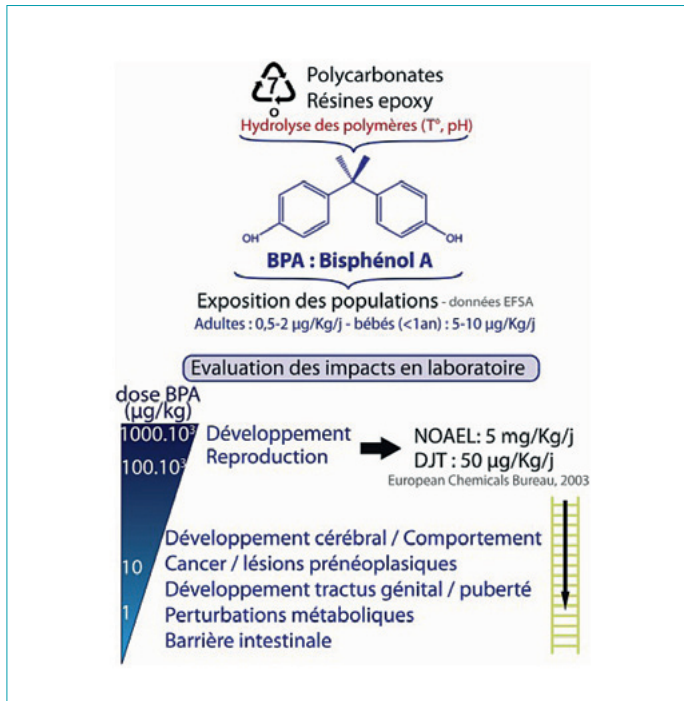
La plupart des perturbateurs endocriniens concernent les hormones thyroïdiennes ou sexuelles et peuvent entraîner, lors d'expositions prolongées, des perturbations des fonctions thyroïdiennes ou de la reproduction. Depuis quelques années, plusieurs études ont associé une exposition à ces substances à des perturbations des fonctions de reproduction comme une baisse de la fertilité (baisse du nombre de spermatozoïdes), une augmentation de l'incidence des cancers hormono-dépendants ; des troubles de la reproduction et des cas de cancers chez des enfants nés de mères traitées au diéthylstilbestrol pendant la grossesse. D'autres effets ont également été rapportés, par exemple, des effets sur les fonctions neurologiques et immunitaires induits par des PCB.

La majorité des perturbateurs endocriniens, du fait de leur structure aromatique ou phénolique, développent des activités oestrogéniques plus ou moins fortes. Les plus largement utilisés sont ceux qui entrent dans la composition des plastiques souples utilisés comme emballages industriels ou alimentaires, plastiques souples en milieu hospitalier, plastifiants de peintures, etc. Parmi ceux-ci, on peut citer le bisphénol A (BPA) et les phtalates parmi les substances les plus répandues. Le BPA a été interdit dans la composition des biberons plastiques mais reste largement présent, de même que les phtalates, dans divers produits de l'industrie

du plastique, ce qui entraîne une forte exposition des individus et des populations. Le caractère trans-générationnel des troubles comportementaux induits par le BPA a été démontré par administration quotidienne de 20 µg de BPA, doses comparables aux concentrations de BPA retrouvées dans la population humaine occidentale, à des souris pendant les 10 derniers jours de gestation. Les souriceaux traités in utero montraient des interactions sociales réduites. Par contre, les descendance ont révélé des effets inverses : les souris dont les générations antérieures avaient été exposées au BPA, avaient plus de comportements sociaux que le groupe témoin, et cet effet persistait jusqu'à la quatrième génération (Wolstenholme et al., 2012). Cet effet comportemental pourrait être lié à l'inhibition de deux hormones (la vasopressine et l'ocytocine) également observé sur 4 générations (Hayden et al., 2010). Le BPA semble également favoriser l'obésité comme le montrent des travaux récents chez la souris (Marmugi et al., 2012) et chez l'homme. Une association entre les taux de BPA urinaire et la prévalence de l'obésité a en effet été montrée chez les enfants et les adolescents (Trasande et al., 2012).

De nombreuses substances ont été interdites du fait de leur reprotoxicité (lindane, chlordécone, dioxine, PCB, DDT, etc.) mais leur rémanence dans l'environnement entraîne leur bioaccumulation dans la chaîne trophique et le risque potentiel demeure encore présent aujourd'hui. De plus, de nouveaux produits apparaissent et les études relatives à leur toxicité ou leur innocuité nécessiteront du temps.

Les PE produisent des effets via des mécanismes de signalisation physiologiques plu-



Toxicité du Bisphénol A
© : Pascal Martin INRA, Toulouse

tôt que via des mécanismes classiques de toxicité. La période d'exposition au cours de la vie apparaît très importante. Une meilleure connaissance des effets des PE aux périodes critiques de la vie, en premier lieu au cours de la vie fœtale, constitue un enjeu majeur pour les prochaines années.

PRINCIPALES PATHOLOGIES HUMAINES CAUSÉES PAR DES CONTAMINANTS

Maladies respiratoires et cardio-vasculaires

Le lien entre maladies respiratoires et cardio-vasculaires et pollution atmosphérique est bien établi. L'inhalation de particules atmosphériques est en effet mise en cause dans un grand nombre de maladies respiratoires et allergiques qui incluent l'asthme, la broncho-pneumopathie chronique obs-

tructive, des pneumonies et possiblement la tuberculose (Laumbach & Kipen, 2012). Dans le cadre du projet européen APHEKOM, les résultats de l'impact sur la santé à court et à long terme de l'exposition à des particules en suspension et à l'ozone sur la mortalité et les hospitalisations cardiaques et respiratoires dans 9 villes françaises pendant la période 2004-2006 viennent d'être publiés par l'InvS (Declercq et al., 2012). La pollution dans ces villes dépassait systématiquement les valeurs guide de l'OMS qui sont de 10µg/m³ pour les PM₁₀, 20µg/m³ pour les PM_{2,5} et de 100µg/m³ pour l'ozone. Les résultats de l'étude montrent un impact substantiel sur la santé à court et à long terme de la pollution atmosphérique, dominé par l'impact à long terme des PM_{2,5} sur la mortalité dans les 9 villes étudiées. On estime que plusieurs milliers de décès annuels (42 000 selon le Ministère de l'Ecologie) pourraient être différés si des mesures appropriées étaient prises pour réduire la pollution atmosphérique.

Maladies neurodégénératives

Des facteurs environnementaux semblent en cause dans un certain nombre de cas de maladies neurodégénératives. Certains métaux lourds toxiques et neurotoxiques comptent parmi les premiers suspects tout comme certains pesticides. Le mercure et le plomb, en particulier, pourraient agir en synergie pour inhiber ou tuer des cellules nerveuses. Certains pesticides sont également suspectés de pouvoir aussi agir en synergie avec des métaux. Monnet-Tschudi et al., (2006) ont publié une longue liste de preuves de responsabilité des métaux lourds, en tant qu'initiateurs ou facteurs aggravant de maladies neurodégénératives. Les études portent principalement sur la

recherche de liens entre pesticides et les maladies de Parkinson et d'Alzheimer.

MALADIE DE PARKINSON

Une étude publiée en 2009 a montré qu'habiter à moins de 500 mètres de surfaces agricoles sur lesquelles des pesticides ont été épandus augmente de 75 % le risque de maladie Parkinson. Le risque de développer la maladie avant 60 ans (cas plus rares) est même multiplié par 4 (Costello et al., 2009).

Rugbjerg et Collaborateurs ont interrogé 808 personnes sur leurs habitudes de vie, leur emploi, leur consommation de médicaments et leur exposition aux pesticides. Parmi les participants, on comptait 403 patients atteints de la maladie de Parkinson et 405 personnes dans le groupe témoin. La comparaison entre le groupe témoin et le groupe Parkinsonien a montré que l'exposition aux pesticides augmente d'un facteur 1,76 le risque de développer la maladie de Parkinson. Chez les agriculteurs, le facteur de risque atteint 2,47 (Rugbjerg et al., 2011). Trois études cas-témoins ont exploré l'association entre roténone (un inhibiteur du complexe I mitochondrial) et la maladie de Parkinson, mais elles ont un intérêt limité en raison du petit nombre d'individus exposés et de l'imprécision des informations sur les individus retenus dans l'étude. Toutefois une étude récente plus complète montre une association entre maladie de Parkinson et roténone ou paraquat (Tanner et al., 2011). Une étude américaine récente portant sur l'influence des rejets de Pb, Cu et Mg d'origine industrielle a conclu qu'une exposition chronique à de tels rejets, principalement le Mg, pourrait aussi constituer un facteur de risque de la maladie de Parkinson en zone urbaine (Willis et al., 2010).

MALADIE D'ALZHEIMER

Selon une étude américaine publiée en 2010 (Hayden KM, 2010), la maladie d'Alzheimer pourrait également être une des conséquences d'une exposition aux pesticides. Les chercheurs ont suivi 3 084 personnes (572 exposées aux pesticides et 2 512 non exposés) âgées de plus de 65 ans et originaires d'une région très agricole de l'UTAH (Cache County). Leurs fonctions cognitives ont été évaluées au bout de 3,7 et 10 ans après le début de l'étude. En comparant les deux groupes, il a été constaté que les personnes exposées avaient respectivement 38 % et 42 % de risques en plus d'être atteintes de démence et de la maladie d'Alzheimer. Le mercure semble aussi en cause dans de nombreux cas de maladie d'Alzheimer. Il est possible que des prédispositions génétiques favorisent indirectement la maladie, par exemple chez des individus qui ne disposent pas de la capacité de détoxifier au mieux le mercure et le plomb accumulés dans le cerveau suite à une contamination chronique au cours de la vie, ou à l'occasion d'une exposition accidentelle.

Cancers

En 2005 le nombre de nouveaux cancers en France a été estimé à près de 320 000 (180 000 chez les hommes et 140 000 chez les femmes). Si on tient compte des changements démographiques (augmentation et vieillissement de la population) l'augmentation du taux d'incidence depuis 1980 est estimée à + 35 % chez l'homme et + 43 % chez la femme.

Les cancers dont l'incidence a le plus augmenté au cours des 25 dernières années incluent les cancers du poumon, le mésothéliome, des hémopathies malignes, les

tumeurs cérébrales, les cancers du sein, de l'ovaire, du testicule, de la prostate et de la thyroïde. Cette situation a conduit à la mise en place d'une expertise collective de l'inserm pour établir un bilan des connaissances sur les liens entre l'environnement et les 9 cancers cités ci-dessus (Expertise collective inserm : Cancers et environnement, 2008).

Plusieurs facteurs environnementaux sont potentiellement cancérigènes ; ceux classés dans le groupe 1 des cancérigènes avérés par le CIRC, sont principalement des facteurs de risques professionnels (amiante, certains métaux, hydrocarbures polycycliques aromatiques, benzène, radiations ionisantes dont le radon, ...). La cancérogénicité de certains contaminants présents dans l'environnement général est également reconnue, comme le tabagisme passif, l'arsenic ou le radon.

L'amiante est le cancérigène professionnel avéré pour le poumon et le mésothéliome. Elle correspond à l'exposition professionnelle la plus fréquente à l'origine du cancer du poumon. Son interdiction en France depuis 1997 a entraîné une réduction nette des niveaux d'exposition.

Le radon est reconnu pour être responsable de cancers du poumon chez des mineurs, travaillant en particulier dans des mines d'uranium. L'excès de risque est estimé à 8-10 % pour 100Bq/m³. Une concentration de radon supérieure à 200Bq/m³ est observée dans environ 9 % des habitations.

Les particules atmosphériques sont également cause de cancers du poumon. Des auteurs ont estimé que 10 % des cancers du poumon sont attribuables à l'exposition aux PM_{2,5} à partir des concentrations de ces particules relevées chez des individus

vivant dans les agglomérations de Paris, Grenoble, Rouen et Strasbourg.

Plusieurs études indiquent ou suggèrent que les rayonnements X et gamma sont responsables de divers types de cancers (cancers du poumon, de la thyroïde, du sein, leucémies, mésothéliome, tumeurs cérébrales). Le risque est généralement plus élevé si l'exposition a lieu pendant l'enfance.

De même, plusieurs études montrent que l'exposition aux pesticides augmenterait le risque de développer certains cancers, dont le lymphome non-Hodgkinien (NHL), la leucémie, le cancer de la prostate, le cancer du cerveau et des sarcomes. S'ajoutent à ces informations les résultats de recherches émergentes, qui indiquent également que l'exposition aux pesticides jouerait un rôle dans des cancers hormono-dépendants, dont celui de la prostate, du sein ou des testicules. Selon une étude conduite dans le sud-ouest viticole français, les agriculteurs exposés à de forts niveaux de pesticides, mais aussi ceux qui les utilisent pour leurs plantes d'intérieur, ont un plus grand risque de développer une tumeur cérébrale (Baldi et al., 2011). L'étude a porté sur 221 adultes domiciliés en Gironde ayant une tumeur cérébrale et 442 témoins non malades. Les chercheurs ont alors constaté que chez les agriculteurs exposés aux niveaux les plus élevés, le risque est plus que doublé, toutes tumeurs cérébrales confondues. Il est même multiplié par plus de trois si l'on ne considère que les gliomes, les tumeurs du cerveau les plus fréquentes chez l'adulte. Le risque de développer une tumeur cérébrale serait aussi plus que doublé chez les personnes qui traitent leurs plantes d'intérieur avec des pesticides. Il a également été montré que l'usage d'insecticides domestiques par la mère au cours de la grossesse et pendant

l'enfance augmente l'incidence de leucémies chez l'enfant (Etude Clavel, ANR).

Plusieurs travaux ont montré des rapports directs entre la concentration de chlordécone et le cancer de la prostate chez les sujets exposés (travailleurs dans des usines de production de pesticides, consommateurs). Le risque est augmenté en fonction du degré d'exposition et est modulé par des facteurs génétiques de susceptibilité individuels (ou familiaux) et des facteurs environnementaux. En effet, des associations entre le cancer de la prostate et des expositions

à la chlordécone ont été montrées pour des concentrations plasmatiques > 0,96 µg/l (OR 1.77) et une modulation a été associée à des antécédents familiaux (> 0,96 µg/l OR 3.00), et à un variant de la chlordécone réductase (OD : 5.00 pour une concentration plasmatique > 0.25 µg/l).

Des études épidémiologiques ont également démontré un rapport de causalité entre l'apparition de cancers du foie et du rein et l'exposition au cadmium. Ce métal a une demi-vie de 15 ans du fait de sa très lente excrétion.

Facteurs environnementaux associés aux cancers étudiés

Cancer	Facteurs cancérigènes avérés (groupe 1) ou probablement cancérigènes (groupe 2A)	Facteurs débattus
Poumon	Amiante, radiations X ou y radon, silice, cadmium et composés, chrome VI, nickel et composés, cobalt- carbure de tungstène, hydrocarbures aromatiques polycycliques, tabac passif, arsenic et composés, béryllium et composés, fumées de diesel, chlorotoluène, épichlorhydrine, chlorure de benzoyle, application d'insecticides non arsenicaux	Fibres minérales artificielles, pollutions atmosphériques, diverses particules fines, particules issues du trafic automobile, pesticides, métiers de la viande
Mésothéliome	Amiante, autres fibres minérales (ériorite, fluoro-édénite)	Fibres minérales artificielles Radiations ionisantes Agent infectieux : Virus SV40
Hémopathies malignes	Radiations ionisantes (exposition externe rayons X ou y), benzène, oxyde d'éthylène, butadiène, virus HTLV-1, EBV, VIH, HHV 8, Helicobacter pylori, Borrelia burgdorferi	CEM-EBF (chez l'enfant), radon Solvants, formaldéhyde, PCB, HAP Pesticides, PCB, dioxines Trafic automobile (chez l'enfant) Agents infectieux : VHC ; autres virus, Chlamydia psittaci, Campylobacter jejuni
Tumeurs cérébrales	Radiations ionisantes fortes doses (exposition externe durant l'enfance ou in utero)	Tabac passif (chez l'enfant) Pesticides Radiofréquences Plomb, composés N-nitrosés Agents infectieux : SV40 (chez l'enfant)
Sein	Radiations ionisantes (exposition externe rayons X ou y) Travail posté avec perturbation des rythmes circadiens	Tabac passif, pesticides, dioxines, PCB, HAP, solvants
Thyroïde	Radiations ionisantes : exposition externe (rayons X ou y), exposition interne (contamination par iode radioactif)	Pesticides, benzène, formaldéhyde, agents infectieux : VHC, SV40, HTLV-1
Ovaire	-	Pesticides
Testicule	-	Pesticides
Prostate	-	Pesticides, cadmium, arsenic, PCB, Agents infectieux

PROGRAMME SANTÉ-ENVIRONNEMENT ET SANTÉ-TRAVAIL (SEST)

Les grands axes de l'appel à projets :

- **les déterminants environnementaux :** les contaminants, les milieux, les expositions, le rôle de l'environnement sur la dynamique des agents pathogènes et les interactions avec l'hôte ;

- **les impacts des conditions environnementales sur la santé humaine :** thèmes prioritaires (asthme et pathologies immunologiques, maladies neurologiques, infectieuses, cancers, reproduction, troubles musculo-squelettiques...); approches prioritaires (modèles toxicologiques, mécanismes d'action moléculaires, cellulaires et tissulaires, identification de gènes de susceptibilité, nouveaux marqueurs, méthodes statistiques pour l'évaluation des expositions...);

- **santé, environnement, travail et société :**

- ◆ définition et organisation du travail, les trajectoires individuelles et l'environnement de travail, les politiques publiques et la gestion privée de la sécurité et de la santé au travail ;

- ◆ émergence et la gestion des risques et des crises en santé-travail et santé-environnement : la construction des risques comme objet de l'action publique, l'appropriation des risques, expertises et concertation... ;

- ◆ interface santé/environnement, la production et la transformation des normes

sanitaires et environnementales, les représentations et les pratiques, l'action publique et collective, la connaissance des populations exposées et des zones à risques, les disparités socio-spatiales.

- **santé et environnement hors de France métropolitaine :**

modalités de gestion des risques sanitaires, conditions environnementales, écologiques et sociales de persistance d'émergence ou de réémergence des endémies infectieuses à transmission vectorielle, des pathologies infectieuses ubiquistes ; impact des toxiques et des pollutions sur la santé.

Projets 2005

Parmi les 49 projets financés, plusieurs constats peuvent être faits :

- ◆ 19 portent sur le thème santé-travail : l'approche des thèmes santé-environnement santé-travail dans le même programme est fructueuse ;

- ◆ une bonne diversité de thématiques a été financée. Vingt projets portent sur le thème impact, 4 sur déterminant/impact, 5 sur milieux, 1 croise les déterminants/les pathogènes/hors de France, 1 porte sur la dynamique des pathogènes, 2 sur pathogènes/résistance, 1 sur exposition et impact, 1 sur mesure des expositions, 1 sur mesure d'exposition, enfin 1 croise SHS/connaissance des populations ;

- ◆ une grande diversité de pathologies est abordée : fertilité, asthme, allergies et maladies respiratoires, cardio-vasculaires, cancers (sein, poumon et voies

aéro-digestives supérieures, peau), maladies neurodégénérantes et neurologiques (parkinson), troubles du développement et cancer de l'enfant, maladies émergentes (borréliose, dengue, robovirose, grippe aviaire, encéphalite japonaise, leishmaniose, néphropathie épidémique, myxomatose...), stress.

- ◆ 13 projets relèvent des SHS (sociologie, histoire, gestion, économie, psychologie). Ils portent sur différents thèmes : sociologie de la production des connaissances sur la santé au travail, coût social du stress, organisation des ressources humaines / charge de travail / santé, usages des outils quantitatifs en santé travail, économie morale de la réparation, histoire des catégories santé/travail, gestion de l'efficacité dans le cadre hospitalier, sécurité sanitaire environnementale.

On peut noter que le thème de la dynamique des pathogènes et des maladies émergentes est bien représenté avec 6 projets financés qui mobilisent 16 partenaires. L'appel à projets a ainsi permis de financer de nombreuses équipes avant que cette question ne devienne un problème majeur de santé publique.

Projets 2006

Parmi les 41 dossiers financés, sur 137 projets déposés, nous pouvons faire les constatations suivantes :

- ◆ le thème de la dynamique des pathogènes et des maladies émergentes est bien représenté : 14 projets (dont 4 sur le chikungunya et 3 sur la grippe aviaire) ;

- ◆ la compréhension du rôle des déterminants environnementaux sur la santé est abordée à travers 7 projets (4 POP, 3 métaux – dont deux abordent les perturbateurs endocriniens) ;

- ◆ l'analyse des impacts environnementaux sur la santé est abordée dans 10 projets (asthme, troubles cardiaques, cancers, allergies...) ;

- ◆ les aspects sociaux économiques sont abordés à travers 4 projets : étude comparative internationale sur la silicose ; pénibilité du travail et retraite ; allergie, pratique sociale et réforme de l'hygiène ; déterminants professionnels et facteurs pronostics des TMS ;

- ◆ l'épidémiologie des expositions professionnelles est abordée à travers 3 projets (TMS, stress...) ;

- ◆ trois projets portent sur les nanoparticules ;

- ◆ et deux concernent les virus et biotoxines dans les coquillages.

Projets 2007

Parmi les 97 projets, 24 ont été financés, représentant un taux de succès de 25 %. L'analyse des thèmes abordés dans les projets sélectionnés montre une forte augmentation des projets sur les déterminants environnementaux qui passent de 10 % en 2006 à 33 % des projets sélectionnés en 2007. On peut noter également la forte diminution des projets liés aux aspects sociaux et économiques qui concernent 12 % au lieu de 22 % en 2006 des projets sélectionnés.

- ◆ Concernant les déterminants environnementaux, 3 projets portaient sur les cyanotoxines et leurs risques associés, 2 projets sur l'évaluation de la toxicité des nanoparticules, un projet sur les perturbateurs endocriniens et un projet sur les effets sur la neurogénèse des ondes ionisantes ;
- ◆ les agents infectieux sont abordés dans 7 projets dont 3 concernent le paludisme, un projet la maladie de Chagas en Bolivie, un projet la résistance des vecteurs, un projet la répartition des pathogènes dans les sols, et un sur la détection des pathogènes dans l'air par un capteur mis au point dans le projet ;
- ◆ l'analyse des impacts environnementaux sur la santé est abordée dans 4 projets (allergies, cancer de la thyroïde, génotoxicité des radiations) ;
- ◆ 2 projets portent sur les aspects épidémiologiques des expositions (expertises face aux problèmes posés par les expositions aux faibles doses, la perception du risque dans les expositions aux radiations) ;
- ◆ 2 projets portent sur les aspects santé-travail (évaluation des risques TMS et syndrome du canal carpien).

PROGRAMME CONTAMINANTS, ECOSYSTÈMES ET SANTÉ (CES)

Le but de ce programme était d'avoir une meilleure connaissance fondamentale sur les contaminants physiques, chimiques et biologiques incluant les agents patho-

gènes, sur leurs cycles dans les écosystèmes, leurs transferts entre les différents compartiments de l'environnement (circulation, transformations abiotiques et biotiques, mécanismes de bioaccumulation, ...) et sur leurs effets sur les écosystèmes (atteintes structurales et fonctionnelles). Il s'agit également de promouvoir les recherches sur des méthodes pertinentes de mesure analytique (métrologie), sur le développement de nouveaux outils en écotoxicologie et toxicologie et, dans le cas des effets sur la santé, sur des études de physiopathologie, de biologie fonctionnelle et moléculaire et d'épidémiologie, que ce soit dans des environnements naturels, urbains ou industriels.

• les déterminants environnementaux

- ◆ caractérisation et biodisponibilité des contaminants
 - ◆ particulières (micro et nano-matériaux)
 - ◆ physiques (ondes, radiations...)
 - ◆ chimiques (métalliques, organiques...)
 - ◆ biologiques (agents pathogènes et leurs vecteurs, agents producteurs de toxines, ...)
 - ◆ dissémination, diffusion, transformations, émergence

• dynamique des écosystèmes

- ◆ impacts des contaminants
- ◆ interactions contaminants-écosystèmes
- ◆ effets des contaminants sur les composantes des écosystèmes

- ◆ écotoxicologie
- ◆ évolution des contaminants, devenir des pathogènes
- ◆ écosystèmes modèles
- ◆ modélisation des transformations ou des perturbations
- ◆ restauration des environnements et écosystèmes contaminés
- ◆ processus de biorémediation

• **impacts sur la santé**

- ◆ mécanismes moléculaires, cellulaires, tissulaires (toxicologie, physiopathologie, génotoxicité)
- ◆ mécanismes d'action et biomarqueurs (expositions à faibles doses, gènes de susceptibilité, déterminants démographiques)
- ◆ évaluation des dangers et risques pour les populations (données d'expositions (environnementales, professionnelles, alimentaires), populations à risques, multi-expositions chroniques, maladies infectieuses, relations doses-effets)

• **recherches méthodologiques et prénormatives**

- ◆ méthodes expérimentales innovantes (détection, mesures des contaminants, mesures des expositions, statistiques et modélisation)
- ◆ recherche prénormative

- ◆ appui à la mise en oeuvre des réglementations
- ◆ appui à l'élaboration de normes

Projets 2008

Le but de ce programme est de permettre une meilleure connaissance fondamentale sur les contaminants, sur leurs cycles dans les écosystèmes, leurs transferts entre les différents compartiments de l'environnement (circulation, transformations abiotiques et biotiques, mécanismes de bioaccumulation...) et sur leurs effets sur les écosystèmes (atteintes structurales et fonctionnelles). Il s'agit également de promouvoir les recherches sur des méthodes pertinentes de mesure analytique (métrologie), sur le développement de nouveaux outils en écotoxicologie et toxicologie et, dans le cas des effets sur la santé, sur des études de physiopathologie, de biologie fonctionnelle et moléculaire et d'épidémiologie, que ce soit dans des environnements naturels, urbains ou industriels.

Ce programme a été décliné en 4 axes :

- ◆ Les déterminants environnementaux : caractérisation et devenir des contaminants, compréhension des effets perturbateurs, distribution, devenir dans l'environnement
- ◆ Impacts des contaminants et réponses des écosystèmes
- ◆ Connaissance des populations et des pathologies : impact des conditions environnementales
- ◆ Recherches transversales et méthodologiques

Parmi les 102 projets soumis, 24 projets ont été financés. Parmi lesquels 8 faisaient partie de l'axe 1, 8 de l'axe 2, 6 de l'axe 3 et 2 de l'axe 4 (6 faisant partie de 2 axes à la fois).

Ces différents projets peuvent être classés en fonction du type de contaminants, du type d'écosystèmes et du type de maladies. 2 projets ont comme type de contaminants des Perturbateurs endocriniens, 4 des Nanoparticules, 1 des radiations, 1 des ondes, 4 des bactéries, 1 HAP, POP.

Parmi les écosystèmes, l'eau ou le milieu aquatique est très présent (10 projets), on retrouve également le sol (6 projets) et l'habitat incluant les villes (3 projets). Maladies : Asthme (1), Perturbateurs endocriniens (2), Toxicité cellulaire (2), bioaccumulateur chez animaux et plantes.

Projets 2009

Parmi les 18 projets financés, 1 projet est relatif à l'effet des ondes sonores, 2 concernent les nanoparticules, 4 projets concernent les POP dans les milieux aquatiques et 2 dans les sols. 2 projets sont relatifs aux métaux traces et 4 projets aux contaminants dans l'air intérieur ou urbain. Enfin, 4 projets concernent les affections pulmonaires, 1 projet les cancers et 1 projet pour la neurotoxicologie.

Par rapport au programme CES 2008, le nombre de projets concernant les métaux traces a diminué et le nombre de projets concernant les POP et les perturbateurs endocriniens augmenté. En ce qui concerne les autres thèmes, les pourcentages sont restés relativement stables.

Projets 2010

Parmi les 19 projets retenus en 2010, 2 sont relatifs à l'effet des radiofréquences et des rayonnements électro-magnétiques, un concerne les nanoparticules ; parmi les 9 projets relatifs aux POP, 4 projets concernent les POP dans les milieux aquatiques, dont un projet relatif à la chlordécone, et 2 dans les sols dont un relatif à la toxinogénèse. 2 projets sont relatifs aux métaux traces et un projet aux contaminants dans l'air intérieur ou urbain. 1 projet concerne les affections pulmonaires et 1 projet pour la neurotoxicologie. 2 projets concernent les agents pathogènes dans l'environnement. Enfin, 5 projets sont relatifs à l'écotoxicologie et 4 projets à la toxicologie.

Comparé au programme CES 2009, le nombre de projets concernant les radiations a augmenté ; celui concernant les métaux traces s'est stabilisé ainsi que le nombre de projets concernant les POP et les perturbateurs endocriniens. Pour tous les autres thèmes, les pourcentages sont aussi relativement stables. 11 % des projets concernent les pathogènes.

PROGRAMME CONTAMINANTS ET ENVIRONNEMENTS, SANTÉ, ADAPTABILITÉ, USAGES (CESA)

Le but de ce programme est de permettre une meilleure connaissance fondamentale sur les contaminants physiques, chimiques et biologiques (toxines), leur détection et leurs transferts dans l'environnement, leurs effets sur les écosystèmes (écotoxicologie, atteintes structurales et fonctionnelles) et leurs effets sur

la santé humaine (toxicologie). Il s'agit également de promouvoir les recherches sur des méthodes pertinentes de mesure analytique (métrologie), sur le développement de nouveaux outils en écotoxicologie et toxicologie et, dans le cas des effets sur la santé, sur des études de physiopathologie, de biologie fonctionnelle et moléculaire et d'épidémiologie, que ce soit dans des environnements naturels, urbains ou industriels. Il s'agit aussi de renforcer les études sur les capacités adaptatives des organismes et des écosystèmes aux contaminants et sur les usages et le comportement des populations à risques.

Ce programme a été décliné en 5 axes :

- ◆ **Métrologie** : détections et caractérisation des contaminants dans tous types d'environnements ; méthodes innovantes, technologie analytique, capteurs, mises au point de nouvelles technologies, biomarqueurs, multi-expositions, mélanges, faibles doses,...
- ◆ **Contaminants et Santé** : impacts sur les écosystèmes (écotoxicologie, effets sur la biodiversité animale et végétale,...) ; santé de l'Homme, des animaux (toxicologie), au niveau tissulaire, cellulaire, moléculaire : perturbations endocrines, perturbations physiologiques, maladies respiratoires et cardio-vasculaires, cancers, neurotoxicité et maladies neurodégénératives,...
- ◆ **Adaptabilité** : évolution des écosystèmes et des organismes affectés par les contaminants ; résilience ; évolution des seuils de réponses ; évolu-

tion des effets ; adaptations physiologiques et génétiques et épigénomique, résistances,...

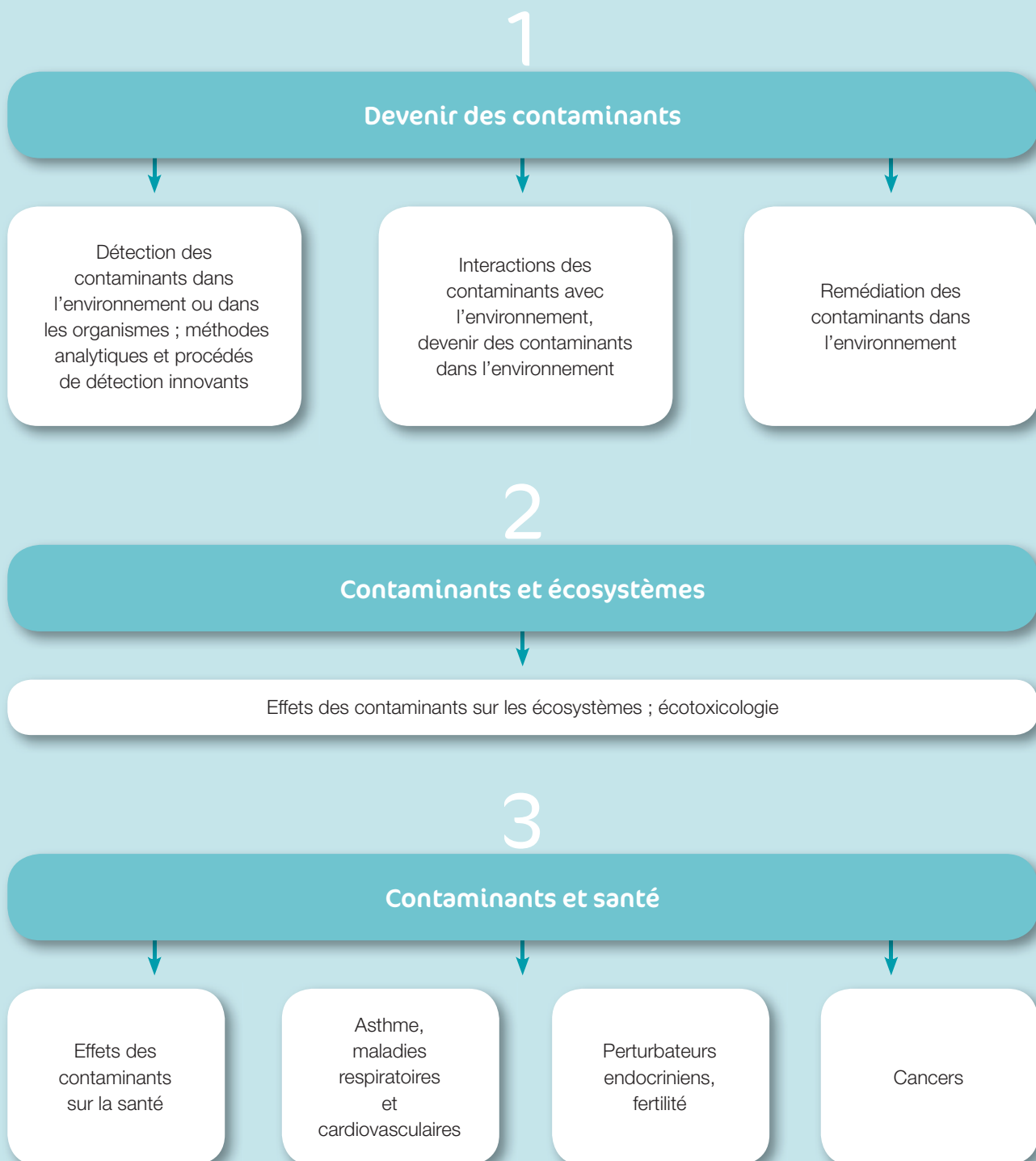
- ◆ **Usages et comportements** des humains et des sociétés face aux contaminants ; évaluation des risques et principe de précaution ;
- ◆ **Modélisation, prédiction, protection** : dépollution et décontamination, recherches pré-normatives.

Projets 2011

Parmi les 22 projets retenus, 1 projet est relatif à l'effet des radiofréquences et des rayonnements électro-magnétiques, 3 concernent les nanoparticules ; parmi les projets relatifs aux POP, 7 projets concernent les POP dans les milieux aquatiques, dont 2 projets relatifs à la chlordécone, et 8 dans les sols dont un relatif à la toxinogénèse. 6 projets sont relatifs aux métaux traces et un projet aux médicaments dans les eaux. 1 projet concerne les affections pulmonaires et 1 projet pour la neurotoxicologie. 3 projets concernent les cancers environnementaux et 6 les perturbateurs endocriniens. Enfin, 10 projets concernent l'écotoxicologie et 9 la toxicologie.

Partie 2

85 projets financés par l'ANR



1 DEVENIR DES CONTAMINANTS

Parmi les projets relatifs au devenir des contaminants, plusieurs se consacrent à des recherches innovantes de chimie analytique sur la détection de contaminants dans l'environnement ou dans des matrices biologiques, ainsi que sur leur caractérisation physico-chimique, notamment dans le cas des éléments traces (métaux) et des nanoparticules. D'autres projets présentent des travaux sur les interactions entre les contaminants et les facteurs environnementaux ou les composantes des écosystèmes. Enfin, plusieurs projets font état de recherches sur des méthodes de rémediation ou de biorémediation des contaminants dans l'environnement, que ce soit des méthodes physico-chimiques d'épuration ou d'atténuation de ces contaminants, ou bien des méthodes biologiques incluant la caractérisation de nouvelles voies métaboliques de biodégradation ou biotransformation.

Les projets présentés dans ce cahier sont donc listés en tenant compte de ces 3 grandes thématiques.

.....

Détection des contaminants dans l'environnement ou dans les organismes ; méthodes analytiques et procédés de détection innovants

.....

Interactions des contaminants avec l'environnement, devenir des contaminants dans l'environnement

.....

Remédiation des contaminants dans l'environnement

.....

Détection des contaminants dans l'environnement ou dans les organismes ; méthodes analytiques et procédés de détection innovants

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
AEROCOVID	Etude expérimentale des aérosols et des composés organiques volatils dans les mégapoles : quantification des interactions et des impacts	Caractérisation expérimentale des sources de polluants atmosphériques à Paris et Pékin
EMESTOX	Échantillonneurs passifs pour la mesure des substances chimiques et de la toxicité associée dans l'eau et les effluents industriels	Approche intégrative de la qualité chimique de l'eau par l'échantillonnage passif
FLUOSENSIL	Capteurs fluorescents à base de liquides ioniques à tâche spécifique pour la quantification de traces de métaux lourds dans l'eau	Mise au point de capteurs fluorescents à base de liquides ioniques pour la détection de métaux lourds dans l'eau
FLUXOBAT	Développement d'outils optimisés pour l'évaluation des transferts de COV depuis une source dans le sol vers l'air atmosphérique et l'air intérieur des bâtiments	Evaluation des transferts de COV depuis le sol vers l'air intérieur
IDEA	Isotopic deconvolution for environmental and analytical chemistry of organometallic pollutants	Réactivité environnementale et biologique des polluants organométalliques
LOQUAS	Localisation et quantification d'une pollution organique de sols	Localisation et quantification d'une pollution organique de sol : approches géostatistiques

Programme JCJC édition 2005

AEROCOV

Caractérisation expérimentale des sources de polluants atmosphériques à Paris et Pékin

Identifier et quantifier les sources de composés organiques volatils et d'aérosols dans des mégapoles contrastées

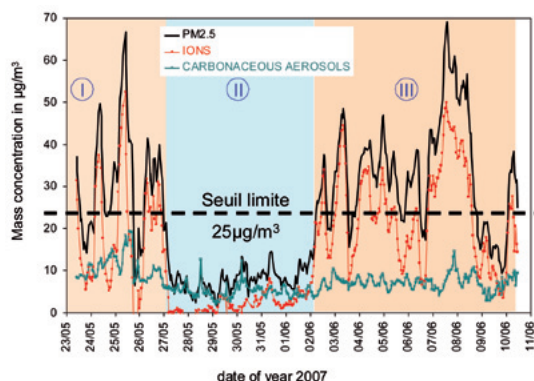
Ce projet se place dans le contexte international d'étude et de caractérisation de l'impact anthropique sur la composition de l'atmosphère. L'étude des zones urbaines, qui relevait encore récemment uniquement du domaine de la qualité de l'air, a maintenant pris une autre dimension. En particulier les mégapoles qui représentent un point source très dense, peuvent avoir un impact chimique et climatique régional voire à plus grande échelle. Ce projet est ciblé sur l'étude conjointe de deux familles de composés - les composés organiques volatils ou COV, et les aérosols organiques - jouant un rôle clé sur la chimie de l'atmosphère en zone urbaine et dont les interactions (sources communes, COV précurseurs d'aérosols) sont encore peu ou mal connues dans l'estimation des forçages chimiques et radiatifs de ces espèces à l'échelle régionale.

L'objectif du projet est d'obtenir, à partir de la réalisation de campagnes de mesures, des résultats quantitatifs (identification des sources et des composés émis) et quantitatifs (facteurs d'émission, contribution de chaque grand type de source au signal observé) dans deux mégapoles contrastées (Paris et Pékin). Cette stratégie expérimentale doit nous permettre de déconvoluer les émissions locales (mégapoles) de la pollution longue distance.

Mesures en temps réel de la concentration des composés organiques volatils et de la composition chimique de l'aérosol fin (PM2.5) en milieu urbain

Le projet AEROCOV, en grande partie expérimental, s'est déroulé selon trois phases principales : tout d'abord une première étape primordiale de mise au point expérimentale, ensuite l'organisation et réalisation de deux grandes campagnes de mesures dans les mégapoles étudiées (Paris en mai-juin 2007 et Pékin en août 2007) et enfin une dernière phase de traitement et interprétation des résultats obtenus sur le terrain. Les méthodes mises en place pour ces mesures faisaient appel à des instruments de dernière génération (mesure des composés organiques volatils par spectromètre de masse à réacteur à transfert de protons) et des prototypes développés au laboratoire (ensemble d'analyse de la composition chimique des particules en temps réel, prix ADEME 2008 des techniques innovantes pour l'Environnement).

Pour déconvoluer et quantifier les sources de polluants mesurés à Paris et Pékin, une approche par modèle source-récepteur PMF (Positive Matrix Factorization) a été choisie (Coll. Ecole des mines de Douai). L'approche PMF était la mieux adaptée à cette étude car elle ne nécessite pas de connaissance a priori sur les sources. (voir article paru sur http://www.appa.asso.fr/_adminsite/Repertoire/1/fckeditor/file/Revues/PollutionAtmospherique/Hors-serie-retour-aux-sources-septembre-2010/P121.pdf).



Importance du transport longue distance sur les concentrations et la composition chimiques des aérosols fins (PM2.5) à Paris. Variations de la concentration en PM2.5 (en noir) sur la ville de Paris (station de fond urbain), mai-juin 2007. Mesures des espèces ioniques (NH₄, SO₄, NO₃) en rouge. Mesures des espèces carbonées (carbone suie, matière organique) en vert. Périodes « I » et « III » = masses d'air Européennes. Période « II » = masse d'air marine - © : Adapté de Sciare et al., 2010

AEROCOV est un projet ANR Jeune Chercheur coordonné par le Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement. Il a commencé en décembre 2005 et s'est terminé en mai 2009. Il a bénéficié d'un financement ANR d'un montant de 140 k€ pour un coût global d'environ 650 k€.

Résultats majeurs

Les campagnes de mesures réalisées à Paris et Pékin ont permis de caractériser et contraster les niveaux, la variabilité et les sources des polluants atmosphériques. Pour Paris, la contribution des sources déterminée pour les COV fait apparaître un rôle prépondérant de la source liée au trafic routier, en contradiction avec l'inventaire local d'émissions. Un autre résultat majeur du projet est la mise en évidence du rôle de l'apport des émissions continentales sur les niveaux des particules PM2.5 mesurés à Paris, provoquant un dépassement des seuils limites.

Ce projet a été l'initiateur de plusieurs projets nationaux (PARTICULES, FRANCIPOL) et européens (MEGAPOLI) sur l'étude des sources de polluants à Paris et Ile de France (coll. AIRPARIF).

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à diverses publications et communications et 2 thèses ont été soutenues (C. Gaimoz, 2009 ; O. d'Argouges, 2009). De plus, J. Sciare et Roland Sarda-Esteve ont reçu le prix des techniques innovantes pour l'environnement de l'ADEME (2008) pour la «détermination en temps réel de la composition chimique des particules atmosphériques fines (PM2.5) et ultra-fines (nanoparticules) ».

Programme PRECODD édition 2008

EMESTOX

Une approche intégrative de la qualité chimique de l'eau par l'échantillonnage passif

Améliorer la surveillance chimique dans les rejets et les masses d'eau

La restauration du bon état écologique et chimique des milieux aquatiques d'ici 2015, telle que demandée dans le cadre de la Directive Cadre Eau, est un énorme enjeu. Le bon état chimique concerne 41 substances : celles classées comme « prioritaires » qui doivent être réduites progressivement des rejets et celles dites « prioritaires dangereuses », qui doivent y être supprimées. Mais au-delà de ces substances, plus de 100 000 sont présentes en Europe d'où l'importance de la surveillance des rejets et des milieux. Si la connaissance de la contamination des milieux aquatiques s'est améliorée ces dernières années, elle reste néanmoins parcellaire du fait de la grande variabilité des milieux (variabilité temporelle et spatiale) et des difficultés analytiques inhérentes aux suivis de micropolluants dans des matrices complexes. D'où la nécessité de développer des méthodologies permettant de mieux quantifier les concentrations des substances dans l'eau et les effluents.

L'objectif de ce projet est donc de proposer une méthode alternative permettant d'améliorer cette surveillance chimique, une meilleure prise en compte de la variabilité temporelle de la contamination et de renseigner sur la toxicité associée aux substances présentes identifiées ou non.

Développer et optimiser différents échantillonneurs passifs et évaluer la toxicité des effluents

Ce projet a pour objectifs plus précis de développer et d'optimiser des échantillonneurs passifs préexistants, ceux largement étudiés comme les membranes semi-perméables (SPMD) et les gradients de diffusion en couche mince (DGT) et ceux plus récemment étudiés comme les Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS), et les membranes polymériques afin d'obtenir des outils fiables et robustes pour l'estimation des concentrations moyennes en micropolluants dans l'eau. De nouveaux outils basés sur l'utilisation de zéolithes et d'argile sont également en cours de développement. Enfin une approche dite bioanalytique (ou EDA pour « Effect Directed Analysis »), utilisant des biotests est couplée à l'échantillonnage passif afin de mettre en évidence la présence de composés toxiques dans les échantillons environnementaux. Plusieurs biotests *in vitro* ou *in vivo* sont utilisés comme le test ER-Calux®, le SOS Chromotest et le Microtox®, les tests Daphnie et micro-algues. Une approche innovante qui consiste à mesurer la toxicité des composés retenus directement sur les échantillonneurs passifs en utilisant un test embryon-larvaire sur des embryons de Médaka



EMESTOX est coordonné par l'équipe du Laboratoire de Physico-Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) au sein du laboratoire EPOC (Université Bordeaux1). Les partenaires associés à ce projet sont l'IRSTEA, ECOMERS (Université de Nice-Sophia Antipolis), l'IFREMER, TOTAL et le LEESU. Ce projet a débuté en février 2009 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 892 k€ pour un coût global de 2M€.

Résultats majeurs

Les échantillonneurs sélectionnés ont été testés principalement au laboratoire. L'influence de différents paramètres environnementaux a été testée : hydrodynamique, température, etc. Des miniaturisations ou encore des changements de phase et/ou membranes pour les POCIS ont permis d'améliorer leur robustesse, leur facilité d'utilisation, et d'étendre la gamme de composés échantillonnables. Les capacités d'adsorption des zéolithes et de la sépiolite pour les micropolluants ont été étudiées via certaines constantes de dissociation (K_d) déterminées par la méthode des « batch ». Les conditions d'extraction des polluants et les protocoles de mesure de toxicité ont été optimisés pour les différents échantillonneurs passifs et les différents bioessais.

Production scientifique et brevets

Les résultats obtenus ont été valorisés dans des congrès internationaux (19 communications, 16 affichées et 3 orales), dans des congrès nationaux (4 communications, 2 affichées et 2 orales) et sous forme d'articles : deux articles acceptés, un dans International Journal of Nanotechnology et un dans Analytical Chemistry et deux sont en cours de préparation. Ce projet a reçu pour ses premiers développements le prix Pollutec 2010 des techniques innovantes pour l'environnement dans la catégorie Analyse Mesure.

Programme CD2I édition 2008

FLUOSENSIL

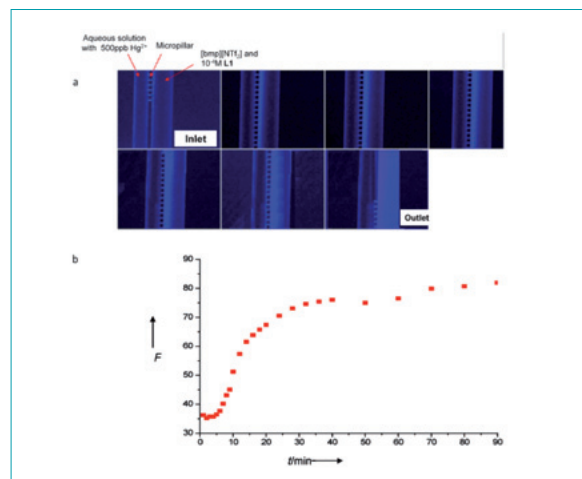
Capteurs fluorescents à base de liquides ioniques pour la détection de métaux lourds dans l'eau

Détection de traces de métaux lourds pour des applications environnementales

La Directive Cadre Européenne (DCE/2000) traduit le formidable enjeu que représente l'objectif de la restauration des milieux d'ici 2015 et plus particulièrement les concepts de «bon état chimique» des eaux. Parmi les polluants à détecter, Les métaux lourds (plomb, mercure, cadmium) sont considérés comme une des principales sources de pollution dans l'environnement, puisqu'ils présentent, même à faible dose, une toxicité à long terme. De ce fait Les concentrations maximales admissibles sont de 0,4 ppb pour Pb^{2+} , 1 ppb pour Hg^{2+} et de 5 ppb pour Cd^{2+} . La mise en application de ces textes réglementaires est un puissant moteur pour le développement nécessaire d'outils de mesure et de surveillance des performances environnementales. Or, cette évaluation. Leur mesure requiert une métrologie adaptée à des situations difficiles et nécessitant des analyses rapides non prises en compte par les méthodes actuelles d'analyse en laboratoire (nécessairement différées). Le projet Fluosensil concerne la conception et la réalisation d'un microdispositif intégré portable permettant la détection quantitative et sélective de métaux lourds (Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+}) avec une sensibilité compatible avec les normes environnementales.

Conception et réalisation d'un microsystème d'analyse intégré basé sur la fluorescence

L'analyse de l'eau est effectuée sur des petits volumes et en continu à l'aide de microsystèmes intégrés de quelques centimètres carrés en utilisant la fluorescence comme moyen de détection. La sensibilité du capteur est assurée par l'utilisation conjointe d'une sonde fluorescente et d'une extraction concentrante dans des liquides ioniques. La sonde fluorescente est constituée d'une entité de reconnaissance liée de façon covalente à une entité fluorescente de telle sorte que la complexation de cation induise des modifications de la fluorescence du système. De plus l'ancrage de la sonde fluorescente dans le liquide ionique permet la réalisation d'une extraction concentrante grâce au système biphasique eau/liquide ionique. En vue de la réalisation d'un dispositif portable, ce système d'extraction concentrante est intégré dans un système microfluidique et la détection de la fluorescence est réalisée directement dans le microcanal par excitation au moyen de diodes électroluminescentes. Enfin, Un prototype pré-industriel de ce type de capteur sera réalisé et ses performances en milieu réel seront évaluées.



Le projet **Fluosensil** a démarré en 2008 pour une durée de 48 mois. Il a été coordonné par Isabelle Leray et associait plusieurs partenaires : CNRS-PPSM, CNRS-Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris (ENSCP), CNRS-ISM CEA-LETI et ELTA (PME). Il a obtenu un financement de l'ANR de 920 k€ pour un coût global de 2,1 M€.

Résultats majeurs

De nouvelles sondes fluorescentes pour la détection sélective du mercure, du plomb et du cadmium ont été synthétisées mais leur ancrage sur liquide ionique reste à finaliser. Les modifications de la fluorescence en présence de cations ont été étudiées. A titre d'exemple, Nous avons développé des systèmes permettant la détection de 0.2 ppb de mercure dans l'eau. La preuve de principe de l'efficacité d'extraction des métaux lourds contenus dans l'eau vers la phase liquide ionique a été validée pour une sonde fluorescente sélective du mercure. La réalisation d'un système microfluidique biphasique eau/liquide ionique contenant cette une sonde fluorescente supportée a permis la détection de sels mercuriques à de très faibles concentrations.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 5 publications dans des revues internationales de rang A et plusieurs communications dans des congrès.

Programme PRECODD édition 2008

FLUXOBAT

Evaluation des transferts de COV depuis le sol vers l'air intérieur

Migration des pollutions gazeuses résiduelles de COV depuis les sols et reconversion des anciennes friches

La migration des COV (composés organiques volatils) vers l'air intérieur des bâtiments est l'un des verrous principaux de l'aménagement des friches industrielles, dans un contexte de pression foncière induite par exemple par les politiques de reconquête de ces espaces engagées par les collectivités territoriales. Les enjeux concernent la compréhension, la mesure et la modélisation prédictive des transferts de COV des sols vers l'air intérieur des bâtiments, avec des conséquences opérationnelles attendues en termes de choix/dimensionnement de construction et/ou de réhabilitation.

Le projet FLUXOBAT a pour objectif de fournir aux acteurs des sites pollués et de l'aménagement urbain un guide méthodologique, des outils de modélisation, des procédures de mesures leur permettant de mieux quantifier les flux de vapeurs de COV présents dans les sols vers l'air atmosphérique et l'air intérieur. Le projet a donc pour ambition d'apporter des outils permettant de conduire des opérations de réhabilitation des friches de façon plus appropriée au regard des risques sanitaires potentiels. Par ailleurs, sur les bâtiments existants, les protocoles de mesures développés dans le cadre du projet viseront à préciser les transferts en s'affranchissant des biais associés aux diagnostics menés actuellement (en particulier temporels).

Eléments de diagnostics pertinents associés à un outil de modélisation prédictif robuste

Le projet FLUXOBAT a consisté à développer une méthodologie robuste d'estimation des transferts de COV du milieu souterrain vers l'air intérieur. La méthodologie avait pour but d'étudier de façon plus ou moins découplée les mécanismes de transfert entre la zone source dans les sols et l'air intérieur d'un bâtiment. Du fait de la complexité des mécanismes de transfert (multiphasiques) et de la variabilité spatio-temporelle des régimes d'écoulement, le traitement déterministe complet de cette problématique est particulièrement délicat. Il a ainsi été retenu de mettre en œuvre des moyens expérimentaux à 3 échelles. A l'échelle du laboratoire, l'IMFT cherche à mesurer et modéliser les transferts à travers des carottes de béton vieilles afin d'apprécier la phénoménologie et les paramètres associés à la sorption, la diffusion et la convection. A l'échelle des sites pilotes (MARIA au CSTB et SCERES au LHYGES), les questions associées aux transferts à travers les dalles et dans l'air sont traitées. Enfin, un ancien site industriel permettra à l'INERIS et au BURGEAP de tester les outils de diagnostic et de modélisation développés précédemment.

A chacune de ces échelles, les travaux consistent à la mise en œuvre de mesures et à leur interprétation par des outils de modélisation. In fine, le guide méthodologique présentera les outils métrologiques et de modélisation considérés comme pertinents en fonction des aménagements prévus et du niveau de précision requis.

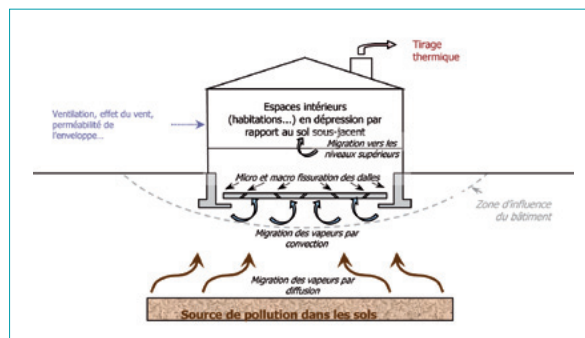


Schéma de migration des Composés organiques volatils depuis les sols vers l'air intérieur. (composantes convective et diffusive du transport). Exemple d'un bâtiment sur dallage indépendant

FLUXOBAT est un projet de recherche & développement coordonné par BURGEAP. Il associe des laboratoires universitaires de recherche (IMFT, LHYGES), des EPIC (CSTB, INERIS), des entreprises (TERA environnement, BURGEAP) et une collectivité territoriale (Communauté urbaine du Grand Lyon). Le projet a commencé en février 2009 pour une durée de 4 ans. Le projet est labellisé par les pôles ADVANCITY, AXELERA et RISQUES. Il bénéficie d'un financement ANR de 912 k€ pour un budget total de 1,8 M€.

Résultats majeurs

Les retombées envisagées concernent la métrologie en termes de diagnostic des pollutions volatiles sur des sites devant faire l'objet d'une reconversion (comment mesurer la pollution de l'air des sols ou les flux vers l'air intérieur ?), et la modélisation prédictive des transferts de COV depuis le milieu souterrain vers l'air intérieur (quels modèles utiliser ? avec quelles limites et incertitudes ?). Les applications opérationnelles visées concerneront l'ingénierie menant ces études et les gestionnaires du foncier. Par ailleurs, les retombées scientifiques portant sur la caractérisation des bétons/dalles vis-à-vis des transferts de COV intéresseront plus largement la communauté scientifique.

Production scientifique et brevets

Les communications écrites (2 articles : Vadose Zone journal, Geophysical Research Abstracts) et orales (4 posters et 5 présentations : Journée d'étude sur les milieux poreux 2009, Pollutec 2010, Indoor Air 2011...) ont présenté l'avancement du projet et des sujets techniques spécifiques (convection gravitaire, mesures des COV dans les gaz des sols et à l'interface sol-bâti). Les travaux en cours pourraient apporter des éléments valorisables pour la normalisation des mesures d'émissions surfaciques de COV. Par ailleurs, il est envisagé de breveter certains prototypes de mesure développés par les partenaires.

Programme CES édition 2008

IDEA

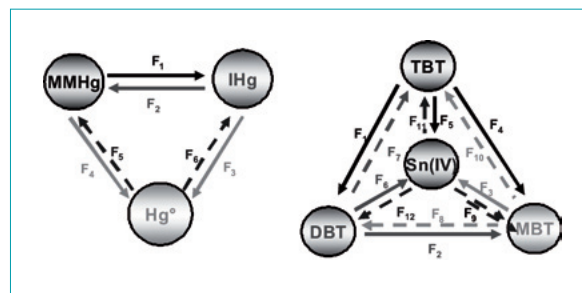
Réactivité environnementale et biologique des polluants organométalliques

Evaluer le devenir et l'impact de ces polluants (organométalliques)

La plupart des composés organométalliques sont beaucoup plus toxiques que l'élément inorganique et leur analyse présente un intérêt croissant pour des questions environnementales et sanitaires. Par exemple, le tributylétain (TBT) est très répandu en milieu marin causant des dommages importants aux organismes marins. La transformation dans l'environnement du mercure inorganique (IHg) peut conduire à du monométhylmercure (MMHg) fortement toxique et bioaccumulable dans les chaînes trophiques. De plus, le cycle biogéochimique de ces contaminants organométalliques est contrôlé par de nombreux processus biologiques et physico-chimiques qui restent encore à explorer. Le projet IDEA a proposé de développer des méthodologies originales et performantes à la fois pour la détermination de ces composés cibles dans les matrices environnementales mais aussi pour l'étude de leur réactivité environnementale et biologique. Des données de qualité sur des échantillons environnementaux et biologiques et sur la réactivité dans l'environnement de ces composés sont une condition préalable fondamentale pour la documentation de l'environnement et d'une évaluation ultérieure toxicologique à l'égard de conséquences possibles pour la santé.

Utilisation de traceurs isotopiques stables

Le développement de ces nouvelles méthodologies est basé sur l'utilisation de traceurs isotopiques. La puissance de ces traceurs est de pouvoir imiter le comportement des espèces ambiantes, soit pendant une procédure d'analyse, soit lors d'un processus environnemental ou métabolique. Selon le nombre d'espèces étudiées et de leurs voies de transformation possibles, le nombre d'espèces isotopiquement enrichies doit être adapté conduisant à des calculs mathématiques plus ou moins complexes. Un objectif de ce projet est de fournir des méthodes de calculs basées sur la déconvolution des signaux isotopiques et de fournir une évaluation des performances et des points critiques de ces méthodes.



Modèles schématiques des transformations affectant les espèces de mercure et de butylétains

IDEA est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement de l'UMR IPREM de Pau. Il associe l'équipe Environnement et Microbiologie de l'UMR IPREM, l'ANSES, le LNE ainsi que les laboratoires de l'université d'Oviedo (Espagne) et du NIST (USA). Le projet a débuté en décembre 2008 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement de 350 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,5 M€.

Résultats majeurs

Des méthodes analytiques de spéciation ont été développées, évaluées et validées. Elles ont notamment été utilisées dans le cadre de programmes internationaux d'inter-comparaison. Ce projet a permis la mutualisation des compétences de laboratoires de recherche et de laboratoires de référence avec un transfert de savoir faire de techniques, la rédaction de protocoles normalisés ainsi que la création d'un logiciel de calculs.

Plusieurs procédures expérimentales ont été développées et ont permis d'évaluer par exemple la persistance du MMHg et du TBT dans des écosystèmes aquatiques côtiers, la biotransformation du mercure par des micro-organismes et son transfert dans les chaînes alimentaires. Ces méthodologies seront utilisées prochainement pour étudier la réactivité de ces contaminants dans d'autres écosystèmes.

Production scientifique et brevets

Plusieurs articles sur les développements analytiques ont déjà été publiés dans des revues internationales telles que *Analytical and Biochemical Chemistry*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* ainsi qu'un article de revue sur l'utilisation de ces traceurs pour les analyses de spéciation du mercure et d'autres sont en cours de rédaction. Ce projet a fait aussi l'objet d'un chapitre de livre sur les méthodes de spéciation ainsi que plusieurs communications lors de congrès nationaux et internationaux.

Programme PRECODD édition 2005

LOQUAS

Localisation et quantification d'une pollution organique de sol : approches géostatistiques

Reconnaissance et caractérisation géostatistique de sols pollués par des hydrocarbures

L'objectif du projet est le couplage de méthodes rapides d'échantillonnage sur site et de méthodes d'estimation géostatistiques afin d'améliorer la conduite des projets de réhabilitation, les techniques de localisation et de quantification des polluants organiques dans un sol et la connaissance de leur extension et de leur hétérogénéité. Ce projet a aussi pour but de proposer une meilleure gestion des ressources affectées au traitement des sites pollués conduisant à un diagnostic mieux adapté aux objectifs (tri de terre, évaluation des risques sanitaires, cession de terrains), tout en minimisant les risques de non détection de zones polluées ou de mauvaise estimation budgétaire des opérations de réhabilitation.

Un diagnostic construit autour de méthodes géophysiques et physico-chimiques conventionnelles, complétées par une stratégie d'échantillonnage géostatistique

Les 3 enjeux majeurs du projet étant de localiser et de quantifier les pollutions de sols tout en maîtrisant leurs incertitudes, plusieurs techniques de reconnaissance et/ou de quantification ont été testées successivement (CPG, Pollut-Eval®). Durant les 3 années du projet, 5 phases d'expérimentations sur site ont permis d'évaluer l'intérêt et les limites ainsi que la complémentarité de chaque outil. Certaines opérations, telles que l'homogénéisation et la représentativité d'échantillonnage composite de sols ont été ainsi évaluées. Au final, la structure itérative du projet a permis de proposer une méthodologie regroupant tout ou partie des outils géophysiques, géostatistiques et physico-chimiques proposés initialement. Les perspectives sont nombreuses dans la mesure où les recommandations fixent un cadre et une succession logique d'opérations dans lesquels peuvent être insérés d'autres outils de reconnaissance ou d'analyse.

Les méthodes de diagnostic du projet LOQUAS viennent en complément des outils utilisés aujourd'hui par la profession. Leur intérêt repose sur l'utilisation de principes de mesure complémentaires dont les réponses sont désormais qualifiées et comparées entre elles. Un ensemble de recommandations sur leur déploiement progressif et leur succession logique constitue le guide méthodologique. Elles sont synthétisées par le schéma ci-contre.

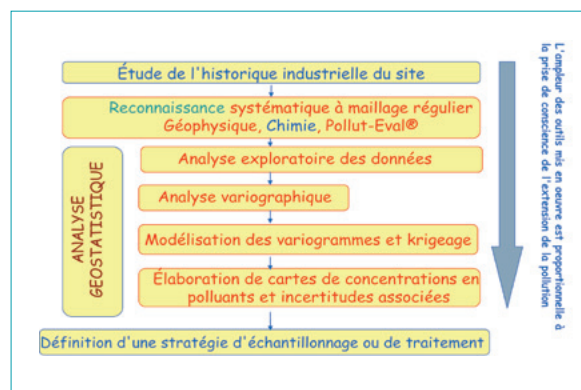


Schéma simplifié de l'approche intégrée du projet LOQUAS

LOQUAS est un projet coordonné par l'IFPEN et qui associe le BRGM, VINCI TECHNOLOGIES, MINES PARISTECH et ARCADIS ESG. Il a débuté en décembre 2005 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'un financement de 785 k€ pour un budget global de 1,57 M€.

Résultats majeurs

Les résultats majeurs obtenus concernent à la fois des outils de mesure et des méthodologies venant en appui aux approches conventionnelles de reconnaissance des sites utilisées aujourd'hui par les professionnels de la dépollution. Plusieurs appareils ont été qualifiés métrologiquement, d'autres ont été améliorés (Pollut-Eval®), ou créés (logiciel de visualisation). Une meilleure exploitation des données d'investigation sur site conduit à une optimisation des coûts et à un diagnostic mieux maîtrisé. La méthodologie globale proposée constitue un guide de recommandations pour les bureaux d'études.

Production scientifique et brevets

En complément du guide méthodologique rédigé pour l'ADEME à destination des sociétés de dépollution, les résultats scientifiques du projet ont fait l'objet de plusieurs présentations orales ou posters dans le cadre de colloques traitant de l'environnement.

Interactions des contaminants avec l'environnement, devenir des contaminants dans l'environnement

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
AQUAPOL	Devenir des floculants à base de polyacrylamide dans les boues, les eaux industrielles et les eaux naturelles et impact potentiel sur les écosystèmes aquatiques	Mieux appréhender les risques associés à l'usage des floculants à base de polyacrylamide
ASEDMAR	Arsenic dans les sédiments marins : Modélisation couplée Biogéochimie - Biodisponibilité - Écotoxicologie	Minimiser les risques liés à l'arsenic présent dans les sédiments marins pollués
DHYVA	Dégradation d'hydrocarbures dans les vasières (DHYVA) : rôle des mécanismes bactériens et effet de la bioturbation dans la biodisponibilité des polluants organiques	Lutte microbiologique contre les marées noires
EMERGENT	Développement et application d'une méthode de marquage de l'ADN par des nanoparticules magnétiques pour définir le rôle des transferts horizontaux de gènes entre bactéries dans les processus de bio-atténuation des polluants du sol	Génomique de la cellule bactérienne isolée à l'aide des propriétés magnétiques des nanoparticules
EUMETATOX	The metatranscriptome of eukaryotic microorganisms in heavy-metal polluted soils	Les sols comme sources de nouveaux gènes de résistance aux métaux lourds
MULTIPOLSITE	Etude <i>in situ</i> et à long terme du devenir et des conséquences environnementales de la multipollution d'un sol	Impact environnemental et devenir des contaminants dans les sols
NORMARHIZO	Vers la normalisation du rhizotest pour l'évaluation de la phytodisponibilité des éléments traces en sols contaminés	Un biotest normalisé pour évaluer le transfert sol-plante de contaminants
PEPSEA	Transformation et transfert de PPCPs et de leurs métabolites dans les eaux côtières méditerranéennes	Rejets d'aujourd'hui, contamination de demain : que deviennent les contaminants émergents en mer ?
RARE	Reactivity of an arsenic-rich ecosystem: an integrated genomics approach	Microorganismes et atténuation naturelle d'un écosystème contaminé par l'arsenic
RESACOR	Reconversion des sols agricoles contaminés : impact des cultures à vocation énergétique sur la biodisponibilité des éléments traces et la relation avec la réponse des organismes du sol	Quelle gestion durable pour les sols agricoles contaminés par des éléments traces ?

Programme CES édition 2010

AQUAPOL

Mieux appréhender les risques associés à l'usage des floculants à base de polyacrylamide

Etude des mécanismes biogéochimiques de dégradation et de transfert de l'acrylamide, du polyacrylamide et de ses produits de dégradation dans les eaux industrielles et naturelles et caractérisation de l'impact de ces substances sur les écosystèmes aquatiques

Les floculants sont largement utilisés dans de nombreux domaines industriels pour améliorer la séparation solide/liquide dans les eaux contenant des matières en suspension. L'utilisation des floculants permet d'une part, d'augmenter le taux de recyclage des eaux de procédés, et d'autre part, de diminuer les volumes de boues et donc les surfaces des bassins de lagunage. En général, ces lagunes ne sont pas étanches, ce qui peut entraîner des échanges avec le milieu environnant. Une dissémination des floculants dans les eaux souterraines et de surface est alors possible. Ces floculants sont composés de polyacrylamide et contiennent en quantité résiduelle de l'acrylamide. La problématique environnementale n'est pas liée au polyacrylamide, considéré unanimement comme non-toxique, mais aux produits de dégradation du polyacrylamide et à l'acrylamide, substance cancérigène, mutagène et reprotoxique. Dans ce cadre, le projet « AquaPol » avait pour objectif global d'étudier le comportement de ces produits et leur impact sur l'équilibre des écosystèmes aquatiques, afin de mieux appréhender les risques pour l'environnement et la santé, engendrés par l'utilisation des floculants. L'industrie du granulat qui fait partie des plus grands consommateurs de floculants a été choisie comme contexte d'étude pour ce projet.

Approches pluridisciplinaires pour une compréhension globale du comportement environnemental des floculants

AquaPol associe des disciplines scientifiques variées : métrologie, génie des procédés, géochimie, microbiologie, éco-toxicologie, hydrogéologie. Le cœur de ce projet est basé sur la caractérisation *in situ* de la dissémination de l'acrylamide, du polyacrylamide et de ses produits de dégradation en lien avec les caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques, hydrologiques et hydrogéologiques des milieux étudiés. Autour de cette étude s'articulent une évaluation environnementale de l'utilisation des floculants dans l'industrie des granulats, des développements analytiques pour la caractérisation de l'acrylamide, du polyacrylamide et de ses produits de dégradation, une étude éco-toxicologique des substances cibles, une caractérisation au laboratoire des mécanismes de transfert et de dégradation, une modélisation du transfert dans le milieu naturel à partir de l'introduction de ces produits dans le procédé de floculation. La finalité de l'étude vise à apporter aux utilisateurs ainsi qu'aux pouvoirs publics les éléments scientifiques nécessaires à la mise en œuvre d'une réponse appropriée et concertée aux questions d'environnement, de santé publique et d'efficacité industrielle liées à l'emploi de floculants.

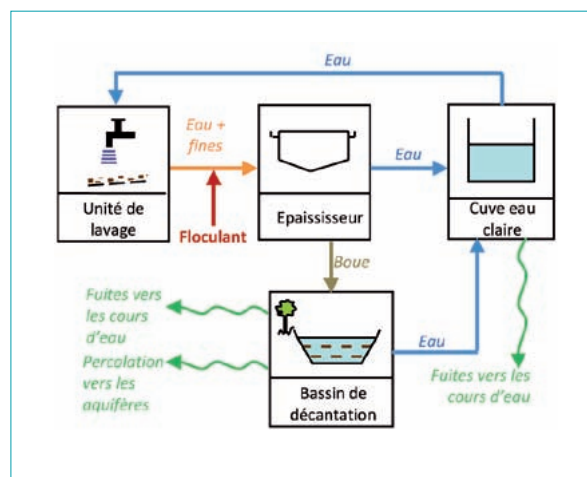


Schéma d'un procédé de floculation classique utilisé dans le traitement des eaux industrielles

AquaPol est un projet de recherche appliquée coordonné par le BRGM. Il associe l'unité de recherche « Hydrosystèmes et Bio-procédés » du CEMAGREF, l'Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, l'Université de Nice, Nexidia – PME de microbiologie issue de la recherche universitaire – et l'UNPG (Union National des Producteurs de Granulats). Le projet a débuté en janvier 2011 pour une durée de 3 ans. Il bénéficie d'un financement ANR de 550 k€ pour un budget global de 1.5 M€.

Résultats majeurs

A l'issue de la première année du projet, le principal fait marquant concerne la mise au point d'un protocole analytique original permettant de doser l'acrylamide dans des matrices complexes (eaux et boues industrielles). La méthode développée permet d'atteindre un seuil de détection de l'ordre de 25 ng/L, ce qui est largement inférieur aux limites de quantification atteintes par les méthodes classiques.

Production scientifique et brevets

Outre les publications dans des revues scientifiques, le projet a pour objectif la rédaction d'un recueil de recommandations remettant en perspectives les résultats du projet par rapport au contexte industriel et réglementaire et proposant quelques recommandations pour limiter l'impact environnemental de l'usage des floculants.

Programme CES édition 2008

ASEDMAR

Minimiser les risques liés à l'arsenic présent dans les sédiments marins pollués

Compréhension du comportement biogéochimique de l'arsenic dans les sédiments marins

La gestion des sédiments contaminés reste problématique, car à ce jour aucune voie de traitement économiquement viable ne permet une stabilisation totale et irréversible des contaminants. L'analyse de sédiments marins a mis en évidence que certains d'entre eux contiennent des teneurs totales en arsenic très supérieures aux limites au-delà desquelles un traitement spécifique visant à réduire le taux de contamination peut être exigé. L'arsenic est un des contaminants environnementaux responsables des risques les plus élevés de morbidité et de mortalité à travers le monde, en raison de la combinaison de son niveau de toxicité et du nombre de personnes exposées. Le projet ASEDMAR a pour objectif de quantifier les phénomènes de rétention et de mobilisation de l'arsenic par les différents compartiments de sédiments marins afin d'établir une relation entre leur état biogéochimique, leur toxicité directe et leur capacité à transférer de l'arsenic vers la colonne d'eau. La finalité du projet a été de proposer une modélisation globale des interactions entre l'arsenic, le compartiment physico-chimique et le compartiment biologique, afin de fournir des recommandations pour la réalisation des opérations de dragage et pour la gestion des sédiments à terre.

Arsenic dans les sédiments marins : Modélisation couplée Biogéochimie/Biodisponibilité/Biodiversité microbienne/Écotoxicologie

L'élaboration d'un modèle décrivant le comportement de l'arsenic s'appuie sur des caractérisations et expériences de laboratoire. Deux sites présentant des niveaux de concentrations en arsenic très contrastés ont été choisis pour les campagnes de prélèvements. La caractérisation initiale des sédiments comprend la détermination des propriétés physico-chimiques et minéralogiques, des extractions séquentielles permettant de déterminer à quelles phases solides est associé l'arsenic, différents tests écotoxicologiques, l'évaluation d'activités bactériennes vis-à-vis de l'arsenic et de la biodiversité de ces communautés par l'utilisation de biomarqueurs moléculaires spécifiques, et l'étude de la biodiversité et du fonctionnement de la communauté microbienne du sédiment par métagénomique. Des microcosmes ont été réalisés en incubant les sédiments dans des conditions stimulant certains processus bactériens afin d'appréhender leur rôle sur la mobilité de l'arsenic. Les essais en colonnes ont permis d'étudier la répartition du polluant dans l'eau interstitielle, à l'interface, et dans l'eau au-dessus du sédiment. Le modèle est élaboré sur la base de modules permettant de prédire l'évolution du système « sédiment » en fonction des variations de conditions physico-chimiques et de paramètres biologiques.



Colonnes de sédiments permettant de suivre la géochimie de l'eau interstitielle du sédiment et de l'eau sus-jacente, ainsi que la répartition de l'arsenic dans ces différentes zones

ASEDMAR est un projet de recherche fondamentale coordonné par le BRGM. Il associe aussi l'Université de Nice Sophia-Antipolis (LRSAE et ECOMERS-INSERM), l'Université de Strasbourg et UT2A (Ultra Traces Analyses Aquitaine). Le projet a commencé en octobre 2008 pour une durée de 41 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 480 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,2 M€.

Résultats majeurs

L'arsenic (As) est le polluant inorganique majeur dans l'eau des pores du sédiment. Sa solubilité est liée à la nature de ses interactions avec les phases solides et aux activités bactériennes. La sulfato-réduction induit la formation de complexes thio-arséniés solubles dont la quantification a été optimisée. Des tests écotoxicologiques très sensibles ont été utilisés et se sont révélés pertinents pour les milieux concernés. Les gènes fonctionnels liés au cycle du soufre, au transport et à l'oxydo-réduction de l'As et à la respiration anaérobie sont particulièrement représentés dans le sédiment pollué par des activités industrielles.

Production scientifique et brevets

La caractérisation du sédiment a été présentée à la conférence As2010: Arsenic in geosphere and human diseases et a fait l'objet d'une soumission d'article à la revue *Marine Pollution Bulletin*. Les activités bactériennes et la diversité des gènes liés à l'arsenic ont fait l'objet de communications au 13th Symposium de l'ISME. L'analyse des complexes thio-arséniés a été présentée lors du Trace Spec 2011 et la métagénomique lors du Colloque de Génomique environnementale 2011.

Programme SEST édition 2006

DHYVA

Lutte microbiologique contre les marées noires

Vers une vision intégrée des activités microbiennes dans les vasières

Les vasières subissent directement l'impact des marées noires, des déversements accidentels et accumulent divers polluants drainés par les cours d'eaux et les eaux côtières. De par leur composition (sédiments fins plus ou moins colonisés par les plantes) les méthodes de nettoyage et de réhabilitation actuelles sont mal adaptées, laissant en place des "réservoirs de polluants", véritables menaces pour l'équilibre de l'écosystème et pour la santé humaine. Le projet DHYVA (Dégradation des HYdrocarbures dans les VAsières), par des approches pluridisciplinaires, a visé d'une part, à comprendre comment les métabolismes bactériens interagissent dans la dégradation des polluants, et d'autre part à estimer l'effet du remaniement sédimentaire par les organismes fousseurs (bio-turbation) sur ces activités. Une meilleure compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans le devenir des hydrocarbures dans l'environnement a conduit à l'établissement de nouveaux outils moléculaires. Ces outils ont permis de disposer d'indicateurs pertinents afin d'apprécier l'impact de pollutions par des hydrocarbures sur le fonctionnement biologique des écosystèmes. In fine, ils permettent une meilleure gestion des ressources microbiennes *in situ* pour la réhabilitation de vasières polluées.

Dégradation microbienne des hydrocarbures dans les vasières

Le projet a reposé sur l'utilisation d'un dispositif expérimental original permettant de créer le cycle des marées tout en préservant la structure des sédiments issus de vasières. Ce dispositif a permis de suivre les activités microbiennes de dégradation d'hydrocarbures selon diverses conditions de remaniement sédimentaire. Un ensemble d'études combinant des analyses chimiques, microbiologiques et des approches de biologie moléculaire les plus sophistiquées a permis de décrire les communautés microbiennes tout au long de l'expérimentation et de caractériser les mécanismes microbiens mis en jeu dans le devenir du pétrole. Au cours du projet ont été étudiés différents groupes microbiens impliqués dans la dégradation d'hydrocarbures dans des conditions d'aérobiose et d'anaérobiose.

Résultats majeurs

A partir des résultats nous avons proposé un scénario décrivant l'influence du pétrole sur les communautés bactériennes. Plusieurs gènes, encore à identifier, ont été induits après l'addition de pétrole et avant la restructuration des communautés bactériennes. Une étape d'adaptation, caractérisée par l'expression d'une intégrase, enzyme adaptative, est cruciale pour la réorganisation des communautés bactériennes, correspondant au démarrage du processus de dégradation qui se poursuit par une succession de communautés bactériennes. La présence d'organismes fousseurs augmente l'effet du pétrole, modifie les communautés bactériennes drastiquement abou-



Microcosme expérimental pour la caractérisation des communautés microbiennes

DHYVA est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe Environnement et Microbiologie (EEM-UMR IPREM5254) de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. Il associe également le Cedre (Brest), le Laboratoire de Microbiologie, Géochimie et Ecologie Marines (LMGEM-UMR 6117) de l'Université d'Aix-Marseille II et l'Équipe de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (ECABIE-UMR IPREM5254). Le projet a commencé en décembre 2006 pour une durée de 46 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 340 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,1 M€.

tissant à des communautés différentes de celles observées sans organismes fousseurs. Les deux communautés ont des capacités de dégradation similaires mettant en évidence la redondance des activités microbiennes de dégradation ouvrant de nouvelles perspectives pour la mise en place de procédés de dégradation *in situ* pour la réhabilitation des vasières.

Production scientifique et brevets

Les travaux ont permis de rédiger 12 publications dans des revues internationales d'écologie, de microbiologie, de biotechnologie. Les résultats ont été présentés à diverses reprises dans des congrès nationaux et internationaux. L'exploitation de l'ensemble des données conduira à des publications supplémentaires, de synthèse et revues, au-delà du terme du contrat. Le projet a également abouti à 4 thèses de doctorat.

Programme CES édition 2009

EMERGENT

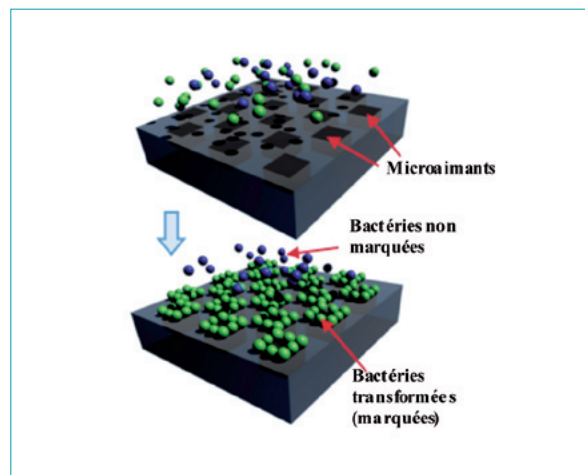
Génomique de la cellule bactérienne isolée à l'aide des propriétés magnétiques des nanoparticules

Développement d'une nouvelle approche technologique d'étude des transferts horizontaux de gènes entre bactéries du sol

Le séquençage de très nombreux génomes bactériens a permis de révéler le rôle fondamental du transfert horizontal de gènes entre cellules de même génération pour l'adaptation bactérienne et l'évolution des génomes. Le transfert de gènes pose problème quand il induit la dissémination de gènes de résistance à des antibiotiques mais trouve son utilité quand il favorise la dégradation de molécules toxiques comme peuvent l'être certains pesticides xénobiotiques. L'étude *in situ* du transfert de l'information génétique entre bactéries, aussi bien pour en comprendre fondamentalement les implications évolutives et adaptatives que pour tenter de les contrôler (accélérer la dégradation des polluants, éviter la dissémination des gènes de résistance à des antibiotiques) nécessite le recours aux toutes dernières technologies d'investigation. Afin de permettre le suivi des transferts de gènes entre bactéries du sol et l'identification des bactéries réceptrices impliquées dans ces transferts (y compris celles appartenant à l'immense réservoir des non cultivables), nous avons proposé une nouvelle technologie consistant à conférer des propriétés magnétiques aux bactéries transformées en vue de leur isolement sélectif.

Marquage magnétique de l'ADN avant transformation pour permettre l'attraction sélective sur microaimants des bactéries transformées

La méthodologie développée consiste à greffer des nanoparticules magnétiques sur des fragments d'ADN avant introduction dans les bactéries par électroporation ou par transformation chimique. L'isolement des cellules transformées peut ainsi être réalisé à l'aide d'un réseau de microaimants attirant uniquement les bactéries ayant incorporé l'ADN marqué magnétiquement (les autres pouvant être éluées grâce à l'emploi de forces fluidiques). L'intensité de la force de magnétophorèse obtenue dépend des propriétés magnétiques des bactéries (conférées par les nanoparticules), ainsi que du gradient d'induction magnétique. Le premier facteur est limité par la taille des nanoparticules pouvant traverser les enveloppes de la cellule, mais compte-tenu des lois d'échelle, le second peut être considérablement augmenté en tirant parti de la miniaturisation des aimants. Aussi, l'optimisation conjointe des nanoparticules (taille/nombre) et des sources de champ (géométrie, dimensions, matériaux) constitue une étape majeure de ce projet. Notre objectif a été alors de sélectionner individuellement à l'aide d'une pince optique chacune des cellules bactériennes isolées grâce aux microaimants, en vue d'extraire son ADN, de l'amplifier et de le séquencer.



Principe de l'attraction spécifique de bactéries transformées sur un réseau de microaimants

EMERGENT est un projet de recherche fondamentale coordonné par le laboratoire Ampère. Il associe trois autres laboratoires CNRS : l'Institut Néel, le G2Elab et l'IPCMS. Le projet a débuté en novembre 2009 pour une durée de 3 ans. Il bénéficie d'un financement ANR de 550 k€ pour un coût global de 2,66 M€.

Résultats majeurs

Des bactéries ayant internalisé de l'ADN marqué avec des nanoparticules magnétiques (30 nm) ont pu être attirées sur des films aimantés structurés. Les motifs aimantés présentent des dimensions en rapport avec la taille des bactéries manipulées (motifs carrés de dimensions pouvant atteindre 7x7 µm). Par ailleurs, les aimants présentent une structure plane facilitant leur intégration dans des canaux microfluidiques. Ainsi, l'utilisation conjointe des forces magnétique et fluïdique est en cours de mise au point pour un tri efficace des bactéries marquées et non marquées.

Production scientifique et brevets

Le principe d'isolement sur microaimants de cellules marquées magnétiquement a été présenté dans le cadre des conférences MicroTAS, MMM et Intermag en 2011. Deux articles portant sur le couplage magnétisme/microfluidique ont également été acceptés pour publication dans les revues Journal of Applied Physics et Micro & Nano Letters. Plusieurs articles décrivant l'optimisation de l'outil (greffage des nanoparticules sur l'ADN, internalisation dans les bactéries, etc.) sont en cours de rédaction.

Programme Blanc édition 2006

EUMETATOX

Les sols comme sources de nouveaux gènes de résistance aux métaux lourds

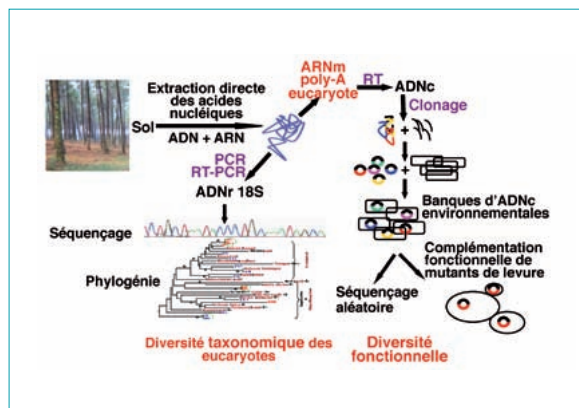
Obtenir une vision large des mécanismes de résistance aux métaux lourds

De nombreux écosystèmes sont affectés de manière durable par des polluants métalliques issus d'activités industrielles et agricoles. Nos connaissances actuelles sur les mécanismes de résistance à ces composés ont été acquises sur un nombre limité d'organismes modèles (levure de bière, mouche du vinaigre, Arabette) ou d'espèces naturellement résistantes (comme les plantes hyperaccumulatrices de métaux). Ces études ne reflètent peut-être pas la diversité des stratégies développées au sein du monde vivant pour contrecarrer la toxicité de ces composés. Les sols renferment une très grande diversité d'espèces représentatives des grands groupes taxonomiques dont les principaux phylums du règne Eucaryote. Parmi ces espèces, de nombreuses sont non-cultivables et n'ont pas été décrites. L'objectif d'EUMETATOX a été d'exploiter la diversité biologique des sols comme source de nouveaux gènes de résistance à des métaux lourds qui n'auraient pas été mis en évidence par une approche expérimentale conventionnelle se focalisant sur une unique espèce biologique. Une connaissance exhaustive de ces gènes pourrait permettre de proposer de nouvelles solutions pour la remédiation des sols ou la sélection de cultures résistantes aux métaux.

Une nouvelle stratégie de génomique environnementale pour la sélection de gènes eucaryotes de l'environnement

Afin de sélectionner de nouveaux gènes eucaryotes de résistance aux métaux à partir de sols, nous avons développé et mis en œuvre une nouvelle approche de génomique environnementale : la « métatranscriptomique fonctionnelle » qui s'affranchit de l'isolement et de la culture des organismes. À partir d'ARN messagers polyadénylés eucaryotes extraits directement de sols pollués ou non, l'équipe a construit des banques d'ADN complémentaires dans un vecteur d'expression de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Ces banques « métatranscriptomiques » sont représentatives de la diversité des gènes exprimés par les différents organismes eucaryotes présents au sein de l'échantillon de sol utilisé.

Des gènes susceptibles d'être impliqués dans des mécanismes de résistance et/ou de tolérance à des métaux lourds (zinc et cadmium) ont été sélectionnés pour leur aptitude à compléter l'hypersensibilité de mutants de levure vis-à-vis du Zn ou du Cd. Les gènes sélectionnés ont été caractérisés pour leur capacité à conférer une résistance croisée à d'autres métaux, à affecter la concentration intracellulaire en métaux, et leur origine taxonomique potentielle a été recherchée.



L'approche métatranscriptomique : des ARN extraits directement de sols à des gènes fonctionnels de résistance aux métaux lourds sélectionnés dans la levure

EUMETATOX est un projet de recherche fondamentale coordonné par le CNRS (UMR université Lyon 1). Il associe l'Université de Lorraine (UMR INRA) et de Hasselt (Belgique). Le projet a commencé en novembre 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 300 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,15 M€.

Résultats majeurs

Le programme EUMETATOX a permis d'établir la « preuve de concept » (proof of concept) de l'approche de métatranscriptomique fonctionnelle. L'équipe a en effet sélectionné des « gènes environnementaux » eucaryotes conférant à la levure une résistance au Cd et/ou au Zn appartenant à une dizaine de familles géniques distinctes. De façon intéressante, une majorité de ces familles était soit non répertoriée dans les bases de données, soit codait des protéines connues mais non étudiées dans le cadre de la résistance aux métaux. Ce projet va s'attacher à identifier les modes d'action de ces protéines.

Production scientifique et brevets

Les résultats du projet EUMETATOX ont fait l'objet de plusieurs présentations orales à des congrès nationaux et internationaux dont certaines sur invitation ainsi qu'à des séminaires en France et à l'étranger (Allemagne, Italie). L'ensemble des résultats est en cours de soumission pour publication à une revue scientifique généraliste.

Programme CES édition 2008

MULTIPOLSITE

Impact environnemental et devenir des contaminants dans les sols

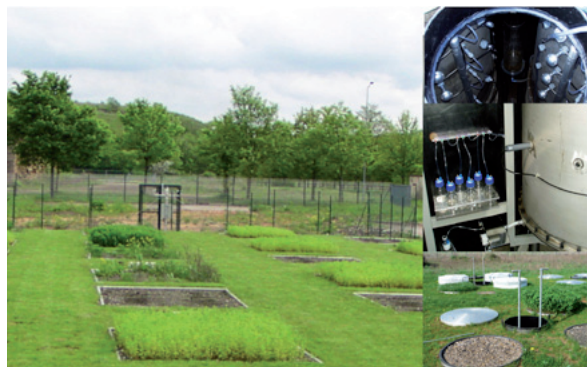
Une étude sur le long terme de l'impact environnemental et du devenir des contaminants dans les sols

Les sols contaminés, comme certaines friches industrielles souvent situées à proximité des habitations, présentent souvent une contamination multiple, à la fois par des polluants organiques (ex. hydrocarbures aromatiques polycycliques ou HAP) et métalliques (métaux lourds comme Cd, Zn, Pb...). Si la toxicité de contaminants simples vis à vis des organismes vivants a été bien étudiée, elle l'est le plus souvent à court terme, et le devenir et l'impact environnemental de multipollutions restent à préciser.

L'originalité de ce projet a été d'aborder le devenir de pollutions multiples et leurs conséquences sur tous les organismes du sol : microorganismes, faune, flore, qui peuvent conduire in fine à sa toxicité pour l'homme via la chaîne alimentaire. Le suivi a été réalisé sur une période longue (depuis 2005) pour ce type d'étude et dans différents contextes (colonisation végétale spontanée, ou différentes plantes introduites envisagées pour la phytoremédiation). Il fournira une base de données précieuses reliant la teneur en polluants et leur biodisponibilité, avec le devenir des polluants, leur toxicité et leur transfert aux organismes vivants.

Une approche pluridisciplinaire et des dispositifs d'étude originaux

Le projet a associé des compétences pluridisciplinaires (microbiologie, biologie moléculaire, géochimie, science du sol), des outils innovants et complémentaires et un dispositif de terrain adapté et mis en place dans le cadre du GISFI (GIS sur les Friches Industrielles, www.gisfi.prd.fr). Ce projet s'est appuyé sur une plate-forme expérimentale *in situ*, et notamment des parcelles et des lysimètres, cylindres équipés avec des instruments de mesure, dans lesquels ont été effectués deux fois par an des prélèvements pour l'analyse des polluants dans les sols, des solutions, des végétaux, de la biodisponibilité et la toxicité des polluants, de la colonisation végétale spontanée et de la croissance des plantes introduites, de la faune du sol et de la diversité microbienne fonctionnelle c'est à dire celle impliquée dans la biodégradation des polluants organiques, dans la tolérance et la mobilité des métaux, et d'aborder la modélisation de ces processus. Une base de données a été mise en place afin de relier toutes ces données.



Le projet MULTIPOLSITE utilise un dispositif de parcelles et de lysimètres instrumentés pour étudier le devenir et l'impact *in situ* des polluants

MULTIPOLSITE est un projet de recherche coordonné par le LIMOS (CNRS Université de Lorraine), qui associe trois autres laboratoires du GISFI et de l'Université de Lorraine (LSE, G2R, LIEBE) et un laboratoire de l'Université de Strasbourg (GMGM, CNRS). Le projet a démarré en décembre 2008 pour une durée de 4 ans. Il bénéficie d'un financement ANR de 550 k€ pour un coût global de l'ordre 3,5 M€.

Résultats majeurs

Les résultats ont montré une diminution lente de la concentration en HAPs dans les parcelles au cours du temps, qui correspond au processus d'atténuation naturelle. Cette évolution lente, qui n'est pas influencée par la présence d'une végétation, est à relier avec une faible disponibilité des polluants, et suggère un risque faible pour l'environnement. Toutefois, on note une évolution de la diversité biologique, qui augmente puis se stabilise dans le sol pollué, indiquant la création de nouveaux biotopes. L'installation d'une végétation, naturelle ou introduite, augmente la biodiversité.

Production scientifique et brevets

Les résultats du projet ont fait l'objet à ce jour de 8 publications dans des revues à comité de lecture, dont 6 multipartenaires. Une publication associant tous les partenaires présente le dispositif expérimental et l'ensemble des tâches, tandis que d'autres publications sont plus ciblées sur certains aspects du projet. Ces travaux ont aussi été présentés dans de nombreux congrès internationaux (17 communications) et nationaux (18 communications).

Programme CES édition 2009

NORMARHIZO

Un biotest normalisé pour évaluer le transfert sol-plante de contaminants

Evaluation du risque de transferts de contaminants du sol vers les cultures

Si l'union européenne (UE) souhaite faire appliquer sa politique en faveur de la protection des sols, elle devra identifier une « boîte à outils » basée sur des méthodes à la fois normalisées et éprouvées scientifiquement. En ce qui concerne le problème de la contamination des sols, une meilleure prise en compte de la biodisponibilité des contaminants est indispensable à une évaluation durable des risques sanitaires et environnementaux.

Dans ce contexte, le projet NormaRHIZO avait pour objectif l'optimisation technique et la validation scientifique d'un biotest végétal, le RHIZOtest, comme outil pour évaluer le risque de transfert des éléments traces du sol vers la plante (phytodisponibilité) et sa normalisation au niveau international (ISO, Organisation internationale de normalisation).

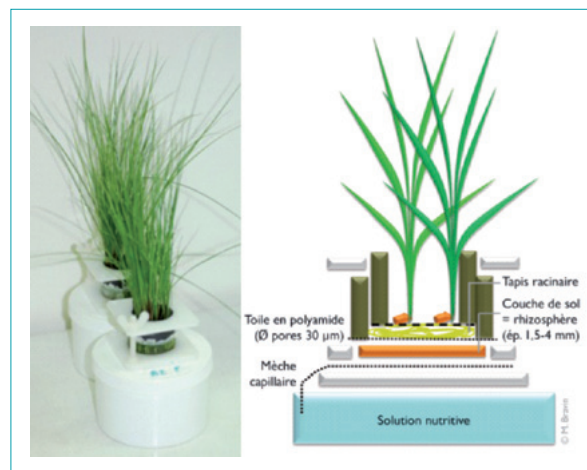
C'est à ces conditions que le RHIZOtest sera considéré comme un outil fiable et robuste et qu'il pourra être proposé comme bio-indicateur dans le cadre du recensement et du suivi des sites et sols contaminés en Europe, tel que le prévoit le cadre législatif de la future directive-cadre concernant les sols.

Le RHIZOtest : un biotest végétal pour évaluer la biodisponibilité pour les plantes des éléments traces du sol

Le RHIZOtest est un test biologique fondé sur la culture de végétaux sur des sols contaminés ou non. Le principe du RHIZOtest repose sur la technique du tapis racinaire qui est mis en contact avec une couche de sol sans que les racines puissent pénétrer dans le sol. Ce dispositif facilite l'analyse du végétal en simplifiant la collecte du système racinaire (organe le plus sensible à la contamination des sols). La première phase du projet a eu pour objectifs l'optimisation du RHIZOtest, le développement et la description détaillée d'un protocole expérimental de routine et la sélection de trois espèces végétales de références permettant une évaluation de la phytodisponibilité des sept éléments traces (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn) considérés comme les plus problématiques en Europe.

Dans une seconde phase, le domaine de validité du RHIZOtest a été évalué en le mettant en oeuvre sur une gamme de 55 sols aux propriétés physico-chimiques contrastées. Les mesures de phytodisponibilité des éléments traces réalisées avec le RHIZOtest ont été comparées aux estimations faites à l'aide de mesures physico-chimiques (diffusive gradients in thin films-DGT, Donnan Membrane Technique-DMT et extractions chimiques).

Enfin, sur la base de validations techniques et scientifiques, l'outil et la méthodologie RHIZOtest ont été proposés pour une normalisation à l'échelle internationale (ISO). Ce troisième objectif se traduit par l'évaluation de la reproductibilité et de la robustesse du RHIZOtest à travers la réalisation d'un test interlaboratoire international regroupant huit partenaires.



RHIZOtest au cours de la phase de contact sol-plante

NormaRHIZO est un projet de recherches prénormatives coordonné par le CIRAD. Il associe aussi l'INRA, ainsi que le CNRS et l'Université Paris Diderot. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 500 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,44 M€. Le projet NormaRHIZO est labellisé par le « Pôle Euroméditerranéen sur les Risques ».

Résultats majeurs

Plusieurs versions du RHIZOtest ont été testées avant de faire usiner une version améliorée et simplifiée du dispositif RHIZOtest qui est utilisée actuellement. Afin d'optimiser l'interclassement des espèces végétales, des méthodes d'attribution de score puis d'ordination ont été appliquées aux résultats. Ce classement a permis de sélectionner les 3 espèces de référence qui maximisent la phytodisponibilité des éléments traces : tomate, fétuque et chou. Les différentes étapes de validation scientifique sont actuellement en cours.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 3 articles scientifiques, plusieurs communications orales dans des congrès internationaux et à la proposition d'une norme : ISO/CD 16198 Qualité du sol – Biotest végétal pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale des éléments traces pour les plantes.

La rédaction de la norme a débuté fin 2009 et devrait s'achever suite à la tenue du test interlaboratoire d'ici fin 2013.

Programme CES édition 2009

PEPSEA

Rejets d'aujourd'hui, contamination de demain : que deviennent les contaminants émergents en mer ?

Comportement et devenir de médicaments et de produits de soins ainsi que de leurs principaux métabolites dans les eaux côtières méditerranéennes

Sur le littoral européen, le développement rapide des activités humaines lié à une urbanisation intensive exerce des pressions croissantes sur les écosystèmes côtiers. Les enjeux associés à la préservation de ces écosystèmes sont doubles puisqu'ils concernent à la fois l'environnement et la santé humaine. Sur le littoral de la Méditerranée occidentale, qui connaît une démographie galopante depuis plusieurs décennies, les rejets dus aux activités humaines sont introduits dans le milieu marin via les cours d'eau et les émissaires en mer. Ces effluents ne contiennent pas uniquement des contaminants industriels connus, mais également des contaminants émergents qui incluent les produits pharmaceutiques et produits de soins. Les impacts potentiels de ces contaminants dans les zones côtières sont source d'inquiétude pour la communauté scientifique et posent de nombreuses questions pour lesquelles il est devenu urgent d'apporter des réponses.

Le projet de recherche PEPSEA avait pour objectif de consolider l'état des connaissances concernant les contaminants émergents dans l'environnement marin et la caractérisation et le devenir de ces contaminants.

Le projet PEPSEA s'est focalisé sur la persistance, la transformation et la bioaccumulation de polluants émergents (résidus de médicaments et de produits de soins) en milieu marin

Les concentrations dans l'environnement étant faibles (du ng/l au µg/l), le risque potentiel est lié à l'exposition chronique et à la bioaccumulation de ces substances dans les organismes aquatiques.

Une liste de substances a été établie dans le cadre du projet afin de comprendre la contribution des métabolites et de produits de transformation à l'exposition générale. En raison du grand nombre de métabolites et produits de transformation qui peuvent être produits par chaque substance, la plus grande tâche est de prédire la formation de produits pertinents.

Dans le but d'obtenir une base scientifique nécessaire à une protection et une gestion efficaces des eaux marines côtières, les recherches reposent sur :

- l'étude des flux de substances rejetées par les stations d'épuration d'eaux usées dans un contexte régional ;
- la caractérisation d'une série de substances et leurs produits de transformation dans l'eau, les sédiments, le biote, ce qui nécessite le développement de méthodes analytiques ;
- la compréhension de mécanismes particuliers qui contrôlent le transfert et la transformation des polluants organiques dans les eaux marines côtières ;
- la prédiction des concentrations environnementales afin d'apporter des informations sur les risques environnementaux aux gestionnaires des eaux, aux autorités de santé et aux professionnels impliqués dans les stratégies visant à réduire les pollutions de l'environnement marin.



PEPSEA, lancé en décembre 2009 pour une durée de trois ans, et financé par l'ANR à hauteur de 500 k€ est un projet collaboratif entre les 4 partenaires suivants : Hydrosociétés Montpellier UMR 5569 ; Ifremer, LER-LR, Laboratoire Environnement et Ressources du Languedoc Roussillon, Sète ; Pharmacologie Médicale et Toxicologie, C.H.U. Lapeyronie, Université Montpellier 1 et le Laboratoire Chimie de l'environnement, Aix Marseille Université. Ce projet a été labellisé par le pôle mer PACA.

Résultats majeurs

La diffusion de contaminants émergents a été étudiée à travers une modélisation 3D, applicable dans un premier temps sur un panache de dessalure d'un émissaire en mer.

L'impact des rejets directs de filtres solaires utilisés pour la protection de la peau a été étudié sur les moules sauvages du littoral méditerranéen. Deux de ces substances se sont bioaccumulées dans une majorité d'échantillons collectés.

L'atténuation naturelle de résidus de médicaments pour photodégradation et par biodégradation à l'aide de nouveaux outils moléculaires comme la modification du rapport énantiomérique de substances chirales qui sont aujourd'hui applicables en rivière et en cours d'étude en milieu côtier.

Un partenariat a été établi avec l'Agence Régionale de Santé dans le cadre du Plan Régional Santé Environnement, Action 8, associé au Plan National des Résidus de Médicaments (PNRM) pour appréhender le lien entre usage, rejets, milieu.

Production scientifique et brevets

Le travail en cours a permis des présentations dans plusieurs congrès scientifiques ainsi que la publication d'un article dans une revue internationale à comité de lecture.

Programme Blanc édition 2007

RARE

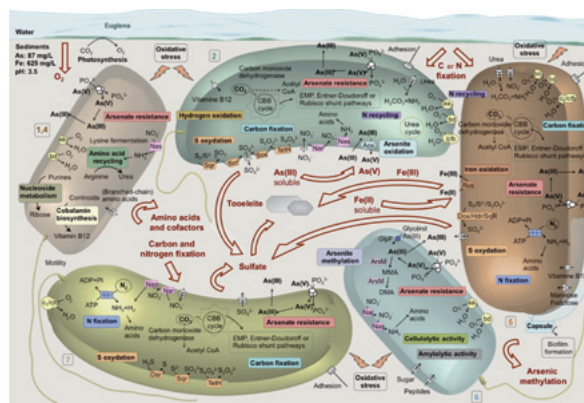
Microorganismes et atténuation naturelle d'un écosystème contaminé par l'arsenic

Caractériser les microorganismes colonisant un écosystème arsénié et les fonctions majeures impliquées dans son fonctionnement

D'origine naturelle ou provenant d'activités humaines, l'arsenic est un métalloïde toxique largement répandu dans l'environnement. Susceptible de provoquer diverses maladies, y compris des cancers, sa présence peut conduire à une contamination des eaux de distribution, notamment en France. Les eaux de drainages miniers représentent les principaux fluides contaminés par l'arsenic. Malgré une importante réduction de biodiversité observée au sein de ces écosystèmes, des microorganismes ont développé des mécanismes d'adaptation qui leur permettent d'y proliférer. Par leurs activités métaboliques, ils sont supposés exercer un impact sur le degré de contamination de ces eaux. Le principal objectif du projet était, en recourant à une approche intégrée, de caractériser les communautés microbiennes présentes sur le site de Carnoulès (Gard) et les fonctions majeures qu'elles exercent dans un tel écosystème, en relation avec les mesures physico-chimiques réalisées. Les résultats escomptés ont permis de mieux comprendre le fonctionnement de ces environnements toxiques mais aussi d'identifier des processus potentiellement exploitables à des fins de remédiation d'écosystèmes contaminés.

Combiner physico-chimie, taxonomie moléculaire, et protéogénomique environnementale pour une approche intégrée de l'écosystème

Les mesures physico-chimiques reposant sur des méthodes analytiques de pointe ont été effectuées à intervalles réguliers afin de mieux comprendre la dynamique et les processus d'atténuation de l'arsenic dans ce système. L'affiliation des microorganismes à des groupes taxonomiques distincts, y compris de nouveaux, a consisté en l'analyse d'une banque de gènes codant l'ARN ribosomal et d'une vingtaine de gènes de fonction représentant des marqueurs moléculaires. Leur caractérisation a impliqué la mise en œuvre des méthodes de génomique à haut-débit, en particulier par séquençage en masse de l'ADN de la communauté microbienne, suivi de la reconstruction bioinformatique des génomes représentant les organismes majoritaires. Enfin, l'identification des principales fonctions exercées par ces microorganismes a nécessité le recours aux méthodes les plus récentes de l'analyse protéomique et métabolomique. L'ensemble des résultats a fourni une image intégrée du système biologique étudié, y compris des interactions métaboliques avec des organismes non cultivés, conduisant à l'atténuation naturelle observée.



Modèle représentant les microorganismes majoritaires de la communauté bactérienne de Carnoulès et les principales fonctions qui sont impliquées directement ou indirectement dans l'atténuation naturelle du site d'étude

RARE est un projet de recherche fondamentale coordonné par le GMGM, Université de Strasbourg. Il associe également l'UMR « Génomique métabolique » (CNRS/Genoscope/CEA), le Laboratoire HydroSciences de Montpellier et l'équipe « Environnement et Microbiologie » de l'Université de Pau. Le projet a commencé en novembre 2007 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 530 k€ pour un coût global de 1, 4 M€.

Résultats majeurs

Les analyses physico-chimiques et taxonomiques ont permis de mieux comprendre la dynamique de l'écosystème et les conditions de formation des biominéraux de fer et arsenic. Les populations microbiennes présentes ont été identifiées à la fois dans l'eau et les sédiments. Les approches génomiques ont permis d'attribuer à des organismes spécifiques, y compris non encore cultivés, des fonctions clés conduisant à la co-précipitation de l'arsenic, du fer et du soufre, mais aussi d'autres requises pour la synthèse ou le recyclage de composés organiques. Ces résultats ont ouvert de nouvelles pistes visant à décrire le processus de remédiation naturelle actif au sein de ces écosystèmes.

Production scientifique et brevets

Reposant sur des méthodes variées, les travaux ont permis de rédiger 15 publications dans des revues internationales d'écologie, de microbiologie, de géochimie, de bioinformatique et de génomique, certaines présentant un facteur d'impact élevé. Les résultats ont été présentés à diverses reprises dans des congrès nationaux et internationaux, et ont fait l'objet d'articles de synthèse et de communiqués de presse. L'exploitation de l'ensemble des données conduira à des publications supplémentaires au-delà du terme du contrat.

Programme CES édition 2008

RESACOR

Quelle gestion durable pour les sols agricoles contaminés par des éléments traces ?

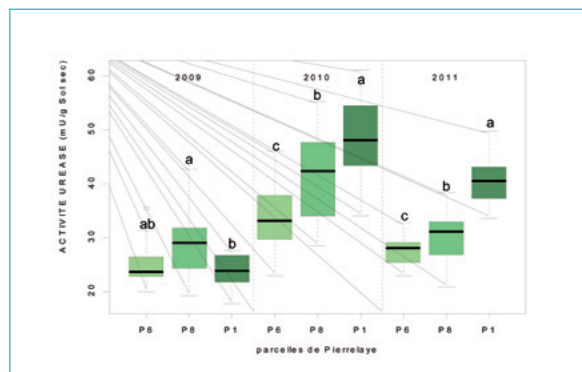
Les cultures non-alimentaires avec des plantes à vocation énergétique permettent-elles une gestion durable des sols contaminés ?

Les sols agricoles contaminés représentent des surfaces potentiellement cultivables à des fins non-alimentaires, à condition de ne pas favoriser des transferts accrus de micropolluants dans les différents compartiments des écosystèmes pour lesquels le sol est à l'interface. Les plantes à vocation énergétique représenteraient ainsi une alternative de mise en valeur de ces surfaces agricoles, à condition qu'elles ne soient pas impactantes pour l'environnement. Ces plantes sont souvent pérennes et viendraient alors remplacer le mode de gestion des sols en cultures annuelles. Mais si l'impact des pratiques culturales sur les propriétés des sols a déjà été bien étudié, le cas des sols contaminés est encore mal connu et en particulier les conséquences sur la dynamique et l'écotoxicité des micropolluants. Prévoir cet impact nécessite de mener des recherches intégrées et pluridisciplinaires, afin de prendre en compte les mécanismes et processus biotiques et abiotiques majeurs qui gèrent l'écodynamique et la biodisponibilité des micropolluants dans les sols. C'est ce que nous avons proposé de faire dans ce projet avec comme cadre d'étude choisi la mise en place de miscanthus, nouvelle culture avec valorisation de la biomasse à des fins énergétiques, sur des surfaces agricoles contaminées par des éléments en trace initialement sous cultures annuelles et dont la vocation alimentaire était remise en cause au niveau local.

Une approche intégrée de l'impact d'un changement de pratique culturale en sols contaminés

Dans ce projet l'équipe a suivi les changements de qualité et de fonctionnement de sols contaminés suite à un changement de pratiques culturales, à partir de l'étude de l'écodynamique et de l'écotoxicité des polluants initialement présents. Le changement de mode de gestion des sols est représenté par l'implantation de cultures pérennes de miscanthus comme alternative à des cultures alimentaires annuelles sur des sols contaminés. Dans ce contexte de sol contaminé, nous avons pris en compte dans l'évaluation de la composante biologique du sol, l'action conjointe des contaminations chimiques et des modifications de l'habitat liées aux pratiques.

Dans notre projet, la perturbation induite n'est pas le polluant mais le changement de pratique culturale. Aussi, un des objectifs du projet a consisté à relier le devenir et l'impact des micropolluants, avec la structure et les fonctions des organismes du sol sous l'action de cette nouvelle contrainte. Il s'agit pour cela de qualifier et quantifier les changements de propriétés chimiques, physiques et biologiques du sol au cours du temps, en réponse aux nouveaux modes de gestion, afin de modéliser les évolutions et évaluer le risque écotoxicologique associé à ces changements. A partir d'une approche intégrée réunissant des pédologues et des agronomes ainsi que des physico-chimistes, des biologistes et des écologues, ce projet a visé en particulier à répondre aux questions concernant le rôle du compartiment organique des sols, les effets de la présence des éléments en trace sur la structure et les fonctions des organismes du sol et leurs évolutions, et la relation avec la biodisponibilité des micropolluants.



Les mesures diachroniques en 2009, 2010 et 2011 d'une activité enzymatique (uréase) sur parcelles contaminées montrent une différenciation suivant le mode de gestion des sols : sous culture annuelle (en vert clair, à gauche de chaque bloc), mis en culture pérenne au début du projet en 2009 (en vert moyen, au centre de chaque bloc) et sous miscanthus depuis 2007 (en vert foncé à droite dans chaque bloc)

RESACOR est un projet de recherche finalisée coordonné par l'INRA, UR251, unité Pessac, Physicochimie et écotoxicologie des sols d'agrosystèmes contaminés. Il associe 6 autres partenaires : du CNRS, l'UMR 7590 Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés Paris VI, et l'UMR 5557 Ecologie Microbienne de Lyon ; de l'université de Rouen, Laboratoire d'Ecologie Ecodiv EA1293 ; d'AgroParistech, UMR Bioemco Equipe Matières organiques des sols, et de l'INRA, UMR1347 Agroécologie Dijon et US1158 Agro-Impact, Mons. Le projet a commencé en janvier 2009 pour une durée de 4 ans. Il bénéficie d'un financement ANR de 600 k€ pour un coût global de l'ordre de 2, 57 M€.

Résultats majeurs

Ce projet avait pour objectif de fournir des résultats robustes et originaux en termes d'agro-écologie et de réhabilitation de sites pollués, en particulier sur les effets et potentialités d'une culture de miscanthus pour réhabiliter des sites historiquement perturbés. Le poids des caractéristiques pédologiques et des propriétés physico-chimiques des sols a été étudié à partir des travaux sur la géochimie des matières organiques, et les effets sur les organismes vivants du sol. Les premiers résultats ont montré que l'implantation de miscanthus impacte la physico-chimie et la biologie du sol, avec des conséquences sur la colonisation des sols pollués et la spéciation des métaux dans le sol.

Production scientifique et brevets

Plusieurs articles scientifiques sont en cours de rédaction, issus à la fois des résultats des différentes équipes mais aussi des croisements des résultats entre équipes. Un premier article est sous presse : « Functional traits of soil invertebrates as indicators for exposure to soil disturbance », M. Hedde, F. van Oort and I. Lamy, Environmental Pollution (2012) in press, doi :10.1016/j.envpol.2012.01.017.

Remédiation des contaminants dans l'environnement

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
AMPERES	Analyse de micropolluants prioritaires et émergents dans les rejets des eaux superficielles	Micropolluants prioritaires et émergents : limiter leur diffusion et mieux les traiter
DETOXNEURO	Evaluation d'épurateurs biocompatibles pour la détoxification des neurotoxiques organophosphorés	Nouveaux moyens de détoxification douce des neurotoxiques organophosphorés
EVASOL	Evaluation et développement du traitement anaérobie des sites pollués par les solvants chlorés	Nouveaux outils pour le suivi du biotraitement des nappes phréatiques polluées par chloroéthènes
MICROD'EFF	Mise au point d'un traitement microbiologique d'effluents industriels contaminés par des hydrocarbures	Préservation de l'environnement par les microorganismes
OXYSOL	Procédés d'oxydation et de refunctionalisation pour le traitement <i>in situ</i> de sols contaminés	Une filière de traitement <i>in situ</i> de la zone non saturée de sols contaminés
RE-SYST	Récupération d'un système fluvial pollué par les métaux (Cd, Zn) après remédiation d'un site industriel	Des organismes vivants au service du diagnostic de décontamination métallique des rivières
SYMÉTAL	Rhizostabilisation de déblais miniers à fortes teneurs en métaux par des plantes métallocoles associées à leurs microorganismes symbiotiques	Contrôle de la diffusion des polluants métalliques issus des déblais miniers

Programme PRECODD édition 2005

AMPERES

Micropolluants prioritaires et émergents : limiter leur diffusion et mieux les traiter

Evaluation des performances d'élimination de substances prioritaires et émergentes par les procédés de traitement des eaux usées et des boues

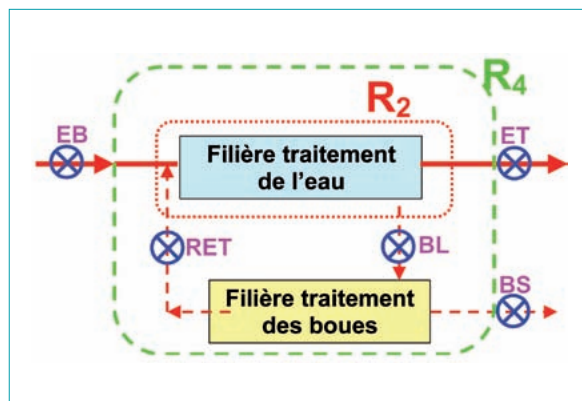
Les stations d'épuration domestiques (STEP) n'ont pas été conçues pour traiter les micropolluants. Les informations concernant leur élimination sont incomplètes et portent principalement sur le procédé boues activées. Peu de données sont disponibles pour les procédés comme la biofiltration, les filtres plantés de roseaux, les bioréacteurs à membranes immergées, les traitements tertiaires, techniques connaissant des développements techniques notables ces dernières années. De plus, le bilan complet du devenir des micropolluants dans les STEP est rarement effectué en raison notamment des difficultés analytiques pour leur mesure dans les boues.

L'objectif général du projet AMPERES est de mesurer les concentrations des micropolluants dans les eaux usées en entrée et en sortie de stations d'épuration et d'évaluer les capacités d'élimination de différentes technologies de traitement. Plus spécifiquement, ce projet vise à maîtriser des méthodes analytiques pour les substances prioritaires et émergentes dans des matrices complexes (eaux usées / boues) ; quantifier les flux émis et les performances de traitement par les STEP ; identifier les traitements tertiaires prometteurs ; et enfin évaluer le risque associé aux usages ultérieurs de l'eau.

Une stratégie de prélèvement spécifique et des analyses chimiques robustes aux très faibles concentrations

Afin de calculer les bilans d'élimination complets de micropolluants, des mesures ont été effectuées en entrée et en sortie de STEP, dans les boues et les retours en tête. L'étude visait les substances prioritaires de la Directive cadre sur l'eau, une trentaine de molécules issues de l'industrie pharmaceutique, 5 hormones et une cinquantaine d'autres substances. Au total, 127 substances ont été recherchées dans plus de 200 échantillons de 21 stations d'épuration. Les sites ont été retenus sur des critères de fonctionnement représentatif des installations existantes ou de filières d'avenir.

La méthodologie d'échantillonnage est basée sur le prélèvement d'échantillons moyens journaliers proportionnels au débit (réfrigérés) et l'utilisation de matériel en verre et Téflon. Les prélèvements ont été réalisés par temps sec pendant 2 à 3 jours consécutifs en semaine, afin de comparer les procédés dans des conditions équivalentes de fonctionnement. Les développements ont porté sur l'optimisation des méthodes d'analyse des micropolluants ciblés dans des matrices complexes : eaux résiduaires (phase dissoute et particulaire) et boues. Les performances des méthodes ont été établies en termes de limite de quantification, rendement d'extraction, répétabilité et reproductibilité.



Positionnement des points d'échantillonnage pour le calcul des rendements R2 (filière Eau) et R4 (filière globale). avec : EB = eau usée brute ; ET = eau traitée ; BL = boues liquides ; BS = boues sèches ; RET = retour en tête

AMPERES est un projet de développement expérimental coordonné par Irstea (ex Cemagref). Il associe le CIRSEE Suez-Environnement, EPOC-LPTC Université de Bordeaux 1 et l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée et Corse. Le projet a débuté en décembre 2006 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'une aide de 800 k€ pour un budget total de 1,7 M€. Ce projet a bénéficié de la labellisation du pôle Axelera - Rhodanos.

Résultats majeurs

Pour les stations d'épuration boues activées en aération prolongée, la moitié des substances quantifiées en entrée de station d'épuration sont éliminées à plus de 70 %. En revanche, plusieurs substances (pesticides et composés pharmaceutiques polaires) ne sont pas affectées par le passage à travers ces procédés biologiques (rendement < 30 %). Leur élimination est facilitée par certains procédés tertiaires avec un rendement > 70 % pour les procédés avancés comme l'ozonation, la filtration sur charbon actif et l'osmose inverse. Les partenaires poursuivent ces travaux en étudiant les façons d'optimiser les systèmes d'épuration pour éliminer davantage de contaminants chimiques.

Production scientifique et brevets

La démarche de prélèvements a été publiée dans Techniques Sciences et Méthodes, TSM, no 4, 2009). Une synthèse des résultats du projet AMPERES est parue en 4 articles dans TSM (no1/2 2011). Le projet a donné lieu à 16 publications scientifiques dans des revues de rang A. Les résultats ont été transférés sous la forme d'un Guide technique opérationnel « Pratiques d'échantillonnage et de conditionnement en vue de la recherche de micropolluants prioritaires et émergents en assainissement collectif et industriel » (diffusion sur le site www.aquaref.fr).

Programme Blanc édition 2006

DETOXNEURO

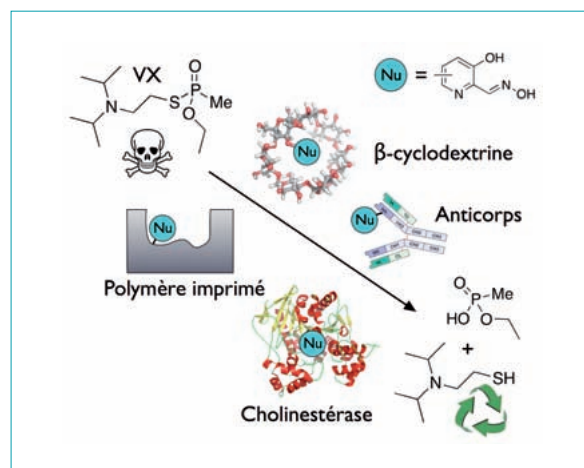
Nouveaux moyens de détoxification douce des neurotoxiques organophosphorés

Les neurotoxiques organophosphorés présentent une menace réelle, pourtant des moyens de décontamination biocompatibles font défaut

Les neurotoxiques organophosphorés agissent en inhibant irréversiblement l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme clé dans la transmission cholinergique du flux nerveux. Ils sont à la base des armes chimiques de guerre et des insecticides les plus efficaces. Simples à synthétiser, ils constituent une arme attrayante pour les groupes terroristes comme illustré par l'usage des gaz sarin et VX en 1994-95 dans une série d'attentats commis par la secte Aum au Japon, notamment dans le métro de Tokyo. Leur usage est aussi redouté dans le cadre de guerres asymétriques. Des expositions accidentelles restent également à craindre en raison des importants stocks de neurotoxiques militarisés que les pays détenteurs doivent encore détruire suite à la signature de la convention sur l'interdiction des armes chimiques en 1993. Parmi les agents neurotoxiques, le VX, un organophosphoré de la famille des phosphonothioates, est le plus toxique et le plus persistant. Les moyens de décontamination actuels du VX, à base de solutions très alcalines ou oxydantes, ne sont pas compatibles avec un usage médical. L'objectif de notre programme de recherche était d'identifier de nouveaux moyens de décontamination doux et biocompatibles pour une utilisation duale, dans le cadre de conflits armés ou d'actions terroristes, ou en cas d'intoxication par des insecticides analogues.

Stratégies de décontaminations du VX à base d'anticorps, polymères imprimés ou cyclodextrines fonctionnalisés ou de cholinestérases modifiées

Un moyen de décontamination douce doit remplir deux conditions : avoir de l'affinité pour le toxique et devoir réagir avec lui pour le détruire. Un test de criblage fluorimétrique a été développé pour identifier les fonctions chimiques nucléophiles capables d'agir spécifiquement sur la liaison phosphothioester du VX. Les fonctions les plus intéressantes sont couplées à des systèmes assurant la reconnaissance du VX (ou le PhX, analogue moins toxique). Parmi ces systèmes nous avons choisi : 1) des anticorps monoclonaux sélectionnés pour leur capacité à lier un haptène préfigurant le PhX et le nucléophile dans leur positionnement réactif ; 2) des polymères imprimés possédant en surface des sites de liaison fabriqués par empreinte moléculaire à partir de complexes semblables aux haptènes ; 3) des cyclodextrines, oligosaccharides en forme de cône tronqué, dont la cavité centrale est capable de piéger le toxique. Nous avons également choisi les cholinestérases, cibles physiologiques piégeant très rapidement le VX, dont nous pouvons modifier le site actif par mutation rationnelle pour obtenir des variants capables de s'autorégénérer.



DetoxNeuro est un projet de recherche fondamentale à l'interface de la chimie et de la biologie, coordonné par un enzymologiste structural du Service de Santé des Armées, le Dr. Nachon, associé aux équipes de chimistes organiciens du Prof. Renard et Dr. Estour de l'université de Rouen, et du Dr. Baati de l'université de Strasbourg. Le projet a commencé en novembre 2006 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 400 k€ pour un coût global de l'ordre de 2 M€.

Résultats majeurs

Nous avons identifié une fonction nucléophile déclinable en une nouvelle famille de réactivateurs de l'AChE inhibée, qui se sont révélés être les plus efficaces à ce jour. Les cyclodextrines fonctionnalisées ont donné les résultats les plus probants, avec l'hydrolyse des neurotoxiques sarin, cyclosarin et tabun. Enfin, nous avons déterminé le mécanisme enzymatique d'hydrolyse du VX par un mutant de butyrylcholinestérase humaine (BChE), augmenté la vitesse de régénération spontanée de l'AChE par ingénierie, et identifié une BChE de mammifère capable de se réactiver spontanément en quelques minutes.

Production scientifique et brevets

Sont à retenir : l'identification de nouveaux α -nucléophiles efficaces sur les neurotoxiques (Louise-Leriché et al 2010 Chemistry, Eur. J 16, 3510, St-André et al 2011 Tetrahedron 67, 6352); la fonctionnalisation des cyclodextrines (Masurier et al 2009 Chem. Comm. 5, 589; Le Provost et al 2011 Org. Biomol. Chem. 9, 3026-3032) et leur hydrolyse de neurotoxiques (Wille et al 2009 Toxicology 265, 96; Müller et al 2010 Tox. Lett. 200, 53); l'étude mécanistique d'un mutant de BChE hydrolysant le VX (Nachon et al 2011 Biochemical J. 434, 73).

Programme PRECODD édition 2007

EVASOL

Nouveaux outils pour le suivi du biotraitement des nappes phréatiques polluées par chloroéthènes

Développement d'outils de diagnostic rapide pour le suivi et l'optimisation du traitement biologique anaérobie des solvants chlorés

Les éthylènes chlorés sont des polluants toxiques fréquents des nappes phréatiques. Afin de mieux gérer ces sites pollués et notamment d'évaluer la faisabilité d'une atténuation naturelle ou d'un traitement biologique, le projet EVASOL vise à développer, valider et appliquer une approche de mesure de la qualité chimique et microbiologique des nappes phréatiques. Cette approche est basée sur :

- le dosage des chloroéthènes par l'utilisation de biocapteurs bactériens ;
- la détermination rapide, avec un haut niveau de spécificité et de sensibilité des populations bactériennes présentes dans le sol par l'utilisation de biopuces à ADN.

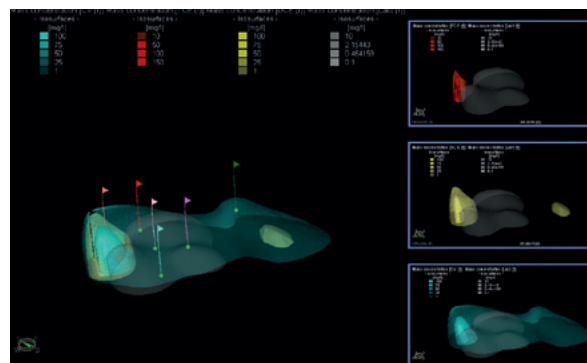
Ces outils doivent permettre l'évaluation rapide de la faisabilité d'une atténuation naturelle ou d'un traitement biologique des éthylènes chlorés. Les données fournies par ces nouveaux outils doivent pouvoir compléter un modèle numérique d'écoulement pour en faire un outil prédictif de simulation de la biodéchloration directement utilisable par les professionnels de la dépollution.

Dosage rapide du trichloréthylène par biocapteur bactérien et analyse de la microflore par biopuces phylogénétique et fonctionnelle. Modélisation numérique de la biodéchloration.

Le biocapteur utilise la bactérie *Pseudomonas putida* F1, capable de dégrader le trichloréthylène par cométabolisme. Cette bactérie a été immobilisée par liaison anticorps/antigène sur un support intermédiaire de nanotubes de carbone lui-même fixé sur un transducteur conductimétrique de faible dimension.

La biopuce phylogénétique permet d'analyser sur la base de l'ARN 16S la diversité des communautés bactériennes présentes. La seconde biopuce de type fonctionnelle permettant d'explorer les potentialités cataboliques d'une communauté microbienne envers les éthylènes chlorés. Toutes les bactéries et enzymes connues à ce jour comme étant impliquées dans la biodégradation des chloroéthènes sont ciblées par cette biopuce. Les sondes ont été déterminées grâce à un nouvel algorithme nommé HiSpOD permettant d'optimiser leur spécificité et leur sensibilité.

Un module complémentaire permettant de simuler la déchloration réductive, en intégrant les données des biopuces a été développé pour FEFLOW, logiciel professionnel de modélisation d'écoulement des fluides et du transfert de masse dans le sous-sol.



Simulation de la biodégradation des chloroéthènes (FEFLOW)

EVASOL est un projet de recherche fondamentale et appliquée coordonné par SITA REMEDIATION. Il associe également les sociétés BONNARD et GARDEL Ingénieurs, BIOBASIC ENVIRONNEMENT ainsi que le laboratoire des sciences analytiques (LSA) de l'université LYON 1, le laboratoire de biologie de protistes (LBP) de l'université de Clermont-Ferrand (UMR CNRS 6023) et le laboratoire Ampère de l'école centrale de Lyon. Le projet a débuté en février 2008 pour une durée de 39 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 699 K€ pour un coût global de 1,6 M€.

Résultats majeurs

Un biocapteur bactérien a été développé en fixant la bactérie *P. putida* F1 sur un transducteur conductimétrique. Les améliorations successives (miniaturisation, fixation par liaison anticorps/antigène, utilisation de nanotubes de carbone) ont permis d'atteindre une limite de détection < 5 µg/L.

Une biopuce fonctionnelle ADN axée sur les voies de biodégradation du trichloréthylène en aérobiose et en anaérobiose est aujourd'hui disponible. Elle permet une évaluation rapide des compétences de la microflore pour réaliser la déchloration complète jusqu'à l'éthylène. Un module complémentaire au logiciel FEFLOW permet une simulation numérique de la déchloration réductive dans une nappe phréatique sous biostimulation.

Production scientifique et brevets

Les caractéristiques et performances du biocapteur bactérien ont fait l'objet de deux publications en 2011 dans *Analytical and Bioanalytical Chemistry* et *Electrochimica Acta*.

Le suivi biologique du traitement par biostimulation réalisé dans le cadre du projet EVASOL est soumis dans *Applied and Environmental Microbiology*. L'algorithme utilisé dans le logiciel HISPOD pour le développement des sondes a été publié en 2011 dans *Bioinformatics*.

Programme EMPB édition 2006

MICROD'EFF

La préservation de l'environnement par les microorganismes

Traitement MICRObiologique D'EFFluents industriels

Le traitement des boues industrielles contaminées par des hydrocarbures s'impose de part leur toxicité sur la santé humaine mais aussi par les contraintes imposées par les pouvoirs publics sur la préservation et la protection de l'environnement. Les méthodes biologiques de dépollution, basées sur l'extraordinaire diversité métabolique des micro-organismes, offrent une alternative prometteuse, moins onéreuse et plus respectueuse de l'environnement que les méthodes physico-chimiques actuelles.

Le projet MICROD'EFF vise à sélectionner les micro-organismes les plus performants de la collection du laboratoire « Environnement et Microbiologie, UMR IPREM 5254 » et d'optimiser ainsi le processus de traitement pour un large éventail de composés organiques allant d'alcane à des composés plus complexes comme des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

Améliorer la dégradation bactérienne d'hydrocarbures

Le projet repose sur une approche expérimentale originale pour la sélection d'un cocktail de micro-organismes capable de dégrader efficacement des mélanges d'hydrocarbures rencontrés régulièrement dans les boues industrielles. La mise en œuvre de plans d'expériences permet, non seulement de sélectionner les mélanges de souches bactériennes, mais aussi de déterminer les conditions optimales de leur utilisation dans des réacteurs biologiques. Au cours du projet, la combinaison d'analyses microbiologiques, chimiques et d'approches les plus sophistiquées de biologie moléculaire a permis de caractériser les mélanges de micro-organismes et de déterminer, dans des conditions réalistes, les corrélations entre leurs activités de dégradation et les paramètres physico-chimiques.



Cocktail de micro-organismes pour la dégradation d'hydrocarbures

MICROD'EFF est un projet de recherche et développement coordonné par le laboratoire de l'Equipe Environnement et Microbiologie (UMR IPREM 5254) à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. Le projet a commencé en novembre 2006 pour une durée de 18 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 140 k€ pour un coût global de l'ordre de 350 k€.

Résultats majeurs

Le projet MICROD'EFF a démontré l'efficacité de la démarche, basée sur l'utilisation de plan d'expériences, pour la mise au point d'un procédé de traitement d'effluents contaminés. Il a permis de sélectionner un cocktail de micro-organismes capable de dégrader efficacement une large gamme d'hydrocarbures, notamment les seize hydrocarbures les plus toxiques de la liste de l'agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA). L'utilisation de ce cocktail, composé de quatre souches bactériennes, a été optimisée en ajustant les paramètres physico-chimiques. Les essais sur des réacteurs pilotes à l'échelle du laboratoire ont montré que notre concept peut être utilisé pour le traitement d'effluents contaminés.

Production scientifique et brevets

Bien que longtemps envisagée, la protection par brevet du cocktail de souches bactériennes pour le traitement de boues contaminées en hydrocarbure a maintenant été écartée au profit de publication d'articles dans des revues scientifiques internationales. Ainsi, un article décrivant la démarche expérimentale de sélection du cocktail de souches et d'optimisation de son utilisation sera prochainement soumis pour publication.

Programme PRECODD édition 2007

OXYSOL

Une filière de traitement *in situ* de la zone non saturée de sols contaminés

Appliquer l'oxydation chimique *in situ* à la zone non saturée de sols pollués et restaurer les fonctions des sols après traitement

Un grand nombre de sites contaminés de grande taille ne fait toujours pas l'objet de traitement faute de procédés de traitement techniquement efficaces et économiquement acceptables. Si l'oxydation chimique *in situ*, c'est-à-dire sans excavation préalable des terres contaminées, représente l'une des options majeures du traitement des sites contaminés par des polluants organiques persistants, ce type de procédé reste essentiellement appliqué à la décontamination des nappes. L'enjeu d'OXYSOL était de démontrer qu'il est possible de traiter la zone non saturée de sols contaminés par des polluants de type Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), à l'aide de l'injection d'oxydants chimiques puissants, avec un abattement suffisant de la pollution et un impact minimum sur les compartiments environnementaux adjacents. OXYSOL se destinait aussi à coupler le traitement par oxydation chimique à des procédés pédologiques et agronomiques pour la restauration des fonctions fondamentales des sols. La filière ainsi développée devait permettre de traiter la zone non saturée de surfaces importantes à un coût acceptable et un impact environnemental faible, afin d'offrir des espaces rénovés aptes à supporter des activités agronomiques et/ou forestière à usage non alimentaire.

L'oxydation *in situ* et les procédés de restauration des fonctions des sols

Les procédés de la filière OXYSOL sont l'oxydation chimique et la restauration des fonctions des sols. Les travaux ont d'abord concerné des essais de laboratoire pour définir les produits les plus pertinents parmi une gamme d'oxydants puissants et de libérateurs lents d'oxygène, ainsi que leurs conditions d'utilisation. Une gamme de sols a été choisie, et plus particulièrement un sol de cokerie présentant une contamination en HAP très peu disponibles. Ensuite, l'efficacité de l'oxydation dans les conditions du terrain et son impact sur les fonctions du sol ont été étudiés *in situ*, à l'aide de quatre dispositifs lysimétriques (GISFI ; www.gisfi.fr) contenant des sols reconstitués et équipés de sondes de mesures physiques et de préleveurs de solution. L'équipement complémentaire avec des sondes géophysiques a permis aussi de mesurer en continu la résistivité et la chargeabilité électrique pour suivre en temps réel les processus d'oxydation dans les sols. Des procédés pédologiques et agronomiques ont été mis en œuvre afin de tester la restauration des fonctions du sol. Enfin, l'analyse multicritère, consolidée et validée à partir de conditions réelles, a été appliquée à la filière OXYSOL pour établir sa faisabilité technique, économique et environnementale.

Résultats majeurs

La filière OXYSOL permet l'abattement de la pollution organique persistante par oxydation chimique *in situ* et la restauration des fonctions du sol altérées par les oxydants. Le suivi géophysique a montré un intérêt pour suivre en ligne et de façon non intrusive les réactions d'oxydation au sein du profil de sol. Enfin, la méthode d'analyse mul-



Essais d'oxydation *in situ* en dispositif lysimétrique avec la réaction de Fenton sur un sol issu d'une ancienne cokerie (de gauche à droite, la station lysimétrique du GISFI, un lysimètre et une image de l'alimentation en oxydant lors de la campagne menée en juin 2010)

OXYSOL est un projet de recherche fondamentale et de recherche industrielle. Il associe cinq partenaires, deux scientifiques, le GISFI et le BRGM, et trois partenaires industriels, ArcelorMittal Real Estate France (AMREF), Solvay Carbonate et Valterra Dépollution Réhabilitation (VDR, ex-TVD). Le projet a débuté en mai 2008 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 835 k€ pour un coût complet de 1,4 M€.

ticritère permet de caractériser la faisabilité de la filière OXYSOL pour une utilisation en vraie grandeur sur des sites de grande taille. La filière, qui couple l'oxydation et la restauration des fonctions des sols, est potentiellement applicable au niveau industriel. Elle sera mise en œuvre dans le cadre de projets de démonstration et d'optimisation, en vue d'un usage ultérieur des sites pour la production de biomasse d'intérêt industriel (e.g. projet LORVER).

Production scientifique et brevets

Le projet a donné lieu à la soutenance de deux thèses de doctorat, à des communications à congrès nationaux et internationaux et à une série d'articles scientifiques soumis ou à soumettre dans des revues internationales dans les différents domaines couverts par le projet. Le projet a été présenté à l'occasion des journées Ecotechnologies, sous la forme de posters et de Communication orale (Saint Malo, 2010), et d'une présentation détaillée lors des journées organisées en Lorraine avec une visite sur la station expérimentale du GISFI (octobre, 2011). Enfin, une journée scientifique et technologique ouverte aux partenaires scientifiques, industriels chargés de sites pollués ou en charge de la dépollution et des collectivités territoriales a permis de présenter l'ensemble de la filière OXYSOL (Nancy, octobre 2011).

Programme CES édition 2008

RE-SYST

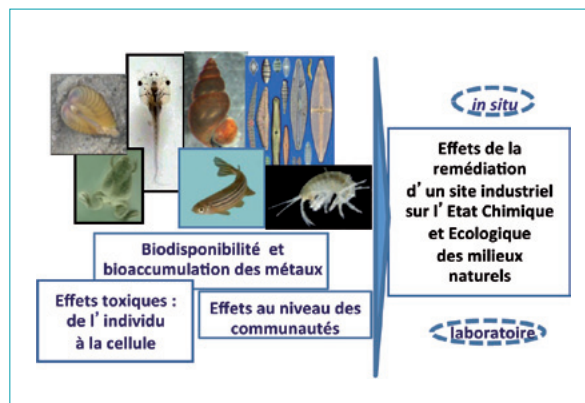
Des organismes vivants au service du diagnostic de décontamination métallique des rivières

Percevoir l'amélioration des Etats Chimique et Ecologique des cours d'eau

L'estuaire de la Gironde subit une pollution métallique d'origine industrielle en provenance de la rivière Lot interdisant toute production ou ramassage de coquillages. De nombreuses études antérieures menées près des rejets industriels incriminés ont permis de caractériser la contamination des cours d'eau par les métaux (Cd, Zn). Depuis 2007, l'usine responsable a entamé une remédiation de cette pollution. C'est dans ce contexte que le programme RESYST s'inscrit en étudiant l'impact de cette remédiation sur la diminution des apports métalliques et sur leurs conséquences en termes d'impacts toxiques chez différentes espèces aquatiques. Le programme RESYST vise à préciser si l'initiation de la restauration entreprise sur le site industriel se traduira par des prémices de changements bénéfiques dans les cours d'eau et chez les organismes aquatiques associés. Les potentialités de transfert des méthodologies développées dans ce programme vers d'autres sites pollués par les métaux faciliteront leur évaluation en référence à la recommandation européenne (DCE), pour une lecture plus lisible par les gestionnaires et les populations concernées.

Des approches combinées de laboratoire et *in situ* pour révéler la contamination de l'échelle cellulaire à l'échelle des communautés

Le couplage entre différentes voies d'approche (géochimique, écologique, écotoxicologique, génétique, ...) conduites en conditions contrôlées et *in situ*, et mettant en jeu différents modèles biologiques (mollusques, batraciens, poissons, crustacés, micro-algues des biofilms) a été retenu pour estimer les effets de la remédiation du site industriel sur l'amélioration des Etats Chimique et Ecologique des cours d'eau concernés. Des études menées *in situ* ont servi de systèmes de biosurveillance de la contamination du milieu et de bioindicateurs de toxicité par l'exposition dans le cours d'eau pollué d'espèces représentatives des écosystèmes aquatiques. Des études de décontamination en laboratoire ou sur le terrain après exposition des organismes *in situ* ou de façon expérimentale contrôlée ont permis de caractériser les impacts toxiques et les cinétiques de récupération des organismes. La réversibilité ou non des impacts écologiques, génotoxiques, génétiques ou physiologiques observés chez les différents organismes a également été étudiée. La multiplicité des outils opérationnels mis en œuvre nous a conduit à identifier les outils les plus pertinents à proposer dans le cadre du suivi d'état de l'hydro-système pour un retour probable au bon état écologique.



RESYST évalue les capacités de récupération des écosystèmes aquatiques continentaux par l'étude combinée de plusieurs modèles biologiques

Le programme **RE-SYST** associe six partenaires nationaux : l'Université Bordeaux 1 avec l'UMR CNRS EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux), l'Université de Toulouse avec le Laboratoire Ecolab (Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle) et le Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse, et le Cemagref avec trois équipes (Equipe Ecologie de l'UR Réseaux, épuration et qualité des eaux REQE de Bordeaux), l'équipe d'Ecotoxicologie de Lyon et l'équipe UMR G-Eau du Centre de Sociologie de Montpellier. Il a démarré en décembre 2008 pour une durée de 48 mois et a bénéficié d'un financement ANR de 321 k€ pour un coût global de 2,1 M€.

Résultats majeurs

La mise en commun de compétences pluridisciplinaires afin de révéler l'efficacité des procédés de remédiation et d'améliorer la qualité des rejets d'un site industriel et de leurs impacts écotoxicologiques est tout à fait novatrice. Elle a conduit à de nouveaux outils de suivi et d'évaluation biologique des impacts, grâce aux couplages entre géochimie / hydrobiologie / écotoxicologie / physiologie / génétique. A l'issue de ces travaux, une prédiction du temps nécessaire pour retrouver le bon état écologique des eaux préconisée par la DCE pourra être proposée, et sera utile aux différents acteurs impliqués dans les politiques et la gestion des écosystèmes aquatiques.

Production scientifique et brevets

Le programme RE-SYST a conduit à la parution de dix publications de rang A et à neuf communications à des congrès internationaux impliquant l'ensemble des partenaires. Les résultats publiés ont concerné l'étude des différents modèles biologiques. Ils illustrent et expliquent l'évolution des impacts écologiques, génotoxiques, génétiques ou physiologiques ressentis par les organismes vivants dans un environnement aquatique pollué en phase de remédiation.

Programme CES édition 2010

SYMÉTAL

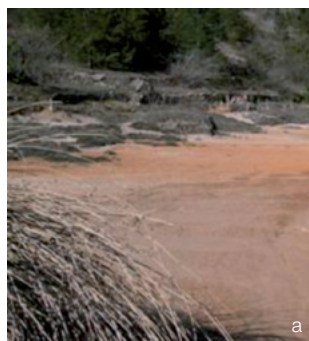
Contrôle de la diffusion des polluants métalliques issus des déblais miniers

Optimisation de l'installation d'une couverture végétale sur déblais miniers

L'exploitation des gisements de filons métallifères au XIXe et XXe siècles a généré d'importantes quantités de stériles à fortes teneurs en métaux lourds extrêmement toxiques. Les anciens sites miniers sont ainsi devenus des « hot spots » de pollution métallique. Pour contrôler la diffusion des métaux à partir de ces sites très pollués, une voie extrêmement prometteuse est la création de couvertures végétales adaptées aux conditions environnementales locales. Le projet a pour objectif de valoriser la diversité des espèces végétales et de la microflore (bactéries et champignons) qui colonise les racines des plantes présentes sur le site des Avinières (Saint Laurent le Minier, Gard). Il s'agit de montrer que la couverture de l'ensemble des déblais miniers par une végétation adaptée est possible et qu'elle contribue de façon significative à bloquer la dispersion des particules chargées en métaux lourds. En associant le potentiel du biologique des associations plante-microorganismes nous nous proposons d'accélérer la dynamique d'installation de la végétation et de promouvoir une gestion respectueuse de l'environnement, innovante et durable des déblais miniers aujourd'hui à l'abandon.

Mise en oeuvre d'associations plantes-microorganismes pour complexer les métaux et contrôler leur dissémination

L'approche développée dans le projet consiste à créer des associations entre des espèces végétales métallophiles et des microorganismes adaptés à la contrainte métallique. Le choix des espèces végétales et microbiennes est fondé sur leur complémentarité fonctionnelle avec notamment leur aptitude à se développer sur des substrats carencés en azote. Une partie du projet est consacrée à l'analyse de la diversité génétique des microorganismes (bactéries et champignons symbiotiques) et à ses aspects fonctionnels afin de maîtriser l'entrée de l'azote dans l'écosystème à reconstituer. La rhizodéposition est ainsi étudiée au niveau du système racinaire de la légumineuse *Anthyllis vulneraria*. L'influence de la couverture végétale sur la mobilité et la spéciation des métaux est étudiée avec précision en procédant à la localisation des métaux notamment au niveau de la rhizosphère afin de savoir s'ils restent dans des phases minérales ou sont associés à la matière organique du sol. On s'attache également à voir s'ils peuvent être immobilisés à l'intérieur ou en surface du système racines/mycorhizes, au niveau de la fraction bactérienne, voire au niveau des nodosités de la légumineuse.



La présence de fortes teneurs en métaux limite l'installation d'une couverture végétale (a) et seules quelques espèces végétales comme *Anthyllis vulneraria* subsp. *carpatica* (b) associée à ses bactéries symbiotiques sont capables de coloniser un tel milieu

SyMetal est un projet de recherche fondamentale coordonné par le Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (Montpellier). Sont associés au LSTM, le Centre d'Ecologie Fonctionnelle Evolutive de Montpellier (CNRS), le Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (Université de Pau, CNRS), Le laboratoire d'Etude des Transferts en Hydrologie et Environnement (Université de Grenoble, CNRS), et le Laboratoire Plante-Microbe-Environnement de Dijon (INRA-CNRS). Le projet a commencé en janvier 2010 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 600 k€ pour un coût global de l'ordre de 2,5 M€.

Résultats majeurs

Parmi les premiers résultats marquants, nous avons pu mettre en évidence la capacité de l'association symbiotique *Anthyllis vulneraria* subsp. *carpatica* – *Mesorhizobium metallidurans* à se développer et à fixer l'azote sur un substrat fortement chargé en métaux. Le rôle de la rhizodéposition azotée dans l'amélioration globale de la fertilité des déchets miniers a été précisé dans des expérimentations en conditions contrôlées. Des champignons endomycorhiziens ont été détectés sur plusieurs espèces végétales métallophiles et au moins une nouvelle espèce a été découverte. La démarche proposée dans SyMetal a retenu l'attention de plusieurs bureaux d'études qui ont répondu à un appel d'offre de l'ADEME.

Production scientifique et brevets

Les premiers résultats des travaux ont fait l'objet de présentation dans des congrès nationaux et internationaux. La capacité de l'association symbiotique *Anthyllis vulneraria* subsp. *carpatica* – *Mesorhizobium metallidurans* à se développer et à fixer l'azote sur un substrat fortement chargé en métaux a fait l'objet d'une publication scientifique (Mahieu et al., 2011). Plusieurs autres publications sont en cours de rédaction.

2 CONTAMINANTS ET ÉCOSYSTÈMES

De nombreux projets retenus notamment dans les programmes CES et CESA se consacrent aux effets des contaminants (essentiellement polluants chimiques persistants, organiques ou organométalliques, métaux, résidus médicamenteux) sur les composantes des écosystèmes, dans les sols, les eaux douces ou le milieu marin côtier. Les études montrent les effets sur les écosystèmes, sur la biodiversité (microbienne, végétale ou animale) et sur la contamination des organismes (perturbation endocrine des poissons et organismes aquatiques, etc.).

La plupart des études incluent des caractérisations analytiques des contaminants, leur dispersion dans l'environnement et leurs effets écotoxicologiques. L'ensemble des projets présentés dans ce cahier est listé dans le thème « Effets des contaminants sur les écosystèmes ; écotoxicologie ».

Effets des contaminants sur les écosystèmes ; écotoxicologie

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
AMORE	Analyses multi-critères pour le développement d'un outil d'aide à la décision en vue de la prévention des risques environnementaux	Nouveaux concepts et méthodes pour moderniser l'évaluation du risque écotoxicologique
APTITUDE	Approches pluridisciplinaires d'évaluation des performances adaptatives des bactéries du sol soumises à des stress métalliques	Recherche de bio-indicateurs de l'état de contamination des sols
CHLORDEXCO	Pollution des sols et des eaux par la chlordécone aux Antilles, conséquences sur la contamination des cultures et des organismes dulçaquicoles	Contamination d'un écosystème antillais 20 ans après l'application d'un organochloré, la chlordécone
CIEL	Contaminants et interactions au sein des écosystèmes lagunaires	Effets des contaminants biologiques et chimiques sur les écosystèmes lagunaires
CONPHYPOP	Contamination et physiologie des poissons exposés aux polluants	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et poissons modèles : comprendre les effets physiologiques de l'embryon à l'adulte
COSTAS	Contaminants dans le système trophique phytoplancton, zooplancton, anchois, sardine	Les ressources biologiques face à la contamination chimique dans le golfe du Lion
DIESE	Outils de diagnostic de l'écotoxicité des sédiments	Comment évaluer l'écotoxicité des sédiments dans les eaux douces ?
IMMORTEEL	Impacts des contaminations métalliques et organiques des systèmes de la Gironde et du St Laurent sur deux espèces en déclin, l'anguille CC européenne et américaine	La pollution des eaux peut-elle contribuer au déclin des anguilles Atlantiques ?
MARSECO	Flux de contaminants et fonctionnement des écosystèmes littoraux provençaux : transferts sol-eau-biocénose	Biodiversité et pollution en zone littorale marseillaise : comprendre les risques pour les écosystèmes et l'homme
PHARMAECOTOX	Résidus pharmaceutiques et écotoxicologie en milieu marin	Pollution des milieux aquatiques par les médicaments : effets sur les invertébrés
POLARTOP	Contaminants chez les prédateurs supérieurs polaires: niveaux et effets des polluants organiques et métaux lourds sur la physiologie du stress et le devenir des oiseaux marins des Terres Australes Françaises (TAAF)	Une menace invisible : les contaminants et leurs impacts sur les oiseaux polaires
RIPOST	Recherche interdisciplinaire sur la problématique ostréicole du bassin d'Arcachon : approches <i>in situ</i> et expérimentale	Dynamique et impact toxique des polluants sur l'écosystème du Bassin d'Arcachon
RISKER	Recherche intégrée des impacts sanitaires et environnementaux de la contamination par les polluants organiques persistants aux îles Kerguelen	Les poissons des îles australes malades de la pollution industrielle
RODENT	Impacts des rodenticides anticoagulants sur les écosystèmes - adaptation des populations de rongeurs cibles et effets sur leurs prédateurs	Conséquences écologiques de l'usage des rodenticides
SENDEFO	Sensibilité des communautés bactériennes aquatiques au carbendazime et capacités à dégrader ce fongicide	Nouvelles approches pour évaluer l'impact des polluants sur les microorganismes aquatiques
SOLEBEMOL	Devenir et effets des contaminants dans les soles : réponse biologique à l'échelle de l'individu et de la population	Devenir et effets des contaminants organiques persistants dans un poisson marin : la sole

Programme CES édition 2009

AMORE

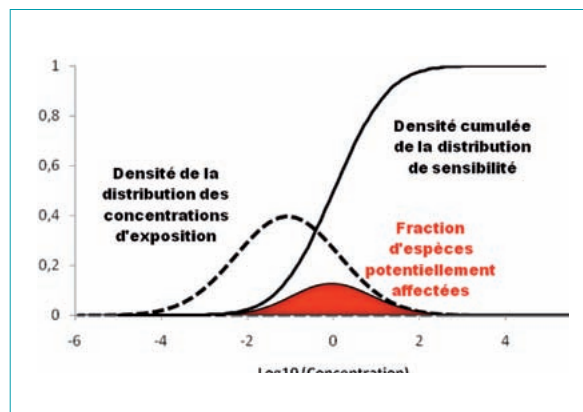
Nouveaux concepts et méthodes pour moderniser l'évaluation du risque écotoxicologique

Nouvelles approches statistiques et expérimentales pour mieux évaluer l'exposition et les dangers des substances chimiques dans l'environnement

Les réglementations nationale et européenne vont conduire dans les années qui viennent à multiplier les évaluations de risque écologique des milieux aquatiques. Il s'agit donc, à la fois, d'optimiser l'utilisation de l'information disponible pour minimiser le recours à de nouveaux tests, et de former les experts de demain aux nouveaux outils statistiques et expérimentaux d'évaluation du risque écotoxicologique. Le projet AMORE vise à fournir un ensemble d'outils méthodologiques et logiciels, ainsi que d'avancées scientifiques, pour une exploitation opérationnelle dans des évaluations graduées des risques environnementaux. Plus précisément, nous avons développé : un outil de prédiction de la distribution des concentrations d'exposition dans l'environnement en fonction de la situation étudiée (approche généraliste ou étude de cas) ; un outil multicritères d'évaluation de la distribution de la sensibilité des espèces exposées à partir d'informations hétérogènes (tests sur différentes espèces avec différents protocoles, effets sur les populations, modélisation) ; un système de traçabilité et de lecture des incertitudes cumulées au long de la chaîne d'évaluation.

Vers la probabilisation de l'indice du risque environnemental

Le projet AMORE compte passer d'un indice de risque comme quotient de deux valeurs (une concentration prédite dans l'environnement et une concentration prédite sans effet) à un indice de risque s'exprimant comme le produit de convolution de la distribution des concentrations d'exposition et de celle de la sensibilité des espèces. Côté exposition, le projet évalue et modélise les processus physico-chimiques responsables de l'émission, du transport, de la dégradation et de la biodisponibilité des composés. Côté effets, le projet met en place une approche multicritère capable d'intégrer différentes informations dans l'évaluation du danger, avec une pondération estimée à partir du traitement statistique de l'avis d'experts. Ces différentes informations proviennent de tests standards, de tests non standards ou de modélisations. L'adéquation entre les espèces étudiées et celles des milieux impactées est en outre évaluée et intégrée dans l'approche multicritère.



Représentation schématique de la démarche du projet AMORE de probabilisation de l'indice de risque environnemental

AMORE est un projet de recherche appliquée coordonné par l'INERIS. Il associe aussi EDF, l'IRSN et le Cemagref. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 435 k€ pour un budget global de 1,9 M€.

Résultats majeurs

Les courbes de distributions des sensibilités des espèces peuvent être générées en pondérant les données à partir de l'analyse multicritère de la décision d'experts, selon la pertinence écologique de l'espèce (appréciée à partir des traits biologiques et écologiques), la qualité de la donnée et la représentativité des groupes taxonomiques. En appui, nous avons fourni de nouveaux outils de modélisation et de statistiques. La biodisponibilité et la biodégradation sont intégrées aux modèles d'évaluation de l'exposition. Au final, le projet fournira un outil scientifiquement pertinent d'aide à l'évaluation du risque environnemental.

Production scientifique et brevets

Trois articles sont publiés, deux autres sont soumis, d'autres en préparation. En outre, plusieurs guides et logiciels seront fournis à l'issue du projet afin de faciliter le calcul des distributions en préalable à la probabilisation de l'indice de risque.

Programme SEST édition 2008

APTITUDE

Recherche de bio-indicateurs de l'état de contamination des sols

Compréhension des mécanismes adaptatifs des communautés bactériennes soumises à des stress métalliques

Les écosystèmes particulièrement exposés à des pressions anthropiques peuvent être considérés comme de véritables (bio-)réacteurs au sein desquels le monde procaryotique s'activerait pour apporter des solutions populationnelles et fonctionnelles novatrices aux défis environnementaux et assurer ainsi le relais dans l'accomplissement de ces fonctions primaires. En d'autres termes, les bactéries sont-elles les premiers organismes affectés par les changements anthropiques ou, à l'inverse, sont-elles les premiers organismes et peut-être les seuls à pouvoir répondre efficacement à de nouveaux défis anthropiques ? Ce sont ces questions que nous voulons aborder dans ce projet en prenant comme modèles d'étude les communautés bactériennes isolées de sols riches en métaux lourds. Deux sites avec un historique très différent sont utilisés dans ce projet. Les déblais miniers de Nouvelle-Calédonie sont des sols naturellement riches en nickel. Ils permettent d'étudier les communautés bactériennes résultant de dizaines de millions d'années d'adaptation. Le sol du site de St Laurent le Minier (Gard) a, quant à lui, été contaminé par le cadmium et le zinc au cours des derniers siècles, suite à des exploitations minières intensives. L'étude des bactéries de ce sol a pour but d'identifier les adaptations sur une échelle de temps plus réduite.

Apport de la génomique et de la métagénomique à la compréhension des mécanismes d'adaptation des bactéries dans les sols miniers riches en métaux lourds

La démarche utilisée dans le projet, pour étudier l'adaptation des communautés bactériennes et le développement de bioindicateurs de l'état des sols, repose sur la complémentarité des approches de métagénomiques basées sur l'extraction de l'ADN bactérien (métagénome) directement à partir de l'environnement et de génomiques à partir des isolats bactériens provenant de sols miniers. Ces deux approches permettent de recenser les gènes dont les fonctions sont impliquées dans la résistance à des métaux et à des antibiotiques et, de déterminer le potentiel de dissémination de ces gènes (éléments mobiles, plasmides, ...). Des techniques de séquençage massif et des banques de clones sont employées pour mettre en évidence les gènes et leur environnement génétique. Les séquences obtenues sont utilisées pour définir des bio-indicateurs de l'état sanitaire des sols. Les objectifs du projet ne sont cependant pas limités à cet inventaire aussi exhaustif mais visent à élucider les mécanismes d'adaptation en considérant les niveaux cellulaires, populationnels et communautaires. Pour ce faire, l'expression et la caractérisation des produits des gènes de résistance à des métaux sont étudiées.



Du prélèvement de sol en Nouvelle-Calédonie (a et b) à l'isolement de bactéries (Actinomycètes) résistantes au nickel (c) et capables de former un biominéral de Ni-Struvite (d)

APTITUDE est un projet de recherche fondamentale cordonné par le laboratoire Ampère, Ecole Centrale de Lyon/CNRS. Il associe aussi le LSTM (UMR 113, Montpellier), Le MAP (CNRS/ Université Lyon1/INSA) et l'Institut de Génétique et Microbiologie (UMR 8621 CNRS-Univ. Paris-Sud). Le projet a commencé en octobre 2008 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 855 k€ pour un coût global de l'ordre de 3 M€.

Résultats majeurs

Le premier résultat marquant est la mise en évidence d'isolats (Rhizobia, Actinomycètes) et de clones métagénomiques présentant des résistances multiples à des métaux et des antibiotiques. En ce qui concerne les isolats, les gènes ont été identifiés par analyse des séquences et du transcriptome. Dans certains cas, des éléments mobiles ont été mis en évidence ce qui suppose une diffusion possible de ces gènes de résistance. Les résistances à des métaux et à des antibiotiques étant souvent associées, les sites contaminés en métaux peuvent représenter un réservoir potentiel de gènes de résistances.

Production scientifique et brevets

Ces travaux ont fait l'objet de présentations dans des congrès nationaux et internationaux. Tous les niveaux d'intégration ont été présentés. Actuellement, un papier décrivant l'identification d'une nouvelle espèce bactérienne est en cours de publication dans la revue *Systematic and Applied Microbiology*. D'autres publications couvrant des aspects de diversité taxonomique et fonctionnelle sont en cours de rédaction. La caractérisation du mode d'action des gènes sera également décrite.

Programme CES édition 2008

CHLORDEXCO

La contamination d'un écosystème antillais 20 ans après l'application d'un organochloré, la chlordécone

Pollution des sols et des eaux par la chlordécone aux Antilles, conséquences sur la contamination des cultures et des organismes dulçaquicoles

La chlordécone (CLD), insecticide organochloré persistant, a été appliquée entre 1972 et 1993 sur les cultures de banane antillaises, contaminant sols, eaux, plantes et animaux. Les bases scientifiques manquent pour gérer les conséquences de cette pollution. Ainsi, on ne sait pas dans quelle mesure les plantes cultivées sur un sol contaminé seront elles-mêmes contaminées, ni quelles sont les altérations que subissent les organismes (crustacés et poissons) qui vivent dans les écosystèmes contaminés.

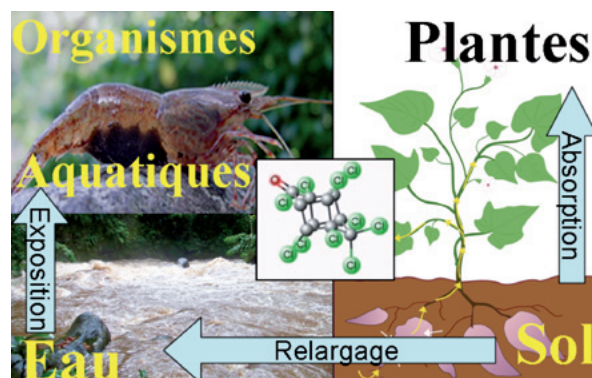
Le projet avait pour ambition : de caractériser les déterminants et processus expliquant le degré d'exposition des êtres vivants à la CLD à partir de son stock dans le sol ; d'explicitier la relation exposition/contamination pour les végétaux et animaux dulçaquicoles d'intérêt ainsi que les conséquences sur le développement de ces derniers ; et d'évaluer sur le long terme l'évolution de la contamination des ressources en eau et des sols.

Ces travaux constitueront une base pour orienter le choix des cultures selon le type de sol et son niveau de contamination. Ils permettront d'évaluer l'efficacité de mesures de réduction des risques de contamination des écosystèmes aquatiques et de statuer sur leur potentiel de restauration.

Du laboratoire au bassin versant, l'articulation des sciences physiques et du vivant pour caractériser les flux de chlordécone et leur impact sur les organismes

Le projet repose sur les principales méthodes suivantes :

- mesures hydrologiques et de CLD associées pour caractériser le transfert de la molécule : localement, sur colonne de sol, et à l'échelle du bassin versant (nappes et rivière) ;
- cultures en milieu semi-contrôlé pour étudier le mode d'absorption de la CLD par les végétaux ;
- identification de biomarqueurs pour le diagnostic des effets physiologiques de la CLD chez les organismes aquatiques ;
- radiomarquage de la CLD pour caractériser les processus dans le sol et la plante : sorption sur différents types de sol, fractions du sol et matières organiques en microcosme ; dégradation de la molécule en incubateur ; voies de transfert et de stockage de la CLD dans la plante par auto-radiographie ;
- modélisation pour la conceptualisation des processus : simulation numérique de la porosité susceptible d'expliquer la capacité de sols à retenir les pesticides ; modèle hydrologique distribué de transfert couplé surface et souterrain à l'échelle des bassins versants pour simuler la dispersion de la CLD.



Microcosme expérimental pour la caractérisation des communautés microbiennes

CHLORDEXCO est un projet de recherche coordonné par le CIRAD. Il associe des équipes de l'IRD, de l'INRA, de SupAgro, des Universités des Antilles, de la Guyane, et du Havre et de l'Institut de Chimie de la Géosphère. Ces équipes sont localisées en Guadeloupe, en Martinique, en métropole (Le Havre, Montpellier, Rennes, Toulouse), ainsi qu'en Allemagne (Jülich). Le projet a débuté en octobre 2008 pour une durée de 3 ans. Le financement ANR est de 800 k€ pour un budget total d'environ 3,4 M€.

Résultats majeurs

Alors qu'en laboratoire, une dégradation lente et inattendue de la CLD fraîchement appliquée est observée, 70 à 80 % du stock CLD du sol reste potentiellement disponible à l'entraînement par lessivage. De là, les rivières se contaminent principalement du fait d'alimentations souterraines. Les concentrations moyennes dans les eaux restent faibles (moins de $1\mu\text{g l}^{-1}$) mais suffisantes pour observer une forte bioaccumulation de la CLD chez un crustacé (*Macrobrachium faustinum*) qui présente des anomalies de la croissance et de la physiologie. Chez les plantes, le degré de contamination des organes dépend de leur position dans le flux de sève brute qui transporte la CLD. Ce schéma peut guider le choix d'espèces à cultiver sur sols contaminés.

Production scientifique et brevets

Les publications dans des revues de rang A traitent de la pollution des sols ; de la rétention de la CLD dans les sols ; du fonctionnement hydrique des bassins tropicaux ; de la contamination en milieu aquatique et des racines et tubercules. Un article de synthèse est actuellement soumis. D'autres publications sont prévues sur la bioaccumulation chez *Macrobrachium faustinum*, la contamination des plantes, des eaux et des sols.

Programme CES édition 2008

CIEL

Effets des contaminants biologiques et chimiques sur les écosystèmes lagunaires

Analyse de l'état de santé de jeunes anguilles afin d'estimer la vulnérabilité des milieux lagunaires méditerranéens

Les lagunes, écosystèmes complexes relativement fermés, constituent des réceptacles pour les émissions polluantes provenant de zones agricoles, industrielles et urbaines. A cette multi-contamination chimique, s'ajoutent des contaminations biologiques constituées par différentes espèces de parasites dont les cycles biologiques sont favorisés par le confinement. Les poissons migrateurs, qui pénètrent obligatoirement dans ces milieux, subissent un stress physiologique leur demandant des adaptations. De mauvaises conditions pourraient mettre en péril leur survie. La mise en évidence de la vulnérabilité de ces écosystèmes passe par l'utilisation d'indicateurs environnementaux et de réponses sensibles et fiables permettant l'évaluation de l'acquisition de tolérance ou de l'épuisement des organismes face à ces multiples agressions environnementales.

Les objectifs généraux du projet ont été de parvenir à faire le lien entre degré d'exposition et les effets biologiques observables, ainsi que de développer une méthodologie appropriée d'évaluation de l'état physiologique des anguilles en milieu lagunaire, en rapport avec leur capacité de résistance/tolérance ou d'épuisement.

Caractérisation physico-chimique du milieu. Analyse de la contamination du milieu et des anguilles. Evaluation de l'impact biologique des contaminants (approche fonctionnelle de la capacité de réponse aux contaminants)

Le projet comprend une approche dans des milieux lagunaires du Languedoc-Roussillon et en milieu expérimental au laboratoire afin de tenter d'établir la capacité qu'ont les anguilles à répondre aux effets d'une contamination multiple (chimique et biologique).

En milieu naturel, l'approche concerne les conditions physico-chimiques du milieu, le degré de contamination chimique dans les compartiments étudiés (l'eau, les sédiments et les organismes), la pression exercée par divers macro parasites et la capacité qu'à l'anguille à mettre en place des réponses physiologiques adaptées.

L'approche expérimentale porte sur la dynamique de la contamination chimique (le sulfate de cuivre fortement utilisé en viticulture), la contamination biologique (le Nématode invasif Anguillicoloides crassus) et la réponse des anguilles confrontées au contaminant chimique et/ou au ver parasite. Une analyse de l'impact hépatique du cuivre et/ou du parasite sur l'expression de gènes impliqués dans des processus de stress conforte l'approche physiologique (e.g. immunité, osmorégulation, histopathologie). Par ailleurs, l'équipe a cherché à évaluer les effets potentiels du cuivre sur la réussite de l'infestation.

CIEL est un projet de recherches coordonné par l'université de Reims Champagne-Ardenne. Il associe trois équipes de l'Université de Perpignan, une équipe de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris), une équipe de l'Université Montpellier II, et une équipe de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. Le projet a commencé en octobre 2008 pour une durée de 42 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 650 k€ pour un coût global de 2 M€.

Résultats majeurs

Les analyses physico-chimiques et biologiques ont discriminé les 3 sites lagunaires (lagune de Bages-Sigean : un site nord, un site sud, et lagune de Canet-Saint-Nazaire : un site). Les anguilles ont montré des réponses histologiques et immunologiques contrastées. Le temps de séjour en milieu lagunaire a été un critère essentiel de la réponse biologique.

L'expérimentation a révélé que la contamination au cuivre et/ou au parasite seul n'avait pas d'effet significatif sur l'osmorégulation (à faible salinité, le parasite avec ou sans cuivre l'affecte négativement) mais était un critère essentiel de la réponse hépatique.

Production scientifique et brevets

Le programme a donné lieu à un article publié dans le journal *Analytica Chimica Acta*, un soumis à *Aquatic toxicol.* (ces articles concernent des ajustements technologiques) et à 8 communications dans des congrès internationaux : *Eu. As. Fish Pathol.*, *Eu. Conf. Coastal Lagoon Res.*, *J. Fr-Tunisie. Zool.*, *C. Fr-Maghreb. Zool.*, *Soc. Exp. Biol.* Un rapport pour la CIESM traite des caractéristiques environnementales et de la distribution de la matière organique des lagunes sélectionnées dans le programme.

Programme CES édition 2009

CONPHYPOP

Contamination et physiologie des poissons exposés aux polluants

Caractériser l'impact d'une exposition à des HAP sur la physiologie des poissons et identifier des indicateurs précoces utilisables dans des tests en écotoxicologie

Les HAP sont émis dans l'environnement au cours de nombreuses activités humaines (industrielle ou particulière) et s'accumulent en particulier dans le milieu aquatique, réservoir ultime pour de nombreux polluants. Les HAP sont connus pour être génotoxiques et mutagènes mais un nombre croissant d'études suggère l'existence d'autres effets. L'objectif du projet est d'évaluer les conséquences d'une exposition à des HAP en mélange sur un éventail de fonctions physiologiques des poissons en considérant la totalité du cycle de vie de l'embryon à l'adulte et à sa descendance. La plupart des mécanismes physiologiques étant conservés chez les vertébrés, ces résultats permettront d'appréhender l'effet des HAP chez l'Homme. Ils permettront également d'identifier des indicateurs robustes d'exposition sur différentes fonctions physiologiques des poissons (e.g. croissance, reproduction, immunité) et donc de proposer des outils utilisables dans le cadre de tests en écotoxicologie.

Des espèces modèles pour caractériser des effets physiologiques à différents niveaux d'organisation

Beaucoup de questions demeurent au sujet des HAP, en particulier au sujet de leur devenir dans l'organisme et des effets physiologiques en fonction des voies d'exposition et de la composition des mélanges auxquels les organismes sont exposés. Si les propriétés génotoxiques sont bien caractérisées, il n'en est pas de même pour les effets physiologiques à court ou long terme, ou des potentiels effets à long terme d'une exposition précoce. Le consortium dans le cadre de ce projet réunit un ensemble de compétences qui devrait permettre de répondre à une partie de ces questions. Pour cela, une espèce à cycle de vie court, le poisson zèbre sera exposée à plusieurs stades de vie à 3 mélanges environnementaux. Dans tous les cas, nous nous attacherons à mimer autant que possible des situations présentes dans l'environnement, avec des modalités d'exposition par contact avec un sédiment ou par voie trophique. Les effets seront étudiés à différents niveaux, de la molécule à l'organisme entier en utilisant les techniques de la biologie moléculaire, de la biochimie, de la physiologie, de l'histologie ou du comportement. Outre la caractérisation des effets des HAP ce projet ambitionne de développer de nouveaux bioessais et de nouveaux marqueurs précoces pour évaluer la toxicité des HAP.



Les expositions (figuré rouge) sont réalisées soit chez les embryons soit à partir du premier repas. Le figuré vert indique les périodes sans contact avec le polluant. Dans tous les cas, les études sont menées sur l'ensemble du cycle de vie

ConPhyPoP est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'Ifremer. Il associe les Universités de Bordeaux, de La Rochelle et du Havre ainsi que l'Institut Pasteur, l'Oniris et l'Inra. Le projet a commencé en janvier 2010 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 740 k€ pour un coût total de l'ordre de 2,7 M€.

Résultats majeurs

Le projet devrait permettre de mieux appréhender la nature des effets physiologiques résultants d'une exposition à des HAP et en particulier les effets à long-terme. Ce projet expérimental devrait également permettre d'identifier les effets potentiels d'une telle exposition sur les populations de poissons dans le milieu naturel et chez les vertébrés en général, y compris chez l'Homme. Finalement ce projet devrait également permettre d'identifier des indicateurs pertinents susceptibles d'être utilisés lors de tests d'écotoxicologie en particulier pour les composés hydrophobes.

Production scientifique et brevets

Le projet n'est pas encore au stade des publications, néanmoins quelques résultats et/ou développement méthodologiques ont d'ores et déjà été présentés sous formes de communications orales dans des congrès ou colloques nationaux ou internationaux.

Programme CES édition 2009

COSTAS

Les ressources biologiques face à la contamination chimique dans le golfe du Lion

Transferts de contaminants depuis les premiers maillons jusqu'aux anchois et sardines

COSTAS vise à comprendre et modéliser l'entrée et le devenir de contaminants chimiques depuis les premiers maillons de la chaîne trophique (le plancton) jusqu'aux petits poissons pélagiques (anchois et sardines) du Golfe du Lion. Ces derniers sont une importante ressource exploitée dans le Golfe du Lion et un maillon trophique entre le plancton et les espèces piscivores. L'étude porte sur les contaminants organiques persistants (polychlorobiphényles-PCB et polybromodiphényléthers-PBDE), le mercure (Hg) et le méthylmercure (CH₃Hg), d'autres métaux (Pb, Cd, Co, Cu, Ag, Zn...), des radioéléments naturels (²¹⁰Pb, ²¹⁰Po) et des isotopes stables du plomb (²⁰⁴Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb, ²⁰⁸Pb). Les réponses sur les mécanismes de la contamination chimique de ces ressources biologiques contribueront à l'interprétation des niveaux observés des contaminants et de leur variabilité spatiale. Les modèles ouvrent des perspectives d'une transposition à d'autres zones géographiques et d'autres contaminants chimiques dits « émergents ».

COSTAS contribue à la mise en place d'outils d'aide à la décision (planification spatiale, analyse de risques environnementaux...) et à la valorisation et mise à disposition des connaissances.

Une double approche alliant campagnes océanographiques et modélisation

COSTAS repose sur des compétences pluridisciplinaires et sur la mise en oeuvre d'actions coordonnées : de l'acquisition de données de terrain (campagnes océanographiques), aux analyses en laboratoire et à l'application de modèles. L'approche intègre la dimension écologique du réseau trophique et celle de la biogéochimie des contaminants.

Ce projet nécessite naturellement une bonne connaissance des relations trophiques, des principaux paramètres biologiques de l'espèce (croissance, reproduction, régime alimentaire) et des processus de bioaccumulation pour différents contaminants.

La modélisation permet d'analyser conjointement les processus physiques, biogéochimiques et biologiques qui provoquent la dispersion et le transfert des contaminants de l'eau vers les premiers maillons de la chaîne trophique (plancton) - ce qui est novateur à une échelle comme celle du Golfe du Lion.

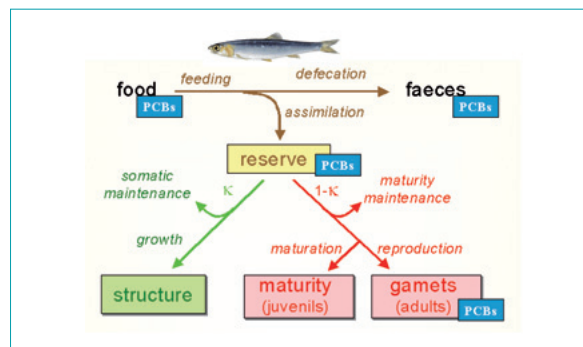


Diagramme conceptuel : modèle Dynamic Energy Budget DEB repose sur la connaissance des fonctions physiologiques agissant à la fois sur les fonctions vitales (reproduction, croissance) et sur le devenir de contaminants chez l'individu

COSTAS est un projet de recherche fondamentale, coordonné par l'IFREMER. Il associe d'autres instituts et laboratoires de recherche : le Laboratoire d'Océanographie Physique et Biogéochimie, l'Institut de recherche pour le développement et le Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement. Le projet a débuté en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 650 k€ pour un coût global de 2,26 M€. COSTAS est labellisé par le Pôle Mer PACA.

Résultats majeurs

Les résultats conduiront à évaluer l'état écologique du point de vue de la contamination chimique dans le Golfe du Lion, en considérant les aspects fonctionnels de l'écosystème (chaîne trophique). Les bilans et modèles permettront d'établir un diagnostic et des indicateurs pertinents. COSTAS contribue au renforcement de la recherche intégrée via la mise en place de partenariats au sein de projets et de réseaux de recherche : le projet européen PERSEUS, le projet national MERMEX, la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée, et le Plan d'action pour la Méditerranée du Programme des Nations Unies pour l'environnement.

Production scientifique et brevets

Dans la première phase, COSTAS a permis la réalisation de sept campagnes océanographiques, l'acquisition de données de terrain et les analyses en laboratoire. Les protocoles méthodologiques sont un premier acquis. Des résultats préliminaires ont été présentés : Goldschmidt Conference (Strady et al. 2011) ; Association Française Halieutique (Jaloustre et al. 2011) ; Colloque Flotte océanographie française (Carlotti et al. 2011) ; Séminaire programmatique ONEMA ; Micropolluants Aquatiques (Tronczynski et al. 2010).

Programme PRECODD édition 2007

DIESE

Comment évaluer l'écotoxicité des sédiments dans les eaux douces ?

Proposer une méthodologie d'évaluation du danger écotoxique applicable aux sédiments d'eaux douces multi-pollués

Les écosystèmes aquatiques continentaux constituent l'une des cibles essentielles des politiques de protection et de gestion des ressources, notamment via la directive cadre sur l'eau. De nombreuses substances chimiques (arsenic, métaux, PCB et HAP) rejetées dans l'environnement s'accumulent dans les sédiments qui fonctionnent comme des puits autant que des sources. Or, les sédiments abritent une flore et une faune qui assurent des fonctions essentielles au bon fonctionnement écologique des milieux aquatiques.

Les dégâts écologiques et sanitaires causés par la contamination des sédiments sont réels : diminution de la biodiversité, interdiction de consommer les produits de la pêche ainsi que des coûts supplémentaires liés à la gestion des matériaux dragués ou curés (environ 2,8 millions de m³/an, soit 56 M€/an multiplié par un facteur de 1,5 à 5 si les sédiments sont contaminés).

Le projet DIESE a eu pour objectif général de développer une méthodologie d'évaluation du danger écotoxique applicable aux sédiments d'eaux douces multi-pollués en place, centrée sur les effets écotoxiques observables au niveau d'organismes potentiellement exposés.

DIESE : une boîte à outils

Le projet DIESE a associé différentes approches physico-chimiques et biologiques pour la caractérisation de l'exposition et des dangers toxiques aussi bien au laboratoire que sur le terrain, à savoir :

- 1- des microbiotests sur bactéries, algues, plantes, ostracodes, ainsi que des macrobiotests sur poisson, invertébrés (crustacés gastéropodes et larve d'insecte), macrophyte aquatique, afin de représenter les principaux groupes phylogénétiques et écologiques ;
- 2- l'étude de la distribution subcellulaire des métaux chez des invertébrés et le lien avec l'apparition d'effets biologiques ;
- 3- des échantillonneurs passifs pour évaluer la biodisponibilité des métaux (Diffusive Gradient in Thin film) et organiques (polyéthylène haute densité) ;
- 4- des approches biocénétiques et statistiques pour décrire les communautés benthiques *in situ* à l'amont, au sein et à l'aval de diverses retenues au fil de l'eau ;
- 5- la mise en œuvre d'une démarche graduée d'évaluation des dangers appliquée aux cas d'étude intégrant les différents outils étudiés.

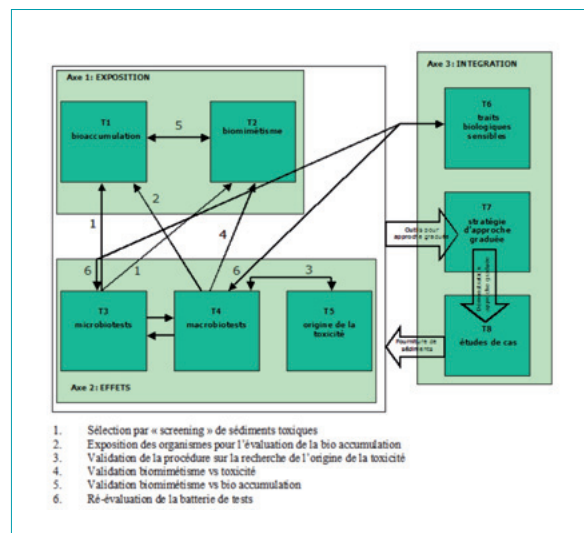


Schéma général des différentes tâches (Tx) du projet DIESE et de leurs interactions

Le projet **DIESE** associe quatre partenaires : LIEBE (Université de Metz devenue début 2012 partie prenante de l'Université de Lorraine), CEMAGREF (Lyon et Antony) devenu IRSTEA fin 2011, EDF (R&D, Chatou) et URVVC (Université de Reims). Le projet a débuté en février 2008 pour une durée de 4 ans. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1 M€ pour un budget total d'environ 2,5 M€.

Résultats majeurs

L'ensemble des recherches effectuées a permis de développer et/ou d'optimiser divers outils applicables par les laboratoires en charge de la surveillance de l'environnement et surtout de proposer une démarche graduée d'évaluation des dangers qui fonctionne et qui intègre les différents outils étudiés. Certaines étapes doivent être encore confortées par une étude sur d'autres sédiments. Les résultats du projet ont été présentés aux parties prenantes à l'occasion d'une journée de restitution. La discussion engagée a montré leur intérêt à incorporer les résultats dans les processus d'évaluation des risques.

Production scientifique et brevets

DIESE a généré jusqu'à présent 8 articles dans des revues internationales à comité de lecture, plusieurs sont encore en cours de rédaction. S'y ajoutent jusqu'à présent 23 communications internationales et 5 nationales, plus 18 séminaires ou conférences de vulgarisation. La plupart de ces travaux concernent des développements méthodologiques (Devault et al. 2010; Geffard et al. 2010; Roulier et al. 2010; Ciffroy et al. 2011; Nia et al. 2011; Colas et al. 2011; Burga-Perez et al. 2012; Dabrin et al. sous presse)

Programme BLANC édition 2010

IMMORTEEL

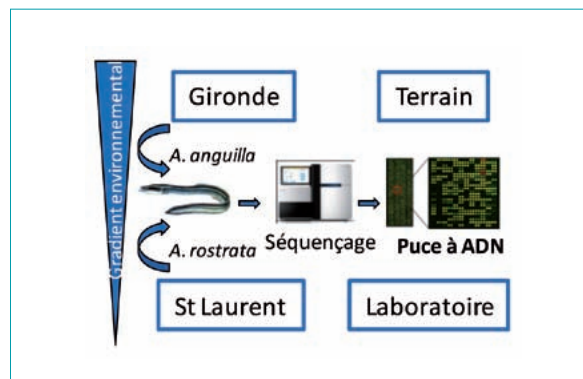
La pollution des eaux peut-elle contribuer au déclin des anguilles Atlantiques ?

Relations entre accumulation de polluants, diversité génétique, santé et potentiel reproducteur des anguilles européennes et américaines

Les anguilles européenne et d'Amérique sont deux espèces emblématiques des systèmes Gironde et St Laurent. Elles se caractérisent par un cycle biologique très particulier comprenant deux métamorphoses, deux migrations trans-atlantiques pour l'euro-péenne, ainsi qu'une longue phase de croissance en eaux continentales (8 à 20 ans). Les deux espèces ne se reproduisent qu'une seule fois dans leur vie dans un lieu unique et commun, la Mer des Sargasses. Ces deux espèces font l'objet d'un déclin très important depuis plus d'une trentaine d'années, avec une diminution du recrutement de 90 à 99 % pour l'euro-péenne, et de 40 à 80 % pour celles d'Amérique. Elles sont actuellement considérées comme en risque majeur d'extinction ou menacées (IUCN, 2007). Les causes de ce déclin demeurent encore mal définies. Ce projet propose d'évaluer la possible contribution de la pollution dans le déclin de ces deux espèces en examinant les relations entre l'accumulation de polluants *in situ*, la diversité génétique, la santé et le potentiel reproducteur de ces espèces. Il s'agira in fine de proposer des stratégies de gestion pertinentes afin de limiter le déclin de ces espèces.

Développement d'un outil génétique (puce à ADN) de suivi de l'état de santé de populations d'anguilles Atlantiques

L'originalité du projet réside dans l'utilisation d'outils récents de la biologie moléculaire, et en premier lieu celui du séquençage haut-débit du transcriptome (RNA-seq Illumina HiSeq 2000) afin d'identifier chez des anguilles sauvages les gènes dont le niveau de transcription est potentiellement affecté par une exposition chronique aux contaminants. Les informations acquises seront utilisées pour développer une puce à ADN (cDNA microarray). La puce à ADN permet de comparer rapidement et simultanément le niveau d'expression de plusieurs milliers de gènes appartenant à différentes voies métaboliques entre deux échantillons biologiques. Ce nouvel outil sera utilisé non seulement sur des échantillons sauvages mais également sur des anguilles exposées au laboratoire à différents facteurs dans des conditions d'exposition représentatives de celles prévalant *in situ* (faibles doses d'exposition, conditions hypoxiques, variations de salinité, de température, etc...). Ces données génétiques seront complétées par des analyses morphométriques, biochimiques et histopathologiques de façon à relier les réponses précoces à l'état de santé des individus. Enfin, une attention particulière sera portée à la recherche d'une méthode non invasive d'utilisation de la puce à ADN.



Démarche générale du projet IMMORTEEL : prélèvements d'anguilles *in situ* selon un gradient environnemental (naturel et anthropique), séquençage haut débit du transcriptome et construction de la puce à ADN

IMMORTEEL est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'UMR EPOC 5805 et par l'INRS-ETE de Québec. Il associe 7 partenaires, l'INRS-ETE, l'Université Laval, Pêches et Océans Canada et le Ministère des Ressources Naturelles et de la Faune au Québec ; et l'UMR EPOC 5805 (équipes Ecotoxicologie Aquatique et LPTC), l'IRSTEA de Bordeaux-Cestas (unité Ecosystèmes estuariens et Poissons Migrateurs Amphihalins) et l'UMR BOREA. Le projet a démarré en janvier 2011 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 379 k€ pour un coût global de 1,78 M€.

Résultats majeurs

En améliorant notre compréhension de l'implication de la pollution issue des activités humaines dans le déclin des anguilles Atlantiques, ce projet contribuera à mieux comprendre les conséquences écologiques à long terme de la pollution anthropique et à développer des outils d'aide au développement de politiques visant à protéger l'anguille. Ce projet a également pour objectif d'initier et promouvoir les échanges scientifiques dans le domaine de l'écotoxicologie et de la génomique entre le Canada et la France notamment par la formation d'étudiants en cotutelle.

Production scientifique et brevets

Le projet a conduit à des présentations scientifiques lors de colloques organisés entre la France et le Québec permettant de confronter les premiers résultats obtenus à partir des prélèvements de terrain. Le séquençage haut débit du transcriptome, les analyses chimiques, histopathologiques et biochimiques sont en cours d'acquisition. A terme, l'ensemble du projet devrait conduire à la production de résultats originaux qui seront valorisés sous forme de publications dans des revues de haut niveau du domaine.

Programme CES édition 2008

MARSECO

Biodiversité et pollution en zone littorale marseillaise :
comprendre les risques pour les écosystèmes et l'hommeConnaissance des écosystèmes littoraux et
bilan des transferts de contaminants dans le
réseau trophique

Aux portes du massif des Calanques, futur Parc National des Calanques présentant une flore rare et remarquable, les écosystèmes littoraux sont soumis à de nombreuses pollutions d'origine anthropique. Cette zone présente des sources de contamination organique et/ou inorganique à la fois terrestre (anciens sites métallurgiques) et maritime via les émissaires en mer et le transport qui affectent aussi bien le compartiment marin (eau, sédiment) que terrestre (sol, biocénose). De plus, cette zone de Marseille à Cassis est aussi très fréquentée (habitations et tourisme). Ce projet a proposé d'étudier, dans sa globalité, la pollution des divers compartiments, les flux des contaminants (métaux, métalloïdes et polluants organiques), les effets sur les micro-organismes et la phytocénose dans une vision intégrative. Cette zone d'étude constitue d'une part un véritable site atelier particulièrement pertinent pour comprendre les processus de transferts de polluants et d'impacts sur les écosystèmes, et d'autre part un modèle extrapolable à l'ensemble des grandes agglomérations péri-méditerranéennes socio-économiquement contraintes par un triptyque de pressions : industrialisation, urbanisation et développement touristique.

Une approche pluridisciplinaire et intégrative
pour comprendre les transferts de
contaminants

Ce projet repose sur le couplage des études *in situ*, en serre et au laboratoire et sur la mise en commun des compétences d'équipes opérant dans les domaines de l'écologie, de la biologie et de la physiologie végétales, de la science du sol, de la chimie de l'environnement, de la chimie analytique, de l'étude statistique et de la modélisation appliquée au monde du vivant, ainsi que de l'écotoxicologie et de la santé humaine. Les techniques de mesures non-destructives ont été privilégiées pour le suivi sur les plantes telles que l'équipement portable Multiplex permettant d'évaluer l'état physiologique des plantes par les teneurs en flavonols, anthocyanes et chlorophylles. Des techniques d'échantillonnage très performantes ont été choisies avec notamment l'utilisation de filtres permettant le fractionnement en classe de taille pour les aérosols et le prélèvement des couches d'eaux les plus superficielles pour les tensio-actifs. Des expérimentations originales ont été réalisées pour permettre d'étudier le devenir des particules et des contaminants arrivant en zone côtière dans le mélange eau douce/eau de mer. Enfin, des techniques analytiques de pointe ont été utilisées pour l'ensemble des tâches.

Résultats majeurs

Une cartographie des concentrations en métaux et métalloïdes des sols du massif de Marseilleveyre et des îles environnantes fait apparaître des patrons de dispersion de la pollution autour des anciens sites métallurgiques liés au vent et au relief. En domaine maritime, un gradient de contamination des eaux en composés organiques issus principalement de l'émissaire de Cortiou qui impactent également la



Vue de l'ancienne usine de plomb argentifère de l'Escalette située dans un vallon du massif des Calanques. Les résidus de l'activité de cette usine ont été stockés sous forme de nombreux dépôts de scories le long du littoral et ont donné lieu à une pollution éparse sur le massif de Marseilleveyre
© : I. Laffont-Schwob

Marséco a démarré en novembre 2008 pour une durée de 48 mois. Ce projet associe 8 équipes de recherche comprenant l'Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie (UMR 6116 CNRS), l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille (ISM2 - AD2EM, UMR 6263), le Laboratoire des Processus de Transferts et d'Echanges dans l'Environnement (EA 3819), le Laboratoire de Microbiologie, de Géochimie et d'Ecologie Marines (UMR 6117), le Centre Européen de Recherche et d'Enseignement en Géosciences de l'Environnement (UMR 7330), le Laboratoire Chimie Provence - équipe Chimie de l'Environnement Continentale (UMR 6264), le laboratoire Biogéotoxicologie et Mutagenèse Environnementale (UMR 1784) et le Laboratoire de Sondage Electromagnétique de l'Environnement Terrestre (UMR 6017). Le financement ANR est de 750 k€ pour un coût global de 3,3 M€. Il a bénéficié d'un abondement de 49 k€ accordé par le pôle Risques qui a labellisé ce projet.

frange littorale proche a été mis en évidence. Les sédiments marins présentent également un gradient de contamination mixte organique et inorganique. Globalement, la qualité des milieux étudiés apparaît préoccupante.

En termes de diversité végétale, *Astragalus tragacantha*, plante rare de ce massif, montre des indices de vulnérabilité (structures démographiques régressives, nécroses individuelles du fait des embruns salés/pollués, compétition inter-spécifique) indiquant une possible extinction face aux fortes pressions anthropiques.

Production scientifique et brevets

Le projet a permis la publication d'une dizaine d'articles et/ou de communications réalisés conjointement par plusieurs partenaires du projet et plus de 15 articles et/ou communications réalisés par un ou l'autre des 8 partenaires. Notamment 2 articles traitant de la méthodologie et de la répartition des polluants ont été publiés, l'un dans *Analytica Chimica Acta*, l'autre dans *Environmental Science and Pollution Research*. Un article sur la tolérance aux polluants métalliques d'une plante rare et protégée est paru dans *Ecologia Mediterranea*.

Programme CES édition 2010

PHARM@ECOTOX

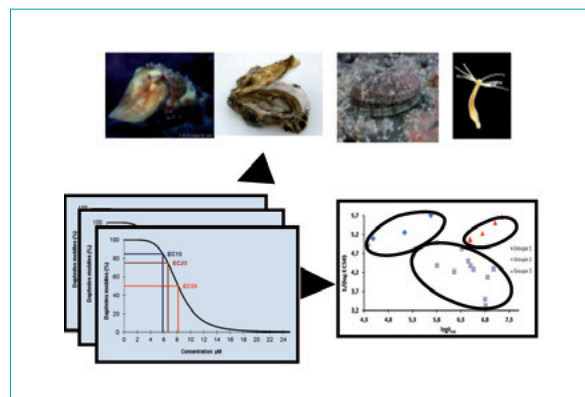
Pollution des milieux aquatiques par les médicaments : effets sur les invertébrés

Impact des résidus pharmaceutiques sur le milieu aquatique : exposition et toxicité vis-à-vis d'invertébrés dulcicoles et marins

L'augmentation de la consommation de médicaments et le développement de techniques analytiques plus performantes au niveau environnemental ont entraîné l'identification de résidus médicamenteux dans tous les compartiments aquatiques. A la différence de polluants conventionnels, ces polluants émergents sont émis majoritairement de manière continue et à faible dose dans l'environnement, ce qui peut aboutir à des contaminations chroniques. Cependant, du fait du cadre réglementaire limitant l'évaluation du danger de ces résidus, le risque environnemental présenté par les médicaments est mal connu. Le projet pharm@ecotox a donc visé à évaluer l'impact de ces substances vis-à-vis des organismes dulcicoles mais aussi au niveau des organismes marins. D'un point de vue économique, la pérennité des activités conchylicoles et des activités halieutiques implique une meilleure connaissance des dangers liés à la présence de polluants chimiques (y compris pharmaceutiques) dans le domaine maritime. A cet égard, la qualité des eaux littorales représente une donnée majeure afin d'inscrire la pêche et l'aquaculture dans un contexte d'exploitation durable des écosystèmes côtiers.

Evaluation du risque : de la mesure de l'exposition à l'évaluation du danger par des méthodes *in vitro*, *in vivo* et *in silico*

La démarche utilisée dans le projet repose sur une approche intégrée permettant de relier les effets observés sur les organismes à une mesure de la contamination environnementale. L'utilisation de méthodes *in silico* alliée à des tests classiques d'écotoxicité permet d'obtenir rapidement un screening des molécules les plus préoccupantes et de mettre en évidence certains modes d'actions particuliers. Cela oriente également les analyses environnementales vers les molécules les plus pertinentes à rechercher. La toxicité de ces molécules est ensuite évaluée *in vitro* afin de mettre en évidence des effets éventuels au niveau de l'ADN ou sur des paramètres en relation avec les systèmes immunitaire, digestif, nerveux et endocrinien. Cependant si les essais *in vitro* permettent généralement une détection sensible et précoce des effets d'une exposition à un contaminant, les essais *in vivo* sont incontournables pour l'étude d'effets à plus long terme. C'est pourquoi, l'impact chronique des résidus les plus préoccupants sera évalué au niveau de l'organisme sur les mêmes fonctions physiologiques. Au cours du projet, l'impact de mélange des molécules les plus présentes dans l'environnement et/ou les plus préoccupantes sera également évalué.



Mise en évidence de relations structure-activité à partir de données écotoxicologiques expérimentales

Pharm@ecotox est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe Santé-chimie-Environnement du CERMN (Université de Caen Basse-Normandie). Il associe le GMPc et la FRE 3484 BioMEA (CNRS INEE) de l'Université de Caen Basse-Normandie ainsi que le LIEBE (Université de Metz) et l'EPOC (Université Bordeaux 1). Le projet a débuté en janvier 2011 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 550 k€.

Résultats majeurs

Outre le développement et la structuration d'un pôle santé-chimie-environnement au niveau caennais, le premier résultat marquant à cette étape consiste en l'obtention de données écotoxicologiques concernant des composés sérotoninergiques (antidépresseurs, antiémétiques, antitussifs, bêtabloquants). Certaines molécules s'avèrent individuellement particulièrement toxiques sur les modèles daphnies, algues et larves d'huîtres. Sur daphnies, les mécanismes de toxicité ne semblent pas être de type spécifique. Les daphnies semblent également particulièrement sensibles au mélange de ces molécules.

Production scientifique et brevets

Un poster est actuellement soumis pour une session spécifique pour le congrès conjoint SETAC Europe/SETAC monde (Berlin, mai 2012) et un article est en cours d'écriture. Ces productions scientifiques couvrent les premiers résultats obtenus quant à l'impact des médicaments sérotoninergiques sur différents invertébrés de l'environnement.

Programme CES édition 2010

POLARTOP

Une menace invisible : les contaminants et leurs impacts sur les oiseaux polaires

Contaminants chez les prédateurs supérieurs polaires : niveaux et effets des polluants organiques et métaux lourds sur la physiologie du stress et le devenir des oiseaux marins des Terres Australes et Antarctiques Françaises (TAAF)

Malgré leur éloignement des centres industriels, les zones polaires font désormais face, en plus du changement climatique, à une menace plus insidieuse : la présence croissante de polluants organiques persistants (pesticides, PCBs) et de métaux lourds (mercure). Dans les régions froides ces contaminants perdurent dans l'environnement pendant des décennies et s'accumulent dans les réserves graisseuses indispensables aux animaux polaires. Or, en plus de leur toxicité directe, ces polluants s'avèrent également de redoutables perturbateurs endocriniens. En Arctique, des niveaux alarmants de polluants ont été décrits, assortis d'effets néfastes pour la faune. Ces informations manquent cruellement pour l'Antarctique, en particulier pour les Terres Australes et Antarctiques Françaises (TAAF) qui abritent des populations considérables d'oiseaux marins dont certains endémiques. Le projet PolarTop, vise à décrire les polluants organiques et métaux lourds présents chez les oiseaux marins des TAAF selon un gradient subtropical-Antarctique. Le but de ce projet est également d'étudier en détails les effets de ces polluants sur la physiologie du stress, la reproduction et la mortalité des individus.

Utilisation combinée des isotopes stables et de l'endocrinologie pour une étude des contaminants chez les prédateurs supérieurs polaires

Le projet PolarTop réunit écologistes, physiologistes et écotoxicologues afin de : décrire les polluants organiques (pesticides, PCBs et composés bromés) et métaux lourds (Mercure, Cadmium) présents chez les oiseaux marins (manchots, albatros et pétrels) des Terres Australes Françaises ; interpréter les niveaux de contaminants observés en intégrant les niveaux trophiques et zones d'alimentation (via les isotopes stables du carbone et de l'azote comme indicateurs trophiques) ; mesurer les effets ces polluants en tant que perturbateurs endocriniens (réponse hormonale au stress, une fonction majeure permettant d'adapter la physiologie et le comportement face aux contraintes de l'environnement). L'équipe a utilisé une méthode d'échantillonnage non-destructrice : à partir d'une petite prise de sang et de quelques plumes, il est possible de mesurer contaminants, isotopes stables et hormones sans perturber le comportement et la reproduction de ces oiseaux très peu farouches et qui font l'objet d'un suivi sur le long-terme. Contaminants et isotopes stables sont mesurés par spectrométrie de masse et chromatographie tandis que les hormones sont dosées par radio-immunologie.



Prise d'échantillons sur un poussin de skua antarctique, en Terre Adélie, Terres Australes et Antarctiques Françaises. Prédateurs d'œufs et de poussins de manchots, les skuas sont situés à un niveau trophique élevé et présentent des taux importants de pesticides et de PCBs. En haut à gauche, on distingue le parent skua survolant les biologistes qui procèdent à la mesure de son poussin, après avoir effectué une petite prise de sang pour déterminer les contaminants

PolarTop associe le CNRS-UPR1934 Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, l'Université Bordeaux 1 - Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux. EPOC, l'UMR 5805 CNRS Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC), et l'Université de La Rochelle-UMR6250 Littoral Environnement et Sociétés. Il a débuté en décembre 2010 pour une durée de 48 mois. Son financement ANR est de 500 k€ pour un coût global de 1,7 M€.

Résultats majeurs

Lors de l'hiver 2011-2012, des prélèvements ont été réalisés sur manchots, albatros, pétrels et skuas des TAAF. On y trouve des taux importants de 4,4' DDE un métabolite du DDT (prohibé en Europe depuis 40 ans), de Mirex, un anti-termite utilisé dans l'hémisphère sud et de divers PCBs. Les composés bromés (PBDE), utilisés comme retardateurs de flammes y sont rares. Pour les métaux lourds, de très fortes concentrations de mercure ont été trouvées chez les espèces situées à un niveau trophique élevé (albatros). Enfin, chez les individus les plus contaminés on a observé une augmentation des taux d'hormone de stress.

Production scientifique et brevets

À ce jour, un chapitre a été rédigé dans le livre « Mondes Polaires », Édition du Cherche Midi, et 5 articles sont en cours de rédaction et de soumission.

Programme CES édition 2009

RIPOST

Dynamique et impact toxique des polluants sur l'écosystème du Bassin d'Arcachon

Rôle des polluants majeurs de l'environnement dans les crises ostréicoles arcachonnaises

L'huître creuse *Crassostrea gigas* est la principale espèce exploitée du Bassin d'Arcachon. Au cours des dernières années la filière ostréicole a connu une succession de « crises » affectant la salubrité de la production (tests souris positifs provoquant des interdictions de consommation), ou la viabilité d'une partie du cheptel (mortalité d'huîtres juvéniles ou adultes). L'implication des polluants tels que les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les pesticides, les métaux traces et les organométalliques a peu ou pas été envisagée pour expliquer ces différents épisodes. Les objectifs du projet sont orientés vers l'acquisition de connaissances scientifiques (origine des polluants, écodynamique des espèces toxiques, évaluation des effets sur l'huître). Certains résultats sont de nature expérimentale (approche écotoxicologique des effets sur les organismes) pour caractériser les principaux effets des polluants les plus susceptibles d'avoir provoqué ces effets in situ. La connaissance acquise au cours de ce projet servira à éclairer les décideurs et gestionnaires (communication vers la société civile) et à orienter les réponses pour améliorer la situation vis-à-vis des points critiques identifiés.

Couplage des approches Chimie/Biologie

Un des objectifs de ce projet consiste à caractériser les sources de contamination du Bassin d'Arcachon ainsi que la dynamique des contaminants, tant au niveau de cette lagune qu'au niveau des différents tributaires d'eau douce s'y déversant. L'utilisation de capteurs chimiques passifs et l'analyse de sédiments sont ainsi réalisées, après avoir mené des mises au point technologiques afin de caractériser certains contaminants. De manière couplée, l'analyse de la contamination de l'huître par son environnement est mise en œuvre par l'évaluation de la contamination du potentiel « apport nutritif » disponible pour cet organisme, mais également par l'analyse, à fréquence saisonnière, de paramètres physiologiques, biochimiques, génomiques, protéiques et génotoxiques sur des huîtres cultivées transplantées in situ. Enfin, par des approches pluridisciplinaires menées en conditions contrôlées de laboratoire, l'assimilation, la biotransformation et l'impact toxique des polluants majeurs de l'environnement à deux stades de vie essentiels de l'huître : le stade adulte et le stade larvaire sont analysés, notamment via l'utilisation d'isotopes stables des contaminants identifiés.



Parc ostréicole du bassin d'Arcachon

RIPOST est un projet de recherche scientifique fondamentale coordonné par l'UMR EPOC. En plus des équipes « Ecotoxicologie Aquatique » et « Physico et Toxico-Chimie de l'environnement » de l'UMR EPOC, il associe les équipes CARMA de l'IRSTEA de Bordeaux-Cestas et LCABIE de l'IPREM de Pau. Le projet a débuté en décembre 2009 pour une durée de 42 mois. Il bénéficie d'un financement de 690 k€ pour un coût global de l'ordre de 2,4 M€.

Résultats majeurs

Un gradient océan-continent pour la majorité des paramètres est observé, avec des contaminations plus importantes en fond de Bassin. Des apports non négligeables de pesticides via les principaux tributaires d'eau douce, une augmentation des HAP en période estivale de même que des teneurs en cuivre dans la lagune au cours de l'année sont observés, révélant des organismes en conditions de stress en intra-Bassin. Ces résultats peuvent être mis en relation avec le taux de renouvellement des eaux conduisant à une plus grande stagnation des polluants présents dans les masses d'eaux internes.

Production scientifique et brevets

Ce projet repose sur un suivi in situ, de plus de deux ans, des paramètres chimiques et biologiques. Les données sont en cours d'acquisition et la valorisation scientifique se fera à l'issue de cette période. Les résultats des expérimentations sur l'impact du tributylétain (TBT) chez l'huître adulte et sur l'impact des polluants majeurs sur le stade embryo-larvaire sont en cours de rédaction. Ce projet a déjà fait l'objet de plusieurs communications lors de congrès nationaux et internationaux.

Programme SEST édition 2008

RISKER

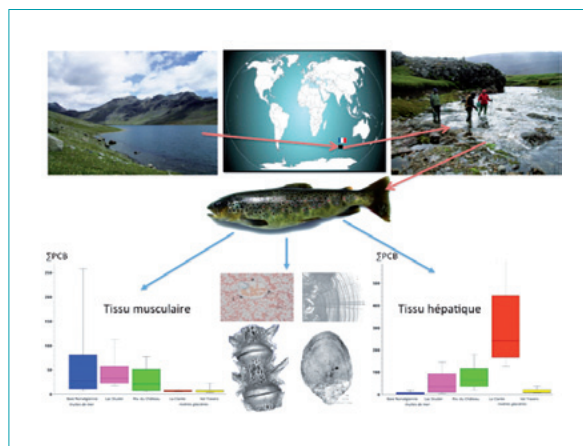
Les poissons des îles australes malades de la pollution industrielle

Impacts et modalités d'accumulation des polychlorobiphényles (PCB) et des polluants émergents chez les truites (*Salmo trutta*) des îles subantarctiques Kerguelen, en l'absence de pressions anthropiques directes

L'Archipel subantarctique des Kerguelen est considéré comme indemne des perturbations liées à l'Homme en raison de son éloignement des centres anthropisés. Cependant, il est soumis à un apport atmosphérique de substances industrielles persistantes abondamment utilisées au cours du XX^{ème} siècle. Ces composés semi-volatils sont absorbés dans la couverture neigeuse ou dans la glace, puis drainés par les eaux, ils contaminent ainsi les hydrosystèmes continentaux et leur faune. Ce contexte environnemental original a incité la création d'un partenariat pluridisciplinaire, afin de mettre en relation la nature de la contamination avec les traits d'histoire de vie des poissons, leurs réponses physiologiques et les effets populationnels. Ainsi, le projet RISKER a pour objectif de définir les modalités de contamination par les PCB et d'autres polluants, et d'évaluer le risque écotoxicologique réel au travers de paramètres intégrateurs comme le statut immunitaire, la détoxification ou la structure du squelette des truites. L'intégration des caractéristiques bioécologiques des poissons (âge, sexe, nature des proies, statut migrateur, ascendance maternelle, cycle sexuel) devrait conduire, à terme, à l'élaboration de modèles transposables à d'autres hydrosystèmes.

Quantification et impacts des polluants présents chez les truites des Kerguelen et leur milieu à l'aide de méthodes d'analyses chimiques, biologiques et d'imagerie

Basé sur un plan d'échantillonnage rigoureux prenant en compte la diversité des habitats, RISKER a recherché l'origine des différences biologiques et de contamination chez au moins 300 truites. La particularité du projet réside dans l'évaluation de plus de 100 paramètres chez chaque poisson, incluant l'âge, le sexe, l'alimentation ainsi que le statut migrateur, l'ascendance maternelle et le cycle sexuel déterminés par l'examen des otolithes et des écailles. Des marqueurs physiologiques à différents niveaux d'organisation font partie de l'évaluation : réponses fonctionnelles moléculaires et cellulaires (immunotoxicologie, reprotoxicité) et réponses intégratrices structurales à l'échelle de l'organe (biotransformation hépatique) et à celle de l'organisme (compacité osseuse). Le niveau de bioaccumulation est mesuré par chromatographie en phase gazeuse. Le transfert alimentaire des contaminants est abordé au travers de la nature ou de l'abondance des proies dans l'estomac et de leur taux d'imprégnation par des polluants. La banque des données collectées contribue à la construction de modèles statistiques en écotoxicologie aquatique.



Bilan écotoxicologique des truites des Kerguelen : impact des PCB sur les fonctions physiologiques en relation avec leurs traits d'histoire de vie

RISKER est un projet scientifique pluridisciplinaire. Il associe 8 laboratoires publics français appartenant aux universités Paris-Sud, Reims, Paris 6, Rennes et Lyon 1; l'INERIS (Verneuil-en-Halatte) et l'INRA (St-Pée-sur-Nivelle) et 1 laboratoire canadien de l'INRS-IAF. L'institut Polaire Paul Emile Victor a assuré la logistique et le transport pour 2 campagnes d'échantillonnage. Il a débuté en avril 2009 et s'est terminé en décembre 2012. RISKER a bénéficié d'un financement ANR de 300 k€ pour un coût global de 2,4 M€.

Résultats majeurs

Les truites des Kerguelen sont contaminées par des polluants organiques d'origine industrielle. De nombreux effets toxiques ont été observés, comme des pathologies hépatiques et des réponses immunitaires et enzymatiques symptomatiques entraînant un déséquilibre homéostatique. La sévérité des altérations biologiques dépend du niveau de la contamination et du statut biologique des animaux. Leur statut migrateur et leur cycle de vie, défini par la microchimie des otolithes et par scalimétrie, se révèlent essentiels à l'interprétation des niveaux de bioaccumulation, hétérogènes chez les poissons sauvages.

Production scientifique et brevets

Le projet RISKER a été présenté au colloque : International Conference Polar Worlds, Paris 2011. Deux articles sur les niveaux de contamination des salmonidés des îles Kerguelen ont été publiés dans les revues Environmental Pollution et Polar Biology. Le statut immunitaire et la compacité osseuse des truites, aux titres d'indicateurs de stress chimique, ont fait l'objet de communications lors de trois colloques nationaux.

Programme CES édition 2009

RODENT

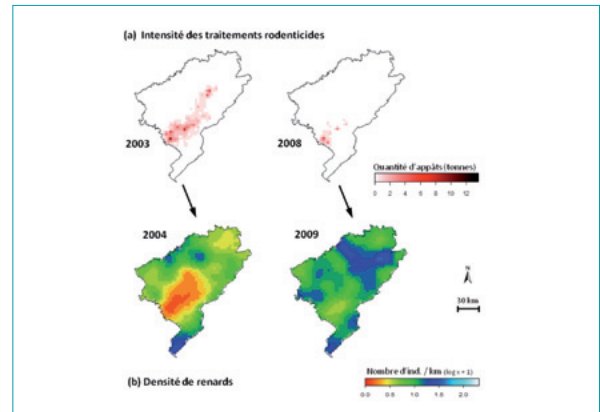
Conséquences écologiques de l'usage des rodenticides

Quels sont les effets des rodenticides sur les populations de rongeurs et leurs prédateurs ?

En tant que vecteurs de maladies, ravageurs de cultures ou espèces invasives, les rongeurs sont contrôlés partout dans le monde, principalement par des pesticides. Ce mode de gestion présente cependant deux limites : l'apparition de résistance aux molécules rodenticides et leurs effets indésirables sur les espèces non-cibles (renards, rapaces...). RODENT se propose de mieux identifier les bases moléculaires de la résistance du rat surmulot aux rodenticides et de comprendre la diffusion des gènes de résistance dans et entre les populations de ce rongeur. Il s'agit également d'évaluer, dans différents contextes, le transfert des rodenticides dans les communautés de rongeurs et leurs effets sur les populations de prédateurs, en particulier celles du renard roux. Des marqueurs d'exposition non invasifs sont notamment développés, et les résultats de systèmes de surveillance des populations de renards à long terme (10 ans) dans tout le département du Doubs, dans des zones traitées et non traitées, sont analysés. Ces travaux ont vocation à améliorer l'efficacité des méthodes de contrôle des rongeurs et à les rendre plus respectueuses de la biodiversité et de l'environnement.

De la biologie moléculaire au monitoring de terrain à large échelle

Exposés aux rodenticides, les systèmes biologiques répondent à des échelles différentes : dans le cas de la résistance génétique des rongeurs cibles, les modifications sont moléculaires alors que les impacts sur les prédateurs sont observés à l'échelle des populations. Malgré cela, ces phénomènes restent étroitement liés, la résistance peut augmenter les résidus de pesticides accumulés dans les tissus des rats et ainsi modifier l'exposition de leurs prédateurs. Une des originalités de RODENT est d'aborder ces 2 niveaux de perception en croisant des techniques fines de laboratoire pour les analyses chimiques et moléculaires (chromatographie liquide associée à de la spectrométrie de masse) avec des méthodes de monitoring de terrain et de modélisation spatiale permettant de suivre et de comparer l'abondance des prédateurs dans l'espace et le temps. La mise en œuvre d'expérimentations en vraie grandeur fait partie des approches retenues : la diffusion des gènes de résistance sera mesurée en manipulant les différentes populations de rats d'un réseau de fermes voisines. Des développements méthodologiques permettront le dosage fin de plusieurs rodenticides dans un même échantillon ou la mesure de l'exposition des renards en nature à partir de marqueurs ne nécessitant pas la capture des animaux.



Réalisé dans le cadre de RODENT, le croisement des données concernant l'intensité des traitements rodenticides en plein champs (a) et celles des densités relatives de renards roux (b) montre bien les impacts de ces pesticides sur les populations de ce prédateur de rongeurs ainsi que leur diminution suite au passage à des pratiques de lutte moins intensives entre 2003 et 2008.

RODENT est un projet de recherche en environnement coordonné par l'UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement en collaboration avec VetaGro'Sup Lyon, le Centre de Biologie pour la Gestion des Populations de l'INRA de Montpellier et l'équipe Ecologie des Invasions Biologiques de l'UMR ESE INRA/Agrocampus de Rennes. Elle s'appuie aussi sur un partenariat de longue date avec la Fédération des chasseurs du Doubs et la Fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles de Franche-Comté. D'une durée de 4 ans, ce projet a débuté en octobre 2009 et a bénéficié d'un financement ANR de 545 k€ pour un coût global de 1,7 M€.

Résultats majeurs

Les populations de rats subissent régulièrement des réductions importantes d'effectifs qui peuvent résulter de diminution des ressources, de facteurs climatiques et/ou des traitements rodenticides. Les analyses génétiques suggèrent une faible dispersion des rats entre les bâtiments et les fermes étudiées. Seuls quelques individus immigrants pourraient jouer un rôle important dans la diffusion de la résistance. Nos résultats montrent qu'entre 20 et 50 % des rongeurs présents dans la nature ont des résidus détectables de rodenticides dans les tissus ce qui démontre l'exposition chronique de leurs prédateurs. Nous avons aussi mis en évidence le fort impact des traitements contre le campagnol terrestre sur les populations de renards et la réduction de cet effet suite à la diminution des quantités d'appâts empoisonnés depuis 2003.

Production scientifique et brevets

Les résultats acquis dans RODENT ont fait l'objet de 3 publications dans des revues scientifiques internationales et de 6 communications dans des conférences internationales et nationales.

Programme CES édition 2009

SENDEFO

Nouvelles approches pour évaluer l'impact des polluants sur les microorganismes aquatiques

Impact d'un polluant sur la biodiversité et le fonctionnement de communautés microbiennes aquatiques et réponses de ces communautés à ce stress toxique

Les organismes vivants sont soumis à de nombreux stress toxiques liés aux activités humaines. Cela concerne en particulier ceux qui vivent dans les milieux aquatiques car ces écosystèmes sont le réceptacle final de nombreux polluants utilisés dans leur environnement proche ou lointain. La mesure de l'impact de ces polluants est plus facile à réaliser sur des organismes de grande taille que sur les microorganismes qui sont beaucoup moins connus, alors que ces derniers jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes qui les abritent. Les outils moléculaires pour l'étude des microorganismes ont connu des progrès considérables au cours des années récentes et ils offrent désormais de nouvelles possibilités pour caractériser ces effets des polluants sur les communautés microbiennes. Le projet avait pour premier objectif d'évaluer l'impact d'un fongicide agricole sur les communautés microbiennes aquatiques vivant dans les lacs et les rivières. Le second objectif était d'étudier les réponses de ces communautés à la présence de cette molécule dans l'eau, sachant que pour chaque type d'écosystème (lac et rivière), une communauté naïve n'ayant jamais connu cette molécule et une communauté ayant déjà été exposée au fongicide, ont été comparées. La validation de nouvelles approches moléculaires offre des perspectives d'intérêt pour l'évaluation des risques environnementaux liés aux pollutions par des produits toxiques.

Intérêts et limites des nouveaux outils de la biologie moléculaire en écotoxicologie

Nos travaux ont été basés sur des approches expérimentales en laboratoires réalisées à partir de communautés microbiennes prélevées dans deux lacs (un pollué et un non pollué) et sur deux sites (pollué/non pollué) d'une même rivière. Ces communautés ont ensuite été exposées pendant trois semaines à différentes doses (0, faible, forte) du fongicide testé, le Tébuconazole. Au cours de ces trois semaines l'équipe a mesuré de nombreux paramètres tels que, par exemple, l'évolution des concentrations du polluant pour déterminer s'il était dégradé, l'abondance des bactéries pour estimer la mortalité causée par le polluant, et certaines activités bactériennes pour évaluer si leur métabolisme était altéré... Par ailleurs, une caractérisation très fine de l'évolution temporelle de la composition des communautés microbiennes procaryotes et eucaryotes a été réalisée par une approche de séquençage à haut débit. L'équipe a également entrepris des études basées sur l'utilisation de la molécule polluante marquée par un produit radioactif, dans le but d'étudier la dégradation éventuelle de cette molécule par les bactéries. Enfin, une approche de clonage massif sur les génomes de la communauté microbienne, suivie par plusieurs étapes de sélection, est actuellement en cours dans le but d'identifier les gènes impliqués dans cette dégradation. Toutes ces approches n'avaient été encore que très peu utilisées dans le cadre de travaux relevant de la discipline de l'écotoxicologie.



Canaux expérimentaux utilisés pour les expérimentations sur les communautés microbiennes des rivières - © : IRSTEA Lyon

SENDEFO est un projet de recherche fondamentale qui associe six partenaires : l'UMR BIOEMCO, ENS Paris ; l'UMR CARRTEL, INRA Thonon ; l'UR MALY, IRSTEA Lyon ; l'UMR 5557, Université/CNRS Lyon ; le LMGE, Université/CNRS Clermont-Ferrand ; l'ICCF, Université/CNRS Clermont-Ferrand. Il a débuté en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 450 k€ pour un budget total de 2,2 M€.

Résultats majeurs

Les résultats sont encore en cours d'acquisition, notamment pour toute la partie biologie moléculaire. Cependant, ils révèlent déjà tout le potentiel des approches utilisées pour caractériser les impacts d'un polluant sur les communautés microbiennes aquatiques mais aussi certaines difficultés liées à leur utilisation sur des communautés naturelles. C'est ainsi qu'il est désormais possible de déterminer, grâce à ces approches, si un polluant a un effet sur les espèces qualifiées de rares, alors que ces espèces importantes d'un point de vue adaptatif, étaient jusqu'ici ignorées. En revanche, certaines limites techniques liées par exemple aux relativement faibles abondances cellulaires en milieux naturels aquatiques rendent difficiles, pour l'instant, l'utilisation de certaines de ces approches sur les communautés microbiennes.

Production scientifique et brevets

La valorisation scientifique du projet a reposé pour l'instant sur trois présentations réalisées en 2011 lors de congrès scientifiques internationaux dans les domaines de l'écotoxicologie et de l'écologie microbienne (SETAC Milano, SEFS Girona et SAME Rostock). Par ailleurs, trois articles qui seront prochainement soumis à des revues scientifiques internationales, sont en cours de rédaction avec les premiers résultats obtenus. Il n'y aura pas de retombées immédiates de ce projet en terme appliqué mais à moyen terme, la démocratisation des outils que nous avons testés, s'ils se révèlent efficaces, permettra sans doute un usage en routine pour déterminer l'impact potentiel d'un produit toxique sur des communautés microbiennes et ainsi de contribuer à la prise de décision sur le maintien, ou non, de l'autorisation d'utiliser de ce produit.

Programme VMC édition 2006

SOLEBEMOL

Devenir et effets des contaminants organiques persistants dans un poisson marin : la sole

Etudier et quantifier le devenir de 3 familles de contaminants organiques et leurs effets sur les fonctions physiologiques

Préserver la qualité de l'environnement et promouvoir l'utilisation durable des ressources marines sont des enjeux majeurs en milieu côtier où la pression anthropique est forte. Sole-BEMol a pour objectif d'étudier chez des juvéniles de soles le devenir et les effets des contaminants chimiques de l'individu à la population. L'originalité de cette étude est la combinaison d'une triple approche alliant la mesure *in situ*, l'expérimentation contrôlée et la modélisation à deux échelles : l'individu et la population. La description et la compréhension des processus responsables du devenir des contaminants nécessitent que la phase d'acquisition des données *in situ* soit complétée par une approche expérimentale. Par ailleurs, les facteurs biologiques agissent sur l'accumulation des contaminants, et il est difficile de hiérarchiser leur importance, d'autant que leur influence est fonction des stades de vie. L'élaboration d'un cadre méthodologique intégrant cette complexité est essentielle dans une démarche de compréhension globale. La modélisation permet de tester des hypothèses, d'identifier et de hiérarchiser les variables pertinentes, et finalement de prédire l'évolution d'un système.

Devenir et effets des PCB, PBDE et HAP : De la mesure *in situ*, l'expérimentation en milieu contrôlé, à la modélisation

L'estuaire de Seine a été identifié comme le plus impacté par ces contaminants. Cet estuaire est aussi la nurserie de juvéniles qui présente les meilleurs indices de condition. Toutefois, les densités de juvéniles en Seine restent inférieures à sa capacité d'accueil, et les taux de recrutement ne semblent pas responsables de ces effectifs. Les effets des contaminants restent une hypothèse probable. Les résultats obtenus en conditions expérimentales semblent confirmer cette hypothèse. Ainsi on observe des altérations de la fonction immunitaire, du comportement et de la reproduction. Ces effets peuvent conduire à une diminution de l'adaptation du poisson à son milieu et nuire à sa participation au recrutement. Les mesures des contaminants ont confirmé la mobilisation des PCB et PBDE en lien avec les lipides lors de la maturation gonadique. Une forte variabilité individuelle s'explique par les conditions expérimentales favorables permettant aux poissons de survivre alors que dans le milieu naturel leur survie serait compromise (prédation, multi-stress ...). La modélisation DEB a permis de tester différentes hypothèses pour expliquer cette variabilité individuelle.



Effets des contaminants organiques persistants sur les différents stades de vie de la sole (approche bioénergétique)

SoleBEMol est un projet de recherche coordonné par Ifremer. Il associe les laboratoires de l'Agrocampus Ouest (Rennes), du LPTC de Bordeaux (Laboratoire de Physico- et Toxicochimie des Systèmes Naturels (LPTC) - UMR 5472 CNRS : Université Bordeaux 1), le Laboratoire LIENS (Université de la Rochelle) et de l'Ifremer (Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie, Unité Physiologie et fonctionnement des organismes marins, Unité Sciences et technologie de l'halieutique). Le projet a débuté en mars 2007 pour une durée de 45 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 750 k€ pour un coût global de 2,7M€.

Résultats majeurs

« SoleBEMol » a permis de mettre en place une plateforme expérimentale adaptée aux études sur les contaminants organiques hydrophobes. Une partie des soles juvéniles utilisées dans cette étude a été maintenue en condition de contamination afin de bénéficier d'un stock de poissons (maintenant adultes) contaminés depuis bientôt 4 ans. Le modèle bio-énergétique de croissance couplé au modèle de bioaccumulation des PCB constitue une base solide pour tester différents scénarii sur les coûts métaboliques que peuvent générer les effets des contaminants. L'approche modélisation de la dynamique de population des soles de Manche Est est en cours d'adaptation pour les nurseries du Golfe de Gascogne.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 11 articles, 22 communications internationales et 5 thèses de doctorat.

Il a permis la mise en place d'un outil d'expérimentation pour l'utilisation de contaminants organiques persistants avec un schéma d'épuration adéquat qui assure un rejet 0 de contaminants. Cet outil a pu être utilisé pour d'autres projets : ANR-VMC-Evolfish.

3 CONTAMINANTS ET SANTÉ

Parmi tous les projets retenus dans les programmes SEST, CES, CESA et quelques autres programmes de l'ANR, de nombreux projets étaient relatifs aux effets des contaminants environnementaux sur la santé, essentiellement santé humaine. Les effets sur la santé peuvent être présentés selon le type de contaminants (ondes et radiations, contaminants chimiques, nanoparticules, toxines, etc.) ou selon le type de pathologie issues de ces contaminants. Ainsi, les projets ont été listés selon ces deux types d'approches. Certains projets sont plus focalisés sur le type de contaminants et sont listés en fonction des contaminants physiques ou chimiques, mais ils font aussi état de diverses pathologies et présentent surtout des perturbations endocriniennes ou des cancers avec les contaminants chimiques, et des affections du système respiratoire ou pulmonaire avec les nanoparticules. D'autres projets sont beaucoup plus focalisés selon le type de pathologie et sont listés ainsi ci-après. Il s'agit des maladies respiratoires, des perturbations endocrines ou des cancers. De même, dans ces projets, nous retrouvons de nombreux projets relatifs aux affections respiratoires ou pulmonaires dans lesquels les contaminants majeurs sont les nanoparticules ; les projets relatifs aux perturbations endocrines sont associés à des contaminants chimiques (polluants organiques persistants ou métaux) et les projets relatifs aux réponses tumorales et cancers sont en général associés à des contaminants chimiques mais aussi aux radiations et aux nanoparticules. Ils sont donc listés selon les différentes approches ci-contre.

Effets des contaminants sur la santé

- Ondes radiations
- Contaminants chimiques
- Nanoparticules

Asthme, maladies respiratoires et cardiovasculaires

Perturbateurs endocriniens, fertilité

Cancers

Ondes radiations

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
BIOREF	Biomarqueurs d'exposition aux rayonnements électromagnétiques du futur	L'exposition aux ondes millimétriques a-t-elle un impact sur les cellules humaines ?
EROPS	Effets des radiofréquences sur des organismes potentiellement sensibles	Effet du Wi-Fi sur le développement et la fertilité chez le rongeur
FADO	Les cadres de l'expertise à l'épreuve des expositions aux faibles doses	L'expertise scientifique à l'épreuve des expositions aux faibles doses
HIMWR	Impacts sur la santé des rayonnements millimétriques	Une exposition aux ondes millimétriques peut-elle induire un stress cellulaire ?
LODORA	Réponses de la peau humaine aux faibles doses de rayonnements ionisants : estimation du risque et établissement des nouveaux biomarqueurs	Les faibles doses de radiations ionisantes altèrent la peau humaine
NOISEADDPROTECT	Additivité d'agents protecteurs du trauma sonore	Traumatisme sonore aigu : y-a-t-il intérêt à associer les thérapies ?

Programme CES édition 2010

BIOREF

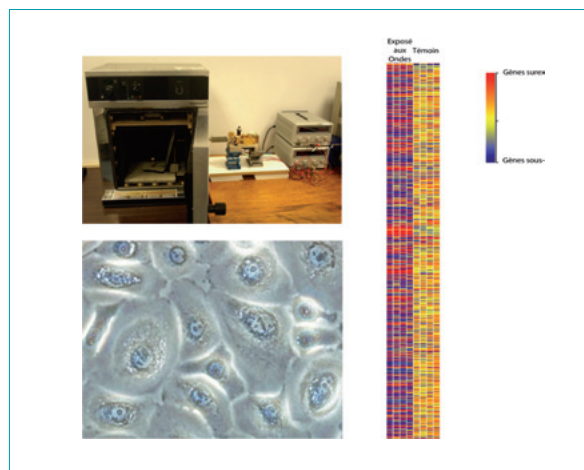
L'exposition aux ondes millimétriques a-t-elle un impact sur les cellules humaines ?

Les ondes millimétriques sont-elles un facteur de risque environnemental ?

Le nombre de sources artificielles de rayonnements électromagnétiques ne cesse d'augmenter car les systèmes de communication sans fil se sont considérablement développés ces dernières années. De multiples applications grand public sont en émergence dans la gamme de fréquences des ondes millimétriques. Avec ces nouvelles applications, les expositions chroniques et à long terme des personnes pourraient augmenter et se modifier. On ne peut pas écarter la possibilité que ces rayonnements puissent avoir des effets biologiques. En effet, ils sont absents de notre environnement naturel et les être vivants n'y ont encore jamais été exposés. De plus, certaines fréquences en millimétriques sont utilisées pour des applications thérapeutiques, ce qui suggère des interactions possibles avec le vivant. Le projet se propose d'étudier l'impact de ces rayonnements sur des cellules humaines en culture. L'équipe pourra ainsi évaluer les risques potentiels de ces systèmes émergents sur la santé humaine avec l'espoir de trouver les limites seuils d'exposition induisant un effet biologique, ce qui est essentiel pour l'élaboration de normes d'utilisation les plus sécuritaires possible. Ce travail est d'un grand intérêt sociétal car il permettra d'anticiper le déploiement à grande échelle de ces futures technologies sans fil.

La génomique au service de l'identification de marqueurs d'exposition

Un système d'exposition pour cellules en culture a été construit au laboratoire. Ce système permet de mimer des situations d'exposition réalistes par rapport à certains scénarios d'utilisation future de ces ondes millimétriques. Dans un premier temps, l'équipe s'est placée dans des conditions d'expositions élevées, à la limite de ce qui est autorisé par les normes en vigueur. Une étude dosimétrique a été effectuée afin d'évaluer les niveaux de rayonnement reçus par les cellules. Un criblage haut-débit par puces à ADN est en cours de réalisation. Cette technique permet une analyse exhaustive de l'expression génique, ce qui devrait permettre d'identifier des gènes biomarqueurs d'exposition. L'expression de ces gènes sera ensuite étudiée par une approche qui combinera des techniques de la biologie moléculaire et de la biologie cellulaire. En modifiant graduellement les paramètres physiques de rayonnement : fréquence, densité de puissance, modulation, et régime d'exposition, l'équipe pourra trouver les limites d'exposition induisant un effet biologique.



En haut à gauche : système d'exposition pour études *in vitro*. En bas à gauche : culture de cellules de peau humaine. A droite : exemple d'analyse haut-débit permettant de détecter une expression génique différentielle entre les cellules contrôles et les cellules exposées

BioREF est un projet de recherche fondamentale coordonné par le laboratoire « Transcription, Environnement & Cancer » de l'Institut de Recherche sur la Santé, l'Environnement et le Travail (IRSET), à l'Université de Rennes 1. Il associe aussi l'équipe « Systèmes Rayonnants Complexes » de l'Institut d'Electronique et des Télécommunications de Rennes (IETR, UMR CNRS 6164), de l'Université de Rennes 1. Le projet a débuté en janvier 2011 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 350 k€ pour un coût global de l'ordre de 1 M€.

Résultats majeurs

Trois principales retombées sont attendues : 1) la découverte de nouveaux gènes sensibles à l'exposition aux ondes ; 2) une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires affectés par une exposition aux ondes millimétriques ; 3) la détermination de limites d'exposition fiables, grâce à l'étude des gènes biomarqueurs.

Production scientifique et brevets

Sans objet pour l'instant, le projet étant encore au tout début de sa mise en œuvre. Toutefois, il est prévu de commencer à présenter nos premiers résultats dans le courant de l'année 2012.

Programme SEST édition 2008

EROPS

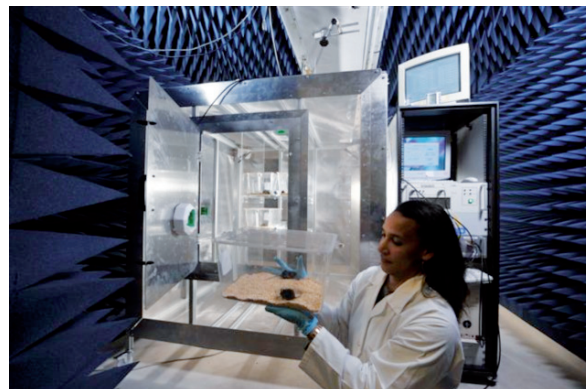
Effet du Wi-Fi sur le développement et la fertilité chez le rongeur

Les effets du Wi-Fi sur les jeunes : une grande inconnue

L'augmentation du niveau d'exposition aux signaux de communication sans fil de type Wi-Fi (2450 MHz) soulève des préoccupations de santé publique en particulier pour les jeunes soumis à ces ondes très précocement. Sur le plan scientifique, les données disponibles sur les effets des expositions aux radiofréquences (RF) in utero ou de jeunes animaux concernent majoritairement les signaux de téléphonie mobile tandis qu'à ce jour, les signaux Wi-Fi ont été peu étudiés. Il était donc important d'apporter des données complémentaires concernant les expositions précoces et répétées aux RF du signal Wi-Fi devenues ubiquitaires dans l'environnement. Dans ce projet, nous avons recherché les effets tératogènes, les effets sur la fertilité et des marqueurs de stress après des expositions répétées à un signal Wi-Fi au cours de la gestation. Les données obtenues dans le cadre du projet vont contribuer à la mise à jour des données scientifiques pour l'évaluation des effets sanitaires des champs électromagnétiques, dans le cadre du processus de révision des normes d'exposition.

Cage réverbérante, tératogène, toxicologie et fertilité

Grâce à un système d'exposition au signal Wi-Fi appelé chambre réverbérante (Satimo, France), nous avons exposé les animaux corps-entier et libres de leurs mouvements. En premier lieu, les effets tératogènes du signal Wi-Fi ont été évalués en exposant des rates gestantes du 3^{ème} au 20^{ème} jour de gestation (jusqu'à la veille de la naissance des petits) 2 heures par jour, 6 jours par semaine, à 4 niveaux d'exposition (0 ; 0,08 ; 0,4 et 4 W/kg) en suivant 20 rates par groupe et leurs portées. Un suivi toxicologique sur les rats issus de 5 portées par groupe et âgés de 2 jours, 1, 2 et 3 mois a été également réalisé au niveau du sang et du cerveau des animaux. En second lieu, la fertilité de rats mâles et femelles exposés 1 heure par jour, 6 jours par semaine à un signal Wi-Fi à 3 niveaux d'exposition (0 ; 0,08 et 4 W/kg), avant et après accouplement, a été suivie par histologie des organes sexuels (mâles et femelles) et observation des fœtus chez les femelles.



Chambre réverbérante permettant l'exposition d'animaux au signal Wi-Fi

EROPS est un projet de recherche fondamentale coordonné par le Laboratoire de Bioélectromagnétisme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE). Le projet a débuté en décembre 2008 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 147 k€ pour un coût global de l'ordre de 577 k€.

Résultats majeurs

Nous n'avons pas détecté d'effets délétères sur le développement prénatal et post-natal des rats et sur leur fertilité, ni globalement à long terme dans le sang et le cerveau des jeunes animaux exposés au Wi-Fi pendant la gestation. Seule une diminution transitoire de certains marqueurs de stress radicalaire a été détectée chez les animaux exposés in utero au niveau de puissance le plus élevé. Cependant, cet effet, suggérant un retard de maturation du système immunitaire, est observé à un niveau de puissance 50 fois plus élevé que la limite d'exposition du public.

Production scientifique et brevets

Un article a été publié dans le journal à comité de lecture « Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology », décrivant les résultats sur le développement des rongeurs exposés in utero au signal Wi-Fi. Six communications orales et de trois communications par affiche ont été présentées dans des congrès internationaux et nationaux (bioélectromagnétisme). Deux publications sont en préparation.

Programme SEST édition 2006

FADO

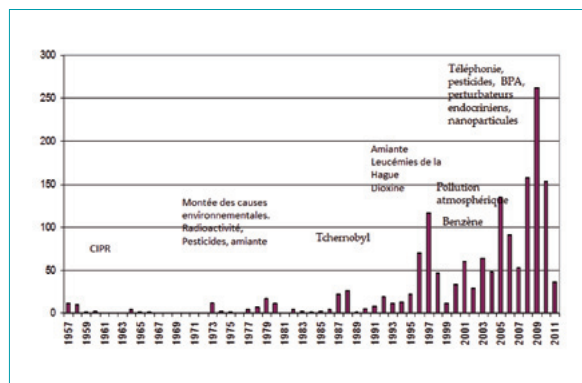
L'expertise scientifique à l'épreuve des expositions aux faibles doses

L'analyse des risques face à l'essor du problème des faibles doses

Le projet Fado s'est donné pour objectif l'analyse des transformations de l'expertise scientifique face au problème des expositions aux faibles doses de polluants. Dans le déploiement public de controverses sanitaires et environnementales, comme dans les transformations des modalités de recherche et d'expertise scientifiques que ce soit sur des problèmes engendrés par des activités professionnelles spécifiques ou concernant l'ensemble de la population, cette problématique n'a cessé de gagner en importance. L'équipe a étudié la manière dont les chercheurs et les experts mobilisent des outils et des modèles qui se trouvent au cœur de controverses. Elle s'est ainsi intéressée aussi bien aux milieux d'expertise et de régulation qu'aux arènes de confrontation publique qui mêlent des acteurs hétérogènes (riverains, instances politiques, médias et groupes contestataires). Appréhendée sur une durée longue et à partir de plusieurs dossiers (radioactivité, additifs et contaminants alimentaires, ondes électromagnétiques et nanoparticules), la question des faibles doses sert d'analyseur des transformations des cadres scientifiques et politiques impliqués dans le traitement des problèmes sanitaires environnementaux causés par diverses contaminations.

Une approche pluridisciplinaire au croisement de l'histoire, de la sociologie et de la socio-informatique

En mobilisant les concepts et les outils de l'histoire et de la sociologie, ce projet a analysé et comparé les trajectoires de quatre dossiers. Pour chacun d'entre eux, l'équipe a décrit l'évolution des jeux d'acteurs et d'arguments, de façon à cerner le degré de consensus ou de dissensus entre ce qui est établi, non discutable, et ce qui reste controversé et incertain. L'étude comparative a été menée selon trois axes : l'histoire des modèles dose-effet ; la production des expertises face aux faibles doses ; les contestations publiques en santé-environnement. Cette approche interdisciplinaire a répondu à trois exigences méthodologiques : une analyse historique sur des temporalités longues ; des catégories communes pour la comparaison des dossiers ; et enfin, la variation des échelles d'analyse, de l'étude de situations locales à la prise en compte de configurations politiques de grande ampleur. D'un point de vue technique, une base de données « carcinogènes » a été constituée à partir d'articles et de rapports scientifiques, et, parallèlement, l'équipe a eu recours à des technologies socio-informatiques, comme celles du logiciel Prospéro, afin d'analyser un ensemble de corpus.



Montée en puissance de la problématique faibles doses dans les controverses publiques (Profil temporel de l'inter-corpus « Fado » sous Prospéro)

FADO est un projet de recherche fondamentale qui a réuni une équipe de neuf chercheurs, coordonné par l'Institut interdisciplinaire de recherches en sciences et technologies, Université de Strasbourg. Il est mené en collaboration avec le GSPR, EHES. Le projet a débuté en janvier 2008 pour une durée de 45 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 200 k€ pour un budget global de 503 k€.

Résultats majeurs

Les résultats obtenus permettent : d'apporter plusieurs éclairages sur le fonctionnement de l'expertise et la décision publique, utiles à tous les acteurs intéressés par les problèmes sanitaires environnementaux présentant un fort degré d'incertitude ; de renforcer des travaux français en sciences sociales sur la thématique santé-environnement et leur donner une visibilité internationale ; et de mettre à disposition des corpus et des bases de données pour la poursuite de recherches collaboratives sur un ensemble de problématiques.

Production scientifique et brevets

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une vingtaine publications nationales et internationales. Le programme s'est aussi traduit par une conférence internationale qui a réuni une quarantaine de spécialistes européens, nord-américains et asiatiques. Ce programme a ainsi permis de mettre en place des collaborations avec plusieurs collègues, collaborations qui se débouchent notamment sur deux ouvrages en anglais à paraître en 2012. Pour rendre ces résultats disponibles et mobilisables par des experts et des institutions de régulation en France, un ouvrage en français est en préparation.

Programme SEST édition 2006

HIMWR

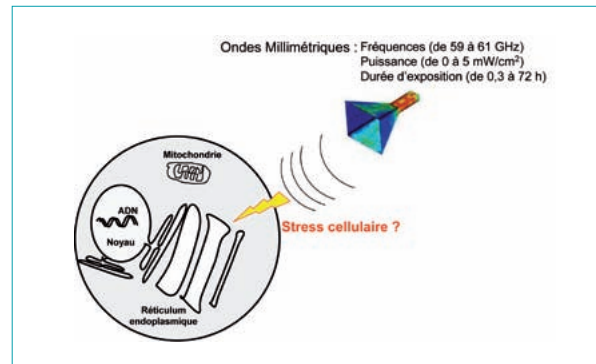
Une exposition aux ondes millimétriques peut-elle induire un stress cellulaire ?

Les ondes millimétriques émergent en communication sans fil

Les systèmes de communication sans fil se sont considérablement développés durant la dernière décennie. En raison de la saturation de la partie basse du spectre micro-ondes et des besoins croissants en transmission haut débit, de multiples applications grand public émergent en millimétrique. En particulier, les fréquences situées au voisinage de 60 GHz sont particulièrement bien adaptées aux communications très haut débit à courte portée en environnement domestique et professionnel. Ces rayonnements étant absents de notre environnement naturel en raison de la forte absorption créée par l'oxygène atmosphérique, les organismes vivants n'y ont encore jamais été exposés. Les ondes millimétriques pourraient donc avoir des conséquences imprévues sur la population et la connaissance de l'impact possible de ces ondes sur la santé est donc de la plus haute importance.

Analyse du stress cellulaire

Un dispositif d'exposition de cellules humaines en culture a été créé au laboratoire. De la dosimétrie numérique et des mesures physiques ont ensuite été réalisées afin de caractériser ce système d'exposition. Nous avons ensuite regardé si une exposition aux ondes millimétriques peut induire un stress cellulaire. Plusieurs types de stress (thermique, oxydatif, réticulaire, ...) ont d'abord été examinés lors d'expériences préliminaires, puis nous avons concentré nos efforts sur le stress du réticulum, qui correspond à un stress cellulaire particulièrement sensible aux conditions environnementales et impliqué dans de nombreuses maladies. Nous avons analysé l'impact des caractéristiques physiques des ondes (notamment la fréquence et la puissance jusqu'à 5 mW/cm²) sur les cellules. Nos résultats montrent clairement que les ondes millimétriques de faibles puissances, n'induisent pas de stress cellulaire. Nous avons complété notre étude par une approche à haut débit sur des cultures primaires de kératinocytes humains. En utilisant des puces à ADN, nous avons recherché à l'échelle du génome entier, l'existence de gènes sensibles à l'exposition aux ondes. Notre analyse a mis en évidence 5 gènes candidats qui sont différemment exprimés en cas d'exposition. Parmi ces gènes, 2 sont impliqués dans la réponse immunitaire ou dans la perception sensorielle, ce qui pourrait être en relation avec les effets potentiels de ces ondes millimétriques en thérapie.



HIMWR est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe « Homéostasie intracellulaire des protéines » de l'UMR CNRS 6026, à l'Université de Rennes 1. Il associe aussi le groupe « Antennes et Hyperfréquences » de l'Institut d'Électronique et des Télécommunications de Rennes (IETR, UMR CNRS 6164), de l'Université de Rennes 1. Ce projet a commencé en décembre 2006 pour une durée de 43 mois. Ce projet a bénéficié d'un financement ANR de 196 k€ pour un coût global de l'ordre de 632 k€.

Résultats majeurs

La conclusion majeure de ce projet est que dans la limite de faibles puissances ne générant pas d'effets thermiques, l'exposition à des ondes millimétriques n'induit pas de stress cellulaire, notamment de stress du réticulum. L'analyse par puces à ADN montre qu'à court terme, l'impact des ondes millimétriques sur l'expression génétique est très limité. Seuls 5 gènes sur 26 300 ont été trouvés comme ayant une expression modifiée après 6 h d'exposition, avec un retour à la normal après 24h. Les résultats obtenus dans cette étude sont donc rassurants quant à l'utilisation des ondes millimétriques en télécommunication sans fil.

Production scientifique et brevets

Dans le cadre de ce projet, 5 publications dans des journaux internationaux à comité de lecture et 9 présentations dans des congrès internationaux ont été réalisées. Plusieurs communications dans des colloques nationaux ou locaux ont également été données, ainsi que des séminaires grand-public sur le thème des interactions ondes/matière vivante. De plus, nos travaux ont été largement cités dans le rapport d'expertise collective de l'AFSSET sur l'évaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation du scanner corporel à ondes millimétriques (Février 2010). Une thèse ayant obtenu le prix 2010 de l'Université Européenne de Bretagne au titre de l'interdisciplinarité a été soutenue dans le cadre de ce projet.

Programme SEST édition 2008

LODORA

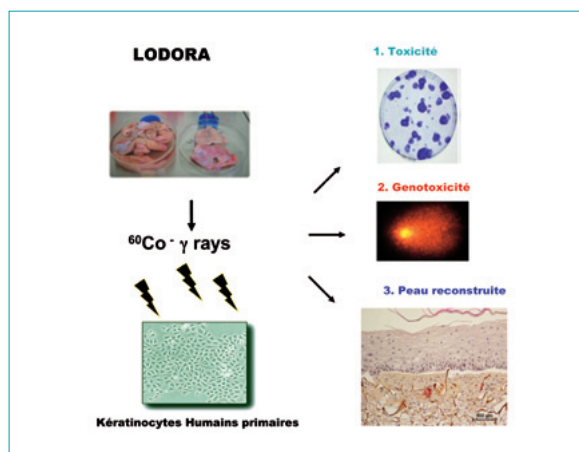
Les faibles doses de radiations ionisantes altèrent la peau humaine

Réponses de la peau humaine aux rayonnements ionisants de faibles doses

Les faibles doses de radiations ionisantes constituent les modes d'exposition des populations humaines les plus fréquents. Il s'agit de rayonnements d'origine naturelle ou liés à des activités humaines, industrielles ou médicales. Leurs effets à faibles doses sont très mal connus et leur impact sur la santé publique est un objet de controverses quant à leur nocivité, le risque majeur étant la survenue de cancers. Le projet LODORA vise à caractériser la réponse de la peau humaine, premier organe cible des rayonnements ionisants, en évaluant la toxicité d'expositions à de faibles doses et les conséquences fonctionnelles sur la reconstitution de la peau. Un autre objectif est d'identifier de nouveaux bio-marqueurs ou des signatures moléculaires, nécessaires à une évaluation rapide des doses reçues en cas d'exposition accidentelle ou pour raison médicale. Le projet permettra d'apporter de nouveaux éléments sur l'estimation du risque lié à une exposition à de faibles doses de rayonnements ionisants. Ces résultats pourraient être exploités par des agences gouvernementales responsables de la sûreté nucléaire pour mieux adapter la politique de la radioprotection.

Radiosensibilité de la peau humaine et signature moléculaire des rayonnements ionisants

Dans ce projet, l'équipe a utilisé des tests de viabilité cellulaire afin de montrer l'effet toxique à long-terme des rayonnements ionisants sur des cellules de la peau humaine en culture et sur différents modèles de peau reconstruite *in vitro*. De plus, des techniques de coloration des différentes structures de la peau ont été employées pour visualiser les effets des rayonnements sur la morphologie du tissu cutané. Un autre effet délétère des rayonnements ionisants est l'induction de cassures de l'ADN qui peuvent participer au processus de cancérogénèse. Ces dommages ont été évalués par des méthodes d'imagerie cellulaire permettant d'une part, de quantifier l'ensemble des cassures par le test des comètes et d'autre part, de visualiser certaines cassures spécifiques par le test des foyers nucléaires. L'utilisation de techniques d'analyse globale d'expression du génome nous ont permis, d'une part d'identifier les nouveaux biomarqueurs d'exposition, et d'autre part de mieux comprendre quels sont les mécanismes moléculaires mis en œuvre dans les cellules irradiées.



LODORA étudie la réponse des cellules de la peau aux rayonnements ionisants de faibles doses

LODORA est un projet de recherche fondamentale coordonné par le CEA de Grenoble (INAC/SCIB). Il associe aussi d'autres laboratoires publics : Université de Lyon (CGMC), les hospices civils de Lyon et le CEA d'Evry (LGRK). Le projet a commencé en décembre 2008 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 340 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,9 M€.

Résultats majeurs

Le premier résultat marquant de LODORA est la démonstration de l'effet nocif des rayonnements ionisants de faibles doses sur des modèles de peaux reconstruites très proches de la peau humaine qui voient l'épaisseur de leur épithélium diminuer et leur processus de différenciation perturbé. De plus, LODORA a permis de montrer qu'un facteur de croissance, le FGF2, permet aux cellules de la peau de mieux réparer les cassures radio-induites de l'ADN. En conséquence, le FGF2 peut être proposé comme nouveau radio-protecteur cutané.

Production scientifique et brevets

Le bilan de la production scientifique de LODORA est riche avec plus de 7 articles dans des Revues à comité de lecture international (stem cells, mutation research, Int J Radiat Biol...), plus de 20 conférences invitées, 1 brevet international est en cours.

Programme CES édition 2009

NOISE-ADDPROTECT

Traumatisme sonore aigu : y-a-t-il intérêt à associer les thérapies ?

Les agents préventifs ou curatifs du trauma sonore sont d'efficacité limitée

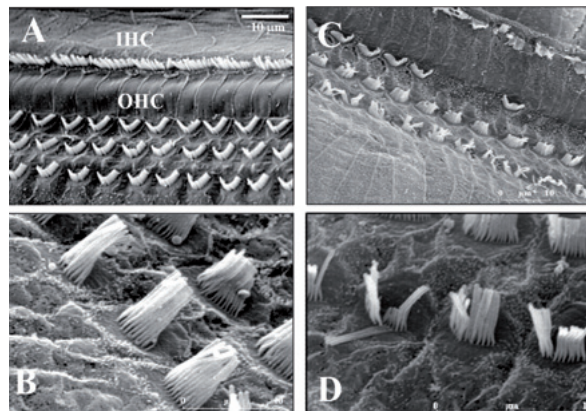
Les handicaps auditifs (surdités et acouphènes) induits par trauma sonore constituent un problème important de santé publique. Une étude du ministère de l'emploi indique qu'environ 7 % des français sont exposés à des niveaux sonores potentiellement dangereux dans leur travail. Chez les militaires exposés à des bruits d'arme, les traumas sonores représentent une part importante des problèmes de santé. En conditions de loisir des écoutes de musique à fort niveau sont de plus en plus fréquentes (baladeurs, discothèque ...) et exposent aussi à des risques auditifs.

Or les traumas sonores détruisent les cellules de l'oreille et comme celles-ci ne se régénèrent pas le handicap auditif est ainsi irréversible. Au cours de la dernière décennie on a identifié divers nouveaux médicaments présentant une efficacité partielle, en prévention ou en traitement rapide après trauma sonore. L'objectif de ces études est d'évaluer les effets éventuellement additifs de divers de ces agents partiellement protecteurs.

Les études animales sont une première étape obligée

Ces études sont réalisées par des expérimentations chez des animaux (cobayes) dont l'oreille est biologiquement similaire à celle de l'homme. Les études comparent des traumas induits par bruit continu et des traumas induits par bruit d'arme. Les évaluations physiologiques des dégâts induits par trauma sont réalisées par enregistrements électrophysiologiques de l'oreille combinés à des observations anatomiques des cellules sensorielles de l'oreille.

Il s'agit d'une première évaluation nécessaire avant éventuellement d'envisager des applications chez l'homme.



Images en microscopie électronique à balayage : en A, cellules normalement présentes avec en C, leurs touffes de cils, en B, cellules partiellement dégénérées avec en D, leurs touffes de cils endommagées

Noise-Addprotect est un projet de recherche fondamentale à visée clinique coordonné par l'Institut National de la Santé et de la Recherche médicale. Il associe un laboratoire du CNRS à Marseille à un laboratoire du Service de Santé des Armées à Grenoble. Le projet a commencé en mars 2010 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 90 k€ pour un coût global de l'ordre de 150 k€.

Résultats majeurs

Un trauma sonore peut souvent affecter une oreille en affectant pas ou peu l'autre oreille. Ainsi chez l'homme une surdité débutante après exposition à des niveaux sonores excessifs peut facilement passer inaperçue, il faut toujours faire attention à son audition pour chaque oreille.

Quelques combinaisons de médicaments montrent une efficacité nette alors que chaque médicament seul paraît peu efficace. Les études doivent être poursuivies pour évaluer les meilleures combinaisons médicamenteuses. Il n'y a pas actuellement de traitement totalement efficace.

Contaminants chimiques

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
BIMUCE	Etude génétique des mécanismes d'action du Bisphenol A (BPA) dans le système nerveux central mâle. Caractérisation comportementale neuroanatomique et neuroendocrine des effets induits par une exposition périnatale versus adulte à de faibles doses de BPA	Effets de l'exposition au bisphénol A sur le système nerveux central de souris
CANTO	Intégration de méthodes d'analyse décisionnelle et de chimie prédictive pour l'évaluation de la toxicité	Simuler l'évaluation toxicologique des substances chimiques pour la chimie verte
CONTREPERF	Contaminants émergents perfluorés : contribution à l'évaluation de l'exposition de l'homme et de sa descendance, à l'étude de leur métabolisme et à la caractérisation de leur impact toxicologique	Une contribution interdisciplinaire à l'évaluation du risque lié aux contaminants chimiques perfluorés
DIPERPHA	Dynamique et Impact des perturbateurs endocriniens et des composés pharmaceutiques issus des élevages agricoles	Les perturbateurs endocriniens et les antibiotiques dans le lisier porcin
HEMIBREAKS	Métaux lourds et cassures de l'ADN	Quand les métaux cassent l'ADN
HERBITOX	Herbicide et neurotoxicité : impact de l'ingestion chronique de glufosinate d'ammonium sur le fonctionnement du cerveau	Des herbicides dans notre environnement : impacts sur le cerveau
MACHLOMA	Mécanismes d'accumulation, d'élimination et de perturbations des systèmes nerveux et endocriniens induits par l'exposition de <i>macrobrachium rosenbergii</i> à la chlordécone dans les Antilles françaises	Evaluation écotoxicologique de la chlordécone sur un crustacé modèle d'eau douce
MELODIEREVE	Métaux Lourds, désordres Immunitaires écotoxicologie intestinale & (bio)-remédiation <i>in vivo</i> : évaluation des impacts et traitements potentiels	Comprendre et traiter l'empreinte toxique des polluants dans les pathologies intestinales
NEED	Effets neuroendocrines de perturbateurs endocriniens, xénoestrogènes et dioxines, sur les circuits centraux de contrôle de la reproduction, notamment les systèmes à GnRH	Plastiques, pesticides et autres : quels dangers pour notre cerveau ?
NEUROPEST	Xénobiotiques, perturbation endocrinienne et neurotoxicité : impact de l'exposition chronique aux pesticides sur la reproduction, le développement et le fonctionnement du système nerveux central d'un modèle mammifère	Exposition périnatale aux pesticides : impact sur le cerveau et la reproduction
NISTEC	Nouvelles stratégies <i>in vitro</i> pour l'évaluation de la cytotoxicité et la génotoxicité des contaminants de l'environnement	Nouvelles stratégies <i>in vitro</i> pour étudier la toxicité hépatique des contaminants chimiques
PERICLES	Expositions à des mélanges de substances actives et possibles effets combinés sur des cellules humaines	Etudes des effets cocktails chez l'homme de l'exposition alimentaire aux pesticides
PERINATOX	Effets précoces du Bisphénol A sur le développement de la barrière intestinale et la programmation métabolique du foie et du tissu adipeux : conséquences à long terme pour l'adulte	Perturbateurs endocriniens et développement : une question de santé publique
PHARMECO	Les médicaments contaminants environnementaux : existe-t-il un risque de toxicité pour le foie normal ou obèse?	Les résidus médicamenteux contaminant les milieux aquatiques : quels risques pour le foie ?
SYSBIOX	Développement d'une approche <i>in vitro/in silico</i> « la métabolomique-sur-biopuce »	Une approche <i>in vitro/in silico</i> pour prédire la toxicité de xénobiotiques

Programme CES édition 2009

BIMUCE

Effets de l'exposition au bisphénol A sur le système nerveux central de souris

Expositions précoce et tardive au bisphénol A : Effets et mécanismes d'action dans le système nerveux central de souris mâle

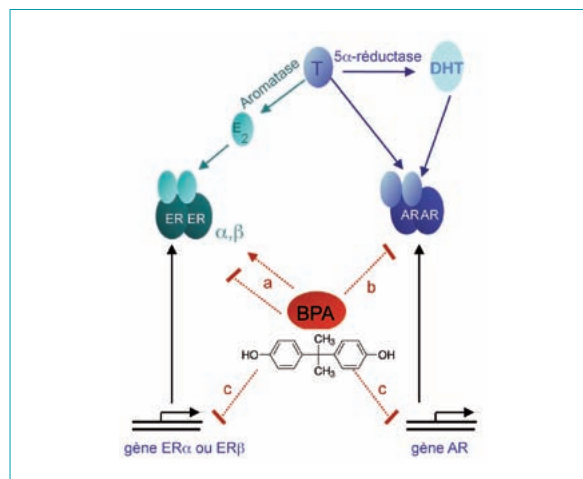
La contamination par le bisphénol A (BPA) concerne une majeure partie de la population dans les pays industrialisés. Le bisphénol A est un monomère massivement produit et utilisé dans la fabrication d'une très grande variété de contenants alimentaires.

Le système nerveux central mâle est très sensible aux hormones sexuelles (testostérone) autour de la naissance (période périnatale) et à l'âge adulte. La testostérone, en effet, joue un rôle important dans la différenciation sexuelle périnatale et l'activation adulte de comportements liés à la reproduction (accouplement, choix du partenaire...). Elle influence également l'état d'anxiété, la mémoire spatiale ...

Le but de cette étude est de : déterminer si l'exposition périnatale (précoce) ou adulte (tardive) au BPA interfère avec la régulation centrale des comportements et des réponses neuroendocrines mâles par la testostérone ; comprendre les mécanismes d'action *in vivo* du BPA.

Etude génétique des mécanismes d'action du BPA dans le système nerveux central mâle. Caractérisation comportementale, neuroendocrine et neuroanatomique

Cette étude a consisté en une large caractérisation comportementale, neuroanatomique et neuroendocrine des effets de l'exposition périnatale versus adulte au BPA sur le système nerveux central de souris. Elle consiste également à disséquer les mécanismes d'action du BPA, encore méconnus à ce jour, dans les réponses comportementales et neuroendocrines où un effet a été observé. Pour cela, nous utilisons des modèles de lignées de souris où les cibles potentielles du BPA (récepteurs des androgènes et des oestrogènes) ont été invalidées de manière sélective dans le système nerveux.



Sites potentiels d'action du BPA dans les voies de signalisation activées par la testostérone dans le cerveau

Ce projet de recherche fondamentale a été coordonné par le CNRS UMR 7224, Université P. & M. Curie et associait le CNRS, l'INRA l' Université de Tours et l'Université P. & M. Curie. Il a démarré en 2009 pour une durée de 36 mois et bénéficié d'un financement ANR de 565 k€ pour un budget total de 1,8 M€.

Résultats majeurs

Les résultats obtenus auront un double impact : sur la connaissance des fonctions centrales altérées par l'exposition précoce versus tardive au BPA. Il est possible que le BPA n'altère pas de la même façon une même fonction cérébrale en fonction de la période d'exposition ; et sur la compréhension des mécanismes d'action du BPA encore méconnus à ce jour. Selon que le BPA agisse directement sur les récepteurs des estrogènes ou des androgènes, ou encore en amont de ces récepteurs, en altérant leur niveau d'expression, l'effet perturbateur peut être différent.

Production scientifique et brevets

L'équipe a validé l'utilisation de la lignée de souris invalidée pour le récepteur des androgènes dans le système nerveux sur le fond génétique C57BL/6 et une publication a été soumise. Un premier papier commun sur les effets précoces versus tardifs de l'exposition au BPA sur les comportements mâles est en cours de finalisation par les partenaires (Picot Marie et al.).

Programme CD2I édition 2007

CANTO

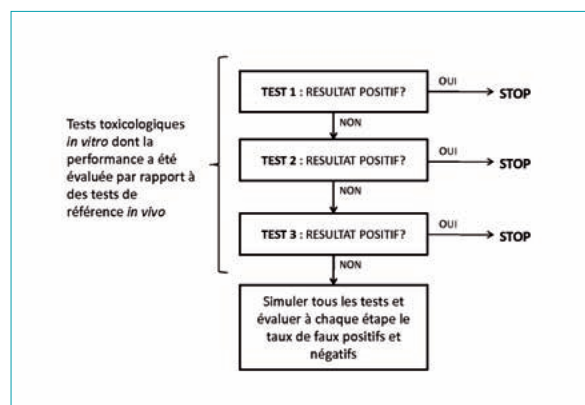
Simuler l'évaluation toxicologique des substances chimiques pour la chimie verte

Les stratégies de tests intégrés dans le règlement REACH

Dans le cadre du règlement européen REACH (Enregistrement, évaluation et autorisation des produits chimiques), il est prévu que des méthodes toxicologiques alternatives à l'expérimentation animale soient utilisées pour évaluer la toxicité chimique. Cette exigence est motivée par le fait que l'expérimentation animale pose des problèmes éthiques et économiques. A titre d'exemple, une étude de cancérogénèse chez la souris coûte environ un million de dollars. Il est également prévu que la mise en pratique de ces méthodes alternatives soit réalisée au sein de stratégies de tests intégrés (STI) composées par une suite de tests toxicologiques, réalisés l'un après l'autre de façon rationnelle, avec pour objectif de minimiser le recours à l'expérimentation animale. Cette réduction du nombre d'animaux en expérimentation est rendue possible par les outils toxicologiques *in vitro* et par les modèles QSAR qui permettent de prédire le danger toxicologique en fonction de la structure moléculaire. Pour aider l'élaboration des STI, le projet CANTO a développé une boîte à outils informatisée qui permet de prédire les résultats générés par des tests toxicologiques pour la tératogénèse (développement de malformations chez les nouveaux nés).

Elaboration de stratégies optimales de test en toxicologie grâce à la modélisation QSAR et aux simulations Monte Carlo

Dans la méthodologie développée par le projet, la simulation statistique des STI nécessite la quantification de la performance d'une série de test toxicologiques *in vitro* par rapport à un test de référence *in vivo* et d'une prédiction QSAR de la probabilité a priori pour une molécule d'être tératogène. Grâce à ces deux informations, il est possible d'estimer le coût éthique et monétaire associé aux STI. La contribution la plus originale du projet CANTO est la prise en compte des spécificités de la structure moléculaire de la substance investiguée pour optimiser la sélection d'une STI. Pour permettre cette approche, le projet CANTO a mis au point une nouvelle méthodologie QSAR qui permet de prédire la toxicité d'une substance chimique sous forme de probabilité. Dans le contexte de cette méthode, la certitude prédictive est décrite par des fonctions Gaussiennes centrées sur chaque substance du jeu d'apprentissage. La somme des Gaussiennes correspondant aux coordonnées de la molécule à toxicité inconnue donne la prédiction de toxicité pour cette substance ainsi que l'incertitude sur cette prédiction.



La boîte à outils informatisée du projet CANTO permet d'estimer le taux de faux positifs et négatifs d'une suite de tests toxicologiques grâce au couplage entre modélisation QSAR et simulations Monte Carlo

CANTO est un projet de recherche industrielle coordonné par l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques en collaboration avec la PME de services informatiques et scientifiques Scienomics. Le projet a commencé en décembre 2007 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 479 k€ pour un coût global de l'ordre de 900 k€.

Résultats majeurs

Le projet CANTO a permis d'adresser deux des besoins récurrents dans le domaine de la toxicologie prédictive : l'évaluation de l'incertitude liée aux prédictions QSAR et la prédiction de la performance d'une batterie de tests en fonction uniquement de la structure moléculaire de la substance étudiée. Pour ces deux besoins, il propose des solutions qui permettent de prédire la performance de plusieurs STI et leurs coûts monétaires et éthiques. Son périmètre d'application peut être étendu à des substances en cours de développement afin d'en prédire la toxicité.

Production scientifique et brevets

Le travail a donné lieu à deux articles scientifiques dans des revues de rang A et à une présentation à un congrès international. Ce projet a en outre permis d'intégrer des avancées méthodologiques dans le domaine de la toxicologie prédictive *in silico* avec des outils informatiques d'avant-garde au sein de la plateforme informatisée MAPS de Scienomics.

Programme CES édition 2010

CONTREPERF

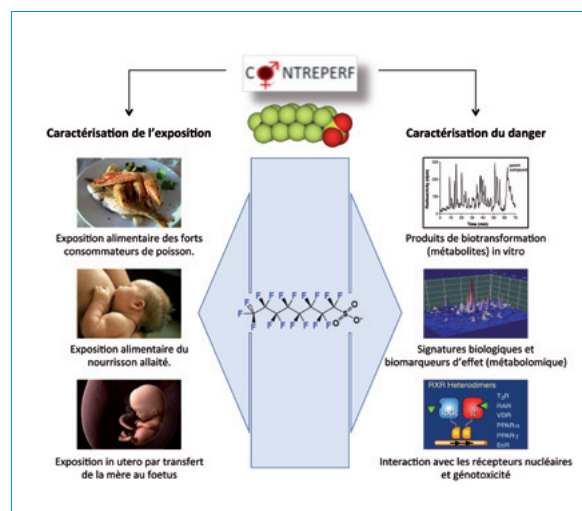
Une contribution interdisciplinaire à l'évaluation du risque lié aux contaminants chimiques perfluorés

Mieux connaître l'exposition des consommateurs Français aux composés perfluorés (PFCs) et le danger associé

Les PFCs sont des substances chimiques synthétiques produites et utilisées pour exploiter leur propriétés à la fois lipophobes et hydrophobes à travers des matériaux antiadhésifs ou de type surfactant. Les consommateurs des pays industrialisés sont aujourd'hui en contact avec ces composés dans leur vie quotidienne à travers un grand nombre de produits manufacturés. En parallèle, comme beaucoup d'autres polluants chimiques d'origine anthropique, les PFCs peuvent être relargués dans l'environnement à chaque étape de leur cycle de vie, et retrouvés dans la chaîne alimentaire. L'exposition alimentaire, notamment via des denrées particulièrement vectrices de résidus et contaminants chimiques telles que le poisson, représente dès lors une voie majeure d'exposition aux PFCs, en particulier pour certaines catégories de population (forts consommateurs de poisson). Les PFCs sont également considérés comme des perturbateurs endocriniens. Dans ce cas, la problématique n'est pas liée à des aspects de toxicité aiguë, mais plutôt à des questions d'exposition chronique à faibles doses, posant dès lors la question du transfert potentiel des PFCs de la mère au fœtus (via le sang du cordon) et/ou au nourrisson (via le lait maternel).

Combiner au plan méthodologique les approches physico-chimiques et biologiques

Ce projet repose sur les compétences et ressources complémentaires de plusieurs équipes spécialistes respectivement de l'évaluation de l'exposition de l'Homme aux dangers chimiques, du métabolisme des xénobiotiques et de la toxicologie alimentaire, des interactions ligands-récepteurs nucléaires, de l'évaluation du risque, et du monde clinique. L'évaluation de l'exposition alimentaire (dose externe) et de l'imprégnation (dose interne) des sous-populations étudiées sera basée sur la mesure des composés cibles par spectrométrie de masse, dans un ensemble de prélèvements biologiques (poisson, serum et lait maternel humain). Les produits de biotransformation de deux principaux représentants de cette famille de polluants (PFOS et PFOA) feront l'objet d'études de métabolisme basées sur le suivi de composés radiomarqués dans plusieurs systèmes *in vitro*. Leur impact global en termes de perturbations métaboliques sera caractérisé via des approches de profilage de type métabolomique par résonance magnétique nucléaire et spectrométrie de masse. Leur caractère génotoxique, et leur capacité d'interaction avec les principaux récepteurs nucléaires, seront évalués via des techniques de biologie moléculaire.



CONTREPERF associe les laboratoires suivants : LABERCA, Oniris, Nantes ; UMR 1331 Toxalim, INRA, Toulouse ; U896 INSERM, Montpellier ; DERN, ANSES, Paris ; Service de gynécologie-obstétrique, CHU Paule de Viguier, Toulouse. Il a bénéficié d'un financement ANR de 400 k€ pour un budget total de 1,1 M€.

Résultats majeurs

La première année du projet a été essentiellement consacrée à la mise en place des outils, méthodes, et procédures nécessaires à la conduite des différentes phases de l'étude. Un premier ensemble de données a toutefois déjà été généré pour certaines de ces phases, notamment en ce qui concerne la caractérisation de l'exposition alimentaire via les produits de la mer. S'agissant du volet Humain, une soixantaine de volontaires ont déjà été inclus dans l'étude. Les premières données relatives à la caractérisation du danger (métabolisme, métabolomique et toxicologie) sont quant à elles attendues pour le second semestre 2012.

Production scientifique et brevets

A ce jour, 2 articles ont été publiés : Riu et al., Environ. Health Perspect. 2011, Sep;119(9):1227-32 et Riu et al., Toxicol. Sci. 2011 Aug;122(2):372-82.

Programme SEST édition 2007

DIPERPHA

Les perturbateurs endocriniens et les antibiotiques dans le lisier porcin

Quel est le devenir et l'impact des hormones et des antibiotiques contenus dans le lisier ?

Le lisier porcin est une source avérée de contaminants tels que les hormones et les antibiotiques pour l'environnement. Les hormones sont naturellement produites par les animaux et excrétées dans les urines et les fèces. Dans les exploitations porcines, différents composés antibiotiques sont régulièrement utilisés afin d'améliorer l'état sanitaire des animaux. Ainsi, hormones et antibiotiques se retrouvent dans les déjections animales qui sont traditionnellement utilisées en agriculture comme fertilisant. A travers l'épandage du lisier, les hormones et les antibiotiques sont dispersés dans les sols et peuvent contaminer notre environnement. Les hormones peuvent induire des perturbations endocrines chez les organismes exposés alors que les antibiotiques sont responsables des phénomènes d'antibiorésistance. Ce projet s'est focalisé sur l'étude du devenir des hormones et des activités endocrines associées, ainsi que des antibiotiques et des bactéries résistantes aux antibiotiques dans des systèmes de gestion des lisiers porcins, à l'échelle réelle ou de laboratoire, en conditions anaérobies ou aérobies. Également, nous nous sommes intéressés au devenir des antibiotiques dans les sols et à leur impact sur la microflore du sol.

Analyse des hormones et des antibiotiques dans le lisier et technologies étudiées pour améliorer leur élimination

Dans cette étude, il a été nécessaire de développer des méthodologies pour l'analyse chimique des hormones, des antibiotiques et du suivi de l'antibiorésistance dans le lisier. Des méthodologies pour le conditionnement des échantillons ainsi que pour l'analyse des hormones et des antibiotiques dans les phases dissoutes et solides du lisier ont été développées. Afin d'évaluer l'impact perturbateur endocrinien des hormones, l'équipe a utilisé des modèles cellulaires. Pour connaître le devenir des hormones, des activités endocrines et des antibiotiques dans les systèmes actuels de gestion du lisier, elle a analysé des échantillons issus des systèmes réels de stockage et de traitement du lisier. L'antibiorésistance a été évaluée dans les mêmes échantillons en utilisant comme témoin du lisier d'animaux non - exposés aux antibiotiques. Afin d'identifier les principaux paramètres qui déterminent la dégradation des hormones et des antibiotiques, des réacteurs contrôlés ont été mis en œuvre sous conditions aérobie/anoxique, anaérobie mésophile ou thermophile, et par couplage des deux conditions. D'autre part, des mesocosmes contrôlés ont été utilisés pour l'étude du devenir et impact des antibiotiques dans les sols.

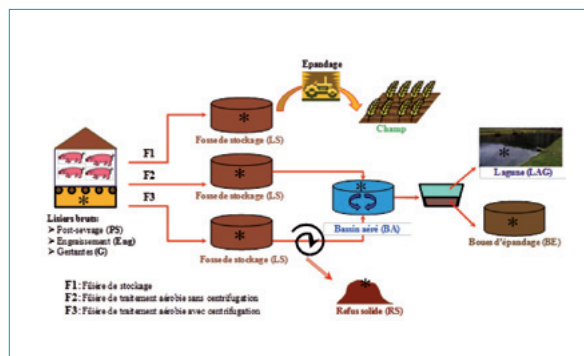


Schéma global des filières de gestion des effluents porcins étudiées

DIPERPHA est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'INRA. Il associe aussi l'INSERM de Montpellier, le CNRS-Université de Bordeaux 1, le Cemagref de Rennes, et l'INRA de Versailles. Le projet a commencé en novembre 2007 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 300 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,2 M€.

Résultats majeurs

Cette étude a permis de mettre en évidence que les hormones sont principalement contenues dans la fraction solide du lisier où la présence d'autres composés œstrogéniques a été également décelée. Une forte perturbation endocrinienne via l'activation du récepteur aux œstrogènes (ER) et dioxin-like (AhR) a été également détectée. Dix-huit antibiotiques ont été détectés dans le lisier ; sept d'entre eux ont été détectés dans plus de 50 % des échantillons analysés. La présence et la persistance d'entérobactéries potentiellement résistantes à la tétracycline a été détectée dans la plupart des lisiers étudiés. Dans les systèmes de traitement sous conditions réelles ou au laboratoire, les conditions aérobies sont plus efficaces pour éliminer les hormones, les antibiotiques, les activités œstrogéniques et « dioxin-like » associées. Les antibiotiques présentent peu d'effet sur les champignons et bactéries du sol. L'antibiotique ciprofloxacine est fortement retenu dans les sols où il est faiblement dégradé.

Production scientifique et brevets

Le projet Diperpha a donné lieu à 5 publications scientifiques (publiées ou soumises) dans des journaux de rang A. Six autres publications sont en cours de préparation. Le projet a également donné lieu à 12 communications dans des conférences nationales et internationales.

Les résultats du projet ont reçu le Prix des techniques Innovantes pour l'Environnement 2010, prix décerné par l'Ademe-Pollutec.

Programme CESA édition 2008

HEMI-BREAKS

Quand les métaux cassent l'ADN

Toxicité et carcinogénicité des métaux lourds : importance des cassures double-brin de l'ADN

Il est clair aujourd'hui que les cassures double-brin de l'ADN (CDB) sont des événements-clés de la réponse au stress : les CDB non-réparées sont liées à la mort cellulaire et la toxicité et les CDB mal-réparées à l'instabilité génomique et de l'initiation de cancer. La biologie des radiations a considérablement évolué ces dernières années grâce à l'étude des CDB radioinduites. Comme la contamination à certains métaux entraîne des phénomènes de toxicité et augmente le risque de cancer, le projet HEavy Metal-Induced Breaks propose de recenser les métaux cassant l'ADN, d'évaluer la réponse biologique des cassures métallo-induites et de vérifier leur adéquation avec les données épidémiologiques de toxicité et de carcinogénicité des contaminations métalliques. Cinq équipes (INSERM, CEA, Institut Curie, IRSN et CNRS) ont tenté de répondre à ces questions à travers leur expertise en chimie, en réparation de l'ADN, en cytogénétique et en éco-toxicologie. Au vu des résultats, les CDB s'avèrent bien responsables de la toxicité et de la carcinogénicité des métaux et une unité d'échelle de risque constitue le principal livrable de notre projet.

Des événements chimiques précoces autour de l'ADN à l'impact sur l'environnement

L'originalité de ce projet est d'avoir réalisé une étude transversale du sujet en analysant les phénomènes induits par la présence des métaux sur les cellules tant au niveau chimique (radicaux libres), moléculaire (dommages de l'ADN), cytogénétique (dommages chromosomiques), sur des cellules humaines (fibroblastes de peau, lymphocytes) comme sur des poissons (zebra fish). En particulier, la technique d'immunofluorescence est en train de révolutionner notre compréhension de la réponse au stress génotoxique en permettant la détection de chaque CDB dans chaque noyau cellulaire. Cette technique appliquée aux différents modèles a permis de montrer que non seulement la présence de Cu, Fe, Zn, Al, Pb, Cr et Cd produit chimiquement des cassures dans l'ADN mais peuvent influencer sur la façon dont ces cassures sont réparées. Suivant le type cellulaire, le statut génétique, on a donc une proportion différente de CDB non- ou mal-réparées conditionnant ainsi spécifiquement le risque toxique et carcinogène.

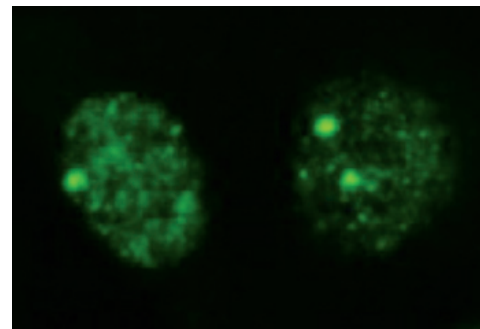


Photo d'immunofluorescence représentative d'une cellule humaine contaminée avec une faible concentration de métal (ici le plomb à 1 µM). Les points lumineux sont des sites de cassures. La quantification et le suivi dans le temps de ces cassures permet d'en déterminer les conséquences biologiques en terme de risque toxique ou cancérigène

HEMI-BREAKS est un projet de recherche fondamentale qui associe 5 équipes : Lrad/CEA de Saclay, U836 Inserm de Grenoble, U610 Inserm de l'Institut Curie-Orsay, LRO/CEA de Fontenay-aux-Roses et SECRE/IRSN de Cadarache. Le projet a débuté en décembre 2008 pour une durée de 24 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 350 k€ pour un budget total de 2 M€.

Résultats majeurs

Pour la première fois, une explication moléculaire cohérente des effets toxiques et carcinogènes de contaminations aux métaux est avancée : la présence de molécules métalliques stimule la production de radicaux libres qui induisent soit des CDB par fixation directe soit indirectement par des réactions en chaîne. Si le métal est fixé sur l'ADN il empêche la bonne réparation des CDB et peut favoriser une mauvaise réparation. Si le métal se fixe sur les protéines (cas du cadmium), il agira à travers la signalisation et pourra également influencer sur la réponse finale au stress.

Production scientifique et brevets

Nos données sur les CDB non- ou mal-réparées nous conduisent à proposer une nouvelle unité de risque appelée chemo-Sievert, à l'image du système de radioprotection. Cinq publications concernant le Pb, le Cd et l'ensemble des métaux ont été acceptées. L'étude doit se poursuivre car nos données sur l'Al et le Cu ont des implications pour les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

Programme SEST édition 2006

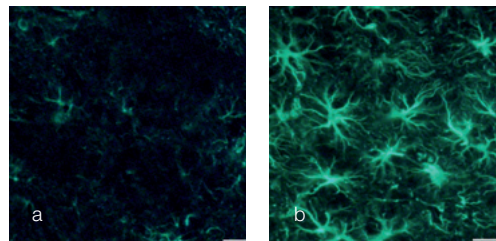
HERBITOX

Des herbicides dans notre environnement :
impacts sur le cerveauEvaluer les effets d'une exposition
chronique à faible dose à un herbicide sur le
fonctionnement du système nerveux central

L'activité économique a conduit à une utilisation massive de produits phytosanitaires pour améliorer les rendements agricoles. Les effets de ces produits sur la santé animale et humaine préoccupent le consommateur. Un rapport de la Direction Générale de la Santé et de la Consommation de la Commission Européenne (2008) indique qu'en France 48 % des fruits et légumes sont contaminés. De plus, l'autorisation de cultiver des plantes transgéniques résistantes aux herbicides ou aux insecticides risque d'accroître encore ce chiffre. En dépit de l'omniprésence des herbicides dans l'environnement, leur impact sur la santé reste difficile à mesurer. Le projet HERBITOX a pour objectif d'étudier les effets neurotoxiques du composé actif d'un herbicide à large spectre : le glufosinate d'ammonium (GLA). Le GLA a pour cible une enzyme des plantes, la glutamine synthétase, dont l'inactivation tue la plante. Cette enzyme est également présente chez les mammifères notamment au niveau du système nerveux central et intervient dans le métabolisme cérébral. Il est alors indispensable d'évaluer précisément les paramètres toxicologiques du GLA lors d'une exposition chronique à faible dose et d'estimer le risque neurotoxique pour l'homme.

Une approche multidisciplinaire associant
chimie, neurobiologie et biophysique

La première étape de ce projet a consisté à obtenir par synthèse chimique les molécules nécessaires. Du GLA purifié a ainsi été produit. L'équipe a alors déterminé les effets neurotoxiques chez des souris d'un traitement chronique à faibles doses de plusieurs semaines au GLA en utilisant des tests comportementaux. L'équipe a recherché si le traitement chronique induisait des modifications de structure du tissu cérébral par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). Comme le GLA est un inhibiteur de la glutamine synthétase, l'hypothèse que le cycle GABA-glutamate-glutamine est perturbé a été émise. Pour vérifier ce point, le métabolisme cérébral a été étudié par Spectroscopie par Résonance Magnétique permettant de quantifier le glutamate, le GABA et la glutamine *in vivo*, et par des mesures *ex-vivo* de l'activité enzymatique de la glutamine synthétase. Lors d'une étude histologique, l'équipe a recherché si ce traitement induisait une mort neuronale et/ou une astrogliose qui est considérée comme un marqueur précoce d'une neurotoxicité. En parallèle, une étude électrophysiologique a été réalisée afin de déterminer si le GLA induit une modification de l'activité neuronale qui serait responsable des effets observés.



L'administration de GLA entraîne chez la souris des modifications de la morphologie et du fonctionnement des cellules du cerveau caractérisée par un astrogliose (changements morphologiques des astrocytes, d'activités enzymatiques, augmentation de l'expression de la GFAP). Il a pu aussi être observé des modifications de l'organisation cérébrale. Coupe de cerveau (région de l'amygdale) chez un animal témoin (a) et chez un animal traité au GLA. Immunocoloration (en vert) de la protéine GFAP dans les astrocytes. Barre d'échelle = 20 µm

HERBITOX est un projet de recherche fondamentale coordonné par le laboratoire de Neurobiologie de l'Université d'Orléans. Il associe aussi le Centre de Biophysique Moléculaire du CNRS d'Orléans et le laboratoire Synthèse et étude de Systèmes à Intérêt Biologique de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand. Le projet a commencé en décembre 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 150 k€ pour un coût global de l'ordre de 663 k€.

Résultats majeurs

Le GLA est une molécule fortement active sur le cerveau même à très faible dose. Ce traitement expérimental correspondrait à une exposition pendant 5 ans chez l'Homme, avec une dose journalière de 1,1 mg/kg. Cette dose est 10 fois inférieure à la NOAEL déterminée pour la souris qui est de 11 mg/kg/jour. L'IRM est une méthode non invasive performante pour suivre des altérations du tissu cérébral. Elle devrait être un outil complémentaire de ceux déjà utilisés pour mettre en évidence l'effet neurotoxique de substances commercialisées.

Production scientifique et brevets

Dans le cadre de ce projet, deux articles réalisés par les différents partenaires ont été publiés dans des journaux internationaux avec comité de lecture ; *Neurotoxicology* et *Toxicological Science*. L'ensemble de ces résultats ont également donné lieu à 5 communications dans des congrès nationaux et internationaux et la rédaction d'une thèse. Ces travaux mettent en évidence les effets toxiques d'une exposition chronique à un herbicide sur le fonctionnement du cerveau.

Programme CES édition 2010

MACHLOMA

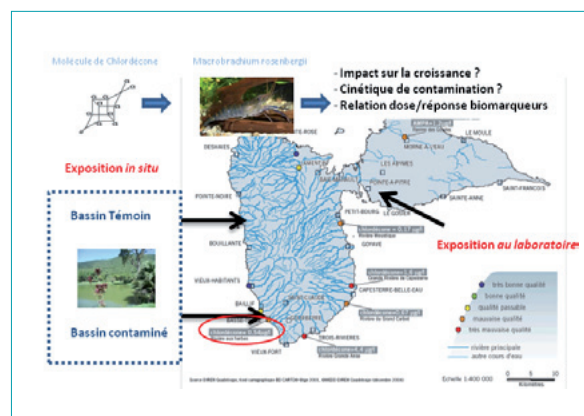
Evaluation écotoxicologique de la chlordécone sur un crustacé modèle d'eau douce

Cinétique de la contamination des différents tissus en fonction de la dose et de la durée d'exposition à la chlordécone chez le crustacé d'élevage *Macrobrachium rosenbergii*

En Guadeloupe, l'utilisation de chlordécone en bananeraies est à l'origine de pollutions avérées des sols, des ressources en eau et des organismes vivants. Beaucoup de questions sont toujours sans réponse quand au mode de contamination par la chlordécone des animaux aquatiques dont le ouassou (*M. rosenbergii*), sur sa biodisponibilité et sur la capacité qu'ont les crustacés de pouvoir l'éliminer mais également sur ses mécanismes d'action en tant que neurotoxique et perturbateur endocrinien. Dans ce projet des individus seront mis en élevage dans des bassins de ferme aquacole (milieu naturel) ayant des caractéristiques différentes quant à la contamination par la chlordécone et d'autres seront directement intoxiqués par la chlordécone en laboratoire, de façon à établir des relations concentrations-réponses, en tenant compte des concentrations en chlordécone rencontrées dans les rivières.

Etude des mécanismes d'action de la chlordécone sur la croissance des organismes, au niveau neuronal et en tant que perturbateur endocrinien potentiel

Très peu de données existent sur la toxicité de la chlordécone et son impact sur les invertébrés aquatiques. Au vu de cette absence de connaissances, la démarche utilisée dans le projet a été d'identifier des biomarqueurs décrits dans la littérature comme pouvant répondre à une pollution organique par les organochlorés. L'ACHé est une enzyme présente au niveau du système nerveux dont le rôle chez les vertébrés consiste à hydrolyser l'acétylcholine, médiateur chimique intervenant dans la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses des jonctions neuromusculaires et interneuronales. De même, il est désormais bien établi que le métabolisme hormonal des crustacés peut être perturbé par des polluants de l'environnement et en particulier les ecdystéroïdes et la vitellogénine. Le rôle éventuel de la Glutathion S Transferase (GST) sera également appréhendé. Afin d'identifier l'implication d'autres mécanismes suite à une exposition à la chlordécone, des techniques de protéomiques et de transcriptomiques seront mises en oeuvre dans ce projet.



MACHLOMA est un projet de recherche coordonné par l'équipe DYNECAR EA926 (Université des Antilles et de la Guyane). Il associe aussi des équipes de l'INRA de Rennes, de l'Université du Havre et l'Université de Liège en Belgique. Le projet a démarré en décembre 2010 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 290 k€ pour un coût global de l'ordre de 446 k€.

Résultats majeurs

Cette phase d'acquisition de connaissances à travers le projet MACHLOMA est nécessaire d'une part à l'évaluation du risque de contamination de produits d'élevages aquacoles aux Antilles (appui aux professionnels de l'aquaculture locale), et d'autre part à la mise en oeuvre d'une approche de bioindication in situ pertinente.

Production scientifique et brevets

À ce jour, aucune publication n'a encore été publiée.

Programme CES édition 2009

MÉLODIE-REVE

Comprendre et traiter l'empreinte toxique des polluants dans les pathologies intestinales

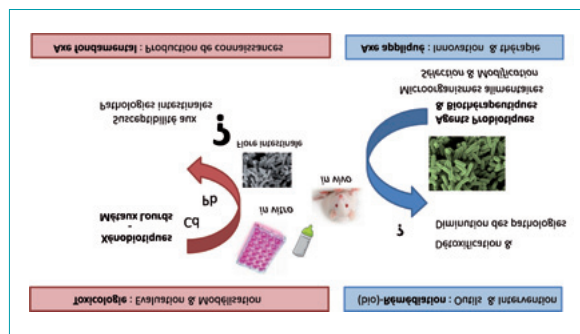
Comprendre et traiter l'empreinte toxique des polluants dans les pathologies intestinales

Les altérations de l'écosystème digestif influencent fortement l'immunité des muqueuses en induisant ou favorisant les affections gastro-intestinales latentes et préexistantes. Le projet aborde les aspects éco-toxicologiques des métaux lourds sur l'écosystème intestinal en ciblant particulièrement le rôle central du microbiote dans le maintien de l'homéostasie intestinale. En premier lieu, l'équipe modélise les conséquences d'une exposition orale chronique à des sels de plomb et de cadmium, en conditions basales puis dans des situations pathologiques chez le rongeur. En plus d'établir le rôle pro- ou anti-inflammatoire des métaux lourds et leur impact sur les réponses immunes intestinales (facteurs de risques), une attention particulière adresse les effets directs de ces xénobiotiques sur la flore. L'axe appliqué du projet propose une approche préventive et thérapeutique basée sur la manipulation du microbiote intestinal. L'utilisation de bactéries lactiques et de levures naturelles sélectionnées peut non seulement limiter les risques d'entrée et de persistance des contaminants métalliques au niveau du tractus digestif (bio-remédiation), mais ces microorganismes alimentaires en transit peuvent aussi en réduire les effets (action probiotique).

Une approche pluridisciplinaire pour une stratégie originale

Le projet intègre de nombreux champs d'expertises complémentaires des 3 partenaires, associant notamment la chimie des métaux et leur dosage, l'immunologie, la microbiologie et la génotoxicologie. La multiplicité des marqueurs et mesures obtenues à la fois *in vitro* (cellules humaines immunocompétentes et épithéliales) et dans des modèles animaux de pathologies (inflammations et infections digestives) convergent pour documenter et modéliser la dissémination des métaux à travers les muqueuses et leur impact sur l'immunité et l'écophysiologie intestinale. La détermination quantitative et qualitative de la flore intestinale (métagénomique) ainsi que l'utilisation d'animaux axéniques (dépourvus de flore intestinale) précisent le rôle central du microbiote.

Pour l'axe bio-remédiation, la sélection *in vitro* de microorganismes « naturels » à propriétés chélatrices de métaux lourds est complétée par la construction de bactéries génétiquement modifiées en protéines de surface pour accroître leur pouvoir immobilisateur de particules. Enfin, les meilleurs candidats limitant l'action délétère des métaux lourds seront retenus pour une intervention dans les modèles *in vivo* pré-établis afin de valider le concept « Probiotiques versus Xénobiotiques » dans un contexte préclinique.



Méloдие-Reve est un projet de développement expérimental coordonné par l'Institut Pasteur de Lille. Il associe le Centre d'Immunité et d'Infection de Lille (Inserm U1019 - CNRS UMR8204, Université de Lille Nord de France et l'Institut Pasteur de Lille), le laboratoire de Génotoxicologie (Institut Pasteur de Lille) et l'entité privée IPL santé, environnement durables Nord. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 355 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,05 M€.

Résultats majeurs

Les modélisations *in vitro* et *in vivo* ont générées un grand nombre de données précisant les valeurs seuils d'exposition chroniques et leur retentissement sur l'écosystème digestif. Un rôle clé de la flore intestinale dans la diffusion et l'accumulation des polluants est clairement établi. Les conséquences de cette chronicité en terme de susceptibilité aux pathologies induites sont peu marquées, suggérant une adaptation de l'organisme.

Plusieurs microorganismes d'intérêts sont d'ores et déjà retenus sur la base de leurs propriétés intrinsèques. Une extension au domaine prometteur des microalgues a été réalisée, créant un partenariat avec un industriel de premier plan international.

Production scientifique et brevets

Un minimum de 5 publications dans des revues internationales à comité de lecture est attendu à l'issue des derniers développements (trois manuscrits en préparation).

2 conférences invitées (Entretiens Environnement Santé & Symposium on Intestinal flora: from physiology to metagenomic analysis) ainsi que de nombreux séminaires nationaux (CNRS, INRA, INSERM intensifiant un réseau collaboratif académique (Rennes, Lille, Orléans, Paris). Le projet a par ailleurs fortement contribué à mettre en place une thèse CIFRE dans un champ d'application voisin.

Programme CES édition 2008

NEED

Plastiques, pesticides et autres : quels dangers pour notre cerveau ?

Comprendre les effets des perturbateurs endocriniens sur le cerveau

Il est connu que de nombreuses substances chimiques d'origines industrielles (plastiques, PCB, dioxines) ou pharmaceutiques (résidus de médicaments) sont présentes en abondance dans le milieu naturel, dans les eaux de surface ou dans notre environnement domestique. Ces produits, appelés perturbateurs endocriniens (PE) peuvent interférer avec les systèmes endocriniens chez l'Homme ou les espèces animales, en particulier en mimant les effets de nos propres hormones.

Les effets des PEs ont pour l'instant été étudiés essentiellement au niveau périphérique, notamment dans les glandes génitales, et il existe très peu de données sur les effets possibles au niveau du système nerveux, en particulier au cours de la période très vulnérable que constitue le développement embryonnaire.

Les objectifs du projet NEED sont d'évaluer les effets des composés à activité œstrogénique (susceptible de mimer les effets de l'œstradiol, une hormone cruciale pour la reproduction) et à activité dioxine sur le développement des circuits neuronaux qui, dans le cerveau, contrôlent le système reproducteur (neurones, cellules astrogliales, et cellules gonadotropes hypophysaires).

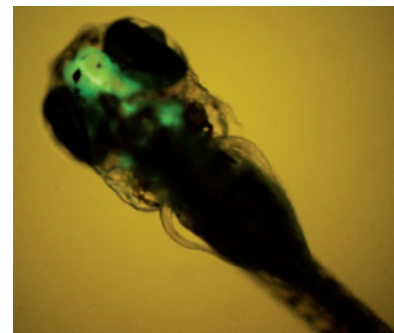
Développer des modèles *in vivo* ou *in vitro* pertinents

Le projet fait appel à des techniques de biologie moléculaire, d'exploration cérébrale en microscopie de fluorescence, de cultures cellulaires et de transgénèse. L'ensemble de ces approches est employé pour étudier l'influence de polluants perturbateurs endocriniens dans différents modèles biologiques : la souris et le poisson zèbre. Notre travail a insisté sur l'exposition d'embryons qui sont particulièrement sensibles aux perturbateurs endocriniens. Pour ce faire, l'exposition se fait soit *in utero* via les mères gestantes (souris) soit en contaminant directement l'eau lorsqu'il s'agit d'embryons de poissons zèbre. L'analyse de circuits neuro-endocrines au cours du développement du cerveau requiert l'emploi de techniques fines assez complexes à mettre en œuvre. Dans ce contexte, l'utilisation d'une lignée de poisson zèbre transgénique exprimant la GFP sous le contrôle d'un gène très sensible aux œstrogènes permet la mesure *in vivo* de l'effet de substances œstrogéniques.

Résultats majeurs

Faits marquants :

- Mise en évidence d'un effet des composés œstrogéniques sur le développement de certains circuits neuronaux (poisson, souris) ;
- Démonstration du fait que les cellules souches du cerveau sont des cibles directes de perturbateurs endocriniens de nature œstrogénique ;
- Mise en évidence d'un effet des composés œstrogéniques sur l'activité des progéniteurs neuronaux ;
- Développement et validation de test d'évaluation susceptible d'aider à l'évaluation des risques liés aux perturbateurs endocriniens.



Vue dorsale d'un poisson transgénique tg (cyp19a1b-GFP) dont le cerveau devient fluorescent lorsqu'il est exposé à des substances œstrogéniques.

Le gène ciblé est celui de l'aromatase (cyp19a1b), un gène extrêmement sensible aux œstrogènes. A l'aide de ce modèle original, NEED montre que de nombreux polluants de l'environnement affectent le cerveau soit en agissant comme des mimétiques d'œstrogènes (exemple de nombreux produits plastifiants), soit en agissant comme des anti-œstrogènes (exemple de la dioxine)

NEED est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'INSERM U1085 IRSET Rennes qui associait l'INERIS, l'Université de Paris 7, et l'INRA. Ce projet a démarré en 2008 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 650 k€.

Ce projet a permis la participation à trois réseaux européens TC2N (INTEREG) portant sur les pathologies cérébrales (dont perturbations endocriniennes), EuFishBiomed (COST) et FISHINTOX (International Training Network en cours d'évaluation) portant sur l'utilisation des modèles poissons pour des retombées utiles dans le domaine de la santé humaine. Développement de plusieurs collaborations internationales dans le but de valider le test sur poisson transgénique.

Production scientifique et brevets

Ce projet a permis la publication d'articles originaux et de revues de synthèse dans des revues scientifiques internationales de rang A, de chapitres d'ouvrage, la présentation à de nombreuses communications scientifiques ainsi que de l'organisation du premier Symposium International relatif aux « Neuroendocrine Effects of Endocrine Disruptors » Rouen, Juillet 2010. Plusieurs conférences grand public ont été données et le projet a été présenté à des élèves de lycée. Il a également permis le développement d'un test (non brevetable) qui sera prochainement présenté à l'OCDE en vue d'une validation et d'une reconnaissance pour l'évaluation des dangers des substances chimiques dans le cadre du programme REACH.

Programme CES édition 2010

NEUROPEST

Exposition périnatale aux pesticides :
impact sur le cerveau et la reproduction

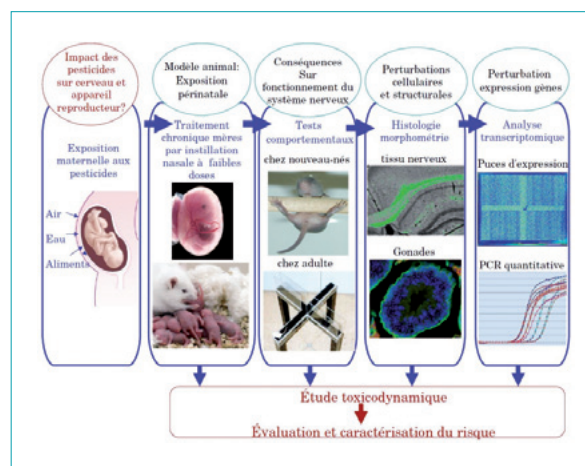
Évaluation des conséquences d'une exposition chronique aux pesticides pendant la période intra-utérine et néonatale sur la mise en place et le fonctionnement du système nerveux et reproducteur

L'usage intensif des pesticides depuis plus d'un demi-siècle a pour conséquence une contamination globale de notre environnement, aussi bien, dans le sol, les eaux, l'air, mais aussi dans les aliments d'origine végétale et animale. Ainsi, de nombreux résidus de pesticides sont détectés dans l'organisme humain (urine, sang, tissu adipeux, lait maternel, placenta et cordon ombilical). Depuis quelques années, plusieurs études épidémiologiques mettent en évidence un lien entre la survenue de troubles neurologiques (autisme, déficiences mentales) ou de malformations de l'appareil génital chez les enfants et l'exposition aux pesticides de leurs mères lors de la période de gestation. Les périodes pré et postnatales étant les plus sensibles aux contaminations par des xénobiotiques, l'équipe a décidé d'étudier l'impact d'une exposition périnatale à faibles doses de différents pesticides sur le développement et le fonctionnement cérébral et reproducteur chez la souris. Nous avons choisi d'étudier les effets neurotoxiques du glufosinate d'ammonium, composé actif d'herbicide commun, la cyperméthrine, composé actif d'insecticide pyréthroïde, l'atrazine, molécule herbicide.

Étude neurotoxicologique et reprotoxique
interdisciplinaire

Les souris sont exposées aux pesticides pendant toute la durée de gestation et de lactation. Cette exposition à faible dose se fait par instillation nasale dans le but de mimer un mode d'exposition plus proche des expositions humaines. L'approche neurotoxicologique de ce projet est interdisciplinaire et a pour objectifs :

- d'analyser simultanément les perturbations au niveau cellulaire et structurales du système nerveux central et reproducteur chez les fœtus, les nouveau-nés et les adultes exposés pendant la période périnatale. Cette approche se fait par des études immunohistologiques, morphométriques et *in vitro* (culture cellulaire et organotypique) ;
- d'étudier les conséquences de ces modifications structurales et cellulaires sur la maturation fonctionnelle du système nerveux et sur le comportement à long terme. Pour cela, des tests sensorimoteurs sont effectués chez les nouveau-nés et des tests comportementaux (apprentissage, interaction sociale..) chez l'adulte exposé pendant la période périnatale ;
- d'étudier l'impact sur l'expression du génome. Une étude transcriptomique nous permet d'identifier les gènes perturbés au niveau de leur expression par cette exposition.



NEUROPEST associe les équipes « Neurogénétique » du laboratoire d'Immunologie et Neurogénétique Expérimentales & Moléculaires (INEM (ex-IEM) UMR7355 CNRS - Université d'Orléans, « Environnement Chimique et Reproduction » INSERM U.625, Université de Rennes 1 et « Neurobiologie » - Université d'Orléans. Il a débuté en novembre 2010 pour une période de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 350 k€ pour un budget total de 952 k€.

Résultats majeurs

Le projet entre dans le contexte de l'analyse du risque constitué par les xénobiotiques nécessitant de prendre en compte la vulnérabilité périnatale et les conséquences à long terme d'une programmation altérée sur les systèmes nerveux et reproducteurs. Les résultats montrent déjà à ce jour un impact sur le développement et en particulier, la modification de l'expression de gènes connu pour être impliqués dans des pathologies du système nerveux. Ce projet de travail doit donc permettre l'évaluation des risques pour contribuer au renforcement de la sécurité des populations, de contribuer au débat public, d'éclairer des choix sociétaux et de fournir un appui scientifique à la décision publique. Il a aussi permis d'établir des partenariats nationaux et a suscité un intérêt régional conduisant à l'obtention d'une bourse de thèse de la région sur ce programme de recherche.

Production scientifique et brevets

Aucune publication parue à ce jour.

Programme CES édition 2009

NISTEC

Nouvelles stratégies *in vitro* pour étudier la toxicité hépatique des contaminants chimiques

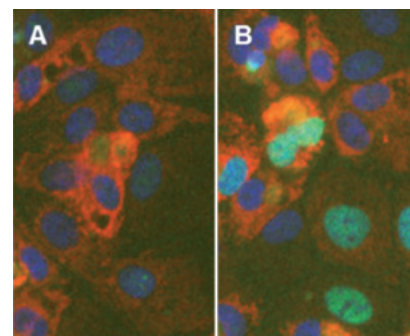
Nouvelles stratégies *in vitro* pour évaluer la toxicité chronique et le potentiel cancérigène des contaminants de l'environnement

L'exposition humaine aux produits chimiques est pratiquement inévitable en raison de la contamination de l'air, de l'eau et de la chaîne alimentaire. Certains de ces contaminants sont mutagènes et/ou cancérigènes chez l'animal. D'autres sont soupçonnés d'être des perturbateurs endocriniens. Cependant, il est difficile d'explorer directement ces effets toxiques chez l'homme. L'insuffisance actuelle des connaissances sur les effets des produits chimiques anthropogènes a conduit l'Union Européenne à lancer le programme REACH, qui vise à évaluer la toxicité de plus de 30 000 molécules en promouvant des méthodes d'évaluation alternatives aux expérimentations *in vivo*. Le projet NISTEC s'inscrit dans cette démarche. Il propose de nouvelles stratégies *in vitro* pour évaluer la toxicité chronique et la génotoxicité des contaminants chimiques. Les principaux objectifs sont : de développer des tests spécifiques, reproductibles et automatisés, par une approche basée sur l'imagerie ; d'étudier les effets cytotoxiques et génotoxiques aigus et chroniques d'une dizaine de contaminants modèles, individuellement ou en mélange ; et d'identifier de nouveaux biomarqueurs par les approches de transcriptomique et de métabolomique.

Evaluation de la toxicité de contaminants de l'environnement par des approches *in vitro* et identification de marqueurs d'exposition par l'étude des profils d'expression génique et métaboliques (empreintes métaboliques, réseaux métaboliques)

Pour répondre à ces différents objectifs, le projet NISTEC propose des stratégies originales et innovantes :

- utilisation de la lignée HepaRG (lignée de cellules hépatiques), qui possède à la fois les propriétés fonctionnelles des hépatocytes primaires et la capacité de prolifération indéfinie des lignées d'hépatome. Cette lignée peut être utilisée indifférenciée ou différenciée, constituant un outil unique pour l'étude des effets chroniques des composés chimiques ;
- utilisation d'une plate-forme (ImPACcell) permettant une analyse multiparamétrique couplée à l'imagerie en condition automatisée et miniaturisée ; différents tests de génotoxicité sont en cours de mise au point sur cette plate-forme ;
- recherche de biomarqueurs par des approches de transcriptomique et de métabolomique fédérant des chercheurs ayant des compétences complémentaires. Une dizaine de contaminants de référence, nécessitant ou pas une bioactivation métabolique hépatique, servent de modèles d'étude : composés génotoxiques (méthyl méthane sulfonate et aflatoxine B1), composés aromatiques (benzo[a]pyrène, diméthylbenzantracène, fluoranthène), plastifiants (bisphénol A, diéthyle-hexyl-phthalate), pesticides (endosulfan et fipronil).



Effets génotoxiques de l'aflatoxine B1 sur les cellules HepaRG. Immunomarquage des cellules HepaRG non traitées (A) ou traitées par l'aflatoxine B1 (B). Les noyaux sont colorés en bleu ; l'expression d'une enzyme de stress (la superoxyde dismutase) est représentée en rouge ; la coloration verte des noyaux (B) traduit les lésions de l'ADN (marquage de l'histone H2AX)

NISTEC est un projet de recherche appliquée, coordonné par l'INSERM UMR991, Rennes. Il associe également l'INRA UMR1331 TOXALIM Toulouse. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 690 k€, pour un coût global de l'ordre de 2 M€.

Résultats majeurs

Les cellules issues de la lignée HepaRG expriment de fortes capacités métaboliques, et sont capables de réaliser une variété de réactions de biotransformation des xénobiotiques.

Nous avons adapté et optimisé un test de génotoxicité, le test du micronoyau, sur le modèle cellulaire HepaRG. Nous avons mis en évidence un set de gènes dont certains pourraient servir de biomarqueurs d'exposition à l'Aflatoxine B1 et potentiellement être utilisés pour distinguer les composés génotoxiques de composés non génotoxiques. Nous avons montré qu'il est possible d'étudier la toxicité chronique de faibles doses de contaminants. En RMN (empreintes métaboliques), nous avons démontré qu'il était possible de différencier les cellules non traitées de cellules exposées à des concentrations de bisphénol A de 10^{-6} à 10^{-12} M. Ces effets ne sont pas uniquement attribuables aux propriétés xéno-œstrogéniques de ce composé modèle.

Production scientifique et brevets

Le projet a pour l'instant conduit à deux publications (Jossé et coll. *Mutagenesis*, in press et Jossé et coll. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012, 258:176-87). Daniel Zalko a fait une présentation intitulée « HepaRG, xenobiotic metabolism and metabolomic studies » au workshop HepaRG (Rennes, 21-23 septembre 2011). L'étude de la toxicité chronique des 10 composés testés a été présentée en mars 2012 au congrès international de la Society of Toxicology, sous forme de poster : « Chronic toxicity of environmental contaminants in human HepaRG hepatocytes. » Lambert C, Martinis S, Cassecuel J, Morel F, Robin MA.

Programme CES édition 2008

PERICLES

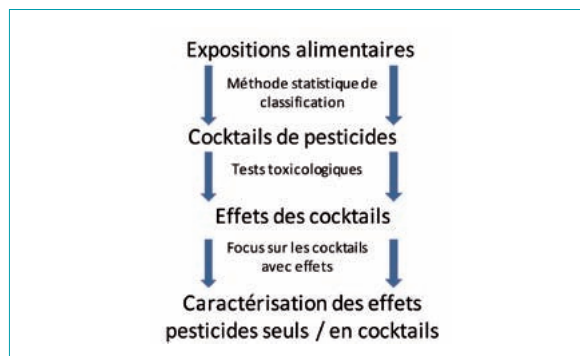
Etudes des effets cocktails chez l'homme, de l'exposition alimentaire aux pesticides

Quels sont les cocktails de pesticides auxquels le consommateur est exposé via son alimentation et existe-il des effets cocktails ?

Les consommateurs par leur alimentation sont susceptibles d'être exposés à des cocktails de pesticides pour lesquels les effets combinés sur leur santé sont peu documentés à ce jour. En effet, la multitude des substances présentes sur le marché (plus de 300 réglementées) rend difficile l'identification de cocktails à étudier en priorité. Par ailleurs, les procédures actuelles d'évaluation de la toxicité des substances actives sont basées sur une évaluation individuelle, sans tenir compte des effets combinés potentiels plus complexes à caractériser. Ainsi, il n'existe pas aujourd'hui de méthode d'évaluation du risque prenant en compte les interactions entre substances. L'originalité du programme PERICLES est d'aborder la problématique des cocktails en partant de l'exposition réelle de la population française afin d'appréhender la nature des effets cocktails *in vitro* sur des cellules d'origine humaine. L'objectif du programme est de contribuer à l'étude des cocktails qui représente un enjeu scientifique et sociétal important via des développements méthodologiques en statistique et en toxicologie.

Méthode statistique de classification de profils d'exposition à plusieurs substances et batteries de tests toxicologiques réalisés sur différents modèles cellulaires humains

L'exposition au cours d'une journée de la population française aux résidus de pesticides retrouvés dans l'alimentation (n=79) a été évaluée en tenant compte de leur niveau observé dans les aliments et des habitudes de consommation de la population. Une méthode statistique de classification a été développée et appliquée à ces expositions afin de déterminer les principaux cocktails et les principaux aliments vecteurs. Sept cocktails contenant de 2 à 6 pesticides ont ainsi été identifiés et une batterie de tests toxicologiques *in vitro*, évaluant la viabilité cellulaire, la génotoxicité, l'activation de récepteurs xéno-hormonaux et d'autres biomarqueurs ont été réalisés sur des lignées cellulaires représentatives de différents organes humains (foie, rein, intestin, cerveau, colon). Les résultats ont permis de concentrer la suite des études sur 3 cocktails présentant les effets les plus significatifs. Les effets toxicologiques des pesticides seuls ont été comparés aux modèles d'additivité des doses et d'additivité des réponses afin de déterminer s'il est possible de prévoir l'effet d'un cocktail sur la base des connaissances des effets toxicologiques des pesticides seuls.



Démarche développée dans le programme PERICLES afin d'appréhender la problématique des cocktails de pesticides

PERICLES est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, Alimentation, Environnement, Travail. Il fait intervenir 2 équipes spécialisées en statistique et modélisation au sein de l'Anses (Direction de l'Évaluation des Risques) et de l'Inra (Unité Mét@risk), ainsi que 4 autres équipes spécialisées en toxicologie : l'unité de Toxicologie des contaminants de Fougères et la Direction des Produits Réglementés au sein de l'Anses et l'Unité INRA TOXALIM impliquant l'équipe de Toxicologie Cellulaire, et Moléculaire et Génomique des pesticides de Sophia-Antipolis, et l'équipe Métabolisme des Xénobiotiques de Toulouse. Ce projet a démarré en janvier 2009 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 350 k€ pour un coût global de l'ordre d'1,1 M€.

Résultats majeurs

L'étude des effets des 7 cocktails a permis de mettre en évidence des effets cytotoxiques plus ou moins importants selon les cocktails et les lignées cellulaires, alors qu'un cocktail se révélait génotoxique sur une lignée hépatique. Les résultats mettent en évidence une grande variabilité de la sensibilité des modèles cellulaires et des tests réalisés. Ainsi, selon les effets et les cellules étudiées, ces cocktails produisent des effets additifs, synergiques, antagonistes ou potentialisateurs, montrant la difficulté de prédire la réponse des cocktails à partir des résultats des réponses et des doses des pesticides seuls.

Production scientifique et brevets

La formalisation de la méthode de classification des cocktails a été publiée dans une revue de statistique fondamentale. L'illustration de son application et la composition des 7 cocktails a été soumise pour publication dans une revue appliquée. Les résultats de l'étude de la génotoxicité des cocktails ont été publiés dans deux revues de toxicologie appliquée. Les études portant sur la toxicité cellulaire des cocktails ont été soumises dans deux autres revues de toxicologie appliquée. Plus d'une dizaine de communications ont été données sous forme orale ou poster dans des colloques en toxicologie et en statistique.

Programme CES édition 2010

PERINATOX

Perturbateurs endocriniens et développement : une question de santé publique

Impacts périnataux du Bisphénol A sur les fonctions intestinales et métaboliques

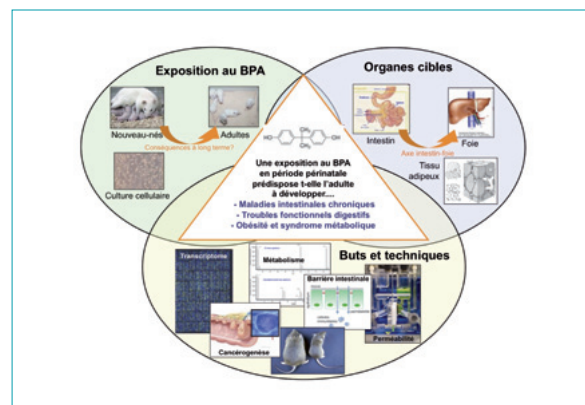
De récentes études font état d'un lien entre l'exposition à des perturbateurs endocriniens en période périnatale et l'apparition de maladies à l'âge adulte. Les travaux chez l'animal ont en particulier décrit des effets néfastes de l'exposition fœtale et du nouveau-né au bisphénol A (BPA), un agent chimique entrant dans la composition de nombreux plastiques au contact des aliments (plastiques polycarbonates, résines époxydes des boîtes de conserves et canettes de boisson). Le BPA est capable de mimer l'action des oestrogènes naturels produits par l'organisme, avec une probabilité d'effet dès les faibles doses. Ces propriétés ont récemment conduit les agences d'évaluation du risque (ANSES) à réévaluer les niveaux d'exposition chez l'homme. Le projet Perinatox a pour but d'apporter aux autorités sanitaires des éclaircissements sur les impacts d'une exposition périnatale au BPA sur le développement de l'intestin, du foie et du tissu adipeux, et d'identifier les mécanismes pouvant fragiliser la santé de l'individu jusqu'à l'âge adulte (prédisposition aux maladies intestinales, effet obésogène...). Les perspectives sont d'évaluer les effets de faibles doses de BPA sur la santé lorsque l'exposition débute pendant la période de développement de fonctions clés de l'organisme.

Empreintes transcriptomiques, métabolomiques et fonctionnelles du BPA dans l'intestin, le foie et le tissu adipeux du nouveau-né à l'âge adulte

Des approches *in vivo* (rat, souris) et *in vitro* (cellules humaines en culture) sont mises en œuvre pour identifier la pluralité d'effets du BPA pour les trois cibles d'intérêt (intestin, foie, tissu adipeux) et les mécanismes mis en jeu, soit par l'utilisation d'agents pharmacologiques spécifiques, soit par des méthodes d'inactivation ou de surexpression de gènes. Le suivi et l'étude du devenir du BPA dans l'organisme jusqu'au fœtus permettent d'anticiper l'effet de la molécule sur les organes en développement. Des approches de transcriptomique à haut débit (analyse simultanée de 40 000 gènes sur « puce ADN ») et de métabolomique (analyse de l'ensemble des métabolites contenus dans un système biologique) donnent une image précise des groupes de gènes et de métabolites dont l'expression et la diversité est affectée par le BPA. L'évaluation chez l'animal, jeune puis adulte, de la perméabilité de l'intestin (absorbe les nutriments en faisant barrière aux indésirables), de la réactivité du système immunitaire face à des agresseurs (antigènes alimentaires, toxines...) ou de la mise en place des fonctions métaboliques et de détoxification permet d'apprécier conjointement si l'exposition au BPA prédispose l'individu au développement de pathologies chroniques de l'adulte touchant l'intestin, le foie et l'équilibre énergétique de l'organisme (maladies inflammatoires et métaboliques, cancérogénèse).

Résultats majeurs

Les recherches au cours de cette première année témoignent de l'impact, dès la naissance, de faibles doses de BPA sur la mise en



Perinatox développe des études chez l'animal et sur cellules humaines pour identifier les conséquences d'une exposition aux faibles doses de BPA sur le développement d'organes et la santé de l'individu, jeune puis adulte

place des défenses de l'hôte, notamment face à des antigènes alimentaires ou des xénobiotiques (molécules étrangères inorganiques), ou encore sur l'équilibre de la balance énergétique de l'organisme. Les travaux se poursuivent pour caractériser les altérations dans la séquence de maturation des fonctions immunitaires de l'intestin et métaboliques du foie, puis en testant à l'âge adulte l'homéostasie du système immunitaire (tolérance orale, immunisation) et la réactivité de l'organisme à divers agresseurs (bactéries pathogènes, parasites, régime alimentaire gras).

Perinatox associe 5 équipes INRA du Centre de Recherche en Toxicologie Alimentaire (Toxalim, INRA Toulouse) et 2 équipes IN-SERM de l'Institut de Médecine Moléculaire de Rangueil (IM2R, Toulouse) et de l'Université de Rennes 1. Il a débuté en novembre 2010 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 750 k€ pour un budget total de d'ordre de 3,3 M€.

Production scientifique et brevets

Marmugi et al. Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver. Hepatology, 2011. Cet article s'est intéressé aux répercussions sur le métabolisme des lipides dans le foie d'une exposition prolongée au BPA, à des doses jusqu'à 10 fois inférieures à la dose journalière admissible.

Braniste et al. Bisphenol A in the Gut: Another Break in the Wall? Dans: Multi-System Endocrine Disruption, Research and Perspectives in Endocrine Interactions. Springer, 2011. Ce chapitre de revue reprend les thèmes du projet, accompagnés de premiers résultats sur le devenir du BPA chez le fœtus et les conséquences sur le développement de l'intestin.

Programme CES édition 2009

PHARMECO

Les résidus médicamenteux contaminant les milieux aquatiques : quels risques pour le foie ?

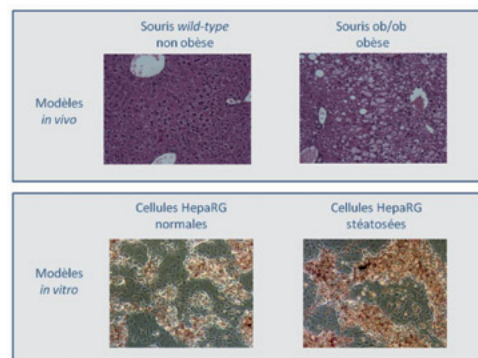
Les médicaments contaminants environnementaux : existe-t-il un risque de toxicité pour le foie normal ou obèse ?

De nombreuses études indiquent que les médicaments peuvent contaminer l'environnement, et en particulier le milieu aquatique. Les effets délétères d'une telle contamination sur la santé sont actuellement peu connus. Le foie représente une cible fréquente de la toxicité des médicaments. De plus, une préoccupation émergente est la susceptibilité des sujets obèses aux effets hépatotoxiques des xénobiotiques, peut-être du fait de la présence dans le foie d'une surcharge lipidique (stéatose) qui sensibiliserait les hépatocytes. Ainsi, le but du projet PHARMECO est de mieux connaître les effets potentiellement toxiques d'un mélange de médicaments contaminant les milieux aquatiques, en particulier au niveau hépatique. Pour cela, les effets d'un mélange de 11 molécules ont été évalués sur des modèles expérimentaux *in vivo* (souris témoins et obèses) et *in vitro* (cellules hépatiques surchargées ou non en lipides). Ces deux approches complémentaires devraient permettre de déterminer si de faibles concentrations d'un mélange de médicaments sont susceptibles d'induire au niveau du foie un stress oxydant et des dysfonctions mitochondriales, ou d'altérer l'expression de gènes hépatiques.

Recherche des effets hépatotoxiques par l'étude du profil de l'expression génique, du stress oxydant et des dysfonctions mitochondriales

Les investigations expérimentales ont été réalisées grâce à deux approches :

- une approche *in vivo*, en utilisant des souris normales (wild-type) et des souris obèses (ob/ob) qui présentent une stéatose hépatique massive (voir illustration); ces souris ont été traitées pendant 4 mois avec de faibles concentrations d'un mélange de 11 médicaments qui sont fréquemment retrouvés dans les milieux aquatiques ;
- une approche *in vitro*, grâce à des cellules HepaRG, une lignée de cellules hépatiques, incubées ou non avec un mélange d'acides gras (acides palmitique et oléique) induisant une stéatose (voir illustration) ; ces cellules ont été exposées pendant 14 jours au même mélange de médicaments que celui utilisé pour l'étude *in vivo*. L'étude porte sur les paramètres suivants : stress oxydant, dysfonctions mitochondriales et profils géniques (microarray par puces Agilent 4x44k). Une analyse histologique des foies des souris traitées est en cours. Etant donné les faibles concentrations des médicaments utilisées dans les mélanges (de 1 ng/L à 1 µg/L), l'étude des profils d'expression génique nous assure de détecter des effets toxiques qui n'auraient pas d'expression phénotypique.



Au cours du projet PHARMECO, les investigations ont été réalisées grâce à deux approches expérimentales : 1) une approche *in vivo*, en utilisant des souris normales (wild-type), sans stéatose hépatique, et des souris obèses ob/ob présentant une stéatose massive (coloration des foies mettant en évidence des vésicules blanches témoignant de la présence de lipides); 2) une approche *in vitro*, grâce à des cellules HepaRG incubées ou non avec un mélange d'acides gras (acides palmitique et oléique) induisant une accumulation de lipides au niveau intracellulaire (coloration des vésicules lipidiques par l'huile rouge)

PHARMECO est un projet de recherche fondamentale coordonné par Bernard FROMENTY. Il associe une équipe INSERM (Equipe n°3, INSERM UMR 991, Rennes) et Mitologics, une biotech parisienne. Le projet a commencé fin 2009 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 454 K€ pour un coût global de l'ordre 1,2 M€.

Résultats majeurs

Les résultats préliminaires dans les modèles *in vivo* et *in vitro* suggèrent que le mélange de médicaments présente des effets significatifs sur les profils d'expression génique lorsque les concentrations de ces molécules sont de 0,1 et 1 µg/L. De plus, ces effets sont différents en fonction de la présence ou non de la stéatose. La technique de qPCR va maintenant être utilisée afin de savoir si l'expression de certains gènes d'intérêt est altérée pour des concentrations inférieures, plus proches de celles retrouvées dans le milieu aquatique. Combinées avec la recherche de modifications phénotypiques au niveau du foie, ou des cellules HepaRG, ces investigations devraient permettre de mieux connaître les effets hépatiques d'un mélange de médicaments contaminant l'environnement.

Production scientifique et brevets

Soumission d'un poster à la conférence EUROTOX 2012 (Stockholm, Suède).

S. Anthérieu, M.A. Robin, B. Fromenty: Low doses of water pharmaceutical contaminants disturb hepatic gene expression in mice.

Programme CD2I édition 2007

SYSBIOX

Développement d'une approche *in vitro/in silico* « la métabolomique-sur-biopuce »

Une approche *in vitro/in silico* pour prédire la toxicité de xénobiotiques

En complément des systèmes *in vitro* traditionnels tels que les micro-puits ou les boîtes de Pétri, les biopuces microfluidiques ont connu récemment un fort développement. Ces microsystèmes *in vitro* permettent une culture cellulaire dynamique (c'est-à-dire avec un fluide circulant) afin de reproduire l'environnement cellulaire *in vivo*. Parce que cette nouvelle génération de tests *in vitro* est conceptuellement différente des systèmes traditionnels non perfusés, le fonctionnement des cellules et le comportement des xénobiotiques seront différents de ceux observés en systèmes non perfusés. Il apparaît donc essentiel d'évaluer la pertinence des systèmes microfluidiques pour des applications en toxicologie ou pharmacologie.

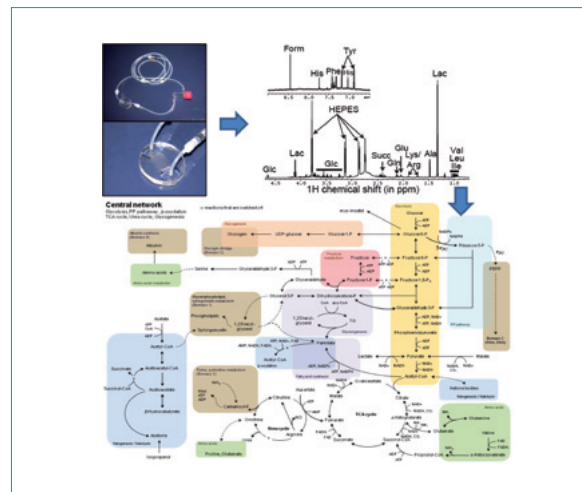
L'objectif global de SYSBIOX est de proposer une méthodologie combinant des approches *in vitro* et *in silico* pour prédire la toxicité de xénobiotiques. Cette méthodologie est basée sur l'association de biopuces microfluidiques, de métabolomique et de modélisation mécanistique. Ce projet se situe donc dans le cadre du développement d'approches alternatives aux expérimentations animales.

La métabolomique-sur-biopuce associée à la modélisation du réseau métabolique intracellulaire

Après la mise en place des expositions *in vitro*, l'équipe a évalué la toxicité et le métabolisme de xénobiotiques dans les biopuces microfluidiques. L'hépatotoxicité ou la néphrotoxicité de xénobiotiques a été testée par des techniques de métabolomique afin d'identifier l'apparition de biomarqueurs dans le milieu de culture et ainsi identifier les signatures métaboliques spécifiques aux xénobiotiques testés. Des analyses statistiques ont été effectuées pour exploiter les profils métaboliques des milieux de culture obtenus par spectrométrie RMN et pour discriminer entre les conditions de culture. En complément, la modélisation mécanistique du métabolisme intracellulaire a permis d'estimer les flux des réactions biochimiques entre les métabolites endogènes et d'interpréter biologiquement les concentrations mesurées dans les milieux de culture. En parallèle, les niveaux de métabolisme *in vitro* ont été analysés avec des modèles décrivant les biopuces et des modèles statistiques. Un couplage avec des modèles d'extrapolation *in vitro/in vivo* a permis de prédire la clairance hépatique des xénobiotiques testés dans les biopuces et de les comparer aux niveaux observés chez l'humain.

Résultats majeurs

Un des résultats majeurs du projet SYSBIOX est le développement de l'approche métabolomique-sur-biopuce. En associant cette dernière avec la modélisation du réseau métabolique intracellulaire, l'équipe a démontré qu'un environnement microfluidique améliore l'oxygénation des cellules favorisant ainsi la production d'énergie. Les travaux ont permis de révéler une signature métabolique unique à chaque type de biopuce (hépatique, rénale ou co-culture) démontrant la présence d'un métabolisme endogène spécifique directement relié à la fonction physiologique de l'organe. En présence de xénobiotiques,



Métabolomique-sur-biopuce associée à la modélisation du réseau métabolique intra-cellulaire d'un hépatocyte

SYSBIOX est un projet de recherche exploratoire coordonné par l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. Le projet associe l'unité mixte de recherche UMR CNRS 6600 « Biomécanique et Génie Biomédical » de l'Université de Technologie de Compiègne et l'Institut des Sciences Analytiques, département du Centre de RMN à Très Hauts Champs (UMR 5280 ENS Lyon/CNRS/UCBL). Le projet a commencé en décembre 2007 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 486 k€ pour un coût global de l'ordre de 1 M€.

la biopuce hépatique présente une réponse métabolique unique et caractéristique de chaque xénobiotique testé.

En parallèle de l'approche métabolomique-sur-biopuce, l'équipe a aussi proposé un cadre de modélisation pour évaluer la clairance hépatique *in vivo* à partir d'expérimentations en biopuce.

Production scientifique et brevets

Le projet SYSBIOX a donné lieu à 11 articles dans des revues à comité de lecture, 13 présentations dans des conférences internationales, et à 2 thèses de doctorat. La valorisation des résultats n'est pas achevée puisque certains travaux sont encore en préparation. Un brevet international a été déposé au cours du projet. Ce brevet concerne l'identification et la quantification des perturbations métaboliques endogènes liées à la présence de toxiques grâce à des biopuces microfluidiques et à la métabolomique.

Nanoparticules

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
AGINGNANO&TROPH	Impact environnemental des résidus de dégradation des nanomatériaux (RDNs) commercialisés : devenir, biotransformation et toxicité vis-à-vis d'organismes cibles d'un milieu aquatique	Impact environnemental de nano-produits commerciaux durant leur cycle de vie
INTOX	Etude de l'impact sanitaire des produits de combustion du bois et de leurs produits d'oxydations dans l'atmosphère	Toxicité des produits de combustion du bois et de leurs produits d'oxydation dans l'air
NANOTOX	Toxicologie des nanoparticules : influence de la taille, de la composition chimique et de la réactivité de surface sur leurs effets pulmonaires et rénaux	Les nanoparticules manufacturées sont-elles dangereuses pour la santé ?
NTCTOX	Evaluation de l'influence de la nature des nanotubes de carbone sur la santé humaine et l'environnement	Quel impact des nanotubes de carbone sur la santé et sur l'environnement ?
PARTOX	Tests parallélisés sur puce à cellule de cytotoxicité aiguë de nanoparticules à morphologie contrôlée	Premiers pas vers l'identification des relations entre cytotoxicité aiguë <i>in vitro</i> et les propriétés physicochimiques des nanoparticules
RESPINTOX	Effets des nanotubes de carbone sur l'appareil respiratoire. Rôle de leurs caractéristiques physico-chimiques	Effets des nanotubes de carbone (NTC) sur l'appareil respiratoire
SIGNANOTOX	Signatures toxicologiques de nanoobjets manufacturés sur des cellules humaines après inhalation ou ingestion	L'exposition à des nanoparticules pourrait-elle être détectée en analysant quelques cellules ?
TITANIUMS	Mécanismes d'internalisation et de toxicité des nanoparticules d'oxyde de titane dans des organismes multicellulaires eucaryotes	Nanoparticules : physico-chimie et mécanismes de toxicité cellulaire

Programme SEST édition 2008

AGINGNANO&TROPH

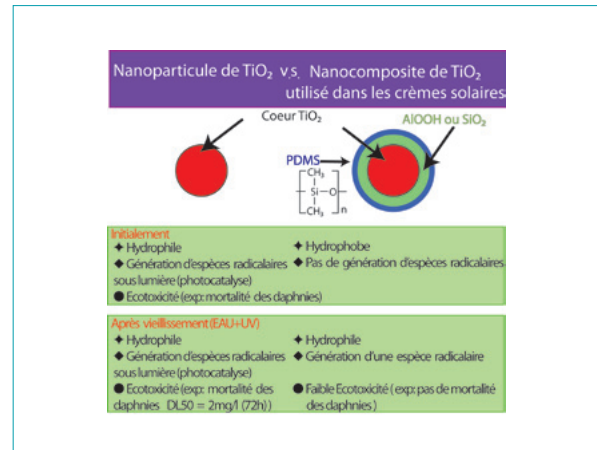
Impact environnemental de nano-produits commerciaux durant leur cycle de vie

Maîtriser l'exposition réelle de l'environnement et des consommateurs aux nanomatériaux déjà sur le marché

Les nanotechnologies ne sont plus confinées dans les laboratoires de recherche comme en témoigne le nombre croissant de produits commercialisés tels que les crèmes solaires, verres autonettoyants, surfaces antibactériennes etc. Mais alors que les questions fondamentales concernant le lien entre les propriétés remarquables des nanoparticules et leurs effets toxiques restent très débattues, il convient de prendre en compte l'exposition des consommateurs et de l'environnement aux produits mis sur le marché. Cela impose d'aborder la complexité des produits incorporant des nanoparticules et surtout de prendre en compte leur évolution/dégradation durant leur utilisation et cycle de vie. Le projet visait à déterminer les mécanismes de dégradation de 4 catégories de nanomatériaux commercialisés et de caractériser la nature, la structure et les propriétés physico-chimiques des résidus formés. Le comportement de ces Résidus de Dégradation de Nanomatériaux (RDNs) a été étudié sur un ensemble de cibles biologiques (micro-organismes, algues, invertébrés, poissons, cellules humaines) via des modes d'exposition et de transfert par l'eau et la nourriture.

Générer, caractériser et tester les Résidus de Dégradation des Nanomatériaux

La nature, la taille, la structure, et surtout la quantité de résidus libérés durant l'utilisation et l'usure de nanomatériaux commercialisés étaient inconnues et représentaient un véritable challenge. Il s'agissait de mettre au point des protocoles de vieillissement accélérés et néanmoins réalistes et durant lesquels il était possible de récupérer des résidus nanométriques puis de quantifier et caractériser les résidus libérés. La stratégie visait à coupler des techniques de caractérisation multi-échelles incluant un large éventail de microscopies, spectroscopies de laboratoire ou sur synchrotron ainsi que les techniques de diffusion - diffraction. La méthodologie a été utilisée pour des crèmes solaires, des verres autonettoyants, des ciments photocatalytiques et des lasures. Le projet visait ensuite à définir si les résidus possédaient une réactivité/toxicité accrue ou limitée par rapport aux nanoparticules de base utilisées pour produire les matériaux. La toxicité a été étudiée de l'échelle moléculaire et cellulaire à celle des individus. Une des forces du projet consistait à prendre en compte le transfert et les transformations le long d'une chaîne trophique.



Modifications de surface des nanoparticules avant leur incorporation dans les nano-produits : importance de la stabilité de l'enrobage sur la dispersion et l'écotoxicité aiguë

Le projet de recherche **AgingNano&troph** était coordonné par le CEREGE (CNRS - Aix Marseille Univ.). Le consortium se composait de 7 autres partenaires Français (IRSTEA/CEMAGREF Lyon, CEA-SBTN-LPC, CEA-SVBME-LEMIRE (CNRS, Aix Marseille Univ.), LBME (Aix Marseille Univ.), IRCELYON (CNRS, Université de Lyon 1), LIEBE (CNRS, Univ. Lorraine), INERIS et d'un partenaire américain (Duke Univ. CEINT). Le projet a débuté en octobre 2008 pour une durée de 42 mois. Il a obtenu un financement ANR de 549 k€ pour un coût global de 3,2 M€. Il a été labellisé par le pôle de compétitivité « RISQUES ».

Résultats majeurs

L'utilisation des crèmes solaires aboutit au relargage de nano-particules dans les eaux de surface. Les filtres UV à base de nano-TiO2 perdent rapidement leur caractère hydrophobe au contact de l'eau et sous UV. . Même si les résidus de crèmes solaires contaminent des daphnies par chaîne trophique, l'enrobage du nano-TiO2 aboutit à une réduction importante de leur mortalité de celle de microorganismes et à une absence de toxicité sur les cellules intestinales humaines. Cependant exposées à la lumière, ces RDNs forment de l'oxygène singulet qui rend les bactéries plus sensibles à d'autres toxiques. Pour les autres nanomatériaux, les relargages de RDNs sont plus faibles, voire non détectables pour les verres autonettoyants.

Production scientifique et brevets

Le projet a permis la publication de 7 articles qui sont les premiers s'intéressant au devenir de nano-produits commercialisés tant en termes de dispersion dans l'environnement que d'éco-toxicité. Il faut ajouter 2 thèses et une quinzaine de communications internationales associées à ce projet.

Programme SEST édition 2008

INTOX

Toxicité des produits de combustion du bois et de leurs produits d'oxydation dans l'air

Toxicité des particules issue de la combustion du bois et de leurs produits de transformation atmosphérique

Des études épidémiologiques récentes ont mis en évidence le rôle majeur joué par les particules atmosphériques sur la santé publique. Leur toxicité est liée à une combinaison de leur taille (qui gouverne la capacité à les inhaler) et de leur composition chimique. La combustion du bois est une des sources majeures de l'aérosol fin (diamètre $<2.5\mu\text{m}$). Elle peut représenter plus de 70 % de la masse de la fraction organique de l'aérosol et plus de 50 % de la masse des PM_{2.5} urbains. Malgré cela, l'impact sanitaire des particules de feux de bois est très mal documenté. Dans le contexte actuel de renchérissement des énergies fossiles et de réduction des émissions de gaz à effet de serre, des programmes de développement du bois-énergie sont mis en place. L'utilisation de cette énergie, induira une hausse significative des concentrations d'aérosols dans l'atmosphère. Aussi, avant de recommander l'utilisation du bois-énergie, il est souhaitable d'évaluer le risque sanitaire que cela induit. Dans cet objectif, des modèles animaux et cellulaires ont été exposés aux principaux produits de combustion du bois et à leurs produits de transformation atmosphérique afin d'en évaluer les effets sanitaires.

Méthodologie d'étude de la toxicité chronique des aérosols de combustion du bois et étude de leur réactivité atmosphérique

Pour exposer des rats à des particules de combustion du bois à des concentrations connues et stables dans le temps, un dispositif a été mis en place. Les concentrations obtenues étaient de quelques dizaines de $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ce qui correspond à une atmosphère urbaine ou industrielle (seuil d'alerte de la population à $125\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$).

Après 6 mois d'exposition quotidienne (3 à 4 heures/jour), les rats étaient sacrifiés et la toxicité évaluée par des marqueurs du stress oxydant et inflammatoires, ainsi que des paramètres hémodynamiques et cardiaques. Compte tenu de la durée des expériences d'exposition, seules les molécules, ou les mélanges de molécules, ayant montrées une toxicité lors des tests *in-vitro* ont été testées sur des rats.

Les études de réactivité atmosphérique ont porté sur l'oxydation par l'ozone des familles de molécules majoritairement présentes dans les feux de bois (phénoxyphénol et métoxybenzaldehyde). Pour simuler les conditions atmosphériques, les molécules étaient adsorbées en faible concentration sur un support de silice (SiO_2). Différentes conditions expérimentales ont été appliquées afin d'étudier leur influence sur les cinétiques et sur la nature des produits formés.

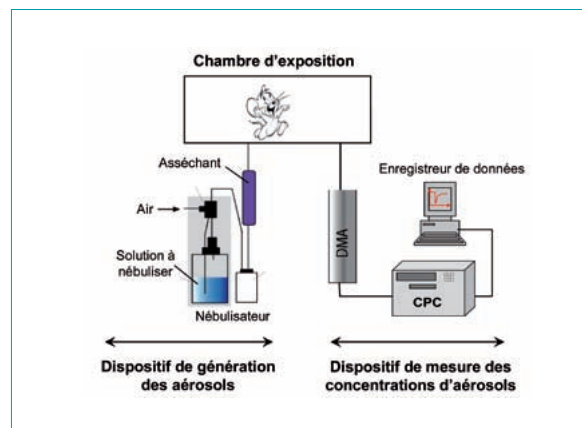


Schéma du dispositif d'exposition aux produits de combustion du bois

INTOX est un projet de recherche fondamentale réunissant trois partenaires : les équipes «Instrumentation et Réactivités Atmosphérique» et « Sondes Moléculaires en Biologie» du Laboratoire Chimie Provence (CNRS - Université de Provence) à Marseille et le laboratoire «Muscles et pathologies» de l'Université Montpellier I - INSERM à Montpellier. Il a débuté en 2008 pour une durée de 3 ans. Il a bénéficié d'un financement ANR de 300 k€ pour un coût complet de 1,2 M€.

Résultats majeurs

Une étude *in vitro* conduite sur des cellules en culture a permis de mettre en évidence la cytotoxicité des composés organiques majoritaires des aérosols de fumée de combustion du bois. De plus, des tests *in-vivo* d'exposition de rats ont mis en évidence la survenue d'un stress oxydant et de réactions inflammatoires. Enfin, ces tests ont démontrés le développement de troubles cardiovasculaires (remodelage ventriculaire, troubles du rythme, diminution de l'intégrité mitochondriale) à l'issue d'une période d'exposition supérieure à 3 mois démontrant ainsi la toxicité des aérosols de fumée de bois.

Production scientifique et brevets

La production scientifique est de 6 publications dans des journaux internationaux et de 11 présentations dans des congrès nationaux (6) et internationaux (5). Les publications ont pour le moment majoritairement portées sur les études de réactivité atmosphérique des produits de combustion du bois. Les études de toxicité réalisées plus tardivement sont en cours de publication et ont fait l'objet de 6 communications dans des congrès à ce jour.

Programme SEST édition 2005

NANOTOX

Les nanoparticules manufacturées sont-elles dangereuses pour la santé ?

Un besoin de comprendre les interactions entre nanoparticules, poumon et rein

Le développement des nanotechnologies s'accompagne de la production importante de nanoparticules (NP) avec pour conséquence une exposition humaine potentielle. Les effets de ces NP sur la santé restent largement méconnus. Leur principale voie d'entrée est la voie respiratoire mais des cibles secondaires sont possibles car elles auraient la capacité de franchir les barrières tissulaires et donc de se retrouver dans le sang. Le projet NANOTOX avait pour objectif d'étudier, en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques (taille, composition chimique et réactivité de surface), des NPs déjà largement utilisées dans l'industrie : oxyde de titane et noir de carbone, et d'analyser :

1. les capacités et les modalités de leur accumulation dans les principales cellules cibles de l'appareil respiratoire et la réponse des cellules rénales chargées de leur élimination ;
2. leurs effets oxydatifs et inflammatoires susceptibles de conduire à des pathologies inflammatoires du poumon (asthme et broncho-pneumopathie chronique obstructive). Leur passage dans le sang étant probable nous avons évalué leurs effets sur la circulation pulmonaire et sur l'organe impliqué dans leur élimination : le rein.

L'approche expérimentale pour l'étude des effets biologiques des nanoparticules

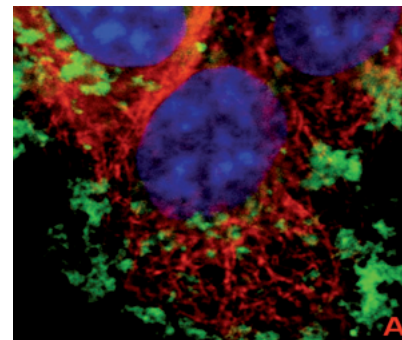
Les NP utilisées ont été des nanosuires spécialement générées et caractérisées pour cette étude par un des partenaires. Leur cytotoxicité a été comparée à celle des particules de noir de carbone commerciales ainsi qu'à celle des NPs métalliques d'oxyde de titane. Leur internalisation par les cellules a été étudiée par microscopie électronique, en microscopie confocale et cytométrie en flux.

Les effets biologiques ont été étudiés à la fois *in vivo* chez des rats normaux ou présentant des pathologies respiratoires (modèles de rats allergiques ou atteints de BPCO) et *in vitro* sur les différents types cellulaires cibles : cellules épithéliales bronchiques, alvéolaires, endothéliales, musculaires et rénales. Les mécanismes moléculaires responsables des réponses adaptatives ou pathologiques ont été déterminés :

- interactions avec des récepteurs membranaires, activation de voies de signalisation, de facteurs de transcription et de gènes, en particulier proinflammatoires et proapoptotiques ;
- caractérisation et rôle du stress oxydant dans les réponses observées. A l'issue de ces recherches il a été possible d'identifier les caractéristiques des NPs à l'origine de leur accumulation et des effets biologiques.

Résultats majeurs

NANOTOX a permis de mettre en évidence l'importance de la taille et de la composition chimique des NPs dans leurs effets biologiques. Elles sont facilement internalisées dans les cellules pulmonaires, endothéliales et rénales. Bien que peu cytotoxiques, elles y induisent un stress oxydatif responsable de la sécrétion de protéines pro-inflam-



Des nanoparticules fluorescentes en vert sont internalisées dans des cellules bronchiques humaines dont on distingue le cytosquelette de microtubules en rouge et le noyau en bleu. L'observation a été réalisée au microscope confocal

NANOTOX est coordonné par le Laboratoire de Cytophysiologie et Toxicologie Cellulaire (Université Paris Diderot). Il associe deux Unités INSERM (E 0356 Bordeaux 2 et U 700 Paris Diderot), deux autres laboratoires de recherche publique (Bordeaux 2 et UPFL), le LEPI (Laboratoire des Particules Inhalées) et une équipe de l'INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques). Il a débuté en décembre 2005 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 125 k€ pour un montant global de 1,47 M€.

matoires retrouvée au niveau cellulaire comme chez l'animal. Ceci pourrait expliquer leur capacité à augmenter la réponse à l'allergène chez des animaux sensibilisés. Enfin, les résultats obtenus, à la fois au niveau des vaisseaux sanguins isolés et sur les cellules endothéliales, suggèrent que les NPs exercent un effet délétère sur l'homéostasie vasculaire, ce qui pourrait contribuer au déclenchement ou à l'aggravation de pathologies cardiovasculaires.

Production scientifique et brevets

Le projet a donné lieu à trois thèses dont l'une à l'université de Lausanne dans le cadre de la collaboration avec l'UPFL ainsi qu'à 11 publications dans des revues internationales à comité de lecture et de premier rang dans le domaine concerné, par exemple *Environmental Health Perspectives*, *Toxicology and Applied Pharmacology*, *Tox Letters*, *Particle and Fiber Toxicology*. Les résultats ont été présentés dans de nombreux congrès nationaux et internationaux, ce qui a permis l'intégration de certaines équipes dans des projets européens : NANOSAFE, NANOTEST, ENPRA.

Programme SEST édition 2006

NTCTOX

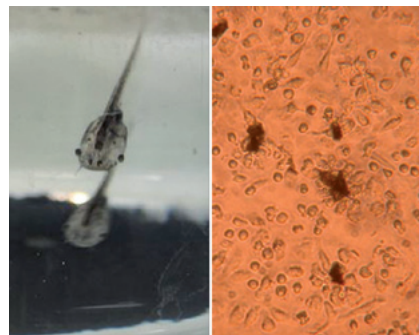
Quel impact des Nanotubes de Carbone sur la santé et sur l'environnement ?

Un point sur l'écotoxicité et la toxicité cellulaire des nanotubes de carbone

L'objectif du projet NTCTOX a concerné l'étude de l'impact sur la santé et sur l'environnement des nanotubes de carbone (NTC), en utilisant comme matériel d'étude les NTC bi parois synthétisés et caractérisés au CIRIMAT. Le fait de disposer d'échantillons homogènes préparés et caractérisés directement au sein du consortium a permis de réaliser une étude comparative unique en son genre à la fois du potentiel toxique et écotoxique des NTC, tout en démontrant d'une part, l'importance de la dispersion et de la fonctionnalisation des NTC et d'autre part, les biais induits par le choix des tests de toxicité et le type de modèle cellulaire (immortelles ou non).

Mise au point de protocoles d'étude adaptés aux Nanotubes de Carbone

L'étude de la toxicité des NTC est complexe car le terme « nanotube de carbone » rassemble dans les faits de nombreuses variantes en termes de morphologie (longueur, nombre de parois) et de pureté (structurale et chimique, par exemple la présence de catalyseurs résiduels). Ces paramètres ayant une influence considérable sur l'interaction des NTC avec leur environnement, il est nécessaire de les maîtriser parfaitement pour pouvoir comparer différents échantillons. La grande force du projet vient de la capacité du CIRIMAT à la fois à synthétiser des échantillons de NTC de grande qualité et de les disperser dans l'eau de façon optimisée, mais aussi de pouvoir les modifier chimiquement (purification, modification de la chimie de surface) tout en les caractérisant de façon approfondie. Il a ainsi été possible de comparer l'influence des mêmes lots de NTC sur différents modèles cellulaires (*in vitro*) et animaux (*in vivo*). Le projet a aussi permis d'analyser dans quelle mesure l'état d'agglomération influence la toxicité des NTC, et de mettre au point des protocoles de dispersion adaptés aux études de toxicité, en particulier au niveau environnemental.



À gauche : larves de xénope lors d'une exposition aux NTC en laboratoire ; à droite : macrophages humains se regroupant autour d'agglomérats de NTC

Le projet **NTCTOX** a été coordonné par le CIRIMAT (UMR 5085). Il a associé l'Inserm (Biomatériaux et réparation tissulaire, U577) et l'Institut Louis Bugnard (UMR MD3, EA2405) ainsi que Ecolab (UMR 5245). Il a débuté en décembre 2006 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement de 300 k€ pour un montant global de 742 k€.

Résultats majeurs

Les premières données de toxicité des NTC sur les cellules de revêtement des cavités nasales ont montré, en culture, un effet délétère pour des concentrations élevées - mais l'extrapolation à l'homme reste délicate. L'interaction avec les macrophages, en première ligne des défenses immunitaires, a mis en évidence l'apparition de réactions inflammatoires complexes, avec notamment l'activation de l'inflammasome. Au niveau environnemental, les concentrations à partir desquelles des effets sont notés sont a priori bien supérieures à celles qui pourraient être observées, hormis situation accidentelle.

Production scientifique et brevets

Les résultats de cette étude ont conduit à la publication de 6 articles dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture, ainsi que plus de 40 communications lors de conférences (5 invitations à des congrès internationaux, 3 invitations à des congrès nationaux, 12 communications orales à des conférences internationales et 8 à des conférences nationales, et 13 affiches dont 10 lors de conférences internationales). Deux communiqués de presse ont aussi été publiés par le CNRS.

Programme SEST édition 2006

PARTOX

Premiers pas vers l'identification des relations entre cytotoxicité aigüe *in vitro* et les propriétés physicochimiques des nanoparticules

Approche multidisciplinaire pour la compréhension de l'impact des nanoparticules sur la biologie cellulaire

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

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

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

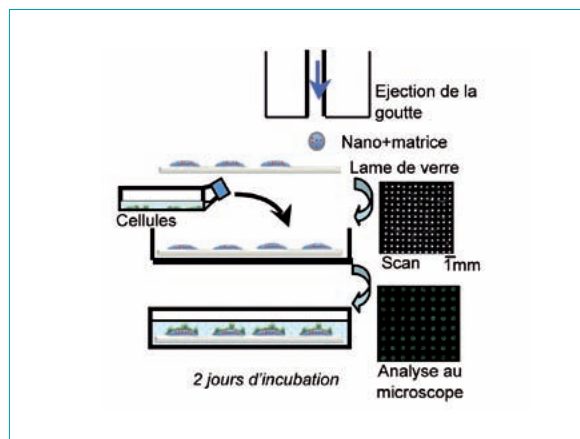
Biopuces à cellules innovantes pour l'évaluation de l'impact de nanoparticules sur des cellules en culture

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

Résultats majeurs

Les résultats obtenus dans la première partie, c'est-à-dire la synthèse et la caractérisation physicochimique des nanomatériaux commerciaux et élaborés par le consortium (avec des exemples de nanoparticules de SiO₂, TiO₂ et ZnO), ont permis de constituer une bibliothèque d'une soixantaine de nanoparticules décrites selon leur nature par diffraction X, leur distribution de taille et morphologie par microscopie électronique en transmission, leur surface spécifique et leur potentiel zêta. Le modèle de « fiche technique » par nanoparticule que nous avons proposé, avec un tableau des caractéristiques détaillées, est un premier pas vers une standardisation dans la création de base de données de nanomatériaux.

Etant donné la durée très courte du projet, l'objectif de la deuxième partie, qui consistait au développement d'une technologie permet-



'Biopuces nanos' pour l'analyse automatique de l'effet de nanoparticules *in vitro* : l'ajout de cellules en suspension sur la 'biopuce nano' permet d'accrocher une centaine de cellules par plot (solution séchée de NP+matrice extracellulaire) sur la lame de verre. Au final l'effet des NPs est analysé dans chaque cellule à l'aide de marqueurs fluorescents rapporteur de toxicité

Le projet **PARTOX** coordonné par ARMINES-MINES ParisTech associait ARMINES CEP/SCPI et ARMINES/CdM), CEA/Laboratoire Biopuces ainsi que ARMINES/CMM et ARMINES/CBIO. Le projet a débuté en décembre 2007 pour une durée de 12 mois. Il a bénéficié d'un financement de 349 k€ pour un coût global de l'ordre de 900 k€.

tant de caractériser la cytotoxicité des nanoparticules par analyse du phénotype de cellules cultivées en lame de verre, a été limitée à une étude de la faisabilité de l'approche. Un nouveau projet ANR (Mesonnet, ANR P2N 2010-2014, coordonné par le CEREGE) permet de développer le concept de la 'biopuce nano' afin d'analyser l'effet de plusieurs NPs *in vitro* dans des cellules et *in vivo* dans des petits organismes rapporteurs d'eco-toxicité

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à une publication dans une revue international de rang A, une autre est en cours de finalisation.

Programme SEST édition 2006

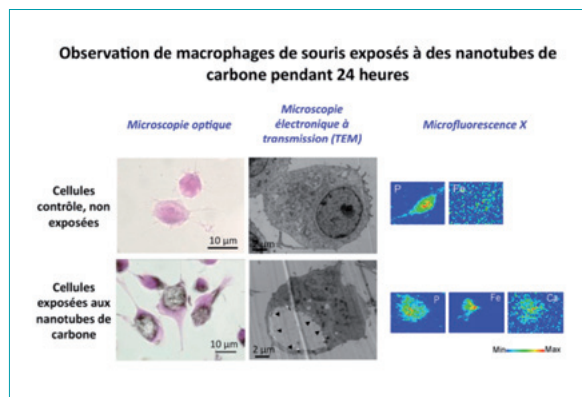
RESPINTTOX

Effets des nanotubes de carbone (NTC) sur l'appareil respiratoire

Analyse du rôle de caractéristiques physico-chimiques des NTC dans leurs effets biologiques

Les nanotubes de carbone (NTC) sont des matériaux structurés à l'échelle nanométrique, de plus en plus développés industriellement compte tenu de leurs propriétés physiques (dureté, conduction, résistance notamment). Le NTC est constitué d'une partie quasi-cylindrique formée par un plan de graphène enroulé sur lui-même et fermé à ses deux extrémités par deux demi-fullerènes. Il existe deux catégories de nanotubes de carbone : les SWCNT (single-wall carbon nanotubes) et les MWCNT (multi-wall carbon nanotubes) composés respectivement d'un seul ou de plusieurs feuillets de graphène emboîtés les uns dans les autres comme des poupées russes. Face aux utilisations industrielles croissantes des NTC, il existe un risque toxicologique potentiel de ces molécules, en rapport avec leurs propriétés physico-chimiques, spécialement lors d'une exposition par voie respiratoire. Ce risque, qui concerne les usagers et les travailleurs des industries des nanotechnologies, était peu caractérisé quand le projet fut présenté et financé par l'ANR (appel à projets 2006). L'objectif principal du projet était d'évaluer de la relation entre les effets toxicologiques respiratoires des NTC et leurs caractéristiques physico-chimiques (dimensions, présence de métaux, état d'agglomération, état de surface).

Des SWCNT et MWCNT ont été utilisés et caractérisés par différentes techniques des sciences des matériaux appliquées à la biologie. Il s'agit du fruit d'une étroite collaboration entre les physiciens et les biologistes participant au projet. Un aérosol de SWCNT a été généré à partir d'une poudre de ce matériau et des animaux ont été exposés pendant 4 jours. L'aérosol a été très bien caractérisé. Il s'agit d'une des premières tentatives de génération d'un aérosol de NTC. Une technique d'imagerie pulmonaire utilisant le gaz hélium 3 hyper polarisé a été mise au point afin de visualiser des NTC dans l'arbre respiratoire sans modification de leurs caractéristiques physico-chimiques.



Les flèches indiquent la présence de nanotubes de carbone à l'intérieur des cellules, au niveau de vacuoles. Par microfluorescence X, la présence de Fer (Fe) et de Calcium (Ca) est détectée au niveau du signal phosphore (P) obtenu pour la cellule.

RespiNTTox est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'Unité Inserm 955, Equipe 4, Créteil et qui associe le CNRS, Laboratoire de Physique des Solides (UMR CNRS 8502, Orsay), l'INERIS, Equipe Toxi, Verneuil en Hallate, l'Inserm U664, Rouen et le CNRS, Créatis-LRMN, Laboratoire de Résonance Magnétique, Lyon. Le projet a débuté en décembre 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 250 k€ pour un coût global de l'ordre de 912 k€.

Résultats majeurs

Les résultats majeurs du projet ont été les suivants :

- l'obtention et caractérisation fine de différents types de nanotubes de carbone ;
- la mise en évidence du rôle de la taille et de la réactivité de surface de nanotubes de carbone dans leurs effets cytotoxiques et inflammatoires. L'équipe a également démontré le rôle de l'augmentation du calcium endogène et de l'état d'agrégation des nanotubes dans ces phénomènes ;
- la génération d'un aérosol de nanotubes de carbone et analyse des effets pulmonaires chez le rat ;
- l'analyse des modifications du fer contenu dans des nanotubes de carbone à l'intérieur de cellules inflammatoires.

Production scientifique et brevets

Le projet a donné lieu à 6 publications dans des journaux internationaux à comité de lecture (dont deux dans Nanoletters). Deux autres publications sont soumises pour publication.

Le projet a donné lieu également à des nombreuses présentations dans des congrès nationaux et internationaux. On décompte 17 communications affichées (dont 11 dans des réunions internationales) et 14 communications orales (dont 7 dans des réunions internationales).

Programme SEST édition 2007

SIGNANOTOX

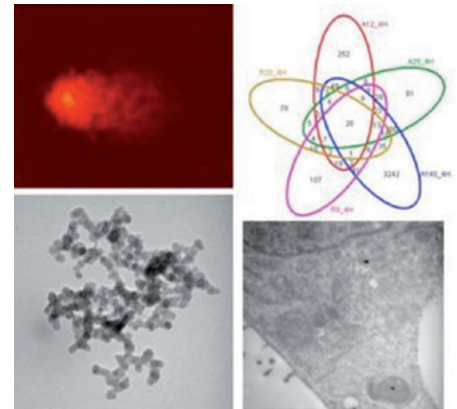
L'exposition à des nanoparticules pourrait-elle être détectée en analysant quelques cellules ?

Signature biologique de l'exposition de travailleurs ou de la population à des nanoparticules

Les nanoparticules sont introduites dans de nombreux produits de la vie courante, notamment dans des produits cosmétiques, alimentaires et matériaux de construction, alors que leur innocuité n'a pas été scientifiquement démontrée. Les ouvriers travaillant dans les usines de production y sont potentiellement exposés de façon chronique. Les organes cibles sur lesquels les effets toxiques pourraient apparaître sont le poumon, en cas d'inhalation, la peau, lorsqu'un produit contenant des nanoparticules y est appliqué, les organes du système gastro-intestinal, en cas d'ingestion. D'autre part les nanoparticules pourraient traverser barrières physiologiques, et ainsi atteindre la circulation sanguine, conduisant à leur dissémination dans des organes secondaires, notamment le foie et les reins. Depuis une dizaine d'année, les recherches visant à expliciter les effets toxiques de ces matériaux se multiplient. L'objectif de ce projet était de rechercher une réponse des cellules qui serait spécifique de l'exposition à des nanoparticules, et qui pourrait servir d'indice permettant de détecter une exposition accidentelle des travailleurs ou de la population.

Identification sur des modèles *in vitro* d'une réponse cellulaire spécifique à l'exposition à des nanoparticules

Des nanoparticules, choisies parmi les plus produites à l'échelle mondiale, ont été appliquées sur des cellules cultivées en laboratoire (cellules de poumon, foie, rein). Ainsi ont été testés des oxydes métalliques (titane et aluminium, présents dans des peintures et cosmétiques), des nanotubes de carbone (produits à usage sportif et industrie des transports), des carbures de silicium (présentes dans des céramiques), mais également des nanoparticules d'or et d'argent, de silice et de silicium. L'accumulation et la répartition cellulaire des NP dans les cellules a été caractérisée (microscopie électronique), ainsi que les effets cytotoxiques (mortalité cellulaire), génotoxiques (dommages à l'ADN) et oxydatifs. Une approche globale, par transcriptomique, a également été appliquée pour comparer les modulations dans l'expression des gènes d'un même type cellulaire, exposé aux différentes nanoparticules et des différents types cellulaires, exposées aux nanoparticules les plus réactives. L'analyse de l'ensemble des résultats a conduit à l'identification d'une réponse à l'exposition à des nanoparticules.



SIGNANOTOX évalue les effets de nanoparticules sur des cellules en culture : cyto- et génotoxicité, stress oxydant, modulation de l'expression des gènes, accumulation et répartition cellulaire

SIGNANOTOX est coordonné par le laboratoire Structure et Dynamique par Résonance Magnétique (CEA Saclay), et associe le Laboratoire Francis Perrin, CEA Saclay, le Laboratoire de physico-chimie des matériaux luminescents, Université de Lyon, le Centre de neuroscience de Paris Sud, le Laboratoire lésions des acides nucléiques, CEA Grenoble et le Centre International de Toxicologie, Evreux. Le projet a débuté en décembre 2007 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 320 k€ pour un coût global de 560 k€.

Résultats majeurs

Les nanoparticules testées induisent des effets cytotoxiques modérés (< 30 % de mortalité cellulaire après exposition à des doses massives), en revanche elles génèrent un stress oxydant dans toutes les cellules testées, mais qui n'entraîne pas de modification majeure dans leur activité anti-oxydante. Certaines nanoparticules provoquent des dommages sur l'ADN, cassures ou lésions oxydatives. La recherche de gènes communs, modulés par toutes ces nanoparticules, montre qu'il ne semble pas exister de signature toxicologique commune à l'ensemble des nanoparticules, même si des tendances se dégagent.

Production scientifique et brevets

Plusieurs articles ont été publiés dans des journaux de renommée internationale (Nanotoxicology, Toxicology, Toxicology Letters). Chaque article décrit les effets d'un type de nanoparticule sur une lignée cellulaire. Un article de synthèse paraîtra sous peu, combinant les données acquises sur l'ensemble des nanoparticules et types cellulaires.

Programme CES édition 2010

TITANIUMS

Nanoparticules : physico-chimie et mécanismes de toxicité cellulaire

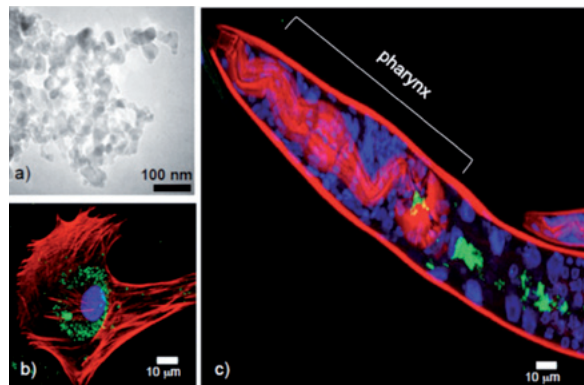
Nanoparticules : risques ou bénéfiques pour la santé et l'environnement ?

Les nanotechnologies représentent un enjeu technologique et économique majeur dans le secteur industriel et pour la société. Elles permettent des innovations majeures dans de nombreux domaines : santé, énergie, information, transports, sécurité... Cependant, la grande diversité des nanomatériaux, l'augmentation significative des quantités produites ainsi que leur présence dans de nombreux composés d'utilisation quotidienne soulèvent de très nombreuses interrogations quant aux risques potentiels sur la santé des populations et sur l'environnement. Ainsi, le projet s'attache à développer des méthodes qui permettront de détecter les nanoparticules de dioxyde de titane au sein de systèmes biologiques complexes (cellules humaines, nématode) et à définir les conséquences biologiques induites par ces mêmes nanoparticules en combinant l'expertise de chimistes, de physiciens et de biologistes afin de définir quels sont les paramètres physico-chimiques des nanoparticules qui sont associés au développement d'effets potentiellement néfastes pour la santé et/ou l'environnement.

Un accélérateur de particules au service de la détection des nanoparticules

Le projet TITANIUMS intègre l'expertise de disciplines complémentaires afin de combiner des techniques de synthèse, de caractérisation ou d'analyse de composés métalliques de taille nanométrique au sein des cellules. Il combine l'expertise de chimistes afin de synthétiser et de caractériser ces nanoparticules dont les tailles, formes, structures et réactivités chimiques seront contrôlées et prédéfinies afin de les suivre à l'échelle cellulaire, l'expertise de physiciens afin de détecter la présence des nanoparticules dans les cellules, et l'expertise de biologistes afin d'étudier les effets biologiques induits par l'exposition à des nanoparticules.

L'originalité du projet réside dans la mise en œuvre de l'analyse par faisceau d'ions. Grâce à l'accélérateur de particules de la plateforme AIFIRA, les cellules sont analysées par bombardement d'ions (H⁺/He⁺) révélant ainsi la distribution des éléments chimiques et la localisation cellulaire des nanoparticules. Les nanoparticules sont ainsi détectées, précisément quantifiées au sein des cellules et les altérations physiologiques induites par la présence de nanoparticules révélées par des modifications de l'homéostasie ionique.



Nanoparticules et Imageries à Haute Résolution. a) Nanoparticules de dioxyde de titane observées en microscopie électronique (dioxyde de titane, P25, Degussa/Evonik). Le comportement de ces nanoparticules est observé en microscopie confocale dans des lignées cellulaires de peau humaines (b) ou des nématodes (*C. elegans*). Les fibres contractiles d'actine sont visualisées en rouge (à l'aide de la phalloïdine), l'ADN des cellules en bleu (à l'aide du Hoechst33342), les nanoparticules en vert (après modification chimique de surface à l'aide de la fluorescéine)

TITANIUMS est coordonné par l'UMR 5797-Université Bordeaux CNRS/IN2P3-Centres Etudes Nucléaires Bordeaux Gradignan, en collaboration avec l'UPR 9048-Institut Chimie Matière Condensée Bordeaux et l'INSERM U869-Institut Européen Chimie Biologie. Le projet a débuté en janvier 2011 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 488 k€ pour un montant global de 1,9 M€.

Résultats majeurs

Les différentes techniques d'analyses et d'imagerie permettront une description détaillée des mécanismes biologiques induits par les nanoparticules. Ainsi, il sera possible de déterminer en fonction des propriétés des nanoparticules, les mécanismes qui définissent leur bio-distribution à l'échelle cellulaire, leurs sites de bioaccumulation, leur bio-persistance et donc les conséquences biologiques associées. La définition des propriétés physico-chimiques associées à la toxicité permettra de créer dans le futur des nanoparticules biocompatibles et respectueuses de l'environnement.

Production scientifique et brevets

Ce projet a déjà donné lieu à une publication dans une revue internationale de rang A.

Asthme, maladies respiratoires et cardiovasculaires

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
BIO2NEA	Marqueurs biologiques appartenant aux chemins physiopathologiques oxydant et nitrosant en relation avec l'environnement et l'asthme	De l'environnement à l'asthme : des marqueurs biologiques pour mieux comprendre la maladie
INCAA	Impact de l'exposition aux nanotubes de carbone sur la survenue et la sévérité de l'asthme allergique	Nanotubes de carbone : quels risques pour la santé respiratoire des individus asthmatiques ?
MEGATOX	Caractérisation chimique et toxicité des aérosols dans les mégacités	La toxicité des aérosols dans les mégapoles
MESOTHELIOME	Modélisation génétique du mésothéliome pour la mise en évidence de marqueurs d'exposition et de marqueurs d'effets de l'exposition à des fibres minérales dans le mésothéliome et dans le cancer broncho-pulmonaire dû aux fibres d'amiante	L'analyse génomique des cancers dûs à l'amiante a un intérêt épidémiologique et thérapeutique
NANOBIOTOX	Conséquences toxicologiques de l'exposition pulmonaire aux nanoparticules biodégradables	Risques liés à l'exposition pulmonaire aux médicaments nanoparticulaires
PAISIM	Pollution atmosphérique, inégalités sociales et infarctus du myocarde	Pollution atmosphérique, inégalités sociales et infarctus du myocarde
PASTHMA17	Implication des hydrocarbures polycycliques aromatiques dans la polarisation Th17 dans l'asthme sévère	Implication des polluants dans la réponse immune de l'asthme sévère
SOUDONANO	Rôle des nanoparticules métalliques dans les altérations pulmonaires induites par l'exposition aux fumées de soudage	Un rôle pour les nanoparticules dans les altérations pulmonaires des patients soudeurs ?

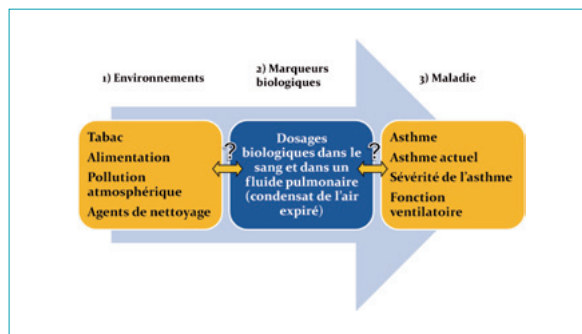
Programme CES édition 2009

BIO₂NEADe l'environnement à l'asthme :
des marqueurs biologiques pour mieux comprendre la maladieEtudier les associations entre l'environnement,
des marqueurs biologiques et l'asthme

Près de 300 millions de personnes souffrent d'asthme dans le monde. L'asthme est une maladie complexe et hétérogène, multifactorielle, résultant de facteurs génétiques et environnementaux. Jusqu'à ce jour, les mécanismes sous-jacents qui jouent un rôle dans la survenue et le développement de l'asthme sont mal connus. Pour répondre à cette question, disposer de mesures (marqueurs) biologiques, et étudier leurs associations avec l'environnement et la maladie est d'un grand intérêt. Le projet BIO₂NEA s'inscrit dans ce contexte et explore un continuum entre l'environnement et l'asthme avec pour objectif principal de mieux comprendre le rôle de deux voies métaboliques qui sont les réponses de l'organisme face à la production de dérivés réactifs de l'oxygène et de l'azote. Les expositions environnementales étudiées dans ce projet sont le tabac, l'alimentation, la pollution atmosphérique (ozone, dioxyde d'azote et particules) et l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage. L'asthme, sa sévérité, et la fonction ventilatoire (mesure du souffle) sont étudiés. Les résultats obtenus permettront d'accroître les connaissances dans le rôle des facteurs environnementaux intervenant dans les phases précoces de l'asthme et donc aideront à sa prévention, et dans la pertinence de marqueurs biologiques pour évaluer l'exposition et étudier la maladie.

EGEA (étude Epidémiologique des facteurs
Génétiques et Environnementaux de l'Asthme),
une vaste étude épidémiologique française sur
l'asthme

Le projet BIO₂NEA est construit dans un contexte multidisciplinaire avec des spécialistes en épidémiologie respiratoire, en statistiques, en biologie et en génétique. Il s'appuie sur une vaste enquête épidémiologique longitudinale sur l'asthme : l'étude Epidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA, <http://cesp.vjf.inserm.fr/egeanet/>). Les données recueillies par questionnaires détaillés, les examens réalisés dans le cadre de cette étude (prise de sang, tests allergiques, mesures du souffle) et la collection biologique qui a été constituée ont obtenu une certification ISO 9001. A partir de questionnaires alimentaires, les consommations journalières en nitrites et nitrates des sujets participant à l'étude ont été calculées. Les marqueurs biologiques sont mesurés dans le sang et dans le condensat de l'air expiré qui est un fluide proche du poumon, obtenu par refroidissement de l'air expiré. Des mesures de six marqueurs biologiques ont été réalisées chez environ 1400 sujets.

Architecture du projet BIO₂NEA. Etude épidémiologique chez 1600 adultes

BIO₂NEA est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe d'épidémiologie respiratoire et environnementale de l'unité 1018 de l'INSERM Villejuif. Il associe aussi les unités 823 (équipe 11) et 946 de l'INSERM, et le département de physiologie (EA2689) de l'Université de Lille 2. Le projet a commencé en octobre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 330 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,23 M€.

Résultats majeurs

Les premiers résultats marquants du projet ont porté sur les associations entre consommation alimentaire, tabac, expositions professionnelles, polluants atmosphériques et les niveaux de nitrites/nitrates dans le sang et le condensat de l'air expiré. L'intérêt de disposer de mesures de marqueurs biologiques dans le sang mais également dans un fluide pulmonaire a été mis en évidence. L'étude des associations avec la maladie est en cours. Le projet a déjà donné lieu à de nouvelles collaborations.

Production scientifique et brevets

Les travaux réalisés et les résultats obtenus à ce jour ont donné lieu à sept communications dans des conférences internationales, dont deux primées, et trois articles scientifiques dans des revues internationales à comité de lecture, dont un publié, un en révision et un soumis. Ces communications et ces articles couvrent des champs aussi divers et variés que celui de la préparation des échantillons sanguins, des liens entre expositions environnementales et niveaux de marqueurs biologiques, et de la génétique.

Programme CES édition 2008

INCAA

Nanotubes de carbone : quels risques pour la santé respiratoire des individus asthmatiques ?

L'exposition aux nanotubes de carbone peut-elle faciliter le développement de la maladie asthmatique ou aggraver sa sévérité ?

Le développement des nanotechnologies laisse craindre une exposition professionnelle et environnementale accrue des individus aux nanoparticules manufacturées. Or, d'un point de vue physico-chimique, les nanoparticules manufacturées s'apparentent aux particules ultrafines qui composent la pollution atmosphérique urbaine et dont la toxicité respiratoire et l'effet adjuvant sur la réponse allergique ont été largement décrits. Le développement des nanotechnologies suscite donc des inquiétudes en termes de santé respiratoire, en particulier pour des sujets vulnérables, tels les asthmatiques. Les nanotubes de carbone (NTC), déjà utilisés à l'échelle industrielle, sont les nanoparticules manufacturées pour lesquelles les risques d'exposition sont les plus grands. Dans ce contexte, l'objectif principal de ce projet est de définir si l'exposition aux NTC est susceptible de faciliter le développement d'allergies respiratoires et/ou d'aggraver l'inflammation asthmatique. Ces connaissances fourniront aux pouvoirs publics des éléments de base à la prise de décision concernant les risques respiratoires qui pourraient émerger suite au développement des nanotechnologies.

Etudier les effets des nanotubes de carbone à parois multiples sur la sensibilisation à l'allergène et la réaction asthmatique allergique grâce à deux approches complémentaires

INCAA est mené sur des NTC à parois multiples et fait appel à deux approches complémentaires : 1- une approche expérimentale chez la souris, qui permet d'apporter des données sur le rôle de l'exposition aux NTC dans la survenue de l'asthme, données qui, pour des raisons éthiques évidentes, ne peuvent être obtenues chez l'homme, et 2- une approche clinique sur des cellules sanguines de patients asthmatiques allergiques et de sujets sains, afin d'appréhender l'impact des NTC sur la réponse à l'allergène chez l'homme. L'objectif est de tenter de répondre aux questions suivantes :

- pour quels niveaux d'exposition les NTC ont un impact sur la sensibilisation à l'allergène et/ou sur la sévérité de la réaction asthmatique allergique ?
- la capacité des NTC à faciliter le développement d'allergies respiratoires est-elle liée à l'activité adjuvante de ces nanoparticules ?
- l'effet aggravant des NTC sur la réaction asthmatique est-il lié à une action pro-inflammatoire de ces particules et/ou à leur capacité à induire un remodelage des voies aériennes ?
- quel est le lien entre l'activité des NTC et leur distribution dans les poumons ?

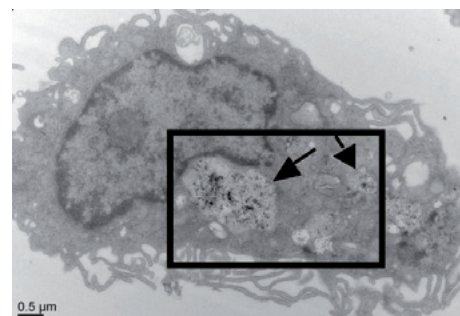


Image en microscopie électronique montrant la présence de NTC dans les macrophages alvéolaires d'une souris exposée à ces nanoparticules

INCAA est un projet de recherche fondamentale associant l'Université de Strasbourg, le CNRS, et l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire. Il a débuté en octobre 2008 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 250 k€ pour un budget global de 844 k€.

Résultats majeurs

Les travaux réalisés sur la souris ont montré que les NTC se distribuent de façon uniforme dans les voies respiratoires, qu'ils sont internalisés par différentes cellules pulmonaires ou infiltrées (macrophages, pneumocytes de type II, neutrophiles), et qu'ils induisent, en fonction de la dose et du temps, une réponse inflammatoire et un remodelage tissulaire. Les travaux de l'équipe sur des cellules sanguines d'asthmatiques et de sujets sains ont montré que les NTC sont capables de promouvoir la réponse immunitaire innée, et d'interférer avec la réponse immunitaire allergique en augmentant la réponse des cellules T ou en altérant la fonction des cellules présentatrices de l'antigène.

Production scientifique et brevets

Les résultats obtenus à ce jour ont donné lieu à trois articles destinés à être publiés dans des journaux internationaux à comité de lecture. Le premier de ces articles vient d'être publié, le deuxième est soumis, le troisième est en préparation. Au moins un article supplémentaire devrait découler des travaux en cours ou restant à réaliser d'ici la fin du contrat. Les résultats obtenus à ce jour ont également fait l'objet de plusieurs communications dans des congrès nationaux ou internationaux.

Programme CES édition 2008

MEGATOX

La toxicité des aérosols dans les mégapoles

Programme pluridisciplinaire d'évaluation de la toxicité des principales sources de pollution de particules fines et ultrafines à Paris (France) et Ouagadougou (Burkina-Faso)

L'exposition à la pollution particulaire est reconnue pour avoir des impacts néfastes sur le système cardio-respiratoire humain. Elle est exacerbée dans nos zones urbaines qui sont le point de convergence d'une multitude de sources d'aérosols dont l'empreinte physico-chimique et la toxicité restent encore mal appréhendées. Ce projet pluridisciplinaire visait à relier les caractérisations chimiques et toxicologiques de la pollution particulaire dans deux mégapoles aux niveaux de pollution contrastés. Les partenaires de ce projet ont travaillé sur les mêmes échantillons atmosphériques, ce qui a permis de déconvoluer les sources principales de pollution particulaire, d'évaluer leur biodisponibilité au niveau pulmonaire, et de quantifier leurs effets sur différentes cellules de l'appareil respiratoire humain. Les réponses biologiques graduelles de ces cellules aux particules fines et ultrafines ont été évaluées grâce à l'utilisation d'échantillonneurs d'aérosols performants. La réponse biologique à long terme à des expositions répétées de particules a été abordée de manière originale grâce à l'utilisation de cultures primaires d'épithélium bronchique.

Métriologie des échantillonnages d'aérosols fins & ultrafins pour la biologie ; méthodologie d'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans les poumons ; et développement d'un modèle d'étude *in vitro* des effets à long terme des particules sur l'épithélium bronchique.

La stratégie expérimentale de ce projet a porté sur l'échantillonnage d'aérosols urbains à des périodes de la journée où ils présentent des concentrations élevées en aérosols de combustion (trafic diesel et chauffage au bois pour Paris ; trafic deux roues et cuisson au bois pour Ouagadougou). A cette contrainte temporelle s'est ajoutée celle de collecter des dizaines de mg d'aérosols fins et ultrafins nécessaires aux études biologiques. L'achat, l'optimisation et le déploiement de collecteurs d'aérosols (inexistants en France) ont représenté un premier verrou qu'il a fallu lever pour fournir aux partenaires (chimistes et biologistes) des échantillons d'aérosols concentrés, résolus en taille, et caractéristiques d'une source de combustion donnée. L'empreinte chimique (plus de 50 constituants ioniques, métalliques, organiques) de chacune de ces sources de combustion va constituer une base de données très complète pour expliquer les effets biologiques. Afin d'étudier le devenir et les effets à long terme des particules sur l'épithélium bronchique humain, une stratégie de traitements répétés des cellules et d'analyse des effets sur les 5 semaines suivant la fin des traitements a été développée.



Cellules épithéliales bronchiques humaines cultivées à l'interface air-liquide. Les cellules ont été traitées 4 fois à 48h d'intervalle en début de phase de différenciation. 5 semaines après le dernier traitement on voit encore des particules (flèches) dans l'épithélium qui s'est différencié normalement (cellules ciliées)

MEGATOX associe le Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, CEA-CNRS-UVSQ, le Laboratoire des Réponses Moléculaires et Cellulaires aux Xénobiotiques, Univ. Paris Diderot, le Laboratoire d'Etude des Particules Inhalées de la Ville de Paris, le Dpt Chimie et Environnement, Ecole des Mines de Douai, le Laboratoire des Matériaux, Surfaces et Procédés pour la Catalyse, CNRS-Univ. Strasbourg, le Laboratoire de Toxicologie, Institut Pasteur de Lille et le Laboratoire de Physiologie Cellulaire Respiratoire, Univ. Bordeaux II. Il a débuté en décembre 2008 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 400 k€ pour un budget total de 2,27 M€.

Résultats majeurs

Les observations atmosphériques sur Paris ont montré que le trafic diesel était la première source en nombre de particules ultrafines sur l'année et que la contribution en masse des aérosols liés au chauffage au bois dépassait celle du trafic sur les mois d'hiver. Une méthodologie originale a été développée pour caractériser la bio-accessibilité au niveau des poumons des métaux trace présents dans les aérosols. Une bio-persistance des particules dans l'épithélium a été observée et associée à une réponse pro-inflammatoire et à une sécrétion muqueuse.

Production scientifique et brevets

Les observations de suie menées sur Paris (1 article soumis et 2 en préparation) contribuent à la réflexion menée au niveau (international) sur la révision de la directive Européenne de la qualité de l'air (2008/50/CE). L'évaluation de la bio-accessibilité des métaux dans les poumons a fait l'objet d'une publication en 2011 et 1 article est en préparation. Le modèle d'étude des effets à long terme a été présenté dans 2 congrès internationaux et 2 articles sont en préparation.

Programme SEST édition 2005

MÉSOTHÉLIOME

L'analyse génomique des cancers dûs à l'amiante a un intérêt épidémiologique et thérapeutique

Identification de mutations spécifiques dans des cancers provoqués par les fibres d'amiante : mésothéliome et cancer du poumon

L'amiante est un cancérigène reconnu qui pose des problèmes dans le domaine de la santé publique et sur le plan médico-légal. Les cancers résultant d'une exposition par inhalation, mésothéliome et cancer du poumon, restent aujourd'hui un défi thérapeutique majeur, en raison de leur résistance aux traitements. La connaissance des mutations génétiques provoquées par l'amiante dans ces cancers permet de préciser le mécanisme d'action et de définir des marqueurs de l'exposition. Ces données sont utiles pour évaluer le potentiel cancérigène de nouveaux agents, pour identifier des molécules biologiques et/ou des voies de cancérogenèse susceptibles d'être ciblées en vue de développer des traitements anti-tumoraux ou, éventuellement, pour définir des facteurs de susceptibilité. Le projet visait à identifier des altérations plus spécifiquement liées à l'action de l'amiante, d'une part en comparant les mésothéliomes humains à ceux induits chez la souris par l'amiante ; d'autre part, en étudiant le statut des gènes altérés dans le cancer du poumon chez des sujets exposés, comparativement à des sujets non exposés à l'amiante.

Analyse des mutations, par séquençage de l'ADN, dans le mésothéliome et dans le cancer du poumon

L'approche scientifique retenue pour développer ce projet a comporté six étapes :

- mise au point de modèles de mésothéliome chez la souris ; étude d'altérations génétiques dans les mésothéliomes ainsi générés ;
- étude d'altérations génétiques dans des mésothéliomes humains ;
- validation de quelques gènes sélectionnés, en tant que marqueurs potentiels du mésothéliome résultant d'une exposition à l'amiante ;
- mise au point de modèles de mésothéliomes de souris, sans exposition à l'amiante ; et comparaison du statut de ces gènes dans le cancer du poumon, chez des sujets exposés et non exposés à l'amiante.

Mésothéliome associe l'UMR-S 674 et le Service de Pathologie Professionnelle du CHI Créteil. Il a débuté en décembre 2005 pour une durée de 44 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR d'un montant de 240 k€ pour un budget global de 2,4 M€. Il a été labellisé par le pôle Sorbonne Paris Cité.

Résultats majeurs

Ce projet a permis :

- l'identification de gènes mutés à la fois dans le mésothéliome humain et dans les mésothéliomes provoqués par les fibres d'amiante, chez la souris ;
- la mise en évidence d'altérations génétiques (1) différentielles entre le mésothéliome et le cancer du poumon ; (2) communes, retrouvées à la fois dans le mésothéliome et dans le cancer du poumon, seulement chez les sujets exposés à l'amiante. L'apport de données concernant le statut biologique et étiologique de cancers induits par l'amiante, chez l'Homme, ayant une signification clinique, diagnostique et pronostique potentielle, et permettant de développer des mésothéliomes sans exposition à l'amiante chez des souris. Etablissement de partenariats pour étendre ces travaux à un plus grand nombre de cas et à d'autres gènes.

Production scientifique et brevets

Quatre articles ont été publiés dans des revues internationales à comité de lecture (Carcinogenesis, Lung Cancer, Cell Death and Differentiation et American Journal of Pathology) ; un article est actuellement soumis dans le même type de revue. Deux thèses de PhD ont été soutenues dans le cadre de ces travaux. Une dizaine de communications ont été effectuées lors de conférences internationales ou nationales dans les domaines de la recherche biologique et thérapeutique sur le mésothéliome, de la santé-environnement et de la santé au travail.

Programme CES édition 2009

NANOBIOTOX

Risques liés à l'exposition pulmonaire aux médicaments nanoparticulaires

Toxicité vis-à-vis de l'épithélium pulmonaire des médicaments nanoparticulaires

L'exposition aux nanoparticules pourrait être susceptible de favoriser des effets toxiques importants tels qu'une réponse inflammatoire ou encore des réactions allergiques. Si certains effets délétères ont été mis en évidence pour des nanoparticules manufacturées à usage industriel, des particules métalliques ou encore des nanotubes de carbone, il n'en est rien des nanoparticules biodégradables utilisées en thérapeutique comme vecteurs de médicaments. En effet, différents types de nanoparticules sont envisagés pour une utilisation clinique sans que des études approfondies n'aient été réalisées sur leurs éventuels effets délétères, particulièrement au niveau des sites d'administration ou d'exposition locaux : digestif, cutané et surtout pulmonaire. Il est par conséquent important d'étudier ces effets pour le patient, mais aussi pour l'environnement, puisque ces objets au même titre que d'autres produits de consommation devront être manufacturés dans des conditions particulières. L'objectif du projet est donc de déterminer comment les médicaments nanoparticulaires préparés à partir de polymères biodégradables interagissent avec les cellules épithéliales pulmonaires et de mettre en évidence une éventuelle toxicité vis-à-vis de cet épithélium.

Relier toxicité, physico-chimie et biodisponibilité des nanoparticules

La méthodologie mise en œuvre a pour but de corréler l'éventuelle toxicité des nanoparticules à leur devenir tissulaire et cellulaire, ainsi qu'à leurs propriétés physico-chimiques qui, dans le cas des polymères biodégradables utilisés comme support aux médicaments nanoparticulaires, peuvent être finement modulées et contrôlées. Plusieurs paramètres semblent pertinents : le diamètre des nanoparticules, leurs propriétés de surface, leur possibilité de s'agréger. Pour ce faire, il est nécessaire de réunir des connaissances autour de trois axes principaux du projet : en amont, le développement et la caractérisation des systèmes nanoparticulaires représentatifs des futurs candidats-nanomédicaments ; en biologie, à l'échelle cellulaire, l'étude de la capture des nanoparticules par différentes populations cellulaires d'origine pulmonaire et ses conséquences toxicologiques ; enfin, à l'échelle de l'organisme, l'étude du devenir des nanoparticules par inhalation sur des modèles animaux murin et les conséquences toxicologiques.

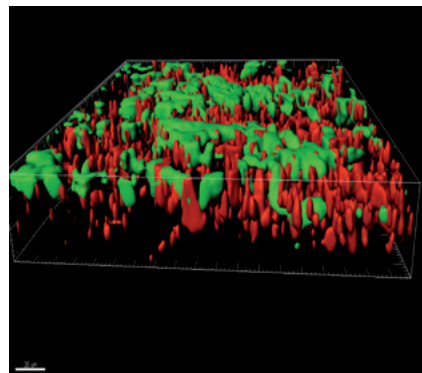


Image prise en microscopie confocale de nanoparticules biodégradables (en rouge) piégées dans la couche de mucus (en vert) et internalisées (sous la couche de mucus) par des cellules bronchiques cultivées en monocouche - © : Simona Mura

NANOBIOTOX est un projet pluridisciplinaire qui associe : l'UMR CNRS 8612, l'Unité Inserm U996 et l'Institut Albert Bonniot, Unité Inserm U823. Le projet, qui a démarré en décembre 2009 pour une durée de 3 ans, a bénéficié d'un financement ANR de 540 k€ pour un montant total de 1,07 M€.

Résultats majeurs

Le premier résultat marquant à cette étape du projet a été de montrer que les nanoparticules biodégradables de PLGA sont internalisées par les cellules bronchiques Calu-3, mais n'induisent aucune toxicité, même à des concentrations très élevées, ceci indépendamment de leur chimie de surface. En particulier, elles ne présentent pas de potentiel inflammatoire sur les cellules bronchiques, ni de toxicité sur cellules dendritiques humaines et murines et ne modifient que très légèrement le phénotype des cellules dendritiques.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 3 publications scientifiques de rang A.

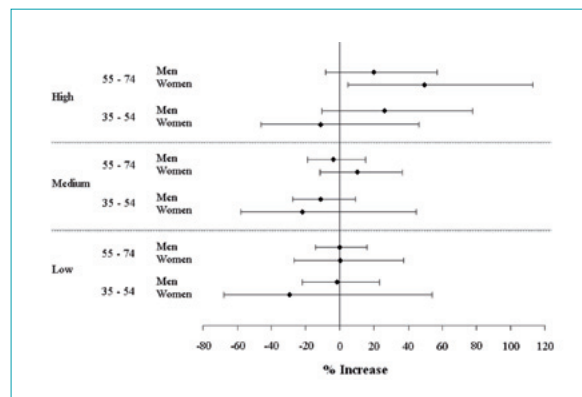
Programme SEST édition 2006

PAISIM

Pollution atmosphérique, inégalités sociales et infarctus du myocarde

Dans la majorité des pays développés, les indicateurs sanitaires (mortalité, incidence, prévalence) de nombreuses pathologies montrent que les populations défavorisées sont plus à risque que des populations plus aisées. Des facteurs de risques d'inégalités sociales de santé (ISS) comportementaux (consommation d'alcool, de tabac, sédentarité...), psychosociaux (latitude décisionnelle au travail, cohésion sociale...) et par le système de soins (accessibilité...) sont établis, mais n'expliquent qu'une part de ces inégalités, auxquelles pourraient contribuer les expositions aux agents nocifs présents dans l'environnement. L'objectif général du projet est de faire converger deux champs de recherche habituellement étudiés de manière indépendante («santé-environnement» et «inégalités sociales de santé»). L'équipe a choisi d'étudier les relations entre l'exposition à court terme à la pollution atmosphérique ambiante, le statut socio-économique des populations et la survenue de l'infarctus du myocarde. Ce choix était justifié par l'existence d'un gradient socioéconomique pour cette pathologie, ainsi que d'un lien de causalité raisonnablement établi entre l'exposition à la pollution atmosphérique et le risque d'infarctus du myocarde.

Cette étude écologique a été menée sur la Communauté Urbaine de Strasbourg (CUS, 452 000 habitants). L'unité statistique spatiale est l'IRIS 2000 de l'INSEE (2000 habitants en moyenne). Pour caractériser le niveau socio-économique des IRIS de la CUS, un indice composite par analyse multidimensionnelle des variables de niveau socio-économiques du recensement national de 1999 a été construit. Les cas sont les infarctus du myocarde validés par le Registre des Cardiopathies du Bas-Rhin chez les 35-74 ans de 2000 à 2003, géocodés à leur IRIS de résidence. Les syndromes grippaux (réseau Sentinelles de l'INSERM), les facteurs météorologiques (température, humidité relative, pression atmosphérique) ont été retenus comme facteurs de confusion potentiels. La pollution atmosphérique (PM_{10} , O_3 , CO , NO_2 et SO_2) a été modélisée grâce au modèle déterministe ADMS-Urban pour toute la période d'étude, à la résolution de l'IRIS, sur une base horaire et validée par des mesures de terrain. Cependant, la modélisation du SO_2 était insatisfaisante : ce polluant n'a pas été inclus dans nos analyses. Les cas ont fait l'objet d'une analyse cas-croisés stratifiée sur le temps.



Pourcentage d'augmentation du risque d'infarctus du myocarde associé à une augmentation de $10 \mu g/m^3$ des niveaux de PM_{10} atmosphériques (lag 0-1 jour), par niveau de défaveur dans la Communauté Urbaine de Strasbourg, 2000-2003

Cette étude épidémiologique à visée exploratoire d'un sujet non encore étudié en Europe a rassemblé l'Institut d'Epidémiologie et de santé publique de la Faculté de Médecine de l'université de Strasbourg et l'Institut de la Veille Sanitaire, Saint Maurice. PAISIM a débuté en 2006 pour une période de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 26 k€ pour un coût global de 426 k€.

Résultats majeurs

Au total, 1193 cas d'infarctus du myocarde ont été recueillis. Les quartiers de défaveur moyenne, localisés à proximité des principales infrastructures routières et autoroutières, apparaissent comme les plus exposés à la pollution liée au trafic. L'équipe a vérifié qu'il existait bien un gradient des inégalités socio-économiques de l'infarctus quel que soit sa distribution dans l'espace à Strasbourg. Les observations de l'équipe, en accord avec la littérature, suggèrent que le risque d'infarctus augmente avec la défaveur, chez les hommes comme chez les femmes. Le taux d'événements chez les hommes est nettement supérieur à celui des femmes. L'âge constitue un facteur de risque quelle que soit la classe sociale considérée.

Production scientifique et brevets

PAISIM a donné lieu à une thèse, 4 articles dans des revues de rang A, un chapitre de livre, 8 communications dans des conférences internationales, 1 communication dans une conférence nationale, une conférence invitée. D'autres publications internationales sont en cours de rédaction.

Programme CES édition 2009

PASTHMA17

Implication des polluants dans la réponse immune de l'asthme sévère

Implication des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans la polarisation Th17 dans l'asthme sévère

L'asthme est une maladie fréquente dont la prévalence a augmentée au cours des 20 dernières années en relation avec des facteurs environnementaux. Parmi ceux-ci, la pollution atmosphérique, et en particulier les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) favorisent une polarisation de la réponse immune vers un profil Th2 caractéristique de l'asthme allergique. Le problème thérapeutique qui se pose à l'heure actuelle concerne les asthmes sévères qui présentent une infiltration de neutrophiles et un profil additionnel Th17 de la réponse immune. Cette nouvelle sous population de lymphocytes helper récemment décrite exprime le facteur de transcription Aryl hydrocarbon Receptor (AhR), dont les ligands comprennent entre autres les HAP. L'hypothèse de l'équipe est que les HAP pourraient contribuer au profil Th17 conduisant à une infiltration de neutrophiles dans les asthmes sévères, peut-être de part leur action sur l'AhR, et jouer un rôle majeur dans le développement de l'asthme sévère. Ce projet très novateur devrait permettre d'identifier de nouveaux mécanismes impliqués dans l'asthme sévère et de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Technologies utilisées

Le projet consiste à évaluer cette hypothèse par des approches complémentaires *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, l'équipe déterminera l'effet des HAPs dérivés de particules diesel sur le profil Th17 de cellules mononucléées du sang périphérique provenant de patients présentant différentes sévérités d'asthme, ainsi que l'effet de l'inhibition de l'AhR par ELISA et Q-PCR. Dans un second temps, la capacité potentielle des surnageants obtenus à recruter des cellules Th17 polarisées *in vitro* sera déterminée ainsi que l'origine cellulaire des cytokines de type Th17 produites (IL-17A et F, IL-22). Dans un troisième temps, les effets des HAP sur les cellules dendritiques seront évalués sur leur capacité à polariser la réponse T vers un profil Th17. Enfin, *in vivo*, l'effet des HAPs sera évalué dans un modèle d'asthme chronique aux acariens et les mécanismes d'action évalués en terme d'implication de AhR et de différentes cytokines.

PASTHMA17 est un projet de recherche fondamentale qui associe l'U1019 et l'U844 de l'Inserm. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 425 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,58 M€.

Résultats majeurs

Les premiers résultats obtenus montrent que contrairement à l'hypothèse initiale il existe une dissociation entre la production d'IL-17 et d'IL-22, et que l'AhR est différenciellement impliqué en fonction de l'HAP, ce qui ouvre la voie vers de nouveaux mécanismes potentiellement impliqués, dont l'identification est en cours, mais aussi vers de nouvelles cibles thérapeutiques.

Production scientifique et brevets

Deux communications ont été effectuées dans des congrès nationaux, une communication est acceptée dans un congrès international aux EU, pour laquelle une bourse de voyage a été accordée par l'American Academy of Allergy and Clinical Immunology. Un papier est en cours de rédaction.

Programme CES édition 2009

SOUDONANO

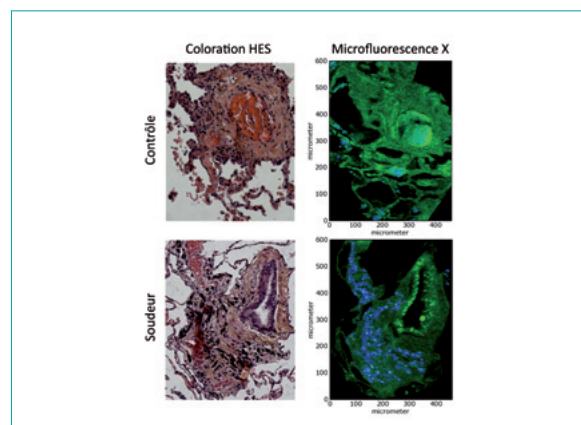
Un rôle pour les nanoparticules dans les altérations pulmonaires des patients soudeurs ?

Rôle des nanoparticules métalliques dans les altérations pulmonaires induites par l'exposition aux fumées de soudage

Les conséquences respiratoires d'une exposition humaine à des nanoparticules ne sont pas connues à l'heure actuelle. En effet, du fait de la difficulté de mise en œuvre d'études d'exposition humaine, et alors même que de telles études constituent une pierre angulaire de l'évaluation du risque pour la santé de l'exposition aux agents de l'environnement, l'immense majorité des travaux s'intéressant aux effets toxicologiques des nanoparticules utilise une approche expérimentale basée uniquement sur cellules en culture ou sur animaux de laboratoire. L'équipe a donc développé une approche utilisant les soudeurs comme modèle d'exposition humaine à des nanoparticules. Le projet SoudoNano a ainsi pour but d'analyser le rôle des nanoparticules métalliques issues des fumées de soudage dans les altérations pulmonaires observées chez les patients soudeurs. Les connaissances générées dans le cadre du projet SoudoNano devraient apporter une avancée importante au regard de l'évaluation du risque que représente une exposition respiratoire chronique à des émissions de nanoparticules métalliques.

Une approche pluri-disciplinaire dédiée aux nanoparticules

Pour atteindre cet objectif, l'équipe a mis en place une approche pluri-disciplinaire reposant sur la forte interaction entre des médecins (pour la sélection des patients sur interrogatoire professionnel), des physiiciens (pour la caractérisation des nanoparticules dans les prélèvements de tissus pulmonaires), des chimistes (pour la synthèse des nanoparticules représentatives) et des biologistes (pour l'étude des effets biologiques de ces nanoparticules). L'utilisation combinée de différentes techniques d'imagerie électronique (microscopie électronique à transmission couplée à une analyse chimique par analyse dispersive en énergie - EDX), ou d'imagerie photonique utilisant le rayonnement synchrotron (microfluorescence X, microdiffraction de rayons X) a permis de surmonter le verrou technologique initialement associé au projet.



Observation d'une zone de fibrose dans le tissu pulmonaire d'un patient Contrôle (en haut) et d'un patient Soudeur (en bas). Images obtenues en microscopie optique (à gauche, coloration Hématoxyline Éosine Safran) et par microfluorescence X (à droite) permettant une analyse élémentaire (en vert le signal du Soufre, en bleu le signal du Fer, et en rouge celui du Manganèse)

SOUDONANO est un projet de recherche fondamentale qui associe 7 partenaires académiques : Inserm (Créteil, Paris, Nancy), CNRS, Université Paris Est-Créteil, Université Pierre et Marie Curie, Université Paris Diderot. Le projet a démarré en novembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 500 k€ pour un coût global d'environ 1,7 M€.

Résultats majeurs

Les travaux réalisés jusqu'à présent ont permis de localiser des nanoparticules de Fer, Chrome et/ou Manganèse principalement dans les lésions histologiques observées chez les patients soudeurs, particulièrement au niveau des macrophages, dans des zones de fibrose. La charge particulaire et l'intensité des lésions sont plus importantes chez les patients soudeurs que chez les sujets non exposés (Contrôle). La suite du projet va s'intéresser à déterminer le lien entre les effets biologiques observés et l'exposition aux nanoparticules identifiées.

Une meilleure connaissance des mécanismes biologiques sous-jacents aux altérations histologiques observées chez les soudeurs en réponse à une exposition aux nanoparticules devrait être apportée à l'issue du projet SoudoNano.

Production scientifique et brevets

Les résultats concernant la caractérisation des nanoparticules présentes dans les poumons des patients soudeurs et leur colocalisation avec les altérations histologiques ont été présentés lors de congrès nationaux ou internationaux, notamment à l'American Thoracic Society (Denver, Colorado) en mai 2011 sous la forme d'une communication orale.

Perturbateurs endocriniens, fertilité

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
ATMOSFER	Influence de l'exposition aux polluants atmosphériques sur la fécondabilité et un biomarqueur de fertilité féminine : une étude de cohorte en population générale	Pollution atmosphérique et fertilité des couples
DHYOXHIME	Incidence d'une exposition in utero à la TCDD sur la fonction de reproduction chez le rat. Caractérisation du dimorphisme mâle/femelle de l'effet Diox « dioxine ». Etude multigénération.	Exposition <i>in utero</i> à la dioxine et fonction de reproduction chez le rat
ENDISRUPT	Perturbateurs endocriniens et infertilités masculines : modèles et biomarqueurs	Perturbateurs endocriniens et infertilités masculines : modèles et biomarqueurs
KISMET	Modèles intégratifs et innovants pour criblage des perturbateurs endocriniens	Le perturbateurs endocriniens : effets des molécules mères et de leurs métabolites
PLASTIMPACT	Metabolic and endocrine impacts of two plastics industry-related contaminants of the food chain: Bisphenol A and DEHP (diethylhexyl phthalate)	Effets nouveaux de contaminants alimentaires provenant des matières plastiques

Programme SEST édition 2006

ATMOS-FER

Pollution atmosphérique et fertilité des couples

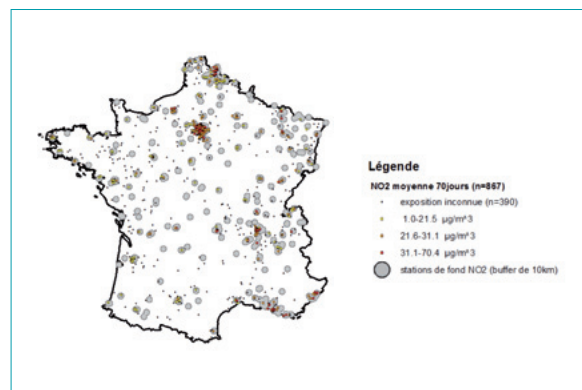
Les polluants atmosphériques ont-ils un impact à court terme sur la durée nécessaire pour obtenir une grossesse ? Une enquête en population générale

Très peu d'études ont cherché à décrire la sensibilité de la fertilité des couples (l'aptitude biologique à procréer) de la population générale aux polluants atmosphériques. Une très grande fraction de la population générale est exposée à la pollution atmosphérique, qui est susceptible d'influencer certaines caractéristiques spermatiques, elles-mêmes associées à la fertilité du couple. La question d'une association entre pollution atmosphérique et fertilité des couples mérite donc d'être approfondie. Elle n'a à la connaissance de l'équipe, été étudiée que dans une étude qui souffrait de certaines limites méthodologiques. L'objectif était de caractériser l'exposition de couples vivant en France aux polluants atmosphériques (en considérant le dioxyde d'azote, ou NO_2), et l'influence de cette exposition sur leur fertilité.

Une cohorte de couples de la population générale cherchant à obtenir une grossesse

Un échantillon aléatoire de couples n'utilisant pas de contraception et vivant en France métropolitaine a été recruté selon l'approche des durées en cours à partir de 63 262 foyers français contactés par téléphone. Les femmes finalement incluses dans l'étude ont été interrogées sur le délai écoulé depuis la fin de la contraception. La station de mesure de la qualité de l'air la plus proche du domicile de chaque femme vivant à moins de 10 km d'une station a été identifiée afin d'estimer le niveau moyen de NO_2 durant la période précédant l'arrêt de la contraception.

Les analyses statistiques ont été réalisées par le modèle de Yamaguchi et par un modèle de probabilité de défaillance en temps accéléré (Accelerated Failure Time model). La pollution atmosphérique au NO_2 ayant diminué en France durant les 20 dernières années, il a été nécessaire de corriger le biais éventuel pouvant résulter de cette tendance temporelle.



Niveau de NO_2 aux domiciles des femmes pour lesquelles la durée en cours sans contraception a pu être définie et zones de 10 km autour des stations de mesure

ATMOS-FER est un projet de recherche d'épidémiologie environnementale coordonné par l'équipe d'épidémiologie environnementale de l'Inserm U823 (Grenoble), associant le CESP (Centre de recherche en Epidémiologie et Santé des Populations, Inserm U1018, Villejuif), le département de biostatistiques de l'Université de Copenhague, la Faculté de Médecine des Saints-Pères (Université Paris-Descartes) et l'unité CNRS 2147 (Paris). Le projet a débuté en janvier 2007 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 200 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,1 M€.

Résultats majeurs

L'équipe a identifié et recruté 867 couples n'utilisant pas de contraception. La fréquence de l'infécondité involontaire à un an était de 24 % (intervalle de confiance (IC) à 95 %, 19-30 %) ; l'infécondité involontaire à deux ans concernait environ un couple sur dix (IC à 95 %, 8-14 %). Concernant la pollution atmosphérique, le niveau moyen de NO_2 dans les 70 jours avant le début de la période sans contraception a été déterminé pour 466 femmes et était associé au délai avant l'obtention d'une grossesse (multiplication du délai médian avant grossesse par 1,32 ; IC 95 % [1,20 ; 1,45]) pour une augmentation de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de la concentration en NO_2 . Les tendances temporelles dans les niveaux de NO_2 expliquaient la plus grande partie de cette association (après prise en compte de l'effet de la tendance temporelle sur l'association entre délai avant grossesse et exposition, $p=0,30$).

Production scientifique et brevets

Ce projet a fait l'objet d'une publication dans une revue internationale et deux autres manuscrits ont été finalisés. De nombreuses communications orales ont été réalisées tant auprès de spécialistes de santé environnementale que de biostatistique.

Programme PNRA édition 2006

DHYOXHYME

Exposition in utero à la dioxine et fonction de reproduction chez le rat

Caractérisation de la fonction de reproduction mâle et femelle dans un modèle rongeur après exposition in utero à la TCDD ou dioxine de Seveso

Les perturbateurs endocriniens sont des substances qui peuvent mimer ou s'opposer à l'action hormonale, altérant le développement et le fonctionnement des glandes endocrines. Les dioxines sont des perturbateurs endocriniens de la voie oestrogénique. Dans les pays développés, les émissions de dioxines résultent essentiellement des activités humaines industrielles et domestiques. Ce sont des polluants persistants qui s'accumulent dans les graisses animales. La contamination se fait ainsi à 95 % par voie alimentaire. Dans ce contexte, la communauté européenne considère que la dioxine et ses congénères sont des substances auxquelles une attention très forte doit être portée tant en termes de mesure visant à limiter l'exposition qu'en termes de développement des études visant à mieux caractériser les mécanismes d'action, notamment en tant que perturbateur endocrinien. Cette problématique est d'autant plus importante aujourd'hui que la contamination est chronique et que les niveaux d'exposition sont proches des niveaux pour lesquels des effets délétères ont été observés sur des modèles animaux.

Caractérisation de la fonction de reproduction des animaux exposés in utero à la dioxine par une approche combinant la physiologie et l'analyse transcriptomique sur puces

Ce projet de type finalisé est un sujet de recherche fondamentale qui s'appuie sur les outils de la transcriptomique (c'est-à-dire la mesure de l'expression de l'ensemble des gènes qui s'expriment dans un tissu donné), à côté d'outils plus traditionnels relevant de la physiologie et de la biologie cellulaire. Précisément, les méthodologies incluent le gavage de ratte gestantes Sprague-Dawley à 15,5 jours de gestation, le suivi des animaux sur 3 générations ; le sacrifice des animaux à des dates clefs du développement ; le prélèvement d'organes en vue d'analyses en biologie moléculaire (analyse transcriptomiques), biochimie (protéines), histologie/immunohistochimie et comptages cellulaires. L'équipe entretient également des lignées de souris transgéniques, c'est-à-dire de souris dont le patrimoine génétique a été modifié. L'équipe travaille en particulier sur des souris n'exprimant pas le récepteur sur lequel se fixent les molécules de dioxine. La fonction de reproduction est étudiée sur ces animaux.

Dhyoxhyme est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'INRA UMR1245 CCD (INSERM, Université Lyon I). Il associe aussi le CNRS UMR7079 (Université Paris 6). Le projet a commencé en janvier 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 322 k€ pour un montant global de 1,94 M€.

Résultats majeurs

La dioxine aux doses étudiées n'interfère pas avec le déroulement de la gestation, la taille de la portée ou le sex-ratio de la génération F1. Une baisse transitoire des réserves épidiymaires est observée chez le mâle. Chez les femelles, la fertilité est normale au début de la vie de reproduction (non étudiée ensuite). L'analyse transcriptomique indique qu'un grand nombre de gènes de détoxification sont allumés dans l'ovaire contre un seul (AhRR) dans le testicule. Nous mettons aussi en évidence de nouveaux gènes cibles de la dioxine, certains ne répondant que dans les gonades.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 2 publications dans des revues internationales de rang A.

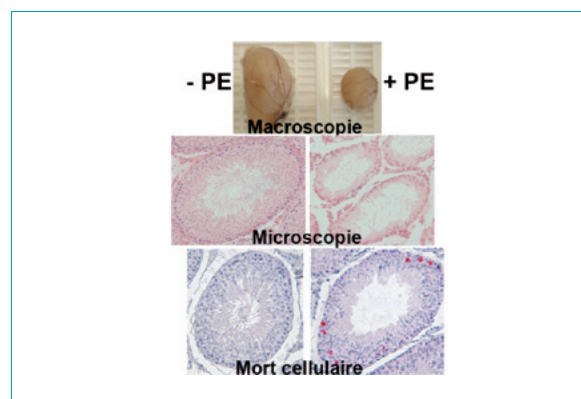
Programme SEST édition 2006

ENDISRUPT

Perturbateurs endocriniens et infertilités masculines : modèles et biomarqueurs

Exposition in utero aux perturbateurs endocriniens environnementaux et infertilités masculines : mécanismes d'action cellulaires et moléculaires, développement de biomarqueurs et de modèles liés à cette exposition

Un couple sur 7 consulte pour des difficultés à concevoir. Dans la moitié des cas, une hypofertilité masculine est identifiée. Au-delà des causes classiques, les causes environnementales sont soupçonnées d'être à l'origine de ces infertilités masculines. Ainsi, certaines molécules chimiques présentes dans notre environnement quotidien (pesticides, produits ménagers) peuvent interférer très tôt au cours de la vie avec le système hormonal endogène, lors de la mise en place de l'organe et ainsi altérer la spermatogenèse à l'âge adulte. Ce sont les perturbateurs endocriniens environnementaux (PEE) qui modifient le métabolisme en particulier des androgènes et/ou des estrogènes. Les objectifs étaient d'identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires conduisant à l'altération irréversible de la lignée germinale et des biomarqueurs/empreintes liés à l'exposition des PEEs. Pour cela, l'équipe a utilisé des modèles expérimentaux de rats ou souris génétiquement modifiés ou non exposés in utero ou en période néonatale à des PEE de type anti androgénique ou estrogénomimétique.



Endisrupt est un projet de recherche fondamentale associant des laboratoires publics (Inserm/UNSA, CNRS/UBP, Inserm/IFR, HCL) à un industriel (BayerCropScience). Le projet a débuté en 2007 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 300 k€ pour un coût global de 1,35 M€.

Approche globale (transcriptome) et ciblée (gènes candidats, RT-PCR quantitative)

Par l'approche globale, l'équipe montre une altération du profil d'expression des gènes chez l'adulte exposé in utero à un antiandrogène (170 gènes surexprimés, 360 gènes sous exprimés) ou en période néonatale à un estrogénomimétique (87 gènes surexprimés, 140 gènes sous exprimés). Elle a ensuite analysé les mécanismes d'action des PEE. L'exposition *in utero* ou néonatale aux PEE provoque une apoptose irréversible des cellules germinales adulte. Ceci est lié à une anomalie de fonctionnement des cellules nourricières (cellules de Sertoli) et non à une action directe sur les cellules germinales. En effet, les taux d'hormones sanguins sont normaux. De nouveaux biomarqueurs diagnostic sont à identifier. L'équipe montre aussi que les effets néfastes d'une exposition néonatale à un estrogénomimétique passeraient par le récepteur nucléaire Nr0b2. En effet, l'invalidation de ce gène (souris Knock-out) permet de contrer les effets délétères de PEE et de rendre résistantes les cellules germinales mâles à l'apoptose.

Résultats majeurs

L'équipe a mis en place un modèle expérimental d'étude pertinent pour identifier les effets à distance des PEE (exposition chez le fœtus/nouveau-né, pathologie à l'âge adulte) qui pourrait être utilisé pour rechercher le potentiel PEE de molécules (directive européenne REACH). Le projet a identifié : les mécanismes cellulaires des PEE (mort des cellules germinales adultes conduisant à l'hypofertilité) ; que l'exposition aux PEE induit des effets irréversibles à l'âge adulte ; que les mécanismes moléculaires des PEE sont de type épigénétique avec modification des microARNs et de la méthylation des gènes. Les gènes identifiés pourraient représenter des biomarqueurs de la pathologie humaine.

Production scientifique et brevets

Ce travail a fait l'objet de 5 publications dans des journaux internationaux et de 2 communications orales.

Programme CES édition 2008

KISMET

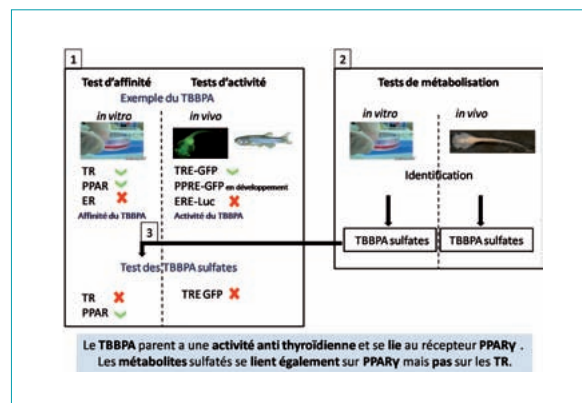
Les perturbateurs endocriniens :
effets des molécules mères et de leurs métabolitesApproches intégrées pour la détection
des effets de perturbateurs endocriniens :
complémentarité de l'*in vitro* et de l'*in vivo*

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des molécules pouvant prendre la place d'hormones au sein d'un individu et entraîner des effets délétères. Le projet KISMET s'est mis en place dans le contexte de l'application de la loi REACH (en Registrement, Evaluation, Autorisation et restriction de l'usage de substances Chimiques) et dans le but de développer des tests *in vitro* sur cellules et *in vivo* sur embryons de poissons ou d'amphibiens. Ceci afin de fournir aux autorités réglementaires compétentes (France, Europe) des informations sur des substances pour lesquelles nous n'avons pas d'informations toxicologiques pertinentes. Les PE peuvent agir à divers niveaux d'un axe de signalisation hormonale (synthèse, transport, métabolisme, action au niveau du récepteur) ce qui rend leur détection et l'évaluation des effets leur incombant très complexe et demandant un panel de tests complémentaires.

Les quatre partenaires ont profité de leur interdisciplinarité pour développer un réseau de tests permettant d'évaluer au mieux l'impact d'un PE. Pour ce faire, une liste de PE déjà identifiés ainsi qu'une liste de molécules potentiellement PE ont été établies. L'équipe a comparé les effets de ces substances à l'aide de différents tests à l'interface *in vitro*/*in vivo* développés avant ou pendant le projet KISMET.

Lignées cellulaires, rapporteurs transgéniques
et métabonomiques

Le développement de nouvelles lignées cellulaires et l'utilisation de petits modèles organismes permet d'offrir une alternative aux tests sur animaux classiques. Un partenaire ayant les outils pour synthétiser et analyser les métabolites de PE a apporté un niveau de compréhension dans les mécanismes d'action des PE. La création de lignées cellulaires exprimant divers récepteurs nucléaires humains (PPAR, CAR, PXR, ER, AhR, TR) de zébrafish (zER, zAR, zGR, zAhR, zERR, zPPAR) ou de xénope (xPPAR, xTR) a permis un criblage de PE connus ou émergents. Parallèlement des petits modèles organismes transgéniques exprimant la GFP (Green Fluorescent Protein) après un stimulus hormone thyroïdienne (xénope TRE-GFP) ou oestrogénique (zébrafish ERE-Luc) ont été utilisés et de nouvelles lignées développées (une lignée de xénope pour cribler des molécules obésogènes et une lignée de zébrafish rapporteur d'une pollution androgénique). Les méthodes ont été validées et des molécules candidates ont été utilisées pour déterminer si les produits de détoxification obtenus (métabolites) au sein des cellules ou des animaux aquatiques étaient biologiquement actifs. L'étude des métabolites sur des organismes entiers (métabolome) est l'étape finale d'un projet qui a généré de nombreuses données.



KISMET a testé plusieurs xénobiotiques, dont le retardant de flammes Tetrabromobisphénol A (TBBPA). [1] *In vitro* il montre une affinité pour le récepteur aux hormones thyroïdiennes (TR), pour le récepteur activé par les proliférateurs de peroxy-somes (PPAR) mais pas pour le récepteur aux oestrogènes (ER). *In vivo* un effet au niveau thyroïdien est observé. [2] L'étude de la métabolisation du TBBPA par les cellules ou par les têtards montre qu'il est métabolisé majoritairement en TBBPA-sulfate, ce métabolite est dépourvu d'effet sur les TR mais actif sur PPAR [3]

KISMET est un projet de recherche fondamentale coordonné par le CNRS UMR5166/MNHN USM501. Le projet a commencé en juin 2008 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 550 k€ pour un coût global de 2 M€.

Résultats majeurs

De multiples résultats émergent du projet KISMET. Parmi ceux-ci :

- le bisphénol A (BPA), lorsqu'il est mis en contact de modèles aquatiques pendant la période embryonnaire induit des malformations de l'oreille interne par un mécanisme ERR dépendant ;
- le Tetrabromobisphénol A (TBBPA) utilisé comme retardant de flamme dans les produits tels que les téléphones portables induit des effets antithyroïdiens et se lie aux récepteurs activés par les proliférateurs de peroxy-some (PPAR) qui jouent un rôle dans la lipodogenèse ;
- les métabolites sulfatés du TBBPA lient également avec une forte affinité ces PPAR montrant l'action d'une molécule et ses métabolites sur différents axes endocriniens.

Production scientifique et brevets

Ce projet a donné lieu à 5 publications (dont 4 impliquant plusieurs partenaires) dans les revues internationales : Archives of Toxicology, BMC Developmental Biology, Toxicological sciences et Environmental Health & Perspectives qui ont un rayonnement très large sur la communauté scientifique. Trois autres articles sont actuellement en préparation ou soumis. De plus, 11 communications orales ou sous forme de poster ont permis une diffusion des résultats lors du projet KISMET.

Programme PNRA édition 2006

PLASTIMPACT

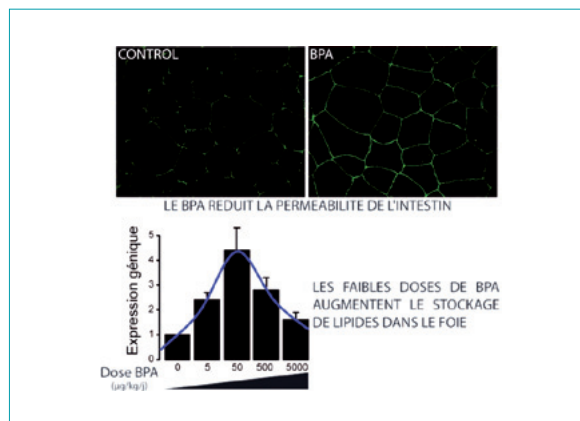
Effets nouveaux de contaminants alimentaires provenant des matières plastiques

Evaluation de la toxicité de faibles doses de deux contaminants de la chaîne alimentaire, le bisphénol A et le DEHP, sur les fonctions métabolique et endocrinienne

Ce projet a révélé des effets biologiques insoupçonnés de substances issues de certaines matières plastiques qui peuvent contaminer la chaîne alimentaire (diffusion dans les denrées à partir de récipients, d'emballages) : le bisphénol A (BPA), et le di(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP). Ils comptent parmi les contaminants les plus fréquemment et les plus abondamment trouvés dans le sang des consommateurs de l'UE. Ce sont des perturbateurs des équilibres hormonaux, capables d'induire des altérations du développement fœtal des organes reproducteurs mâle et des fonctions de reproduction. Ce programme visait à évaluer les conséquences d'expositions et de co-expositions à de faibles doses de ces contaminants sur de nouveaux tissus cibles (testicule, foie, muqueuse intestinale, axe hypothalamo-hypophysaire) et de nouvelles fonctions biologiques en lien avec le métabolisme et les systèmes hormonaux. Il a été établi que les cellules de la paroi interne de l'intestin, comme celles du foie étaient sensibles à ces contaminants. Une exposition provoque une réduction de la perméabilité de la paroi de l'intestin, comme elle favorise le stockage de graisses dans le foie. Les connaissances dégagées sont utiles pour une meilleure qualification du danger et font progresser l'évaluation du risque sanitaire lié à de telles expositions. L'intégration des disciplines rassemblées a été créatrice d'outils, de savoir-faire novateurs et de nouvelles connaissances, à forte applicabilité dans le domaine de l'évaluation d'impacts biologiques des contaminants de l'alimentation.

Pathologie expérimentale sur modèles de laboratoire et biologie à haut débit révèle des signatures d'exposition et des effets de contaminants de l'alimentation

Ce programme a mis en commun les compétences de 7 équipes de recherche publique. Il s'est appuyé sur l'utilisation de modèles animaux et de modèles cellulaires pertinents et a conduit au développement de modèles originaux d'investigation. De manière coordonnée aux méthodes microscopiques et d'exploration des animaux modèles, l'impact des contaminants a été évalué grâce aux approches à haut-débit d'étude des gènes exprimés dans les organes. Un volet de recherche en biostatistique a été associé au projet, permettant de développer des méthodes d'intégration de ces données d'observation globale des systèmes biologiques et d'en renforcer la valeur biologique. Ces différents outils ont été utilisés pour mesurer l'impact des contaminants dans différents tissus (foie, rein, testicule) et fluides biologiques (plasma, urine). Des méthodes d'analyse chimique de haute performance et sensibilité ont également été utilisées pour étudier le devenir des contaminants alimentaires dans l'environnement des organes.



Plastimpact associe plusieurs partenaires de l'INRA, de l'INSERM et du CNRS. Il a débuté en 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 560 k€ pour un coût global de 1,94 M€.

Résultats majeurs

Les faits marquants les plus notables de ce programme sont la mise en évidence d'effets du BPA sur deux nouveaux organes cibles : l'intestin qui est le premier organe au contact des contaminants ingérés et qui voit sa perméabilité restreinte ; le foie qui joue un rôle important au niveau du métabolisme et qui connaît un accroissement de son stockage de graisses. Ces travaux ont alimenté le débat sur les risques d'exposition des populations humaines à ce plastifiant. Le projet a fait émerger une unité de recherche multi-organismes dédiée à la toxicologie alimentaire de 140 chercheurs.

Production scientifique et brevets

14 articles de recherche et 16 communications, internationaux, ont été produits (3 articles dans des périodiques de première notoriété), 34 articles et conférences de vulgarisation et de communication à la société ont été produits, les animateurs ont participé à nombre de débats citoyens, ont répondu à un nombre considérable d'interviews (presse quotidienne, hebdomadaire, radios, télévisions nationales et internationales), ils ont été audités par les parlementaires français sur le sujet, les résultats du projet ont été repris dans les attendus des avis des agences nationales ou internationales d'évaluation de risques (France, EU, USA, Canada).

Cancers, génotoxicité

Acronyme et nom du projet		Le projet en un titre
DNAOX	Oxydation de l'ADN, mécanisme moléculaire d'oxydation des guanines et application à la détection et la quantification des lésions qui en résultent	Les dommages de l'ADN à la loupe
GENOTOXTRACK	Biomarqueurs de génotoxicité <i>ex vivo</i> et <i>in vivo</i>	Caractériser les toxiques de l'ADN et les risques pour la santé humaine, animale ou l'environnement
HEPACELLTOX	Effets chroniques et mutagènes/cancérogènes de contaminants de l'environnement évalués à l'aide de cellules d'un hépatome humain (hepaFG) métaboliquement compétentes	Un modèle d'étude <i>in vitro</i> des contaminants de l'environnement après exposition aiguë ou chronique
ONCOPOP	Polluants organiques persistants (POP), migration cellulaire et progression tumorale	Rôle des polluants persistants de l'environnement dans la progression cancéreuse

Programme SEST édition 2006

DNAOX

Les dommages de l'ADN à la loupe

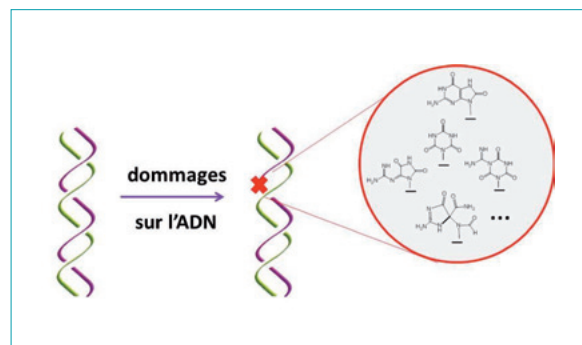
Comprendre et décrire la nature et la formation de lésions chimiques sur l'ADN sous stress oxydant en se focalisant sur la base la plus fragile vis-à-vis de l'oxydation : la guanine

L'ADN est endommagé sous stress oxydant et les lésions formées sont impliquées dans les processus de vieillissement, de carcinogénèse et de mort cellulaire. La connaissance au niveau moléculaire des produits de dégradation de l'ADN (leur nature, le ou les mécanismes de leur formation) est nécessaire pour mieux comprendre leurs conséquences biologiques. En effet, on peut envisager de les rechercher *in vivo* lorsqu'on dispose de standards. On peut étudier leur réparation de manière individuelle. On peut mieux prédire lesquels se formeront dans telles conditions. La base nucléique guanine étant la plus oxydable, l'équipe s'est focalisée sur les produits d'oxydation de la guanine dans l'ADN en cherchant à décrire quels produits sont issus d'un événement d'oxydation initial et isolé par rapport aux produits issus d'oxydations successives de la lésion initiale et cela par quels chemins réactionnels.

La chromatographie liquide et la spectrométrie de masse dans un premier temps puis la résonance magnétique nucléaire

Un réactif d'oxydation réagissant par un mécanisme bien connu est utilisé *in vitro* pour mimer des conditions oxydantes. La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide permet d'analyser directement les lésions générées sur de courts brins d'ADN. Ainsi on peut observer des lésions primaires instables et les suivre lors de leur évolution vers d'autres dommages.

La spectrométrie de masse ne donne pas la structure des lésions sur l'ADN. Une analyse structurale par RMN est nécessaire dans un deuxième temps. Cependant, cette technique nécessite des quantités plus importantes de produit ainsi qu'une étape d'isolement du produit d'intérêt. Il faut donc bien connaître la stabilité de la lésion avant de pouvoir déterminer sa structure.



Comment les bases de l'ADN sont-elles modifiées ?
Quelles lésions se forment sur l'ADN et dans quelles conditions ?

DNAOX est un projet de recherche fondamentale coordonné par le Laboratoire de Chimie de Coordination CNRS, Toulouse. Le projet a commencé en décembre 2006 pour une durée de 24 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 80 k€ pour un coût global de l'ordre de 400 k€.

Résultats majeurs

l'équipe a pu décrire des mécanismes originaux par lesquels une lésion initiale sur l'ADN (ou primaire) se transforme en lésions secondaires.

Un nouveau produit primaire d'oxydation de la guanine a été caractérisé.

Il s'ensuit une meilleure compréhension des mécanismes responsables des effets néfastes du stress oxydant sur l'ADN. Ce n'est qu'en connaissant bien les différentes lésions de l'ADN *in vitro* que l'on pourra étudier leur impact biologique. En disposant de standards il devient possible de rechercher ces lésions *in vivo* et d'étudier leur réparation.

Production scientifique et brevets

Un article a été publié dans un journal international de rang A et d'autres sont en préparation.

Programme CES édition 2010

GENOTOXTRACK

Caractériser les toxiques de l'ADN et les risques pour la santé humaine, animale ou l'environnement

Visualiser les cassures de l'ADN - et leur réparation - dans les cellules exposées à des toxiques

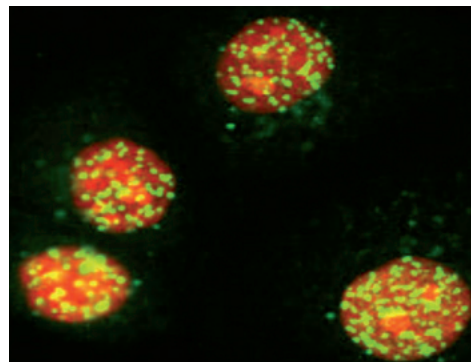
Les substances génotoxiques induisent des dommages à l'ADN qui peuvent aboutir à la mort cellulaire et, si ils sont mal réparés, générer des mutations. Ce projet propose de développer des marqueurs pour détecter et suivre les cassures de l'ADN, et leur réparation, dans des cellules vivantes. GENOTOXTRACK analysera également le devenir des cellules exposées afin de prédire les processus induisant l'instabilité génétique.

Une application directe de ce projet sera le criblage de molécules ou de souches bactériennes afin de tester leur génotoxicité. Le transfert des outils dans différents systèmes permettra de suivre la présence de génotoxiques, la pollution des eaux et des sols ainsi que les effets sur les cellules exposées.

Globalement, cette étude conduira au développement d'outils pour déterminer la toxicité de substances, connues ou nouvelles, et suivre les stress génotoxiques *in vivo*. Ces outils permettront également de mieux comprendre les mécanismes de toxicité. Ils pourront être utilisés dans la prévention et/ou le diagnostic d'exposition à des génotoxiques et ainsi aider à améliorer la protection de notre environnement et la santé humaine et/ou animale.

Les nanobodies comme biomarqueurs pour suivre les cassures de l'ADN et la destinée cellulaire

Les marqueurs utilisés pour étudier les cassures de l'ADN nécessitent l'utilisation d'anticorps sur des cellules fixées, donc mortes. Ceci ne permet pas d'étudier en temps-réel la survenue des cassures, ni de suivre la réparation de ces cassures. L'équipe développe des « nanobodies » dirigés contre un marqueur utilisé classiquement pour suivre les cassures, afin de les exprimer dans des cellules vivantes. Ces petits anticorps, directement présents dans les cellules, reconnaîtront les cassures de l'ADN ; ils permettront donc de suivre l'apparition des cassures -et leur disparition s'il y a réparation. En plus des anticorps conventionnels, certains animaux (camélidés, requins) possèdent des anticorps dont le site de liaison à l'antigène est un petit domaine unique (nanobody). Les nanobodies reconnaissant le marqueur des cassures de l'ADN seront isolés et exprimés, avec une étiquette fluorescente, dans les cellules qui seront alors criblées en fonction de divers paramètres (formation de foyers après traitement avec un toxique de l'ADN, dynamique du signal, etc). Les lignées cellulaires exprimant les nanobodies permettant de suivre en temps-réel les cassures seront alors validées et utilisées pour caractériser les stress génotoxiques et les destinées cellulaires.



Photographie de noyaux cellulaires (colorés en rouge) et du marqueur des cassures de l'ADN sous forme de foyers (en vert), observés en microscopie à fluorescence après traitement avec un génotoxique

GénoToxTrack est un projet de recherche fondamentale associant l'INRA et l'ITAV-CRT-RIV. Il a débuté en janvier 2011 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 400 k€ pour un montant global de 1,46 M€. Il a été labellisé par le pôle Cancer Bio Santé.

Résultats majeurs

Dans des modèles cellulaires, nous pouvons générer des dommages à l'ADN et observer le recrutement de certaines protéines en petits foyers, par microscopie. L'équipe souhaite maintenant suivre de façon dynamique ces foyers, afin de déterminer si la cellule est capable de réparer ou non les dommages causés par différents traitements (irradiation, produits chimiques, etc). Elle développe actuellement des « étiquettes » sur ces protéines afin de pouvoir les suivre, sous forme de foyers fluorescents par microscopie, et/ou de les purifier biochimiquement. Ce type d'outil cellulaire permettra de cribler et de définir le potentiel génotoxique de nouvelles substances.

Production scientifique et brevets

L'état d'avancement du projet a été présenté aux Journées du Département Santé Animale de l'INRA (communication écrite, Mai 2011, Fréjus) ainsi qu'au congrès Eurotox (communication orale, Août 2011, Paris).

Programme SEST édition 2006

HEPACELLTOX

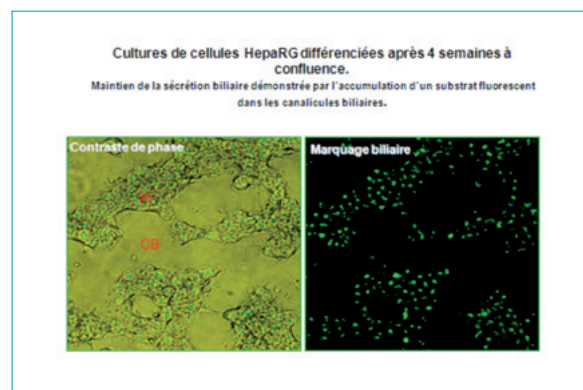
Un modèle d'étude *in vitro* des contaminants de l'environnement après exposition aiguë ou chronique

Effets chroniques et mutagènes/cancérogènes de contaminants de l'environnement et de l'alimentation évalués à l'aide des cellules hépatiques humaines HepaRG métaboliquement compétentes

De nombreux contaminants de l'environnement connus pour être toxiques voire mutagènes/cancérogènes chez l'animal, sont au mieux seulement suspectés de l'être chez l'homme, sur la base des études épidémiologiques et d'une plus grande fréquence de cancers associés à une exposition professionnelle à un contaminant particulier ou à certaines habitudes alimentaires. Ce manque de données résulte de l'absence de modèle(s) d'étude pertinent(s) d'expositions chroniques à de faibles doses de contaminants séparément ou en mélange. L'objectif de ce projet était d'évaluer la pertinence d'une nouvelle lignée de cellules hépatiques humaines, la lignée HepaRG, pour des études à long terme de cytotoxicité et de génotoxicité (dommages à l'ADN) de substances chimiques. Ces cellules possèdent à la fois les propriétés fonctionnelles des cellules de foie (hépatocytes) humain normal et la capacité de prolifération indéfinie des cellules cancéreuses hépatiques en culture. La finalité de l'étude était de disposer de méthodes prédictives performantes de détection et de caractérisation de substances chimiques potentiellement toxiques et/ou cancérogènes. Les résultats obtenus ont confirmé les attentes et cette lignée cellulaire aujourd'hui largement utilisée au niveau international, fait actuellement l'objet d'études de validation au niveau européen en vue d'être reconnue comme lignée cellulaire de référence pour l'étude de la toxicité des produits chimiques.

Identification du potentiel cytotoxique et génotoxique des contaminants de l'environnement

Différentes fonctions hépatiques ont été mesurées dans les cellules HepaRG, notamment les activités de métabolisme des produits chimiques et leur réponse à des inducteurs. Ces fonctions restent relativement stables pendant plusieurs semaines dans ces cellules différenciées. L'utilisation de puces à ADN a montré que les cellules HepaRG expriment 80 à 90% des gènes fonctionnels dans des hépatocytes humains normaux en culture primaire. Deux tests de génotoxicité (tests des comètes et du micronoyau) ont été adaptés et des effets génotoxiques dépendant du métabolisme des molécules ont été observés. Des études portant sur des amines aromatiques hétérocycliques, composés formés lors de la cuisson d'aliments, ont montré que ces molécules peuvent interagir entre-elles et provoquer des effets synergiques et inhibiteurs et que, lorsqu'elles sont en contact répété pendant plusieurs semaines avec les cellules, provoquent l'altération de l'expression de nombreux gènes dont des gènes liés au cancer. Enfin, une étude portant sur des effets aigus d'une mycotoxine, l'aflatoxine B1, connue pour être un puissant cancérogène hépatique chez l'homme et l'animal, a permis d'identifier de nombreux gènes cibles et des études plus approfondies ont révélé que certains d'entre eux étaient modulés par tous les composés génotoxiques et pourraient ainsi représenter des biomarqueurs précoces d'une exposition à de tels composés.



Substrat fluorescent : carboxy-dichloro-fluorescein diacetate : H : hépatocytes ; CB : cellules biliaires

HEPACELLTOX est un projet de recherche fondamentale qui associe l'ANSES, Laboratoire de Fougères, Unité de Toxicologie des Contaminants ; l'UMR INSERM U522 - Université de Rennes 1 et le Service de Toxicologie, CHU de Rennes. Le projet a débuté en décembre 2006 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 250 k€ pour un coût global de l'ordre de 800 k€.

Résultats majeurs

Les résultats ont grandement contribué à la reconnaissance au niveau national et international de la lignée HepaRG comme la seule lignée hépatique humaine représentative des hépatocytes humains normaux, ce qui explique aujourd'hui sa large utilisation dans l'industrie pharmaceutique et chimique ainsi que dans les laboratoires académiques, grâce à la société BIOPREDIC INTERNATIONAL, qui en a obtenu la licence de distribution. Les tests de génotoxicité, dont les tests des comètes et du micronoyau, sont applicables. L'emploi de puces à ADN a permis d'obtenir des signatures géniques de contaminants et ensuite d'aboutir à l'identification de gènes cibles de composés génotoxiques. Des interactions entre contaminants ont également été démontrées.

Production scientifique et brevets

Le projet a donné lieu à 7 publications originales et 2 revues. Onze communications orales (dont 4 invitées) ou affichées complètent ce bilan. Les publications portent sur les différentes parties du programme : deux sur la caractérisation du modèle cellulaire ; une sur les tests de détection des dommages à l'ADN ; une sur les effets à long-terme des contaminants ; une sur les mélanges de contaminants ; une sur la génotoxicité d'une cyanotoxine et la dernière sur l'identification de gènes cibles de molécules génotoxiques suite à une exposition brève.

Programme SEST édition 2006

ONCOPOP

Rôle des polluants persistants de l'environnement dans la progression cancéreuse

Caractérisation des mécanismes de migration et d'invasion cellulaire mis en jeu par des polluants organiques persistants *in vitro* et *in vivo*

Les populations de pays industrialisés et en voie de développement sont exposées à de nombreux polluants dont les POP (Polluants Organiques Persistants) qui s'accumulent dans les graisses. La toxicité de ces composés est diverse et dépend de plusieurs facteurs, comme la nature du polluant et son mode d'action. Leur rôle dans la formation des tumeurs (primaires) a été démontré pour certains d'entre eux (tabac...). Cependant, il existe peu d'études sur la relation entre ces molécules et la progression cancéreuse, notamment la formation des tumeurs secondaires (métastases) responsables de 90 % des morts par cancer. Nous avons précédemment démontré qu'un POP, la dioxine de Sévésé, stimulait des processus rappelant les mécanismes mis en jeu dans la formation des métastases (activation de la migration de cellules cancéreuses). Le projet visait à mieux caractériser l'influence de plusieurs types de POPs (dioxines, pesticides) sur les mécanismes de la progression tumorale *in vitro* et *in vivo* (modèles cellulaires, xénogreffes). L'étude s'inscrivait dans une démarche de santé publique visant à mieux comprendre le rôle de l'environnement dans la progression des cancers dans un but préventif à terme.

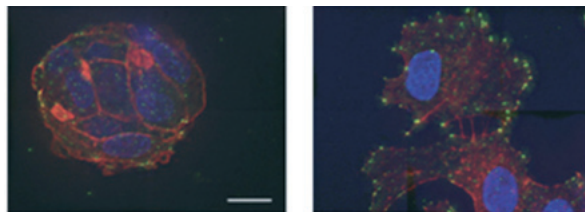
Etude *in vitro* (lignées cellulaires ou cultures primaires traitées avec des polluants) ou *in vivo* (xénogreffes sur souris immunodéprimées exposées avec de la dioxine) des processus de migration, d'invasion et de prolifération et d'induction de l'expression de marqueurs métastatiques.

Le travail a été divisé en trois parties (WP ou Work package) :

- WP1: effet du AhR sur les propriétés d'invasion et de mobilité des cellules tumorales analysées par différents tests cellulaires *in vitro*, rôle des petites protéines G dans le mécanisme d'action de ce récepteur, rôle des cascades de phosphorylation intracellulaire étudiées à large échelle (protéome), recherche de gènes cibles impliqués dans la plasticité dans divers modèles cellulaires (lignées tumorales).
- WP2: conséquences *in vivo* de l'activation du AhR dans des lignées tumorales (suivi des tumeurs et des métastases) dans un modèle murin de xénogreffe (analyses immunohistologiques).
- WP3: extension de l'étude « dioxine » à d'autres POPs notamment les pesticides organochlorés (POC) très utilisés en agriculture (primoculture d'hépatocytes humains, biologie moléculaire et biochimie).

Résultats majeurs

Les résultats suggèrent que la dioxine, en activant le récepteur Ah régule la mise en place d'un programme de plasticité cellulaire via plusieurs acteurs majeurs (HEF1, SOS1, AGR2) impliqués dans



Photos de cellules traitées (à droite) ou non (à gauche) avec de la dioxine de Sévésé et immunofixées mettant en évidence les points d'adhérence focaux (en vert). Les cellules après traitement ont une morphologie plus étalée et se caractérisent par une vitesse de migration plus grande
© : Bui LC, Tomkiewicz C et al. Oncogene. 2009 Oct 15;28(41):3642-51

Oncopop est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'équipe 1 de l'unité INSERM UMR-S 747 et associant les équipes suivantes : INSERM UMR-S 747: Université Paris Descartes ; UMR INRA - UNSA 1112 ; XenTech, SAS ; Miniaturisation pour l'Analyse, la Synthèse et la Protéomique USR 3290 MSAP, IFR 118, Université des Sciences et Technologies de Lille. Le projet a commencé en 2007 pour une durée de 36 mois. Il a reçu un financement de l'ANR de 265 k€ pour un coût total de 1,1 M€.

l'apoptose, la prolifération et la migration. Par ailleurs, la dioxine semble avoir un effet potentialisateur sur le nombre et les capacités d'invasion de micrométastases détectées dans les poumons de souris porteuses d'une xénogreffe. Ce résultat reste à confirmer. En parallèle, l'équipe a établi les effets des pesticides organochlorés sur le processus de transition épithélio-mésenchymateuse (hépatocytes humains).

Production scientifique et brevets

2 articles (Oncogene, CAM) ont démontré le lien entre exposition à des polluants, induction de gènes (marqueur métastatique HEF1) et migration cellulaire. A la suite de ces travaux, le rôle de deux autres gènes (AGR2, SOS1) dans les phénomènes précités a été décortiqué (apoptose, prolifération cellulaire) et a permis la réalisation de 3 thèses (Bats, Ambolet, Pierre) (1 Tox. Sciences, 2 Bioch. Pharma). L'étude sur les pesticides organochlorés a été aussi publiée (Toxicology 2009).

bibliographie

A

Afsset, 2010. Rapport d'expertise collective « Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement », 207p.

Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2008. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Amiard-Triquet C, Rainbow PS, Roméo M., eds (2011). Tolerance to Environmental Contaminants. CRC Press, Boca Raton, 464p.

Amiard-Triquet C., Rainbow P.S., Roméo M. 2011. Tolerance to Environmental Contaminants, CRC Press, Taylor & Francis, 446p.

Andersen ME, Al-Zoughool M, Croteau M, Westphal M, Krewski D. 2010. The future of toxicity testing. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 13(2-4):163-96.

Axiak, V., Micallef, D., Muscat, J., Vella, A., Mintoff, B., 2003. Imposex as a biomonitoring tool for marine pollution by tributyltin: some further observations. Environ. Int. 28 (8), 743-749.

B

Baldi I, Gruber A, Rondeau V, Lebaillly P, Brochard P, Fabrigoule C. 2011 Neurobehavioral effects of long-term exposure to pesticides: results from the 4-year follow-up of the PHYTONER Study, Occup. Environ. Med. 68:108e115.

Berger S., David M.M., Voger T.M. et Simonet P., 2012. Role du transfert horizontal de gènes dans la dégradation biologique des molécules chlorées. In : Bertrand J.C., Caumette P., Lebaron P., Normand P. et Matheron R., « Ecologie microbienne : Microbiologie des milieux naturels en anthropisés », Presses Universitaires de Pau et des Pays de l'Adour, France, pp. 747-750.

Bertrand J.C., Doumenq P., Guyoneaud R., Marrot B., Martin-Laurent F., Matheron R., Moulin P. et Soulas G, 2012. Ecologie microbienne appliquée et dépollution. In : Bertrand J.C., Caumette P., Lebaron P., Normand P. et Matheron R., « Ecologie microbienne : Microbiologie des milieux naturels en anthropisés », Presses Universitaires de Pau et des Pays de l'Adour, France, pp. 705-798.
Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, Weisskopf MG. 2010. Attention-Deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. Pediatrics. 125(6):e1270-7.

C

CEE 2001. Community Strategy for Endocrine

Disrupters — a Range of Substances Suspected of Interfering With the Hormone Systems of Humans and Wildlife. COM 262. Bruxelles. 46pp.

Chen Y-C, Guo Y-L, Hsu C-C, Rogan WJ. 1992. Cognitive development of Yu-Cheng ("oil disease") children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. JAMA 268:3213-3218.

Costello S, Cockburn M, Bronstein J, Zhang X, Ritz B. 2009. Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California. Am J Epidemiol.;169: 919-26.

D

Dallaire R, Muckle G, Rouget F, Kadhel P, Bataille H, Guldner L, Seurin S, Chajès V, Monfort C, Boucher O, Pierre Thomé J, Jacobson SW, Multigner L, Cordier S. 2012. Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. Environ Res.;118:79-85.

Declercq C, Pascal M, Chanel O, Corso M, Ung A et al. 2012. Impact sanitaire de la pollution atmosphérique dans neuf villes françaises. Résultats du projet Aphekom. Saint Maurice : Institut de veille sanitaire. 33p. <http://www.invs.sante.fr>.

Depledge, M.H., 1999. Recovery of ecosystems and their components following exposure to pollution. J. Aquat. Ecosyst. Stress and Recovery 6, 199-206.

Depledge, W.H., Fossi, M.C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. Ecotoxicology 3, 161-172.

Devier M-H., Mazellier P., Ait-Aïssa S., Budzinski H. 2011. New challenges in environmental analytical chemistry: Identification of toxic compounds in complex mixtures. Comptes Rendus Chimie 14; 766-779.

E

Engen RIL, Segner H., 2003. The potential of mechanism-based bioanalytical tools in ecotoxicological exposure and effect assessment Analytical and Bioanalytical Chemistry. 377; 386-396.

F

Fei C, Olsen J. 2011. Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and behavioral or coordination problems at age 7 years. Environ Health Perspect.;119:573-8.

Foster WG, Jarrell JF, Younglai EV, Wade MG, Arnold DL, Jordan S. 1996.

An overview of some reproductive toxicology studies conducted at Health Canada.

Toxicol. Ind. Health. 12(3-4):447-59.

Fromme H., Küchlert T., Otto T., Pilz K., Müller J. et Wenzel A., 2002. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment, *Water Research*, 36, 1429-1438.

G

Gibbs PE, Bryan GW.1986. Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J Mar Bio Assoc UK* 66:767-777.

Gibbs, P. E., Pascoe, P. L., Bryan, G. W., 1991. Tributyltin induced imposex in stenoglossan gastropods: pathological effects on the female reproductive system. *Comp. Biochem. Physiol. C*. 100, 231-235.

Gourlay-Francé, C., Delmas, F., Mazzella, N., Tusseau-Vuillemin, M.H., 2010. Que sait-on de la biodisponibilité des contaminants dissous dans le milieu aquatique ? *Sciences Eaux & Territoires* 01, 6-11.

Gray, K. A. Klebanoff, M. A. Brock, J. W. Zhou, H. H. Darden, H. Needham, L. Longnecker, M. P. 2005. In Utero Exposure to Background Levels of Polychlorinated Biphenyls and Cognitive Functioning among School-age Children *Am. J. Epidemiol.*, 162: 17 - 26

Grandjean, P and Landrigan P.J. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals *The Lancet*, 368, 2167-2178

Grossi V., Cravo-Loreau C., Guyoneaud R., Ranchou-Peyruse A. et Hirschler-Réa A., 2008. Metabolism of n-alkanes by anaerobic bacteria : a summary. *Organic Geochemistry*, 39 : 1197-1203.

Guillette EA, Meza MM, Aquilar MG, Soto AD, Garcia IE., 1998. An anthropological approach to the evaluation of preschool children exposed to pesticides in Mexico. *Environ Health Perspect.*, 106:347-53.

H

Hayden KM, Norton MC, Darcey D, Ostbye T, Zandi PP, Breitner JC, Welsh-Bohmer KA. 2010. Cache County Study Investigators., Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County study. *Neurology.*;74:1524-30.

Herbstman JB, Sjödin A, Kurzon M, Lederman SA, Jones RS, Rauh V, Needham LL, Tang D, Niedzwiecki M, Wang RY, Perera F. 2010. Prenatal exposure to PBDEs and neurodevelopment. *Environ Health Perspect.* 118:712-9.

I

IFEN, 2006. Rapport Institut Français de l'Environnement.

J

Jablonski P.E., Pheasant D.J. and Ferry J.G., 1996. Conversion of képone by *Methanosarcina thermophila*. *FEMS Microbiology Letters*, 139: 169-173.

Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HEB.1990. Effects of exposure to PCBs and related compounds on growth and activity in children. *Neurotoxicol Teratol.* 12:319-326

Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HEB. 1990. Effects of in utero exposure to polychlorinated biphenyls and related contaminants on cognitive functioning in young children. *J Pediatr.* 116:38-45

Janosek, J. Hilscherova, K., Blaha, L., Holoubek, I. 2006. Environmental xenobiotics and nuclear receptors--interactions, effects and *in vitro* assessment. *Toxicology In Vitro* 20 18-37.

Jedrychowski W, Perera F, Maugeri U, Miller RL, Rembiasz M, Flak E, Mroz E, Majewska R, Zembala M. 2011. Intrauterine exposure to lead may enhance sensitization to common inhalant allergens in early childhood: a prospective prebirth cohort study.. *Environ Res.* ;111:119-24

Jones PA, Baylin SB . 2007. The epigenomics of cancer. *Cell* , 128: 683-92.

K

Ketata, I., Denier, X., Hamza-Chaffai, A., Minier, C., 2008. Endocrine-related reproductive effects in molluscs. *Comp. Bioch. Phys. C* 147, 261-270.

Koo H.J. et Lee B.M., 2004. Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 67:1901-1914.

Kirkland, D. J., Hayashi, M., Jacobson-Kram, D., Kasper, P., MacGregor, J. T., Muller, L., Uno, Y. 2007. The International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT): history and achievements. *Mutation Res.*; 627: 1-4

L

Laumbach RJ, Kipen HM. 2012. Respiratory health effects of air pollution: update on biomass smoke and traffic pollution. *J Allergy Clin Immunol.* 129:3-11

Le Déaut Y.(Député) et Procaccia C.(sénateur), 2009. Les pesticides aux Antilles : bilan et perspectives d'évolution. Rapport interparlementaire de l'OPECST.

Levin ED, Schantz SL, Bowman RE. 1988. Delayed spatial alternation deficits resulting from perinatal PCB exposure in monkeys. *Arch Toxicol.* 62:267-273.

Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R., 2008. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small* 4, 26-49.

Liao S.C., Yen J.H. et Wang Y.S. 2006. Effects of endocrine disruptor di-n-butyl phthalate on the growth of Bok choy, *Chemosphere* 65: 1715–1722.

Lind PM, van Bavel B, Salihovic S, Lind L, 2012. Circulating Levels of Persistent Organic Pollutants (POPs) and Carotid Atherosclerosis in the Elderly. *Environ Health Perspect.* 120:38-43.

Luetz-Meindl U., Luetz C., 2006. Analysis of element accumulation in cell wall attached and intracellular particles of snow algae by EELS and ESI.

M

Micron (Oxford, England: 1993); 37(5):452-8.

Maire MA, Pant K, Phrakonkham P, Poth A, Schwind KR, Rast C, Bruce SW, Sly JE, Bohnenberger S, Kunkelmann T, Schulz M, Vasseur P. 2012. Recommended protocol for the Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay. *Mutat Res.* 2012;744:64-75.

Marmugi A, Ducheix S, Lasserre F, Polizzi A, Paris A, Priymenko N, Bertrand-Michel J, Pineau T, Guillou H, Martin PG, Mselli-Lakhal L. 2012. Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver. *Hepatology.* 55:395-407.

Monnet-Tschudi F, Zurich MG, Boschat C, Corbaz A, Honegger P. 2006. Involvement of environmental mercury and lead in the etiology of neurodegenerative diseases. *Rev Environ Health.* 21:105-17

Mouneyrac, C., Amiard-Triquet, C. 2012. Biomarkers of Ecological relevance. In: *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, Springer, In press.

N

Nogueira V., Lopes I., Rocha-Santos T., Santos A. L., Rasteiro G.M., Antunes F., Gonçalves F., Soares A. M. V. M., Cunha A., Almeida A., Gomes N. N. C.M., Pereira R. 2012. Impact of organic and inorganic nanomaterials in the soil microbial community structure. *Sci Total Environ.*, 424, 344-350.

Noaksson, E., Tjarnlund, U., Bosveld, A.T.C., Balk, L., 2001. Evidence for endocrine disruption in perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) in a remote Swedish lake in the vicinity of a public refuse dump. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 174, 160-176.

O

Oetken, M., Bachmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., 2004. Evidence for endocrine disruption in invertebrates. *Int. Rev. Cytol.* 236, 1-44.

Orndorff S.A. and Colwell R.R., 1980. Microbial transformation of képone. *Applied Environmental Microbiology*, 39:398-406.

P

Palais, F., 2011. Potentiel informatif des réponses enzymatiques digestives dans l'évaluation des effets d'un stress toxique sur l'état physiologique des invertébrés aquatiques : Etude de cas chez un bivalve d'eau douce : *Dreissena polymorpha*. Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie. Université de Reims Champagne-Ardenne. 200 p.

Pelletier, E., Campbell, P.G.C., 2008. L'écotoxicologie aquatique – Comparaison entre les micropolluants organiques et les métaux : constats actuels et défis pour l'avenir. *Revue des Sciences de l'Eau / Journal of Water Science* 21, 173-197.

Power MC, Weisskopf MG, Alexeeff SE, Coull BA, Spiro A 3rd, Schwartz J. 2011. Traffic-related air pollution and cognitive function in a cohort of older men. *Environ Health Perspect.* 119:682-7.

R

Rauh VA, Perera FP, Horton MK, Whyatt RM, Bansal R, Hao X, Liu J, Barr DB, Slotkin TA, Peterson BS. 2012.. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109:7871-6.

Ribas-Fito, N. Sala, M. Kogevinas, M. Sunyer. 2001. J Polychlorinated biphenyls (PCBs) and neurological development in children: a systematic review *J Epidemiol Community Health*, 55: 537 - 546.

Rogan WJ, Gladen BC, Hung KL, Koong SL, Shih LY, Taylor JS, Wu YC, Yang D, Ragan NB, Hsu CC. 1988. Congenital poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan. *Science* 1988;241:334-336

Roméo, M., Giambérini, L., 2008. Historique . In: Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., (Eds.), *Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique*

des milieux aquatiques. Lavoisier, Paris, pp. 17-54.

Rugbjerg K, Harris MA, Shen H, Marion SA, Tsui JK, Teschke K. 2011. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease--a population-based case-control study evaluating the potential for recall bias. *Scand J Work Environ Health*;37:427-36.

S

Smith BS (1971) Sexuality in the American mudsnail *Nassarius obsoletus* Say. *Proceedings of the Malacological Society of London* 39:377-378.

Sumpter, J.P., Johnson, A.C., 2005. Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4321– 4332.

Suter, W. 2006. Predictive value of *in vitro* safety studies. *Current opinion Chem. Biol.* 10, 362-366.

Swerdlow AJ, Feychting M, Green AC, Leeka Kheifets LK, Savitz DA; 2011. International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection Standing Committee on Epidemiology. Mobile phones, brain tumors, and the interphone study: where are we now? *Environ Health Perspect.* 119:1534-8.

Swerdlow A.J., Feychting M., Green A.C., Kheifets L., Savitz D.A., 2011. Mobile phones, brain tumors and the interphone study: where are we now? *Environmental Health Perspectives*, 119: 1534-1538.

T

Tanner CM, Kamel F, Ross GW, Hoppin JA, Goldman SM, Korell M, Marras C, Bhudhikanok GS, Kasten M, Chade AR, Comyns K, Richards MB, Meng C, Priestley B, Fernandez HH, Cambi F, Umbach DM, Blair A, Sandler DP, Langston JW. 2011. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environ Health Perspect.* 119:866-72.

Trasandel L, Attina TM, Blustein J. 2012. Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *JAMA.* 308:1113-21
Tiede, K., Hassellöv, M., Breitbarth, E., Chaudhry, Q., Boxall, A.B.A., 2009. Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles. *J. Chromatogr. A* 1216, 503–509.

V

Vasseur, P., Cossu-Leguille, C., 2003. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environment International* 28, 711-717.

Vrana B., Greenwood R., Mills G. (2007) *Comprehensive Analytical Chemistry (Vol 38), Passive Sampling Techniques in Environmental Monitoring.* Elsevier, 486 pp.

Vrijheid M, Martinez D, Manzanares S, Dadvand P, Schembari A, Rankin J, Nieuwenhuijsen M. 2011. Ambient air pollution and risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect.* 119:598-606.

W

Wheeler JR, Gimeno S, Crane M et al (2005) Vitellogenin: A review of analytical methods to detect (anti) estrogenic activity in fish. *Toxicol Mech Methods* 15:293-306.

Widdel F. et Rabus R., 2001. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current opinion biotechnology*, 12: 259-276.

Wilkinson C.F. et Lamb J.C., 1999. The Potential Health Effects of Phthalate Esters in Children's Toys : A Review and Risk Assessment, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 30 : 140–155.

Willis AW, Evanoff BA, Lian M, Galarza A, Wegrzyn A, Schoutman M, Racette BA. 2010. Metal emissions and urban incident Parkinson disease: a community health study of Medicare beneficiaries by using geographic information systems. *Am J Epidemiol.* 172:1357-63.

Wolstenholme JT, Edwards M, Shetty SR, Gatewood JD, Taylor JA, Rissman EF, Connelly JJ. 2012. Gestational exposure to bisphenol a produces transgenerational changes in behaviors and gene expression. *Endocrinology.* 153:3828-38.

Woodruff TJ, Zota AR, Schwartz JM. 2011. Environmental chemicals in pregnant women in the United States: NHANES 2003-2004. *Environ Health Perspect.* 119:878-85.

Z

Zheng L., Hong F., Lu S. Liu C., 2005. Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biol. Trace Elem. Res.*; 104(1):83-92.

Création : Sally Lewis
Réalisation : www.sbba.fr
Impression : Navis
Dépôt légal à parution
ISSN : 2258 9309

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

212 rue de Bercy - 75012 Paris
Tél. : +33(0)1 78 09 80 00
www.agence-national-recherche-fr

Contaminants et environnements : constater, diffuser, décider

Protéger pour prendre en compte la protection des environnements et des hommes après la décision.

Les différentes activités humaines et les développements technologiques qui y sont associés génèrent une diversité et des quantités toujours croissantes d'agents physiques ou chimiques ayant un pouvoir contaminant et des risques potentiels sur la santé humaine, animale et/ou végétale. Afin de mieux évaluer et de prévenir ces risques, comme d'y remédier, il est nécessaire d'amplifier nos connaissances conjointement sur la caractérisation et le devenir des contaminants physiques, chimiques ou biologiques et de leurs produits de transformation dans l'environnement, sur leurs effets potentiels sur la santé humaine, animale et végétale en fonction des expositions, ainsi que sur l'équilibre et la santé des écosystèmes.

Depuis sa création en 2005, l'ANR a souhaité soutenir des recherches fondamentales et appliquées dans le domaine de la santé environnementale par le biais de 3 programmes : le programme Santé-Environnement et Santé-Travail, le programme Contaminants Ecosystèmes et Santé et le programme Contaminants Environnements, Santé, Adaptabilité et Usages. Ces programmes ont pour objectif premier d'apporter une meilleure connaissance fondamentale sur les contaminants afin d'identifier les mesures de prévention adaptées pour réduire leurs effets potentiellement nocifs sur les écosystèmes et la santé humaine, animale et végétale. Ils ont également vocation à contribuer à la structuration de communautés scientifiques pluridisciplinaires afin de développer des méthodes innovantes de mesure analytique, de nouvelles techniques de détection des contaminants et de leurs produits de transformation, et de nouveaux outils d'écotoxicologie et de toxicologie.

Le présent cahier propose une présentation des travaux issus de 85 projets de recherche qui ont été financés dans les appels à projets issus de ces 3 programmes de recherche ou relevant de la même problématique dans d'autres appels à projets ANR.



Au service de la science et de la technologie, l'ANR apporte sa pierre à l'édifice des connaissances et des innovations afin de répondre aux besoins de notre société.

Les Cahiers de l'ANR devraient permettre au plus grand nombre d'appréhender les actions de recherche soutenues par l'ANR sur des sujets essentiels pour notre futur.

www.agence-nationale-recherche.fr

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

