

Restitution du programme national  
de recherche environnement santé travail



# Des indicateurs d'exposition aux biomarqueurs : des outils pour l'évaluation et la surveillance des risques sanitaires

**Mercredi 30 mai 2012**  
**DOSSIER DU PARTICIPANT**

Auditorium - Siège de l'Anses (Maisons-Alfort)

Éditorial.....	03
Programme.....	04
<b>SESSION 1</b>	
Expositions environnementales et professionnelles.....	07
<b>CONFÉRENCE INVITÉE</b>	
Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance et l'investigation en santé publique environnementale.....	14
<b>SESSION 2</b>	
Biomarqueurs.....	17
<b>SESSION 3</b>	
Surveillance sanitaire de travailleurs.....	25
<b>POSTERS.....</b>	<b>29</b>

Le développement d'indicateurs d'exposition et de biomarqueurs constitue un apport majeur à la compréhension des changements observables ou mesurables qui révèlent une exposition, présente ou passée, d'un individu à des contaminants environnementaux.

Le Programme national de recherche environnement santé travail (PNR EST) accorde une importance particulière à ces approches, notamment lorsqu'il s'agit de développer ou de mettre en œuvre ces outils. Le but peut en être :

- d'établir des relations entre la présence de contaminants dans les lieux de vie (environnements intérieur, lieux de travail ou de loisirs, etc.) et des réponses biologiques ;
- d'évaluer les conséquences de la contamination des individus.

Ces rencontres scientifiques de l'Anses sont l'occasion de présenter les travaux de recherche réalisés sur des indicateurs d'exposition et des biomarqueurs d'effets ou d'exposition mais aussi de faire le point sur la pertinence de ces outils dans le contexte de la prévention et de la protection de la santé humaine. Une conférence sur les travaux de l'Anses, marquera l'intérêt d'une agence de sécurité sanitaire à maintenir un étroit lien entre la recherche sur ces sujets et l'expertise scientifique.

Le conférencier invité, Georges SALINES, nous parlera du considérable apport des biomarqueurs en tant qu'outil de surveillance ou d'investigation, il soulignera également les limites de la biosurveillance, limites qu'il est souhaitable de prendre en compte dans l'interprétation des résultats.

Les conférences de la matinée nous permettront de dégager, à partir des travaux portant sur les expositions à divers pesticides, des nouvelles données qui contribueront, directement ou indirectement, à la prévention et à la protection de la santé humaine.

L'après midi, plusieurs projets permettront d'illustrer l'intérêt des biomarqueurs pour l'estimation de l'exposition et pour la surveillance biologique et seront l'occasion de tirer des nouveaux enseignements.

L'objet de ces journées est également de favoriser l'échange entre les disciplines intervenant dans les champs santé environnement et santé travail. Aussi, nous avons souhaité laisser le temps nécessaire aux questions et aux échanges après chaque conférence et autour des posters.

Depuis 2006, l'Anses anime le Programme national de recherche en environnement santé travail (PNR-EST). Ce programme de recherche pérenne, est destiné à mobiliser la communauté scientifique, à soutenir la recherche autour de différentes composantes de l'évaluation des risques sanitaires et à impulser la structuration de projets pluridisciplinaires en santé-environnement et santé-travail.

Marc MORTUREUX  
Directeur général de l'Anses



8h30 Accueil des participants

**9h00 OUVERTURE**

Marc MORTUREUX, Directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses)

**9h15 PRÉSENTATION DU PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE ENVIRONNEMENT SANTÉ TRAVAIL**

Louis LAURENT, Directeur de la Direction recherche et veille, Anses

**9h30 SESSION 1 – EXPOSITIONS ENVIRONNEMENTALES ET PROFESSIONNELLES**

Modérateurs : Patrick CHOUTET, médecin national de la Caisse centrale de la mutualité sociale agricole (CCMSA) et Gérard LASFARGUES, Directeur général adjoint scientifique, Anses

**Evaluation des expositions aux facteurs de risque environnementaux et professionnels des cancers du sein dans l'étude CECILE**

Delphine BACHELET, Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm), UMRS-1018, Villejuif [Projet 2008-26]\*

**Troubles neuro-comportementaux et pesticides : suivi à 12 ans de la cohorte PHYTONER**

Isabelle BALDI, Université Victor Segalen Bordeaux 2 [Projet 2008-64]\*

10h25 Pause et session posters

**Chlordécone, polymorphismes de la chlordécone réductase et cancer de la prostate**

Luc MULTIGNER, Inserm U 665, Point-à-Pitre [Projet 2008-24]\*

**Développement d'une méthode intégrée pour l'estimation des expositions aux produits phytopharmaceutiques dans une population de professionnels non agricoles**

Delphine TEIGNE, Conservatoire national des arts et métiers - Institut d'hygiène industrielle et de l'environnement, Angers [Projet 2007-66]\*

**12h05 Conférence invitée**

**Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance et l'investigation en santé publique environnementale**

Georges SALINES, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice

12h45 Déjeuner

14h00

**SESSION 2 – BIOMARQUEURS**

Modérateurs : Marie-Claude JAURAND, Directrice de recherche, Inserm, Paris  
et Laurent LAGADIC, Directeur de recherche, Institut national de la recherche agronomique (Inra),  
Agrocampus Ouest, Rennes

**Estimation de l'exposition aux retardateurs de flamme bromés dans un immeuble de bureaux –  
Couplage de mesures dans le sang, dans l'air et les poussières des bureaux**

Céline BOUDET, Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris),  
Verneuil-en-Halatte [Projet 2007-52]\*

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

Lise GIORGI ALLEMAND, Inserm U 823, Grenoble [Projet 2006-49]\*

**Imprégnation fœtale aux PBDE : étude comparative entre 2 pays ayant la législation opposée**

Chadi YAZBECK, Inserm U 1018, Villejuif [Projet 2008-11]\*

**Suivi biologique des expositions professionnelles : travaux d'expertise de l'Anses**

Marie-Laure COINTOT, Direction de l'évaluation des risques, Anses

16h00

Pause et session posters

16h20

**SESSION 3 – SURVEILLANCE SANITAIRE DE TRAVAILLEURS**

Modérateurs : Marie-Claude JAURAND, Directrice de recherche, Inserm, Paris  
et Laurent LAGADIC, Directeur de recherche, Inra, Agrocampus Ouest, Rennes

**Développement d'outils de surveillance biologique pour l'évaluation des risques à la santé  
de travailleurs en arboriculture et en viticulture exposés aux fongicides**

Aurélie BERTHET, Institut universitaire romand de santé au travail, Lausanne, Suisse [Projet 2006-03]\*

**Suivi d'une cohorte de 6 546 sujets inclus dans un programme expérimental multirégional  
de surveillance post-professionnelle pour le risque d'amiante**

Jean-Claude PAIRON, Inserm U 955, Centre hospitalier intercommunal de Créteil [Projet 2006-43]\*

17h15

**CONCLUSIONS**

Lionel MOULIN, chef de la mission risques environnement santé, Commissariat général  
au développement durable, direction de la recherche et de l'innovation, service de la recherche,  
Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie

**Le déficit en protéine kinase activée par l'AMP réduit les lésions pulmonaires induites par l'ozone et le stress oxydant chez les souris**

Sébastien HULO, Université Lille Nord de France, EA 4483, Lille [Projet 2007-68]\*

**Contribution à l'analyse des marqueurs de l'inflammation du poumon profond par la méthode des condensats de l'air expiré**

Nathalie CHEROT-KORNOBIS, Centre hospitalier régional universitaire de Lille, EA 4483 [Projet 2005-26]\*

**Induction de l'interleukine 11MAPK and PKC/CREB-dépendante par le contaminant environnemental formaldéhyde dans les cellules épithéliales bronchiques**

Valérie LECUREUR, Inserm UMR 1085, Rennes [Projet 2008-10]\*

**CERENAT : étude des facteurs de risques environnementaux et professionnels des tumeurs du système nerveux central**

Isabelle BALDI, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux [Projet 2007-77]\*

**Dynamique du transcriptome en réponse aux pesticides organochlorés au niveau de cellules d'origine hépatique**

Roger RAHMANI, Inra, Sophia Antipolis [Projet 2005-21]\*

**Indicateur caractéristique de la gêne sonore due à la multi-exposition à différentes sources de bruit stable d'un site industriel**

Catherine MARQUIS-FAVRE, École nationale des travaux publics de l'État, Université de Lyon [Projet 2005-18]\*

**Évaluation de la toxicité pulmonaire de deux polluants émergents, les vapeurs d'éthanol et les nanoparticules dans un modèle animal d'asthme allergique**

Michel CHARBONNEAU, Institut Armand-Frappier (INRS), Université du Québec, Laval, Canada [Projet 2007-80]\*

\*Projet financé dans le cadre du programme environnement santé travail



## SESSION 1

# Expositions environnementales et professionnelles

**Modérateurs :**

Patrick CHOUTET,  
médecin national de la Caisse centrale  
de la mutualité sociale agricole (CCMSA)  
et Gérard LASFARGUES,  
Directeur général adjoint scientifique, Anses



## Evaluation des expositions aux facteurs de risque environnementaux et professionnels des cancers du sein dans l'étude CECILE

Pascal GUENEL, **Delphine BACHELET**

*Inserm CESP UMR-S 1018, Villejuif*

### BIOGRAPHIE

Delphine BACHELET a obtenu en 2012 son diplôme de doctorat *es sciences* en santé publique, option épidémiologie. Elle intègre, en mars 2012, l'unité de l'évaluation des risques liés aux agents physiques au sein de la direction de l'évaluation des risques à l'Anses. Elle coordonne, notamment, le comité d'experts spécialisé «agents physiques».

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les facteurs de risque reconnus du cancer du sein ne permettent pas de rendre totalement compte du nombre élevé de cas diagnostiqués chaque année en constante augmentation (>50 000 en France). Les expositions environnementales pourraient jouer un rôle dans l'apparition de cette pathologie et doivent être mieux étudiés. L'étude CECILE vise, ainsi, à mettre en évidence le rôle d'expositions d'origine environnementale et professionnelle, comme les composés organochlorés persistants (DDT, PCB, dioxines), les solvants, ou le travail de nuit. Elle vise également à étudier les facteurs de susceptibilité génétique, en particulier des gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques, la réparation de l'ADN ou dans la régulation du rythme circadien.

#### Méthode

CECILE est une large étude cas-témoins en population générale. Les cas sont des patientes atteintes de cancer du sein, âgées de 25 à 75 ans, diagnostiquées de 2005 à 2007 et résidant en Côte-d'Or ou en Ile-et-Vilaine. Les témoins ont été sélectionnés par tirage au sort parmi les femmes de même âge dans les mêmes départements. Les sujets ont été sollicités pour un entretien en face-à-face à l'aide d'un questionnaire standardisé collectant des informations sur les facteurs reproductifs et hormonaux, des données anthropométriques, les antécédents médicaux personnels et familiaux de cancer, les lieux de résidence, les activités professionnelles et l'alimentation. Un prélèvement sanguin a été effectué pour le dosage de biomarqueurs d'exposition et la constitution d'une banque d'ADN.

#### Résultats

Les analyses par profession permettent d'évoquer l'hypothèse d'un risque accru de cancer du sein chez les infirmières, les ouvrières du textile et les ouvrières du caoutchouc et des matières plastiques. Les analyses effectuées en rapport des expositions environnementales ou professionnelles spécifiques ont porté : (i) sur les concentrations sériques de composés à longue demi-vie (DDT et PCB). Nous observons une association inverse entre le cancer du sein et les PCB, notamment chez les femmes nées entre 1951 et 1960 dont les expositions au cours de la puberté ont été les plus élevées. Cette association inverse, plausible biologiquement, est particulièrement intéressante et suggère l'impact possible des perturbateurs endocriniens sur le développement mammaire et la cancérogénèse ; (ii) sur les expositions aux solvants pétroliers et chlorés, pour lesquels nous observons une absence d'association avec le cancer du sein, qui pourrait être liée aux faibles niveaux d'exposition observés ; (iii) sur le travail de nuit pour lequel nous confirmons l'existence d'une relation avec le risque de cancer du sein, et de façon intéressante, plus particulièrement chez les femmes ayant débuté le travail de nuit avant la première grossesse à terme.

## Conclusion

L'étude CECILE constitue une étude de grande taille sur les cancers du sein en population générale, disposant de données riches et de qualité sur les expositions environnementales et professionnelles. Elle constitue l'une des études de référence dans le domaine de l'épidémiologie environnementale des cancers du sein, non seulement en France où elle ne possède pas d'équivalent, mais également sur le plan international. Les projets en cours permettront de préciser le rôle de l'exposition aux dioxines et à d'autres perturbateurs endocriniens dans ce cancer. Les travaux de génotypage à grande échelle déjà effectués ou en cours permettent également de conduire plusieurs projets sur les interactions génétique-environnement.

*Projet 2008-26, en cours de réalisation depuis 2005.*

## Troubles neuro-comportementaux et pesticides : suivi à 12 ans de la cohorte PHYTONER

**Isabelle BALDI**, Anne GRUBER, Audrey BLANC-LAPIERRE

*Équipe santé travail environnement, Inserm U 897, Université Victor Segalen, Bordeaux*

### BIOGRAPHIE

Après un parcours de médecine spécialisée en santé publique, Isabelle BALDI mène depuis 1993 des activités en santé environnementale au sein de l'Université Victor Segalen de Bordeaux et a obtenu le titre de docteur en épidémiologie en 1998 pour ses travaux menés sur les effets neurologiques chroniques des utilisations professionnelles de pesticides. Elle est maîtresse de conférences en santé au travail depuis 2001 et habilitée à diriger des recherches depuis 2006. Elle dirige une équipe au sein du laboratoire santé travail environnement (centre Inserm U 897, Université Bordeaux Segalen) dont les thèmes principaux sont les effets chroniques des pesticides, avec un intérêt spécifique porté aux tumeurs du système nerveux central (instauration d'un registre spécialisé en Gironde depuis 1999).

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les études épidémiologiques existantes suggèrent l'existence d'effets neurologiques retardés dans les populations exposées aux pesticides : troubles neuro-comportementaux, atteintes neuro-psychiatriques et pathologies neuro-dégénératives (maladies d'Alzheimer et de Parkinson). Cependant, les études restent peu nombreuses et ont été menées principalement pour des expositions à des insecticides ayant des propriétés anti-cholinestérasiques (organophosphorés, carbamates). L'étude PHYTONER a pour objectif d'analyser l'association entre les performances neurocomportementales et l'exposition prolongée aux pesticides dans une population de salariés viticoles de Gironde, majoritairement exposés aux fongicides.

## Méthode

La phase actuelle de l'étude, soutenue par l'Anses, correspond à un nouveau suivi de l'ensemble des sujets après un délai variant entre 12 et 16 années. L'estimation de l'exposition aux pesticides des personnes de la cohorte est poursuivie, de même que l'évaluation de leurs performances à un ensemble des tests, déjà administrés à l'inclusion et au premier suivi, explorant en détail la fonction cognitive ainsi que certains troubles psychiatriques (dépression, anxiété). Les analyses s'appuient : 1) sur des outils de mesure de l'exposition aux pesticides spécifiquement développés par l'équipe (matrice PESTIMAT, étude PESTEXPO), 2) sur les compétences en neuropsychologie d'une des équipes participantes, 3) sur les compétences en biostatistiques d'une équipe du centre Inserm U 897.

## Résultats

La première phase a permis de mettre en évidence des altérations des performances aux tests neurocomportementaux chez les sujets professionnellement exposés aux pesticides par rapport aux sujets non exposés, même après prise en compte des principaux facteurs de confusion (âge, sexe, niveau d'étude, alcool, dépression). Les atteintes touchaient les fonctions les plus fines de la cognition qui permettent l'intégration de l'information : attention, conceptualisation et attention contrôlée. Le suivi à quatre ans a permis de revoir 630 sujets de la cohorte, auxquels la même batterie de tests a été administrée. Ce suivi avait confirmé les résultats obtenus lors de l'inclusion avec des performances abaissées à l'ensemble des tests pour les personnes exposées aux pesticides par rapport aux personnes non exposées. Le risque d'une dégradation importante (être dans les 25 % de sujets ayant montré la plus forte baisse des performances) était plus marqué chez les personnes exposées aux pesticides, de manière statistiquement significative au MMSE et au test de Stroop. Par ailleurs, ce risque de baisse importante des performances en présence d'une exposition était plus marqué chez les femmes, les personnes ayant un niveau d'études secondaires et chez les personnes ne présentant pas une consommation excessive d'alcool, c'est-à-dire des sujets qui *a priori* avaient des scores moins bas à l'inclusion, suggérant qu'une exposition prolongée aux pesticides pourraient réduire les capacités de réserve cognitives. Ce nouveau suivi, en cours de réalisation, a permis de revoir les sujets vivants et non perdus de vue après 12 à 16 années de suivi. En date de mars 2012, 328 enquêtes ont pu être réalisées. Une détérioration notable aux tests a été enregistrée pour 50 % des personnes interrogées.

## Conclusion

L'analyse des données de ce troisième suivi de la cohorte permettra de documenter l'histoire naturelle des troubles observés lors des précédents suivis et notamment leur possible évolution vers de nouvelles dégradations cognitives, voire vers l'apparition de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson.

*Projet 2008-64, de novembre 2008 à mai 2011.*

## Chlordécone, polymorphismes de la chlordécone réductase et cancer de la prostate

Marc ROMANA<sup>1</sup>, Pascal BLANCHET<sup>2</sup>, **Luc MULTIGNER<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Inserm U665, Pointe-à-Pitre, <sup>2</sup>CHU Guadeloupe, Pointe-à-Pitre, <sup>3</sup>Inserm U1085-IRSET, Pointe-à-Pitre

### BIOGRAPHIE

Luc MULTIGNER est docteur en médecine et chercheur à l'Inserm. Épidémiologiste à l'IRSET (Inserm U 1085), il travaille sur les conséquences des expositions environnementales sur la fonction et organes de la reproduction. Il a été membre du conseil scientifique «chlordécone» Inserm/InVS et du comité d'experts spécialisé «substances chimiques» de l'Afsset et a participé à des expertises collectives de l'Inserm «éthers de glycol».

### RÉSUMÉ

#### Introduction

La pollution persistente des Antilles à la chlordécone, un insecticide organochloré et la contamination de la chaîne trophique suscite des interrogations sur les conséquences sanitaires pour la population. La chlordécone est cancérigène chez l'animal et possède des propriétés hormonales œstrogéniques (perturbateur endocrinien). L'objectif général du projet était d'estimer le risque de survenue de cancer de la prostate en lien avec l'exposition à la chlordécone en Guadeloupe et d'identifier des facteurs d'interactions, environnementaux et génétiques, susceptibles de moduler ce risque.

#### Méthode

709 cas incidents de cancers de la prostate ont été comparés à 729 témoins issus de la population générale en Guadeloupe. Les sujets ont été interrogés sur leurs parcours résidentiel et professionnel, antécédents de santé personnels et familiaux et style de vie. L'exposition à la chlordécone a été estimée par le dosage de la chlordécone dosée dans le sang (GC-MS/ED). Cinq polymorphismes (exons) du gène codant pour la chlordécone réductase (AKR1C4), enzyme intervenant dans le métabolisme de la chlordécone, ont été génotypés. Le typage des différents *loci* a été réalisé à l'aide de la technique dite de SNaPshot. Les effets propres et les effets conjoints (interactions) ont été estimés par régression logistique.

#### Résultats

Une relation linéaire dose-effet positive et significative a été trouvée entre l'exposition à la chlordécone estimée par sa concentration plasmatique et le risque de survenue d'un cancer de la prostate.

Le risque n'apparaît pas distribué de manière homogène parmi les individus. Il est significativement augmenté, pour la classe la plus élevée d'exposition, parmi ceux ayant déclaré des antécédents familiaux au premier degré de cancer de la prostate ou parmi ceux ayant résidé temporairement dans un pays occidental/industrialisé avant la survenue de la maladie. Les polymorphismes rs17851824 et rs4880718 ne présentent aucune variabilité dans notre population. La distribution génotypique du polymorphisme rs11253043 (fréquence allélique de 0,17) ne suit pas celle attendue selon l'équilibre d'Hardy-Weinberg. Les polymorphismes rs3829125 et rs17134592 correspondant aux modifications C434G (S145C) et C931G (L311V), ont été retrouvés en déséquilibre complet de liaison avec une fréquence allélique de 0,04. Le variant rs17134592 entraîne une diminution de l'activité catalytique de la chlordécone réductase. Aucune association n'a été retrouvée entre les génotypes GC ou GG du rs17134592 et le risque de survenue du cancer de la prostate.

Par contre, bien que non significatif, le risque apparaît fortement augmenté chez les sujets porteurs d'allèles associés à une diminution de l'activité de la chlordécone réductase et présentant des concentrations plasmatiques en chlordécone au dessus de la limite de détection.

## Conclusion

Nos résultats suggèrent que l'exposition à la chlordécone est associée à une augmentation du risque de survenue de cancer de la prostate. Ce risque apparaît plus élevé chez les hommes déclarant des antécédents familiaux de cancer de la prostate, chez ceux ayant résidés dans un pays occidental et chez ceux qui présentent des variants de la chlordécone réductase associés à une diminution de son activité enzymatique. Cette étude est la première documentant un lien entre la contamination à un œstrogène environnemental et la survenue du cancer de la prostate chez l'Homme.

*Projet 2008-24, réalisé entre octobre 2008 et avril 2011.*

## Développement d'une méthode intégrée pour l'estimation des expositions aux produits phytopharmaceutiques dans une population de professionnels non agricoles

**Delphine TEIGNE<sup>1</sup>**, Sylvain DULAURENT<sup>2</sup>, Caroline RAEPPEL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Conservatoire national des arts et métiers/IHIE, Angers, <sup>2</sup>Service de pharmacologie et toxicologie du CHU de Limoges,

<sup>3</sup>Université de Strasbourg, LMSPC UMR 7515

### BIOGRAPHIE

Delphine TEIGNE est titulaire d'un DESS de microbiologie appliquée (2002) et d'un titre 1 RNCP d'hygiéniste du travail et de l'environnement (2010). Formatrice en hygiène, elle a rejoint l'Institut d'hygiène industrielle et de l'environnement en 2008 du Conservatoire national des arts et métiers (Angers). Elle a coordonné différents travaux de recherche pluridisciplinaires dont l'étude des déterminants des émissions de bioaérosols générés par le compostage des déchets (Ademe-APR 2006) et le développement d'une méthode intégrée pour l'estimation des expositions aux produits phytopharmaceutiques dans une population de professionnels non agricoles (Anses-APR 2007) dont les résultats sont ici présentés. Elle est, aujourd'hui, membre du GT Anses « travailleurs agricoles et pesticides ».

### RÉSUMÉ

#### Introduction

La problématique des produits phytopharmaceutiques (PP) dans le domaine agricole est, aujourd'hui, bien connue. En France ainsi qu'à l'étranger, l'intérêt porté à l'usage non agricole des PP est plus récent. Cependant, la transposition des connaissances du domaine agricole au domaine non agricole n'est pas déductive. Il est donc primordial d'apporter des éléments concrets quant aux expositions aux PP de cette population de professionnels. L'objectif du présent projet était de développer une méthode d'estimation des expositions aux PP d'agents des collectivités territoriales, en combinant deux approches : une première du ressort de la métrologie des expositions, une seconde appelant la modélisation du travail. Le projet a été mené à Angers (n=203 agents susceptibles de traiter).

## Méthode

La métrologie individuelle a été réalisée pour la voie cutanée (pose de patchs sur le corps et essuyage de mains), respiratoire et pour l'imprégnation urinaire (recueil des mixions spontanées sur une durée xénobiotique-dépendante). Dix-sept substances phytopharmaceutiques (SP) ont nécessité des développements analytiques. La modélisation du travail a été menée par (i) le développement d'un outil méthodologique «calendrier de suivi» permettant un recueil en continu des paramètres des expositions, (ii) la définition de l'activité de l'agent (applicateur ou aide-applicateur), (iii) la définition des indicateurs homme-jour-traitement (HJT) et homme-traitement-substance (HTS). Six cent quatre vingt calendriers ont été récoltés en 2009. Les échantillons analytiques de 69 travailleurs ont été obtenus.

## Résultats

Les niveaux d'expositions par voie respiratoire sont négligeables et/ou les méthodes d'échantillonnage ne sont pas adaptées à la problématique des SP. Cinq biomarqueurs des expositions ont été mis en évidence. La variabilité inter-individus des niveaux d'excrétion des xénobiotiques est reconnue. Les niveaux d'expositions cutanées (moyenne géométrique (MG) =  $60\mu\text{g}$ ) et l'intensité des imprégnations (MG =  $11,8\mu\text{g/g}$  créatinine) ont été quantifiés selon la modalité «toutes SP confondues». Leur corrélation a, par ailleurs, été observée ( $p=0,004$  ;  $R^2= 27\%$ ). Des niveaux d'expositions et d'imprégnations peuvent être comparables avec ceux trouvés dans la littérature. Sur dix déterminants potentiels relevés lors des observations des pratiques professionnelles, quatre déterminants des expositions cutanées (matériel d'application, type de SP, concentration en SP dans le produit, masse de SP appliquée) et deux déterminants des imprégnations (matériel d'application, durée de traitement) ont été mis en évidence.

Des résultats issus de la modélisation du travail sont les suivants : la proportion d'agents ayant participé à un traitement phytopharmaceutique est de 41 % en 2009. La part du temps de travail affecté à la pratique, pour un agent au cours de l'année 2009, varie de 0,1 % à 16,9 %. Les indicateurs HTS et HJT ont rendu compte du nombre d'expositions potentielles aux SP par agent ( $n_{\text{HTS}} = 20$  ; 2009) et du nombre de journées exposantes à chaque SP tous agents confondus ( $n_{\text{HJT}} = 65,5$  ; glyphosate ; 2009). Une méthode intégrée d'estimation des expositions a été développée en croisant les résultats d'ordre semi-quantitatif issus de la mise en œuvre du calendrier de suivi et de la définition des indicateurs avec les résultats d'ordre quantitatif issus de la métrologie des expositions.

## Conclusion

Les indicateurs HTS et HJT, couplés au renseignement de paramètres et/ou de déterminants d'exposition mis en évidence dans cette étude, sont les éléments constitutifs de la fiche d'exposition aux SP. La (bio) métrologie individuelle ne pouvant être réalisée de façon routinière, cette approche intégrée représente un moyen d'assurer le suivi des expositions. Le «calendrier de suivi» est donc un outil utilisable par les collectivités territoriales (CT). Des pistes sont, par ailleurs, identifiées pour faciliter son déploiement à large échelle : réduction du nombre de questions, informatisation de l'outil, identification d'une personne référente. Enfin, ces travaux orientent l'établissement d'une matrice emploi-exposition des agents des CT susceptibles d'être exposés aux PP.

*Projet 2007-66, réalisé entre novembre 2007 et octobre 2011.*



## Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance et l'investigation en santé publique environnementale

### Georges SALINES

*Directeur du Département santé environnement, Institut de veille sanitaire*

#### BIOGRAPHIE

Georges SALINES est médecin de santé publique. Après avoir travaillé successivement à l'ORS du Languedoc-Roussillon à Montpellier, à la Ddass des Hautes-Pyrénées à Tarbes, à l'Inspection régionale de la santé des Antilles-Guyane à Fort-de-France, au Centre français de culture et de coopération en Egypte au Caire et à la Drass Île-de-France à Paris, il a rejoint le Département santé environnement de l'InVS en 2001 en tant qu'épidémiologiste avant d'en assurer la direction depuis 2006.

Le département qu'il dirige comprend environ 60 personnes qui assurent diverses missions : programmes de surveillance ; dispositifs d'alerte et de réponse ; réception et traitement des signalements, saisines et sollicitations.

Ces activités concernent l'impact sanitaire des pollutions de l'air, de l'eau, des sols, des modifications du climat, des dégradations de l'habitat et du cadre de vie. Les expositions aux produits chimiques et leurs conséquences sur la santé humaine sont également abordées par le Département santé environnement de l'InVS à travers l'animation du réseau national de toxicovigilance et la réalisation d'enquêtes de biosurveillance en population.

#### RÉSUMÉ

Les biomarqueurs sont utilisés en santé environnement dans un but de recherche épidémiologique, notamment pour estimer l'exposition dans des études cas-témoins ou de cohorte. Nous nous intéressons ici à un autre contexte, celui de la santé publique environnementale, où les biomarqueurs peuvent être utilisés dans un objectif de surveillance ou comme un outil d'investigation en réponse à des sollicitations ou des alertes. L'utilisation de biomarqueurs dans un but de surveillance est désignée sous le terme de biosurveillance humaine qui est une traduction de l'anglais «human biomonitoring». Il est à noter que le qualificatif (biosurveillance humaine) est indispensable car le mot biosurveillance est également employé dans un sens différent où il désigne l'observation des organismes vivants (plantes, animaux) effectuée dans le but de surveiller la qualité des milieux.

La plupart des biomarqueurs utilisés en biosurveillance humaine sont des biomarqueurs d'exposition, c'est-à-dire des polluants ou des métabolites de polluants. L'utilisation de biomarqueurs d'effets est plus rare et il est exceptionnel qu'on s'intéresse à des biomarqueurs de susceptibilité dans un but de surveillance. Les objectifs de la biosurveillance humaine sont principalement de connaître :

- la distribution des niveaux de biomarqueurs dans la population (ce qui permet d'établir des niveaux de référence) ;
- leur répartition dans l'espace et selon différentes caractéristiques individuelles, par exemple les habitudes alimentaires, les caractéristiques du logement, les expositions professionnelles (ce qui permet de connaître les déterminants et de proposer des mesures de gestion et de prévention) ;
- leur évolution dans le temps (ce qui permet d'alerter sur certains phénomènes émergents et d'évaluer l'efficacité des politiques visant à réduire les expositions).

Pour remplir ce dernier objectif, il est nécessaire que les études d'imprégnation soient répétées dans le temps.

Les études utilisant la mesure de biomarqueurs qui sont réalisées dans le cadre de l'investigation d'une question de santé environnementale affectant une population particulièrement exposée sont également souvent qualifiées « d'études de biosurveillance » bien qu'il ne s'agisse pas nécessairement de surveillance au sens strict. En effet, ces études ont généralement pour but d'objectiver (ou d'écarter) la surimprégnation d'une population potentiellement exposée à un polluant ou un ensemble de polluants par rapport à des niveaux de référence ou à une population témoin. Elles peuvent parfois être répétées et prendre alors une véritable forme de biosurveillance locale, mais c'est loin d'être toujours le cas.



Les biomarqueurs ont été utilisés au début des années 1990 pour objectiver l'exposition des populations amérindiennes de Guyane par le mercure. Une des premières études nationales de biosurveillance s'est intéressée en 1996 à la prévalence du saturnisme et plus généralement à la distribution des plombémies dans la population française.

De nombreuses études locales ont été réalisées depuis la fin des années 90 sur des situations de pollution à l'arsenic, au plomb, au cadmium, aux PCB...

Certaines investigations ont été réalisées dans un cadre multicentrique, en particulier l'étude dioxines incinérateurs en 2005-2007 et l'étude PCB et consommation de poissons de rivières en 2008-2010.

La première initiative destinée à établir les niveaux de référence de plusieurs biomarqueurs dans la population française a été le volet environnemental de l'étude nationale nutrition santé qui a été réalisée en 2006.

A la suite d'un engagement du Grenelle de l'environnement, le 2<sup>e</sup> plan national santé environnement (2009-2013) a confié à l'Institut de veille sanitaire (InVS) la tâche d'élaborer un programme national de biosurveillance de la population. Ce programme se décompose en deux volets : un volet périnatalité-petite enfance consistant à doser des biomarqueurs chez les mères et les enfants inclus au sein de la cohorte ELFE en 2011 et une enquête nationale de biosurveillance, désormais intitulée ESTEBAN, qui est en phase préparatoire.

Cette actualité de la biosurveillance en France s'inscrit dans un contexte européen et international également très actif.

Cependant si la biosurveillance a un intérêt considérable, elle a aussi des limites qui doivent être connues et discutées.





## SESSION 2

# Biomarqueurs

---

**Modérateurs :**

Marie-Claude JAURAND,  
Directrice de recherche, Inserm, Paris  
et Laurent LAGADIC,  
Directeur de recherche, Inra, Agrocampus Ouest, Rennes



## Estimation de l'exposition aux retardateurs de flamme bromés dans un immeuble de bureaux – Couplage de mesures dans le sang, dans l'air et les poussières des bureaux

**Céline BOUDET**, Adeline FLOCH BARNEAUD, Jessica QUERON

*Ineris, Verneuil-en-Halatte*

### BIOGRAPHIE

Céline BOUDET a obtenu en 1999 son doctorat *es sciences* de l'Université de Grenoble en méthodes de recherche en santé et environnement. Elle travaille depuis à l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris). Elle a d'abord été ingénieur de recherche en évaluation des risques sanitaires, puis responsable d'unité en expertise toxicologique. Elle a passé 2 ans à l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (ex-Afsse, maintenant Anses) en tant que chef de projets en évaluation des risques environnementaux. Elle est, depuis 2008, responsable de l'unité impact sanitaire et expositions à la Direction des risques chroniques de l'Ineris. Elle est membre du comité d'experts spécialisés «milieux aériens» de l'Anses.

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les polybromodiphényléthers (PBDE), principaux retardateurs de flamme bromés, entrent dans la composition de nombreux produits manufacturés d'usage quotidien. Ils sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens, l'utilisation de certains congénères est progressivement interdite en Europe. Dans un contexte de connaissance lacunaire sur l'exposition de la population française à ces substances, le projet coordonné par l'Ineris, en partenariat avec Veolia environnement recherche et innovation et le bureau d'étude SEPIA santé, visait à mieux connaître le continuum source, exposition, dose interne chez l'homme, en couplant des mesures des PBDE dans les poussières et l'air de bureaux et celles dans le sang de leurs occupants.

#### Méthode

L'étude a concerné 31 volontaires (17 femmes et 14 hommes) dans 24 bureaux d'Île-de-France. Onze congénères ont été recherchés de façon concomitante dans le sérum, l'air et les poussières fraîches (BDE1, BDE12, BDE28, BDE47, BDE99, BDE100, BDE153, BDE154, BDE183, BDE206 et BDE209). Parmi eux, les plus faiblement bromés n'ont jamais été recherchés dans le cadre de la biosurveillance environnementale. Une méthode de prélèvement de poussières déposées par essuyage de plaques artificielles a été développée et utilisée spécialement pour cette étude. Des prélèvements aériens actifs (préleveur MicroVol® sur un filtre quartz, cartouche SUPELCO®) et passifs (échantillonneur en inox contenant une mousse en polyuréthane) ont été réalisés et des questionnaires complétés sur les modes de vie.

#### Résultats

La somme des PBDE mesurés dans le sang des volontaires est comprise entre 0,2 et 12,5 ng/g de sérum (moyenne = 2 ng/g de sérum). Pour la plupart des congénères recherchés, les valeurs sont du même ordre de grandeur que dans les autres études européennes et, en particulier, dans la seule autre étude française ayant recherché ces substances dans le sérum. Les échantillons sanguins contiennent majoritairement du BDE209, congénère le plus utilisé actuellement du fait de la réglementation européenne en vigueur. Les masses de PBDE dans les poussières déposées sont comprises entre 1,2 et 19,3 ng/100cm<sup>2</sup> (pour le mois de dépôt). Dans l'air des bureaux, les concentrations en PBDE sont comprises entre 2,8 et 26,9 ng/m<sup>3</sup> pour les prélèvements actifs.

## Conclusion

Les concentrations mesurées dans l'air (actif et passif) des bureaux investigués sont inférieures à celles mesurées dans des bureaux aux USA et du même ordre de grandeur que celles mesurées dans des bureaux au Royaume-Uni (comparaison limitée au BDE47 et BDE99). Elles sont globalement supérieures aux concentrations mesurées par les mêmes méthodes dans des logements.

L'étude n'a pas mis en évidence de lien significatif entre les concentrations en PBDE dans l'air et les poussières et les concentrations dans le sang des individus. La consommation de poisson gras est significativement liée aux concentrations sanguines, ce qui est cohérent avec la littérature.

Ces conclusions ne sont pas extrapolables à d'autres populations et d'autres bureaux que ceux étudiés.

*Projet 2007-52, réalisé entre janvier 2008 et juin 2011.*

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

**Lise GIORGI ALLEMAND<sup>1</sup>**, Niels KEIDING<sup>2</sup>, Rémy SLAMA<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Inserm U823, équipe d'épidémiologie environnementale appliquée à la reproduction et la santé respiratoire, Université de Grenoble, <sup>2</sup>Département de biostatistiques, Université de Copenhague, Danemark*

### BIOGRAPHIE

Lise GIORGIS ALLEMAND a obtenu en 2010 son diplôme d'ingénieur en mathématiques appliquées et modélisation à l'Institut des sciences et techniques de l'ingénieur de Lyon, doublé d'un master en biostatistiques bioinformatique et génomique à l'Université Claude Bernard (Lyon). Elle travaille depuis septembre 2010 en tant qu'ingénieur de recherche à l'Inserm dans l'équipe d'épidémiologie environnementale appliquée à la reproduction et la santé respiratoire (Inserm U823, Grenoble), dirigée par Rémy SLAMA. Les objectifs principaux de l'équipe sont de caractériser l'impact des facteurs environnementaux (polluants atmosphériques, perturbateurs endocriniens) sur la fonction de reproduction et la fonction respiratoire. En plus de l'Observatoire épidémiologique de la fertilité en France, l'équipe est impliquée dans différents projets nationaux et européens sur les effets de la pollution atmosphérique, la génétique et les déterminants de l'asthme ou l'effet sanitaire de l'environnement en général.

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Certains travaux chez l'animal et l'humain suggèrent un impact des polluants atmosphériques sur les paramètres spermatiques. Très peu d'études ont cherché à décrire l'influence de ces polluants sur la fertilité des couples de la population générale.

### Méthode

Nous avons recruté un échantillon aléatoire de couples n'utilisant pas de contraception et vivant en France métropolitaine selon l'approche des durées en cours. La date de début de la période sans contraception a été recueillie pour chaque couple. Un sous-échantillon de femmes a accepté de faire des prélèvements urinaires à domicile pendant un cycle menstruel pour étudier certains paramètres hormonaux. La station fixe de surveillance de la qualité de l'air la plus proche du domicile du couple a été identifiée et ses niveaux moyennés durant la période précédant le début de la période sans contraception. L'association entre l'exposition et le délai avant l'obtention d'une grossesse a été estimée par un modèle de probabilité de défaillance en temps accéléré (Accelerated Failure Time model).

### Résultats

Nous avons contacté un échantillon aléatoire d'environ 63 000 foyers, dont 15 811 comprenaient une femme de 18 à 44 ans qui a répondu au questionnaire d'éligibilité. Ceci a permis de recruter 484 couples n'utilisant pas de contraception. Le délai avant la survenue d'une grossesse tendait à augmenter avec la concentration moyenne de dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2$ ) durant les 70 jours précédant l'arrêt de la contraception (multiplication du délai médian avant grossesse de 1,31, intervalle de confiance à 95 % [1,19 ; 1,44] pour une augmentation de  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de la concentration de  $\text{NO}_2$  après ajustement,  $p < 0,01$ ). Les tendances temporelles dans les niveaux de  $\text{NO}_2$  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,  $p = 0,27$ ).

Sur l'ensemble des 193 cycles pour lesquels un métabolite de la progestérone a pu être dosé, 8 % étaient anovulatoires.

### Conclusion

Notre approche en population générale a permis de ne pas se limiter aux couples féconds ou à ceux choisissant de médicaliser leurs difficultés à concevoir. C'est aussi une des premières études sur l'influence de la pollution atmosphérique sur la santé s'appuyant sur les données de surveillance de la qualité de l'air à l'échelle de la France entière. Après prise en compte d'un biais dû aux tendances temporelles, il n'y avait pas d'élément en faveur d'un effet à court terme des niveaux de  $\text{NO}_2$  sur la fertilité des couples.

*Projet 2006-49, réalisé entre janvier 2007 et décembre 2009.*

## Imprégnation fœtale aux PBDE : étude comparative entre deux pays ayant la législation opposée

Chadi YAZBECK<sup>1</sup>, Larissa TAKSER<sup>2</sup>, Guy HUEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1018, Villejuif, <sup>2</sup>Université de Sherbrooke, Canada

### BIOGRAPHIE

Chadi YAZBECK a obtenu en 2002 son diplôme de médecine et de spécialisation en gynécologie obstétrique à la faculté de médecine de l'Université Saint-Joseph de Beyrouth. Ancien interne des hôpitaux de Lyon et de Paris, lauréat du Collège de médecine des hôpitaux de Paris en 2001, il a été chef de clinique à l'hôpital Bichat Claude Bernard, Paris. Il a ensuite intégré l'équipe Inserm U1018, et a obtenu un DEA en santé publique, puis un doctorat en épidémiologie à l'Université Paris Sud 11. Ses publications scientifiques témoignent de son implication dans plusieurs projets de recherche clinique dans les domaines de l'infertilité et de la toxicologie environnementale. Il exerce actuellement comme praticien hospitalier à l'hôpital Bichat, où il est également responsable du centre de FIV.

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les polybromodiphényléthers (PBDE) sont des substances organiques ignifuges d'origine anthropique ajoutées à divers produits de consommation courante. En 2001, l'utilisation des PBDE en Amérique du Nord a été estimée à plus de 7 100 tonnes métrique. Les taux élevés de PBDE dans la nourriture et les tissus humains, et eu égard aux risques potentiels pour la santé, ont amené plusieurs gouvernements à limiter l'utilisation de ces produits. Dès le début des années 1990, l'Europe a commencé à réduire de façon volontaire l'usage de PBDE et, de ce fait, a devancé les autres pays industrialisés. L'objectif de la présente recherche visait à estimer l'imprégnation aux PBDE au sein de populations fœtales et d'en évaluer les effets dans deux pays ayant adopté une réglementation opposée.

#### Méthode

Une naissance canadienne (CHU Fleurimont, Sherbrooke, Québec) a été appariée à une naissance française (CHU Bichat Claude Bernard, Paris, France). Les facteurs d'appariement étaient ceux influençant *a priori*, la charge corporelle en PBDE, en l'occurrence : l'âge maternel et le nombre de grossesses antérieures. Ont été incluses dans l'étude uniquement les grossesses d'origine européenne afin d'homogénéiser les deux populations étudiées. Les grossesses multiples ont été exclues de l'étude ainsi que les femmes séropositives pour le VIH. Lors de l'accouchement, 132 échantillons de sang total du cordon ombilical ont été prélevés dans chacune des maternités. Le dosage sanguin des PBDE a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse GC-MS-MS à ionisation interne.

#### Résultats

Selon le questionnaire rempli par les patientes, l'âge de la mère, l'âge gestationnel ainsi que le niveau d'éducation des femmes étaient similaires pour les deux groupes. Le pourcentage de femmes ayant fumé lors de la grossesse était significativement plus élevé à Paris alors que celui des femmes ayant consommé de l'alcool était plus élevé à Sherbrooke. Les niveaux des congénères BDE-47, 99 et 100 étaient significativement plus élevés dans le sang de cordon à Sherbrooke alors qu'il n'existe pas de différence dans les concentrations sanguines du BDE-153 entre les deux groupes. Le congénère BDE-47 a été détecté dans l'ensemble des échantillons des deux pays. Les BDE-99 et -100 sont plus fréquemment détectés dans les échantillons de Sherbrooke. Le BDE-153 est plus fréquemment détecté en France.

## Conclusion

Les concentrations des PBDE chez le groupe de femmes canadiennes étaient 3 à 5 fois plus élevées que ceux du groupe de femmes françaises. Ces concentrations sanguines élevées reflètent les hauts niveaux d'exposition environnementale de la population canadienne et incitent les pouvoirs publics de ce pays à adopter une législation plus restrictive. En France, une évaluation des risques persistant pour les femmes enceintes et les nouveau-nés est également nécessaire.

*Projet 2008-11, réalisé entre décembre 2008 et mars 2012.*

## Suivi biologique des expositions professionnelles : travaux d'expertise de l'Anses

### Marie-Laure COINTOT

*Direction de l'évaluation des risques, Anses*

### BIOGRAPHIE

Docteur en pharmacie, diplômée du master de méthodes de recherche en environnement et santé, Université J. Fournier de Grenoble, Marie Laure COINTOT est chargée de projets scientifiques à la Direction de l'évaluation des risques, unité de l'évaluation des dangers et des risques des substances. Ses thématiques de travail sont notamment la toxicologie, l'évaluation des expositions professionnelles (contribution aux saisines fumées de bitume, fluides de coupe), la biométrie et les valeurs limites d'exposition professionnelle.

### RÉSUMÉ

#### **Descriptif du dispositif français de fixation des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP)**

Une phase d'expertise scientifique indépendante a pour objectif d'évaluer :

- les effets des substances chimiques sur la santé humaine afin de recommander des valeurs limites d'expositions (concentrations atmosphériques et dans des matrices biologiques) ;
- la pénétration cutanée des agents chimiques étudiés (recommandation d'une mention spécifique : la mention « peau ») ;
- les méthodes de mesure disponibles techniquement applicables pour le mesurage des niveaux d'exposition sur les lieux de travail.

Cette phase a été confiée à l'Anses par le Ministère chargé du travail et est réalisée sur la base des informations scientifiques et techniques disponibles. Elle est suivie par la proposition, par le Ministère chargé du travail, d'un projet réglementaire de valeur limite d'exposition professionnelle pour le ou les agents chimiques considérés. Enfin, une concertation sociale est engagée autour du projet réglementaire afin de déterminer d'éventuels délais d'application, en fonction des problèmes de faisabilité technico-économique susceptibles d'être soulevés, dans un souci d'effectivité des valeurs limites.

### **La surveillance biologique et les valeurs limites biologiques en milieu de travail**

La surveillance biologique des expositions professionnelles (SBEP) permet d'évaluer l'imprégnation d'un travailleur à un (ou des) agent(s) donné(s), chimique(s) le plus souvent en intégrant toutes les voies de pénétration dans l'organisme. Plus précisément, il s'agit de mesurer dans des matrices biologiques des indicateurs biologiques d'exposition ou biomarqueurs dont la variation est associée à l'exposition à l'agent chimique étudié. Des indicateurs biologiques d'effets précoces et réversibles s'ajoutent à cette définition dans la mesure où ils peuvent être spécifiquement corrélés à l'exposition professionnelle.

La SBE fait partie intégrante de la démarche d'évaluation des risques chimiques en milieu professionnel et est complémentaire de la métrologie atmosphérique pour évaluer les niveaux d'exposition des professionnels à des substances.

### **Expertise Anses en matière de valeurs biologiques en milieu professionnel**

Selon les substances et les données scientifiques disponibles, l'Anses peut être amenée à recommander différents types de valeurs biologiques en milieu professionnel : des valeurs biologiques de référence en population générale qui correspondent à des niveaux d'imprégnation retrouvés dans la population générale et des valeurs limites biologiques (VLB). Ces dernières ont généralement une portée sanitaire puisqu'elles visent à protéger des effets néfastes pour la santé des travailleurs exposés à l'agent chimique considéré ou, à défaut d'information suffisante, de limiter les expositions.

Plusieurs types de VLB peuvent être recommandés :

- VLB basée sur un effet sanitaire : niveau d'un indicateur biologique pour lequel les données scientifiques ne rapportent pas d'effets sanitaires ;
- VLB basée sur une exposition à la VLEP-8h : niveau moyen d'un indicateur biologique correspondant, selon les données scientifiques, à une exposition à la VLEP-8h ;
- VLB basée sur un niveau de risque : niveau d'un IBE associé aux excès de risque  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  ;
- VLB pragmatique : basée sur un effet sanitaire ou sur une exposition à la VLEP-8h.

### **Mise en application**

Plusieurs agents chimiques ont déjà fait l'objet d'évaluations scientifiques pour l'élaboration de valeurs limites biologiques en plus des recommandations de valeurs limites d'exposition atmosphériques. Certains exemples de construction de VLB seront présentés lors des journées scientifiques.





## SESSION 3

# Surveillance sanitaire de travailleurs

**Modérateurs :**

Marie-Claude JAURAND,  
Directrice de recherche, Inserm, Paris  
et Laurent LAGADIC,  
Directeur de recherche, Inra, Agrocampus Ouest, Rennes



## Développement d'outils de surveillance biologique pour l'évaluation des risques à la santé de travailleurs en arboriculture et en viticulture exposés aux fongicides

**Aurélié BERTHET<sup>1</sup>**, Michèle BOUCHARD<sup>2</sup>, David VERNEZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut universitaire romand de santé au travail (IST), Lausanne (Suisse), <sup>2</sup>Université de Montréal, Département de santé environnementale et santé au travail, Montréal (Canada)

### BIOGRAPHIE

Aurélié BERTHET a obtenu en 2002 son diplôme du baccalauréat en sciences biologiques et en 2004 son diplôme de maîtrise en santé environnementale et santé au travail à la faculté de médecine de l'Université de Montréal. Elle a ensuite préparé un doctorat *es sciences* en santé publique, option toxicologie et en sciences de la vie, diplôme qu'elle a obtenu en 2011. Actuellement, elle travaille à l'Institut de santé au travail (IST) à Lausanne en tant que chercheuse dans les domaines de perméation cutanée des pesticides et des biocides, de toxicocinétique et de surveillance biologique. Elle participe à un comité scientifique sur l'exposition aux pesticides.

### RÉSUMÉ

#### Introduction

De nombreux travailleurs utilisent le captan et le folpet comme fongicides en agriculture mais leur exposition n'est pas toujours mesurée de manière spécifique et précise. La surveillance biologique s'avère être un excellent outil à cet effet puisqu'elle permet de quantifier l'exposition réelle. Toutefois, la majorité des connaissances toxicologiques pour ces fongicides proviennent d'études sur les animaux et les données chez l'humain sont limitées. Le but du présent projet était donc d'évaluer les risques d'exposition de travailleurs au captan et au folpet par : i) le développement d'outils de surveillance biologique, ii) l'étude de la cinétique des substances mères et des biomarqueurs spécifiques à ces deux produits, iii) l'évaluation de la quantité réelle absorbée par les travailleurs.

#### Méthode

Le projet a été subdivisé en trois parties complémentaires : i) développer des méthodes analytiques spécifiques pour quantifier les biomarqueurs d'intérêt du captan, soit le tétrahydrophthalimide (THPI), et du folpet, soit le phtalimide (PI) et l'acide phtalique, dans le plasma et l'urine ; ii) déterminer la toxicocinétique des deux fongicides en exposant des volontaires à de faibles doses de captan ou de folpet par voie orale et cutanée dans des conditions semi-contrôlées et en quantifiant les biomarqueurs dans chacune des deux matrices ; iii) de valider les biomarqueurs d'exposition sélectionnés et d'évaluer l'exposition réelle des travailleurs et les voies prédominantes d'exposition au captan et au folpet en collectant des données biologiques chez des travailleurs.

#### Résultats

Selon ces travaux, le THPI et le PI sont deux biomarqueurs valides et spécifiques pour quantifier l'exposition au captan et au folpet, respectivement, chez l'humain. En effet, les méthodes développées pour ces deux métabolites sont robustes avec des limites de détection plus sensibles que celles rapportées dans la littérature, un taux de recouvrement de 90 % pour le THPI et de 75 % pour le PI, une très bonne linéarité ( $R^2 > 0,99$ ) et une bonne stabilité avec des variations intra- et inter-journalières faibles ( $RSD < 15\%$ ). Elles ont permis de déterminer les profils cinétiques des deux métabolites chez les volontaires et chez les travailleurs. Ces derniers indiquent d'ailleurs une élimination rapide, avec une demi-vie d'élimination dans l'urine de 11,7 h et 18,7 h pour le THPI et de 27,3 h et 28,8 h pour le PI, respectivement après une absorption par voie orale et cutanée, ainsi qu'une faible absorption cutanée lorsque les valeurs sont comparées pour les deux voies d'exposition. Des profils parallèles sont aussi observés entre le PI et l'acide phtalique pour les volontaires et les agriculteurs mais le folpet se retrouve davantage métabolisé sous forme d'acide phtalique que de PI. Quant à l'étude des agriculteurs, elle montre que la voie principale d'exposition de ces travailleurs est la voie cutanée.

## Conclusion

Le THPI est un biomarqueur spécifique à l'exposition au captan et le PI à l'exposition au folpet, même si ce ne sont pas les métabolites principaux. L'étude chez les volontaires a permis de mieux documenter la cinétique des trois biomarqueurs d'exposition et d'établir que leurs demi-vies biologiques étaient courtes chez l'humain et que leur élimination était un peu plus lente par voie cutanée que par voie orale. L'étude chez les agriculteurs s'est avérée nécessaire pour valider les biomarqueurs d'exposition et établir les stratégies d'échantillonnage et d'analyse des résultats les plus appropriés. Cette étude souligne aussi le fait qu'il est important de favoriser les collectes d'urines complètes sur 24 h aux urines ponctuelles et de mesurer plusieurs métabolites.

*Projet 2006-03, réalisé entre janvier 2007 et juillet 2010.*

## Suivi d'une cohorte de 6 546 sujets inclus dans un programme expérimental multirégional de surveillance post-professionnelle pour le risque amiante

**Jean-Claude PAIRON<sup>1</sup>**, Patrick BROCHARD<sup>2</sup>, Christophe PARIS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Inserm U955, Université Paris-Est Créteil, et CHI Créteil, <sup>2</sup>Centre Inserm U897, Université Segalen Bordeaux, <sup>3</sup>Inserm U954, Université de Lorraine, Nancy

### BIOGRAPHIE

Professeur des universités - praticien hospitalier, Jean-Claude PAIRON est responsable de l'unité de pathologie professionnelle du Centre hospitalier intercommunal de Créteil. Il est responsable à l'Université Paris-Est Créteil (UPEC), de la spécialité « toxicologie environnement santé » du master sciences, technologie santé, mention « biologie santé ». Ses recherches portent sur les maladies professionnelles respiratoires et les mécanismes biologiques impliqués dans la réponse cellulaire de l'appareil respiratoire à des nanoparticules. Ses activités de recherches sont développées dans le cadre d'une équipe Inserm (équipe 4, directeur J. Boczkowski : physiopathologie de la bronchopneumopathie chronique obstructive et d'autres conséquences respiratoires de l'inhalation de particules de l'environnement) au sein de l'Institut Mondor de recherche biomédicale (IMRB), Inserm U955.

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Ce travail s'appuie sur une cohorte de sujets inclus dans un programme expérimental multirégional de surveillance post-professionnelle pour le risque amiante (SPP-A/APEXS). Les objectifs de ce projet sont :

- 1- évaluer et modéliser l'incidence et la mortalité par cancer respiratoire dans la cohorte des sujets ayant eu un examen tomodensitométrique (TDM) et un questionnaire professionnel détaillé ;
- 2- analyser les relations entre, d'une part la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire ou d'un mésothéliome et d'autre part les facteurs de risque (tabagisme, exposition à l'amiante) et la présence de plaques pleurales ou d'asbestose ;
- 3- évaluer les modalités de la prise en charge médicale des nodules pulmonaires isolés identifiés lors de l'examen TDM.

### Méthode

Les données de la base de données issue de la cohorte constituée lors du programme SPP-A/APEXS initié en 2001 ont été enrichies : les expositions professionnelles à l'amiante ont été réévaluées par des hygiénistes industriels, avec calcul d'un index d'exposition cumulée pour chaque sujet ; d'autre part, les examens TDM disponibles réalisés au cours de la campagne 2004-2005 ont fait l'objet d'une double relecture standardisée (triple en cas de discordance) par des radiologues experts pour la détermination des anomalies liées à l'amiante.

Les données d'affections de longue durée-maladies professionnelles et de mortalité ont été analysées en fonction des données d'exposition à l'amiante permettant ainsi de caractériser l'incidence et la mortalité par cancer selon différents groupes à risque. Les données cliniques (spécifiquement tabagisme, les informations ayant été mises à jour au cours de ce programme), professionnelles (métiers, durée d'exposition, paramètres d'exposition), les pathologies de l'amiante (en particulier plaques pleurales) ont été confrontées à l'existence d'une prise en charge pour cancer et avec les causes de mortalité par cancer.

### Résultats

La cohorte ARDCO constituée à l'issue de l'expérimentation SPP-A/APEXS comporte 16 000 sujets, dont tous les calendriers professionnels ont été réévalués par des hygiénistes industriels, permettant une estimation affinée de leur exposition professionnelle à l'amiante et, en particulier, un calcul de leur exposition cumulée. La principale originalité de cette cohorte réside dans une évaluation fiable des anomalies parenchymateuses ou pleurales bénignes (asbestose ou plaques pleurales) pour 5 825 sujets dont l'examen TDM a pu être relu par des radiologues experts suivant une procédure standardisée.

Les résultats préliminaires retrouvent une association significative entre l'existence de plaques pleurales et la survenue d'un excès de risque de décès par cancer respiratoire, notamment de mésothéliome, après ajustement sur l'exposition cumulée à l'amiante et la durée écoulée depuis le début de l'exposition. Les effectifs de cancers survenus jusqu'en 2010 ne permettent toutefois pas encore de conclusion solide concernant les données de mortalité. Il apparaît essentiel de procéder à des vérifications détaillées des données concernant le diagnostic des affections respiratoires tumorales (en particulier vérification anatomopathologique et confrontation aux anomalies TDM initiales pour les tumeurs pleurales).

### Conclusion

L'âge globalement élevé des sujets inclus dans la cohorte (80 % sont âgés de plus de 60 ans à l'inclusion en 2003-2005) et le nombre important de cancers attendus dans les années à venir, permettent de prévoir une augmentation rapide de la puissance statistique des analyses déjà ébauchées. Il apparaît donc essentiel d'assurer un suivi de cette cohorte au cours des prochaines années puisqu'elle offre une occasion unique d'apporter des éléments de réponse à des questions largement débattues aujourd'hui et qui concernent des centaines de milliers de personnes. Il s'agit notamment du caractère pronostique des anomalies pleurales ou parenchymateuses bénignes (par rapport au risque de survenue de cancer) et de l'utilité du renouvellement de l'examen TDM du thorax au cours du suivi médical ainsi que sa périodicité. Cette cohorte peut, en outre, être le point de départ d'autres programmes de recherche satellites, qu'il s'agisse de l'évaluation de l'intérêt (ou non) de la surveillance de certains paramètres biologiques proposés en dépistage d'affections malignes, ou l'évaluation de l'impact psychologique des programmes de surveillance.

*Projet 2006-43, réalisé entre décembre 2006 et décembre 2009.*



## POSTERS



## Le déficit en protéine kinase activée par l'AMP réduit les lésions pulmonaires induites par l'ozone et le stress oxydant chez les souris

Sébastien HULO<sup>1</sup>, Rémi NEVIÈRE<sup>2</sup>, Annie SOBASZECK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PRES Université Lille Nord de France/UDSL/EA 4483, Laboratoire universitaire de médecine du travail, CHRU Lille, <sup>2</sup>PRES Université Lille Nord de France/DSL/EA 4484, CHRU Lille

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Une exposition aiguë à l'ozone induit la production de radicaux oxydants et nitrosants toxiques pour le parenchyme pulmonaire. Parmi ceux-ci, le peroxy-nitrite joue un rôle dans la nitration de résidus de tyrosine modifiant ainsi de nombreuses protéines kinases impliquées dans la signalisation cellulaire. Il a récemment été proposé que le peroxy-nitrite activait la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK), protéine qui participe à la réponse au stress cellulaire. Nous avons voulu savoir si une exposition aiguë à l'ozone altérerait la clairance du liquide alvéolaire, augmenterait la production de peroxy-nitrite et si l'AMPK était impliquée dans ces phénomènes.

#### Méthode

Des souris témoins et des souris déficientes en sous-unité  $\alpha 1$  de l'AMPK ont été exposées à l'ozone (2,0 ppm pendant 3 heures) dans des cages en verre. Les expérimentations ont été réalisées 24 heures après l'exposition à l'ozone. La clairance du liquide alvéolaire (AFC) a été évaluée grâce à l'albumine marquée au FITC. La numération cellulaire, l'activité de la myéloperoxydase (MPO), les concentrations de cytokines, les marqueurs du stress oxydant (malondialdéhyde (MDA), peroxy-nitrite, NADPH oxydase) ont été dosés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (BAL) ou dans les homogénats de poumon. Les taux d'AMPK phosphorylée et l'expression de la Na-K-ATPase sur la membrane plasmique ont été déterminées par Western blot.

#### Résultats

Chez les souris témoins, l'exposition à l'ozone induit une inflammation des poumons au vu de l'accroissement de la concentration des protéines totales, du nombre de leucocytes dans le BAL et l'activité de la myéloperoxydase et des taux de cytokines pro-inflammatoires dans les LH.

Une augmentation des taux de peroxy-nitrite (3 vs 4,4 nM,  $p = 0,02$ ) et de malondialdéhyde (110 vs 230 pmoles/g de tissu humide) ont été détectés dans les homogénats des souris témoins exposées à l'ozone. L'exposition à l'ozone provoque une augmentation du rapport AMPK phosphorylée/AMPK totale de 80 % chez les souris témoins. L'exposition à l'ozone entraîne, chez les souris témoins, une augmentation de l'AFC et de l'expression basolatérale de la Na-K-ATPase, qui ne se produisent pas chez les souris déficientes en sous-unité  $\alpha 1$  de l'AMPK.

#### Conclusion

L'ensemble de nos résultats suggèrent que l'activation de l'AMPK participe à l'augmentation de l'AFC, de l'inflammation et du stress oxydant. D'autres études sont nécessaires pour comprendre comment la voie de l'AMPK peut offrir une nouvelle approche pour la prévention des lésions pulmonaires induite par l'ozone.

Projet 2007-68, réalisée de décembre 2007 à juin 2010.



## Contribution à l'analyse des marqueurs de l'inflammation du poumon profond par la méthode des condensats de l'air expiré

**Nathalie CHEROT-KORNOBIS**, Jean-Louis EDME, Annie SOBASZEK

*Université Lille nord de France/UDSL EA 4483, Laboratoire universitaire de médecine du travail, CHU Lille*

### RÉSUMÉ

#### Introduction

L'étude des biomarqueurs recueillis par la méthode des condensats de l'air expiré (EBC) est un nouveau moyen non invasif de l'étude spécifique de l'inflammation du poumon profond. Les médiateurs de l'inflammation et du stress oxydant peuvent être mesurés dans ces condensats. Leurs analyses, au travers des anomalies attendues reflétant les modifications biochimiques pulmonaires de l'inflammation et du stress oxydatif, nous apparaît comme une méthode prometteuse et complémentaire du NO expiré (FeNO) pour quantifier l'inflammation. Afin d'évaluer cette méthode, nous avons réalisé une étude transversale dont l'objectif est la caractérisation biochimique des médiateurs non gazeux de deux populations homogènes de sujets témoins (fumeurs et non fumeurs) et asthmatiques.

#### Méthode

Les condensats de l'air expiré sont collectés par le dispositif Ecoscreen® (Jaeger). L'air expiré est refroidi à  $-20^{\circ}\text{C}$  par un condenseur. Le volume recueilli, après 200 litres d'air exhalé ou 20 minutes de ventilation calme, est de 3 à 5 ml de condensat. L'évaluation de la méthode prend en compte l'étude conjointe du NO expiré, des paramètres ventilatoires (débits et volumes). Les analyses biologiques sur les condensats sont l'analyse des profils protéiques - nitrites totaux (NOx) - 8-isoprostane - MDA et cytokines.

#### Résultats

Le premier résultat est la standardisation du recueil des EBC, à la fois dans la technique employée, le matériel de recueil utilisé, le « coating » ou agent de recouvrement, le conditionnement de l'échantillon et sa conservation. Différents marqueurs inflammatoires tels, à ce jour : les protéines, les NOx, les isoprostanes ont été mesurés après avoir éprouvé les techniques de dosage propres à ce substrat particulier qu'est le condensat.

Les asthmatiques de notre population ont un NO exhalé (FeNO) à 50ml/s souvent supérieur à 20ppb. Les valeurs du FeNO sont significativement plus élevées chez les asthmes [29,9 (2.0) ppb] par rapport aux témoins [9.6 (1.7) ppb]. Les NOx sont significativement plus élevés chez les asthmes [14.6 (1,8) $\mu\text{M}$ ] par rapport aux témoins [10,3 (1.7) $\mu\text{M}$ ] mettant en évidence l'état inflammatoire des malades au travers du stress oxydant.

Les protéines et les isoprostanes ne sont pas significativement différentes entre les 2 groupes, en dépit d'une tendance chez les asthmes avec des valeurs légèrement supérieures.

De façon significative, les paramètres traditionnels ventilatoires sont bien corrélés avec le FeNO pour la CVL et le VEMS et le VR [ $r=-0.28$ ,  $p(r)=0.04$ ], avec une tendance entre le TLC<sub>o</sub> et le taux de NOx et de protéines dans les EBC (coefficient à 10 %).

#### Conclusion

Ces premiers résultats étayent la pertinence de l'analyse des EBC chez le sujet asthmatique. Ceci doit être conforté par la poursuite de l'étude sur des effectifs plus importants et des groupes pathologiques différents avec l'analyse d'autres biomarqueurs dont nous développons les techniques de dosage.

*Projet 2005-26, réalisé de janvier 2006 à mars 2009.*



## MAPK and PKC/CREB-dependent induction of Interleukin-11 by the environmental contaminant Formaldehyde in human bronchial epithelial cells

**Valérie LECUREUR**, Olivier FARDEL, Mathieu ARZEL

*Inserm UMR-1085, Rennes*

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Formaldehyde, a toxic chemical released by cigarette smoke and many building materials, seems to favor the development of lung inflammatory diseases in humans exposed by air to this volatile contaminant in its domestic setting. Interleukin-11 (IL-11) is expressed in the airway of patients with allergic diseases such as asthma and plays a role in airway remodeling and inflammation. Therefore, we investigated the effects of formaldehyde on IL-11 expression in human lung epithelial cells.

#### Méthode

Human bronchial epithelial cells BEAS-2B were exposed to formaldehyde and IL-11 mRNA or protein expression were analyzed by RT-qPCR and ELISA, respectively. The signaling pathways controlling formaldehyde-induced IL-11 were investigated using chemical inhibitors and small-interfering RNA transfection. Promoter analysis was realized by measuring luciferase activity of transfected cell.

#### Résultats

Formaldehyde increased both IL-11 mRNA expression and secretion in a dose- and time-dependent manner. It concomitantly induced mRNA expression of transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1, a fibrogenic marker regulated by IL-11. Formaldehyde was also found to trigger an early phosphorylation of p38 and extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in BEAS-2B cells, whose inhibition by ERK and p38 MAPK chemical inhibitors (U0126 and SB203580, respectively) counteracted formaldehyde-mediated induction of IL-11. In addition, formaldehyde increased phosphorylation of cAMP response element binding protein (CREB) and the use of small-interfering RNA targeting CREB demonstrated that this transcription factor was required for the up-regulation of IL-11 by formaldehyde. Implication of protein kinase C (PKC) in formaldehyde-induced IL-11 expression was moreover demonstrated by using RO-31-8220, a PKC inhibitor. We finally showed using SB203580 and RO-31-8220 that phosphorylation of CREB and CREB-promoter activity induced by formaldehyde are under the control of both p38 MAPK and PKC.

#### Conclusion

Our results showed that formaldehyde uses different pathways to induce IL-11 expression in lung BEAS-2B cells. IL-11, well-known to contribute to lung inflammatory diseases, appears thus as a molecular target of formaldehyde, which could be involved in putative deleterious inflammatory and fibrogenic pulmonary effects of this volatile organic compound. These results have been published (Lecureur et al., *Toxicology*, 2012, 292:13-22).

*Projet 2008-10, réalisé d'octobre 2008 à février 2011.*



## CERENAT : études des facteurs de risques environnementaux et professionnels des tumeurs du système nerveux central

**Isabelle BALDI<sup>1</sup>**, Anne GRUBER<sup>1</sup>, Pierre LEBAILLY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Equipe santé travail environnement, Inserm U 897, Université Bordeaux Segalen, <sup>2</sup>Inserm UMR 1086, Université de Caen Basse-Normandie et Pascale Fabbro, CHU de Nîmes

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les tumeurs cérébrales correspondent à un ensemble complexe d'entités dont le pronostic est très souvent défavorable. Les connaissances épidémiologiques dans ce domaine sont aujourd'hui limitées : les différences dans l'incidence de ces pathologies en fonction des périodes et des lieux ne sont pas clairement expliquées. Les facteurs de risque potentiels étudiés à ce jour sont nombreux. Parmi eux, les facteurs environnementaux, notamment les expositions professionnelles, constituent des hypothèses de premier intérêt. Une étude menée en Gironde entre 1999 et 2001 a permis d'identifier des élévations de risque pour des facteurs tels que les pesticides et les champs électromagnétiques et soulevé un ensemble de questions auxquelles un projet multicentrique doit permettre d'apporter des réponses.

#### Méthode

L'objectif du projet CERENAT est d'étudier le rôle des facteurs environnementaux et professionnels dans la survenue des tumeurs cérébrales primitives de l'adulte, globalement et par type histologique, à l'aide d'une étude cas-témoins multicentrique en population générale, en tenant compte de facteur sensibilité individuelle. Les cas sont des adultes atteints de tumeur cérébrale primitive en Gironde, Calvados, Manche et l'Hérault (diagnostic de moins de 3 mois). Le groupe témoin est issu de la population générale et est apparié sur l'âge, le sexe et le lieu de résidence. L'exposition aux pesticides se base sur un relevé détaillé des emplois et tâches exposantes, des expositions domestiques ainsi que sur des outils de mesure de l'exposition spécifiques développés par l'équipe.

#### Résultats

Le recueil a permis d'identifier 851 cas et d'en enquêter 596 dans les quatre départements. En parallèle, 1 192 témoins ont été inclus. Les cas et les témoins ont été interrogés sur un ensemble de facteurs individuels, professionnels et environnementaux (pesticides, animaux d'élevage, solvants organiques, radiations ionisantes, champs électromagnétiques), antécédents médicaux, antécédents familiaux, habitudes de vie.

Des prélèvements buccaux ont été réalisés chez les cas et les témoins afin de constituer une ADNthèque destinée notamment à la recherche de polymorphismes génétiques. Les dossiers ont été vérifiés, codés et saisis au fur et à mesure du recueil et sont à présent disponibles pour des analyses. Au cours de l'année 2010, deux travaux préliminaires, en cours de publication, ont été réalisés à partir des données recueillies : l'un porte sur les facteurs alimentaires et l'autre sur les facteurs hormonaux chez les femmes de l'étude. Au cours de l'année 2011, un autre travail a été entrepris sur l'exposition aux radiofréquences liée à l'utilisation des téléphones portables.

De plus, trois développements méthodologiques sont menés afin de mettre au point des index d'exposition très détaillés sur les trois nuisances suivantes : expositions professionnelles aux pesticides en agriculture et hors agriculture, expositions domestiques aux pesticides, expositions aux champs électromagnétiques (radiofréquences et extrêmement basses fréquences).

L'âge moyen des participants était de 59 ans, la proportion de femmes était de 56 %. Deux cent soixante treize cas de tumeurs neuroépithéliales ont été inclus, 218 tumeurs méningiales, 68 neurinomes et 37 autres tumeurs.

## Conclusion

Les premières analyses des données de CERENAT ont été menées concernant le rôle de l'alimentation et celui des caractéristiques hormonales, sont en cours de publication. De plus, des analyses sont actuellement menées concernant le rôle des champs électromagnétiques et celui des expositions professionnelles aux pesticides (en agriculture, dans les activités de jardinage-paysagisme, dans les activités exposant au bois traités, dans le secteur de la désinsectisation et de l'hygiène publique), ainsi que pour les expositions domestiques aux pesticides (projet spécifique sur le rôle des pyréthriinoïdes).

*Projet 2007-77, réalisé de décembre 2007 à décembre 2008.*

## Dynamique du transcriptome en réponse aux pesticides organochlorés, au niveau de cellules d'origine hépatique

Georges de SOUSA, Nathalie ZUCCHINI, **Roger RAHMANI**

*Équipe de toxicologie cellulaire et moléculaire, Institut national de la recherche agronomique, Sophia Antipolis*

### RÉSUMÉ

#### Introduction

Les objectifs généraux de ce programme étaient d'appréhender les points d'impacts toxicologiques des pesticides organochlorés, les voies signalétiques affectées et de définir l'éventuelle existence d'empreintes moléculaires spécifiques par rapport à d'autres familles chimiques organiques (Fipronil) et inorganiques (Cadmium). L'originalité de l'approche retenue repose sur le fait que contrairement aux travaux publiés dans ce domaine, ces études ont été réalisées : d'une part, sur des hépatocytes normaux d'origine humaine (primo-cultures), constituant un système dynamique qui permet d'intégrer les processus de transport, de biotransformation et les effets phénotypiques dans la réponse globale au stress chimique ; d'autre part, à des concentrations très proches des expositions réelles.

#### Méthode

Des hépatocytes humains issus de différents donneurs ont été exposés aux pesticides organochlorés (DDT, endrine, heptachlore, aldrine, endosulfan...). Puis leurs impacts sur l'expression génique (approche toxicogénomique, PCR, puces à ADN 25 000 gènes), protéique (western blots, immunomarquage...) et l'architecture cellulaire (marqueurs cytosquelette, mésenchymateux, épithéliaux...) ont été évalués. Par CLHP, nous avons aussi mis en relation les quantités de contaminants environnementaux accumulés dans les tissus adipeux et hépatiques de stockage et les dérégulations phénotypiques et du transcriptome humain dans ces compartiments biologiques.

#### Résultats

Nos travaux ont pu montrer : i) que les pesticides organochlorés (POCs) affectent significativement la physiologie cellulaire, présentant des points d'impacts fonctionnels et génomiques qui n'avaient été jamais décrits auparavant, en particulier aux très faibles doses d'exposition ; ii) une spécificité de réponse à ces xénobiotiques ; iii) un polymorphisme interindividuel de réponse chez l'homme. Au cours de cette étude, nous avons confirmé que la toxicogénomique constitue une bonne approche pour caractériser les réseaux géniques correspondant à une signature «fonctionnelle».

En outre, ces études globales nous ont permis d'analyser, sur un plan mécanistique, les effets des POCs sur les processus de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). Ces derniers sont impliqués dans les différents stades de la tumorigenèse (initiation et progression) et peuvent être considérés comme de bons biomarqueurs d'exposition aux POCs.



Nous avons mis en évidence que ces molécules augmentent notamment l'expression génique et protéique de Cdc42, acteur clé de la mobilité cellulaire. Ce fait survient conjointement à une diminution de l'expression de deux marqueurs épithéliaux : la E-Cadhérine et la  $\beta$ -Caténine, aboutissant à un démantèlement des jonctions cellulaires et à une réorganisation du cytosquelette d'actine. Parallèlement, la néo-expression de la vimentine signe la conversion des hépatocytes en cellules mésenchymateuses. Enfin, pour assurer la pertinence physiologique de ces travaux *in vitro*, des échantillons biologiques (adipeux, hépatiques, CHU Nice) ont été soumis à une analyse comparative permettant de mesurer l'expression des gènes biomarqueurs d'intérêt et les niveaux des contaminants chimiques (TCDD, PCB et POCs) présents dans ces tissus, par CLHP (collaboration LABERCA, Nantes).

### Conclusion

Au total, les résultats acquis dans le cadre de ce projet ont permis d'améliorer notablement nos connaissances toxicologiques sur les POCs : gènes, voies signalétiques et fonctions (co)-régulés (notamment à faibles doses), susceptibilités/variabilités de réponse inter-individuelle, développement de biomarqueurs d'exposition ou d'effet.

Cette caractérisation des dangers potentiels des xénobiotiques grâce à l'analyse du devenir, des impacts biologiques et des mécanismes cellulaires/moléculaires de toxicité est une étape primordiale pour évaluer leurs risques sanitaires et environnementaux. Ces études, alliées à l'estimation de l'exposition, sont indispensables pour prévoir des mesures de gestion appropriées en santé environnement.

*Projet 2005-21, réalisé d'octobre 2005 à octobre 2007.*



## Indicateur caractéristique de la gêne sonore due à la multi-exposition à différentes sources de bruit stable d'un site industriel

**Catherine MARQUIS-FAVRE<sup>1</sup>**, Stéphanie VIOLLON<sup>2</sup>, Marion ALAYRAC<sup>3</sup>

*<sup>1</sup>Université de Lyon, Labex Celya, ENTPE DGCB, Vaulx-en-Velin, <sup>2</sup>EDF R&D, Clamart, <sup>3</sup>EDF DTG, BOTM, Grenoble*

### RÉSUMÉ

#### Introduction

L'objectif est de déterminer un indicateur acoustique intégré qui caractérise la gêne sonore due à la multi-exposition à différentes sources de bruit stable provenant d'un site industriel.

#### Méthode

Ces travaux de recherche nécessitent une meilleure compréhension de la gêne sonore due au bruit industriel. La méthodologie proposée est basée sur des tests d'évaluation de la gêne sonore conduits en laboratoire, puis sur une enquête de gêne sonore menée auprès des riverains d'un site industriel émettant un bruit stable. L'approche utilisée prend en compte la présence de bruit résiduel lors de l'exposition au bruit industriel et la configuration du site d'implantation de l'activité industrielle.

## Résultats

Un test de catégorisation libre a permis d'établir, sur la base de similarités auditives perçues, une typologie perceptive de diverses sources de bruit industriel permanent stable. La typologie perceptive obtenue se décline en 6 catégories perceptives.

Ensuite, pour chacune de ces catégories perceptives de bruits industriels, différents tests d'évaluation de la gêne sonore ont permis une meilleure compréhension des mécanismes perceptifs influençant les réponses de gêne sonore pour les bruits industriels de la typologie établie. La gêne sonore est également étudiée au cours de ces tests pour des situations d'exposition au bruit ambiant, i.e. au bruit industriel en présence d'un bruit résiduel. Différents indicateurs sont proposés à l'issue de cette phase.

Pour finir, un indicateur intégré est proposé au travers d'un test dédié à l'évaluation de la gêne sonore due au bruit d'un site industriel réel. La gêne sonore prédite est comparée aux données recueillies lors d'une enquête de gêne sonore menée auprès des riverains du site industriel étudié.

## Conclusion

L'indicateur intégré proposé apporte une bonne prédiction des réponses de gêne globale, observées en laboratoire. L'indicateur confronté aux réponses de gêne issues d'une enquête conduite *in situ*, permet d'identifier un risque potentiel de gêne, traduisant les réponses maximales de gêne que pourraient formuler les riverains.

*Projet 2005 -18, réalisé de novembre 2005 à novembre 2009.*

## Évaluation de la toxicité pulmonaire de deux polluants émergents, les vapeurs d'éthanol et les nanoparticules, dans un modèle animal d'asthme allergique

Michel CHARBONNEAU<sup>1</sup>, Andrea SCARINO<sup>1</sup>, Robert TARDIFF<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut Armand-Frappier (INRS), Université du Québec, Laval, Québec, <sup>2</sup>Université de Montréal, Québec

### RÉSUMÉ

#### Introduction

L'éthanol est de plus en plus utilisé dans l'essence dans le but de réduire les émissions de gaz à effet de serre des véhicules. En France, le virage à une essence contenant 85 % d'éthanol a été effectué. La population se retrouve donc exposée de façon involontaire à des concentrations croissantes de vapeurs d'éthanol. Des études sur les effets pulmonaires de l'inhalation d'éthanol, notamment chez les sujets présentant une condition pathologique pulmonaire telle l'asthme allergique, sont requises. Les nanoparticules sont des contaminants environnementaux dont l'impact sanitaire est pratiquement inconnu, malgré leur utilisation croissante. Ce projet vise donc à étudier la toxicité inflammatoire pulmonaire de l'inhalation d'éthanol ou de nanoparticules dans un modèle de rat asthmatique.

#### Méthode

Des rats Brown-Norway sont rendus asthmatiques *via* une étape de sensibilisation suivie d'une étape de provocation. La sensibilisation est réalisée *via* une injection sous-cutanée de l'allergène, l'ovalbumine, une protéine du blanc d'œuf de poule. Deux semaines plus tard, le syndrome allergique est induit *via* l'exposition des rats à un aérosol contenant de l'ovalbumine (provocation). L'inflammation pulmonaire associée au syndrome asthmatique est par la suite caractérisée par le décompte des globules blancs à partir de lavages bronchoalvéolaires faits à la fin des expositions. Les animaux sont exposés aux contaminants selon des scénarios permettant de déterminer dans quelle mesure ils peuvent influencer le développement, l'intensité ou la récupération de la réaction d'inflammation pulmonaire.

## Résultats

Nous avons testé quatre concentrations inhalées d'ovalbumine pour identifier celle (1,5 %) causant une réponse inflammatoire égale à 30 % de l'effet maximum, ce qui permet de vérifier si les contaminants peuvent soit augmenter ou soit diminuer la réaction asthmatique inflammatoire. La réponse inflammatoire, qui est maximale à 48 h, est caractérisée par une hausse du nombre de globules blancs, principalement les éosinophiles. Les résultats ont montré que l'exposition à l'éthanol seul (3 000 ppm, 6 heures par jour) durant une période couvrant 14 jours consécutifs, le premier jour coïncidant avec l'étape de sensibilisation, ne module ni le développement, ni la réponse maximale et ni la récupération de la réponse inflammatoire pulmonaire chez le rat Brown-Norway. En revanche, et contrairement aux résultats attendus, l'inhalation d'ozone (4 heures par jour, pendant trois jours), seul ou en combinaison à l'éthanol, a réduit de plus de trois fois l'inflammation pulmonaire 48 h après la provocation allergénique à l'ovalbumine. De la même façon, l'exposition aux nanoparticules de dioxyde de titane (6 heures, une seule journée) a causé une forte réduction de l'inflammation pulmonaire chez les animaux asthmatiques. La mesure des cytokines, molécules importantes impliquées dans la réponse du système immunitaire, a montrée une baisse de l'IL-4, l'IL-6 et l'INF- $\gamma$  dans les lavages bronchoalvéolaires des rats exposés aux nanoparticules. L'examen histologique du tissu pulmonaire appuie les résultats des décomptes cellulaires. Des études subséquentes devraient permettre de clarifier les mécanismes à l'origine de ce qui semble être un effet protecteur de l'exposition aux nanoparticules de dioxyde de titane ou à un mélange d'ozone et de vapeurs d'éthanol vis-à-vis l'inflammation pulmonaire.

## Conclusion

Les résultats obtenus indiquent clairement que les vapeurs d'éthanol ne modifient pas l'inflammation pulmonaire résultant d'une condition asthmatique, ce qui est susceptible de permettre aux autorités réglementaires d'assurer à la population que les hausses anticipées d'éthanol atmosphérique en milieu urbain, en raison d'une essence à moteur additionnée d'éthanol et de l'utilisation de produits en contenant, telles que les solutions hydro-alcooliques, sont sécuritaires. Au plan sanitaire, les nanoparticules de dioxyde de titane ne semblent pas augmenter le risque chez les asthmatiques, alors qu'au contraire elles causent une réduction de l'inflammation pulmonaire, ce qui pourrait ouvrir une voie inattendue vers des débouchés thérapeutiques pour certains types de nanoparticules inertes.

*Projet 2007-80, réalisé de février 2008 à janvier 2011.*







**anses**  
agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



Agence nationale de sécurité sanitaire  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
27-31 avenue du général Leclerc  
94701 Maisons-Alfort Cedex  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr)