anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de veille Scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 25 • Décembre 2014
Notes d'actualité scientifique

Santé / Environnement / Travail

Le bulletin de cette fin d'année 2014 vous présente dix-sept notes aux sujets très riches et variés.

Un nombre non négligeable de notes, et ceci n'est pas très courant dans le BVS, exposent des sujets « au cœur de la cellule » :

Ainsi on y traite du mécanisme d'action du bisphénol A par son interaction avec un récepteur nucléaire, des mécanismes pathologiques mis en jeu lors de la co-exposition aux polluants organiques persistants, d'épigénétique en relation avec la pollution de l'air, des cancers hormono-dépendants ou encore de la neurotoxicité d'un herbicide, le paraquat.

Nos connaissances sur la nanotoxicité s'intensifient avec le temps par le biais de deux notes sur le thème de l'écotoxicologie ou de la neurotoxicologie.

Un problème majeur pour la santé humaine et animale, l'antibiorésistance, est traité par deux notes aux contenus différents, l'une s'intéressant à l'eau, la deuxième aux animaux de compagnie.

D'autres thèmes tout aussi passionnants et/ou perturbants sont abordés tels que la microbiologie clinique, la santé au travail dans l'industrie laitière, les perturbateurs endocriniens et l'obésité chez l'enfant, ou l'utilisation d'animaux sentinelles pour l'évaluation de la qualité de l'eau.

Enfin, le chapitre des sciences humaines et sociales clôt ce bulletin avec le sujet malheureusement toujours préoccupant des inégalités sociales et de santé.

À noter que l'Anses a lancé son appel à candidatures d'auteurs pour l'année 2015 et que vous pouvez, si vous le désirez, répandre l'information auprès de tous vos experts scientifiques.

Très bonne lecture et très bonnes fêtes de fin d'année !

Le comité de rédaction

Agents physiques 7

Quelles interactions entre les nanoparticules et les autres contaminants de l'environnement ? 8
Camille LARUE

Jusque très récemment les études d'écotoxicologie des NPs ont été réalisées avec des systèmes très simplifiés. Aujourd'hui, les conditions d'expérience vont vers plus de réalisme environnemental. Néanmoins, la prise en compte des interactions des NPs avec les autres contaminants présents dans l'environnement reste anecdotique. Cette note démontre l'impact important de la présence de NPs sur la toxicité de polluants communs tels que les métaux lourds ou les contaminants organiques. Néanmoins si les propriétés des NPs peuvent en faire des vecteurs de contamination pour les organismes, elles en font également un moyen de remédiation efficace.

Translocation des nanoparticules ou comment celles-ci peuvent affecter les organes après le passage pulmonaire ? 12
Julien FATISSON et Michèle BOUCHARD

La voie d'exposition aux nanoparticules (NPs) la plus courante est la voie aérienne. Toutefois, certaines NPs peuvent atteindre d'autres organes, *via* certains nerfs ou après le passage de la barrière sang-air. En effet, des NPs de silice, pourtant souvent considérées comme peu toxiques, s'avèrent l'être envers des cellules neuronales et peuvent causer des dommages pouvant favoriser le développement de maladies neurodégénératives, tels qu'étudiés dans le premier article. La translocation de nanotubes de carbone multi-parois après le passage pulmonaire, montre une accumulation de ces NPs notamment dans le foie et la rate, ou encore la moelle osseuse, comme le démontre le deuxième article dédié à la visualisation du transfert tissulaire systématique multivoies de ces NPs. Aucun aspect de la nanotoxicité ne peut donc être négligé afin d'optimiser la protection des travailleurs et du public.

Agents chimiques 17

Impact de co-expositions aux PCBs et à la dioxine sur l'athérogenèse et l'apoptose 18
Radhouane CHAKROUN et Faycal FAIDI

Les effets individuels des Polychlorobiphényles (PCB), des dioxines et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont généralement bien connus mais les données sur les effets des expositions combinées à ces contaminants environnementaux sont peu disponibles. Les deux articles sélectionnés étudient les effets de l'exposition simultanée à ces produits en mettant en évidence les interactions et les mécanismes mis en jeu.

Effets du bisphénol A médiés par le récepteur nucléaire orphelin ERRγ chez le poisson zèbre 21
Véronique MACHELON

Classiquement, le bisphénol A (BPA) est défini comme un perturbateur endocrinien avec pour cible les fonctions de la reproduction. Toutefois, son affinité pour les récepteurs hormonaux est faible et les études cliniques ne sont pas unanimes. Récemment, des effets du BPA ont été décrits en dehors du système de la reproduction, incitant à rechercher d'autres cibles pour le BPA. L'identification du récepteur ERRγ, notamment impliqué dans les voies métaboliques, et sa forte affinité pour le BPA, ainsi que le fait que le BPA induit chez le poisson zèbre des anomalies de la vésicule otique a suscité des recherches pour démontrer le rôle de ERRγ comme médiateur des effets du BPA. C'est l'objet du second article présenté dans la note. S'ajoutant au premier et confirmant la très forte affinité du BPA pour ERRγ, ces travaux apportent des arguments forts pour revoir le champ d'action du BPA et son impact sur la santé.

Agents biologiques 25

Avancées et limites dans l'utilisation de techniques à haut débit en épidémiologie et microbiologie clinique 26
Pierre FECHTER

Ces dernières années, les progrès dans les technologies de séquençage et d'amplification d'ADN ont permis l'accès à des informations génomiques à grande échelle. Ces approches révolutionnent la manière d'aborder la microbiologie fondamentale, et de plus en plus d'articles décrivent certaines applications en épidémiologie et/ou microbiologique clinique. Les deux articles présentés en sont des exemples. Le premier décrit la détection d'un grand nombre de pathogènes infectant les tiques, vecteurs de nombreuses maladies infectieuses, dans trois pays européens. Le deuxième décrit la détermination de l'origine de la bactérie, issue du genre *Staphylococcus haemolyticus*, responsable d'infections nosocomiales dans plusieurs hôpitaux européens. Les avantages, limites et attentes pour une application généralisée en microbiologie clinique sont notamment discutés.

Gènes de résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine agricole ou urbaine 30
Alain HARTMANN et Edward TOPP

Le recyclage de produits résiduaires organiques comme amendement des sols agricoles ou l'irrigation des cultures par des effluents issus du traitement des eaux usées doivent faire l'objet d'études de risque car ces matrices peuvent contenir des gènes de résistance aux antibiotiques et des traces d'antibiotiques. Ces études devront répondre à deux questions : le devenir de ces contaminants biologiques et chimiques dans l'environnement, et les risques sanitaires potentiels pour l'Homme au travers de la qualité des aliments, des ressources en eaux et de son environnement récréatif. Des approches originales permettent de mettre en évidence la diversité, la persistance et la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dans des effluents et des résidus organiques. Les deux publications analysées mettent en exergue deux sources potentielles de rejet de gènes de résistance aux antibiotiques, l'une d'origine urbaine, l'autre d'origine agricole.

Animaux de compagnie et staphylocoques résistants à la méticilline 35
Marie-Thérèse LABRO et Jean-Marie BRYSKIER

La résistance des bactéries aux antibiotiques est une préoccupation mondiale. Les staphylocoques résistants à la méticilline sont une menace en milieu hospitalier et dans les communautés humaine et animale. Certains clades épidémiques humains de staphylocoque doré (SARM) ont pu infecter les animaux de compagnie, qui peuvent à leur tour servir de réservoirs et les transmettre, en raison de contacts privilégiés, à leurs propriétaires et/ou aux personnels vétérinaires. Le choix judicieux des antibiotiques en pratique vétérinaire et des mesures d'hygiène sont indispensables pour juguler ce danger potentiel.

Qualité des milieux 41

Détermination des effets épigénétiques liés à l'exposition aux polluants de l'air 42
Marie-Cécile CHALBOT et Ilias KAVOURAS

Il a été récemment démontré que l'exposition aux polluants de l'air (particules, benzène, polluants organiques persistants) entraîne des modifications épigénétiques, la plus connue étant l'augmentation ou la perte de méthylation des cytosines de l'ADN, qui agissent sur l'expression des gènes affectés. Le premier article montre que la méthylation de certains gènes impliqués dans l'inflammation a un impact sur le déclin de la fonction respiratoire dû à la pollution chez les personnes âgées. Les deux derniers articles montrent une association entre l'exposition aux métaux des particules fines ou aux pesticides et retardateurs de flammes et les modifications de la méthylation de séquences répétées qui ont une fonction dans le maintien de la stabilité génomique. Il reste à démontrer que les modifications épigénétiques mises en évidence sont un facteur de risque pour certaines maladies respiratoires, telles que l'asthme ou le cancer bronchique.

Nouvelles stratégies de dépollution *in situ* de sols contaminés par des métaux, à l'aide de techniques biologiques 47
Thierry LEBEAU

La phytoremédiation, appliquée aux pollutions par des métaux, présente un handicap majeur : la durée importante des traitements, imputable à la faible quantité de métaux du sol mobilisables par les plantes à un instant donnée, largement inférieure au potentiel d'absorption par ces dernières. L'association de la bioaugmentation des sols à la phytoextraction est une voie intéressante, de même que l'utilisation de co-cultures. Les co-cultures de plantes hyperaccumulatrices peuvent augmenter la biomasse végétale et modifier la structure microbienne du sol sans toutefois améliorer les performances de phytoextraction. La bioaugmentation par des vers de terre augmente la quantité de métal mobilisable par les plantes. L'intérêt de ces stratégies innovantes doit être confirmé au cours d'essais en conditions réelles. Il conviendra d'étudier le risque de lessivage, conséquence possible de l'augmentation de la mobilité des métaux du sol.

Estimation de l'impact sanitaire d'une source environnementale à l'aide de prélèvements environnementaux de l'habitat (poussières/sol/air/eau) 51
Muriel MAZZUCA

L'estimation de l'impact sanitaire lié à la proximité d'une source de contamination sur la santé humaine est une démarche difficile à mettre en œuvre. En effet, celle-ci, pour être la plus fidèle possible, doit intégrer un grand nombre de données, notamment environnementales, qui se traduisent par des prélèvements de différents compartiments comme le sol, l'eau, l'air, les poussières. Ces données doivent permettre de définir les principaux facteurs de risque d'exposition de la population. Différentes approches peuvent être employées pour les identifier et ainsi de permettre la mise en place de plans de prévention. Cependant, même si les méthodologies employées sont toutes scientifiquement fondées, il n'existe pas de consensus concernant la caractérisation de l'environnement, aussi, la plupart des résultats obtenus sont difficilement comparables entre eux. Une homogénéisation de ces méthodes et la mise en place de normes seraient les bienvenues.

Industrie laitière : de la vache à la fromagerie, identification des tâches générant de fortes quantités de bioaérosols 57
Anne OPPLIGER

Les élevages de vaches laitières utilisent des moyens techniques variés et les travailleurs sont amenés à y faire une multitude de tâches différentes. Pour la première fois, des déterminants de l'exposition aux poussières et aux endotoxines ont été identifiés. Il s'avère que les tâches les plus exposantes, sont la préparation/distribution de la litière et de l'alimentation et que divers autres facteurs jouent un rôle important (système de traite, d'évacuation du purin, température). Une autre étude faite dans une usine de maturation de fromage a mis en évidence que la tâche la plus exposante aux champignons est celle consistant à brosser et retourner les fromages alors que le nettoyage du matériel expose les ouvriers aux plus hautes concentrations d'endotoxines. Ainsi, les résultats de ces deux études permettront de mieux cibler les mesures de prévention à mettre en place pour réduire l'exposition des travailleurs.

Pathologies 61

Bisphenol A et exposition précoce : les actions observées sur les cellules souches et l'épigénome pourraient favoriser le développement de cancers hormono-dépendants 62
Martine PERROT-APPLANAT

Les données scientifiques obtenues à partir de modèles animaux ont montré qu'une exposition fœtale à de faibles doses de BPA modifie le développement tumoral de la prostate et de la glande mammaire et augmentait l'incidence de cancers chimio-induits. Les deux articles analysés tentent d'étudier les mécanismes mis en jeu. Le premier article montre que des cellules souches dans la prostate humaine se multiplient lorsqu'elles sont exposées au BPA, et sont plus susceptibles à une croissance anormale. Ainsi, une exposition au BPA augmente le risque de développer un cancer de la prostate à un âge avancé sous exposition estrogène/androgène. La deuxième étude montre des changements dans l'épigénome de la glande mammaire de rongeur aux stades post-natal et adulte après une exposition fœtale au BPA. Cependant, dans cette étude, le lien de causalité entre les changements épigénétiques (méthylation de l'ADN ou des histones) et les changements d'expression génique pouvant conduire à des cancers hormono-dépendants reste encore à confirmer.

L'exposition aux perturbateurs endocriniens induit-elle un risque d'obésité chez l'enfant ? 67
Chiara SCOCCIANTI et Béatrice LAUBY-SECRETAN

Plus de la moitié de la population adulte européenne est obèse ou en surpoids. L'excès de tissu adipeux représente un risque majeur pour de nombreuses maladies, dont le cancer.
Il ressort de ces études que l'exposition *in utero* et post-natale aux perturbateurs endocriniens, tels que les insecticides organochlorés et les plastifiants, peut induire des modifications des indicateurs anthropométriques en lien avec l'obésité, qui dépendent de la dose, de l'âge et du sexe de l'enfant. Ces résultats confirment l'hypothèse que la période du développement fœtal représente une fenêtre de susceptibilité aux facteurs de risque pour l'obésité et qu'il existe un important dimorphisme sexuel de sensibilité à ces molécules. Des études longitudinales systématiques visant à analyser les effets de la dose d'exposition, les conséquences à long terme sur l'obésité et les interactions entre ces expositions, s'avèrent nécessaires.

Toxicité de l'herbicide paraquat : mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale parkinsonienne et potentiel thérapeutique d'une molécule anti-inflammatoire 71
Agnès PETIT-PAITEL

Le paraquat, herbicide très utilisé à travers le monde, est responsable chaque année de nombreux empoisonnements et décès par insuffisance respiratoire. Il est également suspecté de favoriser la survenue de maladie de Parkinson chez les agriculteurs. Les auteurs du premier article s'intéressent à ce deuxième aspect et examinent l'influence du paraquat sur les mécanismes moléculaires aboutissant à l'accumulation de synucléine dans les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif et à leur mort des dans la substance noire, phénomène caractéristique de la maladie de Parkinson. Dans le second article les auteurs décrivent les altérations physiologiques et fonctionnelles provoquées aux niveaux périphérique et central par le paraquat et étudient le potentiel thérapeutique d'une molécule anti-inflammatoire chez le rat intoxiqué au paraquat.

Outils et méthodes 75

Évaluation de la toxicité de produits pharmaceutiques relargués dans les effluents 76
Annie PFOHL-LESZKOWICZ

Les tests d'écotoxicité standardisés ne permettent pas d'évaluer les risques environnementaux liés à la présence en faibles quantités de médicaments, ni de suivre l'efficacité des stations d'épuration. Le développement de bioessais très sensibles est indispensable pour une évaluation du risque et une gestion de ce risque. La sensibilité des biomarqueurs utilisés aussi bien chez la moule que chez le poisson est suffisante pour évaluer une exposition à des concentrations en substances (antibiotiques, autres médicaments) retrouvées à la sortie de station d'épuration. Ces biomarqueurs sont indispensables pour définir des stratégies de remédiation.

Risques sanitaires et société 81

Inégalités sociales et facteurs environnementaux au Canada 82
Gilles MAIGNANT

L'étude des inégalités sociales de santé n'est pas nouvelle. Cependant de nouveaux facteurs explicatifs tentent d'être mobilisés. Cette note montre une avancée supplémentaire dans cette compréhension, ainsi l'échelle spatiale est questionnée (urbaine, semi-urbaine, rurale). De même, l'aspect socioéconomique est appréhendé à travers la thématique du logement. Que ce soit pour les maladies chroniques, les fréquences de blessures chez l'adolescent ou encore l'impact du logement donc du mode de vie, ces études ont pour méthodologie, la passation d'un questionnaire et une modélisation de type statistique. Le champ de ces études est le Canada, pays particulièrement sensible aux questions de santé publique.

Adversités psychosociales précoces et santé physique et mentale à l'âge adulte 86
Stéphanie PINEL-JACQUEMIN et Chantal ZAOUCHE GAUDRON

Les adversités précoces, longtemps étudiées dans le cadre de la recherche sur la résilience (c'est-à-dire comment certains enfants parviennent à s'adapter malgré les événements psychologiquement toxiques qu'ils rencontrent), suscitent actuellement de nombreuses questions, notamment celles de l'impact du cumul des adversités, de leur chronicité, de leur analyse à plusieurs niveaux (individuel, familial, social et culturel), ou encore des processus médiateurs entre adversités précoces et santé physique ou mentale à l'âge adulte. Cette note synthétise aux travers des trois articles récents sélectionnés dans la recherche anglo-saxonne quelques éléments de réponses dans ce domaine. Elle met en avant l'évolution des études et les besoins de recherche en France.

Les notes d'actualité scientifique reflètent le point de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent nullement le Comité éditorial ou l'Anses.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de veille scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille nº 25 • Décembre 2014

Notes d'actualité scientifique

Agents physiques

Quelles interactions entre les nanoparticules et les autres contaminants de l'environnement ?

Période : avril 2014 à août 2014

Camille LARUE | camille.larue@rub.de

Ruhr Universität Bochum – Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie – Bochum – Allemagne

Mots-clés : **cocktail de contaminants, ecotoxicologie, environnement, métaux lourds, nanoparticules, organismes, polluants organiques**

Les nanomatériaux sont couramment définis comme des particules ayant au moins une dimension inférieure à 100 nm. Lorsque la taille des particules diminue, leur nombre par unité de masse augmente considérablement. En parallèle, la surface de contact entre particules et environnement est augmentée. En effet, plus une particule est petite, plus la proportion de ses atomes en surface est importante : une particule de 30 nm possèdera 5 % de ses atomes en surface alors qu'une particule de 4 nm en aura environ 50 %. Sa réactivité de surface est alors plus élevée. Ces nanoparticules (NPs) représentent donc une nouvelle classe de contaminant ayant une grande surface disponible pour les interactions et une réactivité élevée. Dans l'environnement, les NPs seront en interaction avec les autres polluants contenus dans les eaux de surface, les sols ou encore les boues de station d'épuration. Les organismes vivants seront donc exposés à un cocktail de contaminants. Pourtant, la plupart des études écotoxicologiques ne se focalise que sur les effets des NPs comme contaminant unique. Cette note d'actualité va donc s'intéresser à quelques études rapportant les interactions de trois types de NPs avec des contaminants de type métaux lourds (Ni, Cr) ou organiques (dioxine) et à leurs impacts combinés sur des organismes aquatiques et terrestres.

Les effets de nanotubes de carbone multi-feuillets hydroxylés sur la toxicité du nickel pour *Daphnia magna* à différents niveaux de pH

Wang C, Wei Z, Feng M, Wang L, Wang Z. The effects of hydroxylated multi-walled carbon nanotubes on the toxicity of nickel to *Daphnia magna* under different pH levels. *Environ Toxicol Chem* 2014; doi: 10.1002/etc.2704

Résumé

Cet article s'intéresse à la toxicité combinée de nanotubes de carbone (NTC) et du nickel (Ni) sur le crustacé modèle de la daphnie. En préalable aux tests de toxicité, les auteurs s'intéressent au comportement des NTC dans le milieu d'exposition pour évaluer les doses réelles d'exposition en fonction de leur sédimentation. Ils montrent ainsi, qu'après 48h d'exposition, plus de 41 % des NTC sont toujours en solution. La toxicité des deux polluants est analysée à différentes concentrations (de 0 à 8,10 mg/L pour le Ni et de 0 à 5 mg/L pour les NTC) sous différentes conditions de pH (6, 7 et 8). Le calcul d'EC_{50}[1] après 48h d'exposition montre une augmentation de la toxicité du Ni pour les daphnies en présence de NTC et ce de façon dose-dépendante. De plus, plus le pH est faible plus la toxicité est marquée. Ainsi la EC_{50}[1] du Ni passe de 5,02 à 2,39 mg/L en présence de 5 mg/L de NTC (pH 6). L'hypothèse des auteurs pour expliquer cette toxicité accrue est l'augmentation de l'ingestion de Ni par les organismes. En effet, l'ajout de NTC à des concentrations supérieures à 1 mg/L entraîne une augmentation significative du contenu en Ni dans les daphnies, de façon dose-dépendante et accentuée pour le plus faible pH. Ces résultats d'accumulation sont donc similaires à ceux obtenus pour la toxicité. Les auteurs démontrent également que quand la concentration en NTC dans le milieu passe de 0,1 à 5 mg/L, la proportion de Ni adsorbée sur les NTC varie en parallèle de 1,6 à 30,0 % à pH 6. Cet effet est moins marqué quand le pH augmente (maximum d'adsorption 21 % à pH 7 et 12 % à pH 8) ce qui pourrait être lié à la spéciation[6] du Ni en solution. En effet à pH 6, 46 % du Ni est sous forme ionique Ni^{2+} (*vs.* 17 % à pH 8) qui entrent alors en compétition avec les ions H^+ des NTC hydroxylés (OH-NTC).

Ainsi, dans un environnement contaminé, les métaux lourds tels que le Ni pourront s'adsorber sur les NTC qui en faciliteront l'ingestion par les organismes vivants, pouvant ainsi augmenter la toxicité de ces métaux lourds.

Commentaire

Cette étude met en évidence l'effet cheval de Troie lié aux NTC. On peut apprécier le soin apporté aux choix des conditions d'exposition (concentrations sub-létales, mise en suspension, variation du pH dans une gamme représentative des eaux de surface). Il est cependant à noter que les derniers résultats de modélisation prévoient plutôt des concentrations en NTC dans l'environnement de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-3} µg/L dans les eaux de surface (1) bien en deçà de celles utilisées par les auteurs. Si les auteurs ont pris soin de faire varier les paramètres d'exposition (concentrations en NTC et en Ni, pH), on peut néanmoins regretter qu'un seul paramètre de toxicité ait été évalué. Il serait en effet

intéressant d'évaluer la dynamique de cette contamination notamment par l'analyse de l'excrétion du Ni pour déterminer son taux d'assimilation (2) ou encore savoir s'il est seulement absorbé sur la carapace des animaux et potentiellement perdu lors des mues (3). Il est également dommage que les résultats de toxicité des NTC seuls ne soient pas présentés dans cet article alors que les auteurs semblent avoir fait des tests à ce sujet pour choisir leur gamme de concentrations d'exposition.

Effets d'interactions entre les nanoparticules de TiO_2 et le 2,3,7,8-TCDD sur le bivalve marin *Mytilus galloprovincialis*

Canesi L, Frenzilli G, Balbi T, Bernardeschi M, Ciacci C, Corsolini S, Della Torre C, Fabbri R, Faleri C, Focardi S, Guidi P, Kocan A, Marcomini A, Mariottini M, Nigro M, Pozo-Gallardo K, Rocco L, Scarcelli V, Smerilli A, Corsi I. Interactive effects of n-TiO_2 and 2,3,7,8-TCDD on the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat Toxicol* 2014;**153**:53-65

Résumé

Cet article s'intéresse à la toxicité de dioxine (TCDD), de NPs de TiO_2 (27 nm, 87 % anatase(7) + 13 % rutile(7)) ainsi qu'à leur action combinée sur la moule (*Mytilus galloprovincialis*). Leur toxicité est étudiée aussi bien *in vitro* (hémocytes, cellules branchiales) que *in vivo* (sur l'organisme entier). Les investigations portent sur différents marqueurs de toxicité de l'échelle moléculaire à tissulaire : stabilité des membranes des lysosomes, activité phagocytique, activité et expression de transporteurs, génotoxicité, activité d'enzymes impliquées dans la régulation du stress oxydant, concentrations en TiO_2 et en dioxine et expression de certains gènes. Le but de l'étude est de mettre en évidence des effets synergiques ou antagonistes entre les NPs et ce polluant organique. Différentes conditions d'exposition sont utilisées après des tests préalables pour choisir des temps d'exposition et des concentrations sub-létales. Globalement, les effets *in vivo* sont moins marqués que lors des expériences *in vitro*. Des effets antagonistes de la co-exposition ont été mis en évidence dans plusieurs tests : l'activité phagocytaire qui est un proxy(2) pour l'immunocompétence(3) des bivalves ainsi que sur l'activité d'efflux de transporteurs dans les branchies. À l'inverse, des effets synergiques (cheval de Troie) ont été notés pour certains autres paramètres : le rapport de volume des lysosomes sur volume de cytoplasme, la concentration en TCDD dans les moules, l'expression de gènes liés à la reproduction. Finalement, d'autres paramètres ont montré que l'un ou l'autre des polluants était plus toxique seul. Par exemple, les dommages à l'ADN sont plus importants après exposition à la dioxine seule ; à l'inverse, les NPs affectent plus la stabilité des membranes lysosomales.

Commentaire

Cette expérience est particulièrement intéressante de par le panel de paramètres étudiés à différents niveaux d'organisation structurelle et en conditions *in vitro* et *in vivo*. Elle représente donc un ensemble de tests extrêmement complet qui permet de mieux appréhender les effets toxiques de ces deux contaminants seuls ou associés. Il permet notamment de voir que tous les organes ne sont pas impactés de la même façon et que les conditions d'exposition *in vitro* et *in vivo* mènent à des résultats sensiblement différents. Cet article met donc en exergue le besoin de mise en place de tests standardisés pour évaluer l'(éco)toxicité des nanomatériaux. On constate également que la conclusion sur l'impact de la présence de NPs dans le milieu sur la toxicité d'autres polluants n'est pas si simple à évaluer puisqu'en utilisant le même organisme et les mêmes polluants les résultats diffèrent selon les paramètres considérés. Néanmoins, cet article comme le précédent, met en évidence une accumulation accrue du polluant dans l'organisme en présence de NPs. Un autre aspect appréciable est le soin apporté à la détermination des conditions d'exposition comme dans le papier précédent qui démontre également que d'importants progrès ont été réalisés sur la caractérisation des milieux d'exposition.

Immobilisation et phytotoxicité du chrome dans un sol contaminé remédié avec des nanoparticules de fer zéro valent, stabilisées avec du carboxy-methyl cellulose

Wang Y, Fang Z, Kang Y, Tsang EP. Immobilization and phytotoxicity of chromium in contaminated soil remediated by CMC-stabilized nZVI. *J Hazard Mater* 2014;**275**:230-7

Résumé

Cet article s'intéresse à la remédiation d'un sol contaminé au chrome (Cr) par des NPs de Fe(0) (nZVI(4)) de taille comprise entre 10 et 100 nm et stabilisées avec du carboxy-methyl cellulose (CMC) ainsi qu'aux éventuels effets toxiques des NPs sur deux types de culture. Les auteurs évaluent l'effet de l'ajout de 0,09 g/L de ces NPs sur la lixiviation(5) du Cr, sur sa bioaccessibilité et sur sa spéciation(6) dans un sol artificiellement contaminé. Ils montrent que cet ajout mène à une diminution de 82 % de la lixiviation(5) du Cr et de 58 % de sa bioaccessibilité. En particulier, la forme Cr(VI), la plus toxique, a complètement disparu. Cet effet se produit essentiellement dans les 0,25 h suivant le mélange. Des tests montrent que la portion de Cr dite échangeable a été transformée en Cr lié à des oxydes et à de la matière organique. Des graines de colza et de chou sont semées sur ces sols selon diverses modalités. La concentration en Cr diminue significativement dans les deux végétaux après ajout des nZVI(4) quel que soit le sol considéré et ce d'autant plus que le temps de contact entre Cr et nZVI(4) est important. Les auteurs avancent l'hypothèse que l'ajout de nZVI(4) dans le sol contaminé conduit à la transformation du Cr(VI) en Cr(III), forme plus stable (lié aux composants du sol) et moins toxique. Les effets phytotoxiques des nZVI(4) sont marqués sur les sols récemment amendés mais moindres sur le sol vieilli. Quelques travaux restent cependant nécessaires pour éliminer leurs effets négatifs mais finalement, les auteurs concluent que la nanoremédiation(8) est technologiquement faisable et montre des résultats prometteurs.

Commentaire

À l'heure actuelle, les solutions pour la dépollution des sols contaminés sont coûteuses et peu efficaces (excavation puis traitement *ex situ*). La nanoremédiation(8) pourrait donc représenter une solution alternative si elle s'avère sans danger pour l'environnement. Dans cette étude, les auteurs montrent qu'après traitement le Cr est immobilisé dans le sol, la pollution est alors circonscrite et les risques de transfert vers les végétaux et les eaux profondes et de surface sont limités. Les NPs semblent toxiques pour la flore mais ces effets disparaissent après vieillissement. La principale limitation de cette étude est que le sol y est mixé avec les NPs, ce qui n'est pas réaliste dans l'environnement. On peut alors se demander si les effets seront les mêmes dans le cas où la solution de NPs serait seulement injectée dans le sol ainsi que l'influence de la texture du sol sur l'efficacité du traitement. Enfin, cette étude met en évidence la différence de sensibilité des deux espèces végétales. À ce jour, les études comparatives entre espèces font défaut dans la littérature, ce qui constitue donc une piste de recherches futures.

Conclusion générale

Ces études mettent en avant l'importance de prendre en compte les contaminations croisées puisque la présence de NPs peut entraîner des modifications de toxicité de polluants préexistants. À ce jour cet axe de recherche est trop peu développé pour tirer des conclusions générales concernant le rôle et les mécanismes d'actions des NPs. Néanmoins, les études s'accordent sur le fait que la présence des NPs dans un milieu liquide mène à une accumulation plus importante de polluants dans les organismes. Les risques pour la chaîne alimentaire jusqu'à l'Homme sont donc réels à la fois à cause des NPs en elles-mêmes ainsi qu'au travers de leur rôle de vecteur de contamination.
Si les propriétés des NPs (surface spécifique et réactivité de surface importantes) suscitent de l'inquiétude pour la contamination des chaînes trophiques, on constate qu'elles peuvent également être exploitées de façon efficace pour la dépollution de sols contaminés. Les NPs de fer zéro valent en particulier sont déjà utilisées dans de nombreux sites privés tels que des installations militaires ou encore d'anciennes usines (4). Si la nanoremédiation[8] offre une alternative prometteuse aux techniques de remédiation actuellement employées, il semble prématuré de les utiliser à grande échelle tant que si peu d'informations sont disponibles sur l'écotoxicité des NPs employées.

General conclusion

These articles highlight the importance of studying cross-contaminations between nanoparticles (NPs) and other contaminants in the environment. So far this research field has been under-investigated and no conclusion can be driven about the role and mechanisms of action of NPs. Nevertheless, these articles report an increase in pollutant concentrations in the organisms in presence of NPs during liquid exposure. Thus, risks for the trophic chain up to the human being should be considered very carefully.
If NPs special properties (large surface area, high surface reactivity) can represent a problem for trophic chains, these properties also allow their use for depollution purposes. Especially, zero valent iron NPs are already used to remediate private sites such as manufacturing sites, oil fields or military installations (www.nanotechproject.org). If nanoremediation represents a promising alternative to conventional remediation techniques, it seems too early to disseminate huge amount of NPs in the environment before knowing more about the (eco) toxicity of these NPs.

Lexique

(1) EC_{50} : EC signifie concentration efficace. Cet indicateur, très répandu en toxicologie, représente la concentration nécessaire pour atteindre 50 % de l'effet maximal d'un produit.
(2) Proxy : Grandeur mesurée pour déduire la valeur d'une variable d'intérêt.
(3) Immunocompétence : Capacité du corps à produire une réponse immunitaire normale, après exposition à un stress.
(4) nZVI : Zero Valent Iron ou en français fer de valence zéro, ici sous forme nanoparticulaire (n).
(5) Lixiviation : Désigne dans le domaine de la chimie, de la pharmacie ou des sciences du sol, toutes les techniques d'extraction de produits solubles par un solvant, et notamment par l'eau circulant dans le sol ou dans un substrat contenant des produits toxiques. Ici, le mot est à prendre au sens d'une décontamination du chrome des sols.
(6) Spéciation : La spéciation chimique d'un élément est la distinction entre les différentes formes de liaisons possibles de cet élément dans un environnement donné.
(7) Anatase, Rutile : Anatase et rutile correspondent aux deux structures cristallines (arrangement des atomes dans l'espace) les plus couramment rencontrées pour le dioxyde de titane.
(8) Nanoremédiation : La remédiation consiste à diminuer la toxicité d'un site (sol ou eau). Il existe différentes techniques de remédiation dont la nanoremédiation qui fait appel aux NPs pour dépolluer le milieu.

Publications de référence

(1) **Gottschalk F, Sun T, Nowack B.** Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environ Pollut* 2013;**181**: 287-300.
(2) **Zhao CM, Wang WX.** Biokinetic Uptake and Efflux of Silver Nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol* 2010; **44**(19): 7699-704.
(3) **Auffan M, Bertin D, Chaurand P, *et al.*** Role of molting on the biodistribution of CeO_2 nanoparticles within Daphnia pulex. *Water Res* 2013;**47**(12): 3921-30.
(4) www.nanotechproject.org/inventories/remediation_map/. The project on emerging nanotechnologies.

Revues de la littérature

Deng YQ, White JC, Xing B. Interactions between engineered nanomaterials and agricultural crops: implications for food safety, *JZUS A* 2014;**15**: 552-72.
Minetto D, Libralato G, Volpi Ghirardini A. Ecotoxicity of engineered TiO_2 nanoparticles to saltwater organisms: an overview. *Environ Int* 2014;**66**:18-27.

Autres publications identifiées

Balbi T, Smerilli A, Fabbri R, *et al.* Co-exposure to n-TiO_2 and Cd^{2+} results in interactive effects on biomarker responses but not in increased toxicity in the marine bivalve *M. galloprovincialis*. *Sci Total Environ* 2014;**493:**355-64.
Article publié par la même équipe que le premier article de cette note. À l'inverse du TCDD, l'ajout de TiO_2 n'a pas d'influence sur la toxicité du Cd dans cette étude.
Volker C, Graf T, Schneider I, *et al.* Combined effects of silver nanoparticles and 17alpha-ethinylestradiol on the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Environ Sci Pollut Res Int* 2014;**21**:10661-70.
Article intéressant se rapportant à un polluant émergeant de plus en plus préoccupant.
Clemente Z, Grillo R, Jonsson M, *et al.* Ecotoxicological evaluation of poly(epsilon-caprolactone) nanocapsules containing triazine herbicides. *J Nanosci Nanotechnol* 2014;**14**:4911-7.
Cet article s'intéresse à l'optimisation des produits phytosanitaires existants grâce à l'utilisation de nanoparticules, ce qui est particulièrement intéressant dans le cadre du programme Ecophyto 2018.
Bour A, Mouchet F, Verneuil L, *et al.* Toxicity of CeO_2 nanoparticles at different trophic levels - Effects on diatoms, chironomids and amphibians, *Chemosphere* 2014;**120C**:230-6.
Étude intéressante sur divers niveaux trophiques
Tian S, Zhang Y, Song C, *et al.* Titanium dioxide nanoparticles as carrier facilitate bioaccumulation of phenanthrene in marine bivalve, ark shell (*Scapharca subcrenata*). *Environ Pollut* 2014;**192:**59-64.
Autre article relatant l'effet Cheval de Troie des nanoparticules sur un autre organisme aquatique.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Translocation des nanoparticules ou comment celles-ci peuvent affecter les organes après le passage pulmonaire ?

Période : avril 2014 à août 2014

Julien FATISSON* et Michèle BOUCHARD** | **Julien.fatisson@gmail.com**

* École de technologie supérieure – Département de génie mécanique – Montréal – Canada

** Université de Montréal – Département de santé environnementale et santé au travail – Montréal – Canada

Mots-clés : **absorption tissulaire, Alzheimer, biodistribution, cytotoxicité, nanoparticules, neurotoxicité, organes, translocation**

Depuis une quinzaine d'années, les nanoparticules (NPs) entrent dans la composition de différents produits de consommation ou matériaux industriels (1,2). Les travailleurs y sont exposés surtout par voie respiratoire alors que la population générale est exposée principalement par l'alimentation (3). De nombreuses études ont été consacrées à déterminer les concentrations de NPs respirables, inhalables et inhalées (4) et les caractéristiques influençant le dépôt pulmonaire (5). Cependant, un nombre restreint d'études visait plus précisément à évaluer la capacité des NPs à pénétrer dans les tissus (translocation). D'une part, la translocation des NPs des voies respiratoires à la circulation sanguine a été confirmée, d'autre part, il a été démontré que certaines NPs peuvent voyager le long de nerfs (comme le nerf olfactif) jusqu'au cerveau (6-8).

Nos connaissances restent parcellaires et demandent à être approfondies. Cette note est donc dédiée aux récentes avancées en termes de potentiel toxique des NPs sur des organes autres que les voies respiratoires (premier article) et de translocation (deuxième article). Ainsi, l'article 1 montre que des NPs de silice, considérées comme peu toxiques, peuvent s'avérer non seulement neurotoxiques mais aussi favorables au développement de maladies neurodégénératives. L'article 2 montre comment une expérimentation avec des nanotubes de carbone radiomarqués a permis de mettre en place une méthodologie d'évaluation de leur potentiel de transfert et pénétration dans différents organes du corps.

Absorption cellulaire de nanoparticules de silice : neurotoxicité et pathologie type Alzheimer dans des cellules neuroblastomes humaines SK-N-Sh et de souris neuro2a

Yang X, He C, Li L, Chen H, Ma Q, Sui X, Tian S, Ying M, Zhang Q, Luo Y, Zhaung Z, Liu J. Uptake of silica nanoparticles: Neurotoxicity and Alzheimer-like pathology in human SK-N-SH and mouse neuro2a neuroblastoma cells. *Toxicol Lett* 2014;**229**:240-9.

Résumé

Cette étude est consacrée à l'évaluation de la neurotoxicité *in vitro* de nano et microparticules de silice (SiNPs), de taille respective de 15 nm et 1-5 µm, sur des neuroblastomes humains et de souris et le potentiel de ces SiNPs à induire une neuropathologie de type Alzheimer. Les observations par MET(3) ont montré que les SiNPs étaient majoritairement localisées dans le cytoplasme des cellules et modifiaient la morphologie cellulaire en augmentant leur aspect sphérique et en diminuant les expansions dendritiques(4). Les tests CCK-8(5) de viabilité cellulaire ont révélé la cytotoxicité des SiNPs lors d'incubations de 12, 24 ou 48 h à des concentrations allant de 2,5 à 60 µg/mL. De plus, ces tests ont montré que la viabilité cellulaire était plus faible en présence de particules nanométriques comparées à leurs équivalents micrométriques. La mort cellulaire programmée (apoptose) était également accrue, telle que quantifiée par double marquage radioactif Hoechst 33342/PI(6) ou par essai TUNEL(7), et par observation en microscopie à fluorescence. L'augmentation de la production de ROS(8) a également été confirmée pour compléter ces observations. Chaque test a montré une augmentation de la toxicité des SiNPs avec l'augmentation des concentrations dans le milieu cellulaire. Le marquage par immunofluorescence et l'analyse par Western Blot(9) ont montré une régulation positive de l'APP(10) et négative de néprilysine(11), ainsi que la croissance du dépôt d'amyloïdes, des biomarqueurs de désordres neurodégénératifs. Cette étude montre donc, pour la première fois, un rôle potentiel des NPs (ici la silice) dans le développement de maladies neurodégénératives.

Commentaire

Les auteurs ont mis en évidence l'induction de stress oxydatif qui contribue à la toxicité cellulaire des SiNPs, comme rapporté auparavant pour d'autres particules (5, 8). Ce processus toxique a été aussi corrélé à une dérégulation de protéines précurseurs de neurodégénérescence. Les résultats suggèrent que ces biomarqueurs devraient être évalués plus systématiquement et que, bien que non spécifique, la mesure sérique de l'APP et néprilysine pourrait être effectuée pour le suivi de travailleurs à risque (9).

Cet article manque de caractérisation des NPs (telles que l'évolution de la taille et de l'agrégation en milieu cellulaire par

exemple (10)) et de mise en évidence des mécanismes conduisant à la cytotoxicité en fonction de certains paramètres tels que taille, forme ou composition cristalline. Or, la connaissance de ces mécanismes est nécessaire à l'établissement de normes et de réglementations efficaces en vue de protéger les travailleurs ou utilisateurs (11-12). Néanmoins, ce type d'études mérite notre attention et renforce le besoin urgent d'établir des règles mondiales relatives à la production et l'utilisation de NPs dans les produits de consommation.

Translocation de nanotubes de carbone à des organes distants après exposition pulmonaire : aperçus de radiomarquage au ^{14}C et radioimaginerie de tissus *in situ*

Czarny B, Georgin D, Berthon F, Plastow G, Pinault M, Patriarche G, Thuleau A, Mayne L'Hermite M, Taran F, Dive V. Carbon Nanotube Translocation to Distant Organs after Pulmonary Exposure: Insights from in Situ ^{14}C-Radiolabeling and Tissue Radioimaging. *ACS Nano* 2014;**8**(6):5715-24.

Résumé

Les auteurs se sont intéressés à la biodistribution de NTCMP(2) de diamètre de 40 nm et de longueur 3,9 µm en moyenne, synthétisés et marqués au ^{14}C dès la synthèse grâce à un précurseur radioactif. Des souris femelles ont été exposées aux NTCMP (aspiration de 20 µg en solution déposés dans l'oropharynx) puis sacrifiées 1 ou 7 jours, 1, 3, 6, 9 et 12 mois post-exposition. Les organes ont été prélevés et immédiatement congelés à -80 °C. Des expériences d'exposition directe par gavage et injection ont aussi été menées dans les mêmes conditions pour quelques temps donnés afin de valider ou non certaines hypothèses de mécanismes.

Les tissus d'organes prélevés (poumon, cerveau, cœur, rein, moelle osseuse, œsophage, estomac, petit et gros intestins, foie, rate) ont été soit solubilisés pour quantifier la radioactivité par scintillation liquide ou obtenus par microtomie, puis analysés par autoradiographie en superposition avec un microscope optique. Sang, fèces et urines ont été recueillis et radio-quantifiés chaque jour afin de valider ou non les hypothèses déduites des observations histologiques.

Les analyses par radio-imagerie ont révélé une diminution progressive (jour 1 à 90) d'environ 90 % de la radioactivité dans les poumons et une augmentation significative (jour 7 à 360) de cette dernière dans le foie et la rate (cibles préférentielles confirmées après injection) post-déposition dans l'oropharynx. Une augmentation relativement moins importante a été décelée dans la moelle osseuse et les reins. *A contrario*, les expériences de gavage réalisées en parallèle ont montré qu'il ne restait pas de radioactivité dans le foie ou la rate après quatre jours. La présence des NTCMP a été confirmée par MET(3) tandis que l'absence de radioactivité dans les urines et les fèces au bout d'un an infirme l'hypothèse de métabolites issus de la dégradation des NTCMP.

Commentaire

Par des méthodes classiques de mesure de radioactivité et des expériences connexes, les auteurs ont confirmé une translocation pulmonaire et l'accumulation des NTCMP à des sites distants. La comparaison de la cinétique multivoie à l'intérieur d'un même cadre expérimental apporte une dimension méthodologique qui permet d'inférer sur les mécanismes de translocation des NTCMP. Aussi, la comparaison de la cinétique après gavage par rapport à l'exposition pulmonaire a notamment soulevé l'hypothèse que la translocation des NTCMP à travers la barrière intestinale se trouve invalidée, confirmant ainsi celle de la translocation par la voie pulmonaire air-sang.

Grâce à une méthodologie rigoureuse, cette étude originale apporte de nouvelles connaissances intéressantes et ouvre de nouvelles voies pour l'exploration de la toxicité des CNTMP. L'approche développée repose sur le fait que les NTCMP sont distribués de manière uniforme dans les organes, qui sont constitués de différents types de tissus et de cellules. On peut donc se demander si les NTCMP ont une cible cellulaire préférentielle (épithélium, muqueuse, endothélium) et dans quelle mesure ils peuvent affecter certaines fonctions tissulaires. Cet aspect offre donc des possibilités d'optimisation de la méthodologie décrite, auquel il faut ajouter l'extension à d'autres types de NPs, comme les NTCSP(2) ou encore à des NPs plus sphériques, qui démontrent une toxicité spécifique envers différents tissus (12).

Conclusion générale

La mise en relation de ces deux articles permet de mettre en évidence les possibilités de translocation tissulaire à des sites distants du site d'entrée respiratoire mais aussi de toxicité neuronale. Le deuxième article confirme la nécessité de combiner diverses approches méthodologiques d'évaluation de la biodistribution temporelle de NPs (radiomarquage combiné à des techniques de radioimagerie) pour établir une gamme plus complète de pénétration des NTCMP et leur biopersistance dans les tissus. Ceci n'exclut en rien la nécessité de réaliser des études plus approfondies sur des cellules et organes autres que pulmonaires afin de connaître le spectre entier des effets cytotoxiques des NPs. D'ailleurs, le premier article montre que des SiNPs pourraient favoriser la neurodégénérescence cérébrale. Il reste à déterminer les mécanismes sous-jacents et l'impact des caractéristiques spécifiques des NPs (taille, chimie, forme, etc.). Ces articles soulèvent des questionnements intéressants quant aux choix des tests de toxicité nécessaires à l'évaluation des risques des NPs (et donc à l'établissement de normes et de règles) et montrent que la translocation des NPs doit être plus étudiée afin de mieux cerner les conditions d'exposition les plus sures.

General conclusion

These two articles taken together indicate the possibility that nanoparticles translocate to tissues distant from the site-of-entry following respiratory exposure and the potential for neuronal toxicity. The second article reinforces the need to combine various methodological approaches to assess time-dependent biodisposition of NPs (radiolabeling combined with radioimaging) to better establish the uptake range of multi-wall carbon nanotubes and their biopersistence in human tissues. This does not exclude the necessity for more in depth studies focusing on cells and organs other than the respiratory tract. In fact, the first article demonstrates that SiNPs, although often considered as non-toxic, can favour the development of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's. The underlying toxicity mechanism is yet to be determined, as well as the impact of NPs characteristics (size, shape, chemistry...). These articles raise interesting questions about the choice of toxicity tests needed for NPs risk assessment (and hence to set proper standards and regulations) and shows the need for more studies on NPs translocation to derive safest exposure conditions.

Lexique

(1) NPs : Nanoparticules
(2) NTCMP ou NTCSP : Nanotubes de carbones à multi-parois ou à simple paroi
(3) MET : Microscopie électronique à transmission
(4) Dendrites : Expansions, en forme de branche, des cellules neuronales, qui permettent de propager le potentiel d'action entre l'émetteur du signal électrochimique et la cellule réceptrice
(5) Test CCK-8 : Test de colorimétrie permettant la détermination de la prolifération cellulaire et donc de potentiel cytotoxique
(6) PI : Iodure de propidium
(7) TUNEL : Marquage par coupure de fin dUTP de transférase deoxynucleotidyle terminale. Test démontrant l'apoptose cellulaire
(8) ROS : Espèces réactives de l'oxygène, à la base du processus de stress oxydatif
(9) Western Blot : Technique analytique très répandue, basée sur la détection de protéines spécifiques dans un tissu grâce à un procédé d'électrophorèse faisant migrer les protéines selon leur charge, conformation ou masse moléculaire
(10) APP : Protéine précurseur d'amyloïdes. Le dépôt de plaques d'amyloïdes est un des facteurs responsables du développement des maladies neurodégénératives.
(11) Néprylysine : Métallo-endopeptidase membranaire, enzyme responsable de la dégradation d'amyloïdes.

Publications de référence

(1) **National Nanotechnology Initiative.** Nanotechnology Timeline. (http://www.nano.gov/timeline) Page consultée le 12 Septembre 2014.
(2) **PEN (Project on Emerging Nanotechnologies)**. Consumer product inventory. (http://www.nanotechproject.org/cpi/). Page consultée le 7 septembre 2014.
(4) **US EPA**. (United States Environmental Protection Agency). Air Quality Criteria for Particulate Matter, Final Report, Oct 2004. Washington, DC, EPA 600/P-99/002aF-bF, 2004.
(6) **Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, *et al.*** Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004; **16** (6-7):437–45.
(9) **Sorensen KC1, Simonsen AH, Holmetoft UB, *et al.*** Neprilysin-like activity correlates with CSF-Tau and phospho-tau in patients with Alzheimer's disease**.** *J Alzheimers Dis* 2013;**37**(2):379-87.
(10) **Balbus JM, Maynard AD, Colvin VL, *et al.*** Meeting Report: Hazard Assessment for Nanoparticles – Report from an Interdisciplinary Workshop. *Environ Health Perspec* 2007; **115**(11):1654-9.
(11) **Maynard A, Aitken RJ, Butz T, *et al.*** Safe handling of nanotechnology. *Nature* 2006;**444**(7117):267.
(12) **Seaton A, Tran L, Aitken RJ, *et al.*** Nanoparticles, human health hazard and regulation. *J Royal Soc Interf* 2009; rsif20090252.

Revues de la littérature

(3) **Li Y, Zhang Yi, Yan B.** Nanotoxicity Overview: Nano-Threat to Susceptible Populations. *Int J Mol Sci* 2014;**15**:3671-97.
(5) **Braakhuis HW, Park MVDZ, Gosens I, *et al.*** Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation. *Part Fibre Toxicol* 2014;**11**(18):1-25.
(7) **Win-Shwe T-T, Fujimaki H**. Nanoparticles and neurotoxicity. *Int J Mol Sci* 2011;**12**:6267-80.
(8) **Cupaioli A, Zucca F, Boraschi D, *et al.*** Engineered nanoparticles. How brain friendly is this new guest? Prog Neurobiol 2014;**119-120C**:20-38.
(12) **Firme III CP, Bandaru PR.** Toxicity issues in the application of carbon nanotubes to biological systems. *Nanomed* 2010;**6** (2):245-56.

Autres publications identifiées

Bramini M, Ye D, Hallerbach A, *et al.* Imaging Approach to Mechanistic Study of Nanoparticle Interactions with the Blood Brain Barrier. *ACS Nano* 2014;**8**(5):4304-12.
Cet article présente une nouvelle méthode d'imagerie pour comprendre les mécanismes mis en jeu dans le passage des nanoparticules à travers la barrière hémato-encéphalique. Grâce à cette approche, qui pourrait être généralisée ultérieurement à plusieurs nanoparticules, les auteurs confirment la translocation de nanoparticules de polystyrène, utilisées comme modèle, au niveau du cerveau.

Ma JYC, Young S-H, Mercer RR, *et al.* Interactive effects of cerium oxide and diesel exhaust nanoparticles on inducing pulmonary fibrosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;**278**:135-47.
L'étude histologique de rats exposés par instillation intratrachéale à des nanoparticules d'oxyde de cérium, a révélé que ces dernières induisent une phospholipidose et une fibrose pulmonaires, montrant ainsi les risques néfastes sur la santé que présentent ces nanoparticules pouvant être utilisées comme carburant diesel.
Sheng L, Wang L, Su M, *et al.* Mechanism of TiO_2 Nanoparticle-Induced Neurotoxicity in Zebrafish (Danio rerio). *Environ Toxicol* 2014;Epub.
Les auteurs de ce travail de recherche montrent qu'une exposition sous-chronique à des nanoparticules d'oxyde de titane induit des dommages cérébraux à des poissons-zèbres. Cette étude présente donc une nouvelle méthode d'évaluation de la neurotoxicité de nanoparticules et surtout amène des questions légitimes sur l'utilisation de telles nanoparticules dans des applications environnementales et leur potentiel toxique.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de Veille Scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 25 • Décembre 2014

Notes d'actualité scientifique

Agents chimiques

Impact de co-expositions aux PCBs et à la dioxine sur l'athérogenèse et l'apoptose

Période : avril 2014 à août 2014

Radhouane CHAKROUN et Faycal FAIDI | **r_chakroun@yahoo.fr**

Institut de Santé et de Sécurité au Travail – UR Santé et Environnement du Travail Laboratoire de Toxicologie Professionnelle – Tunis – Tunisie

Mots-clés : **athérosclérose, co-exposition, dioxines, hydrocarbures aromatiques polycycliques, interaction, mécanisme, polychlorobiphényles**

Les polychlorobiphényles (PCB(1)) et les dioxines sont des polluants organiques persistants ubiquitaires dans notre environnement. Ces familles de composés peuvent présenter des risques majeurs sur la santé humaine étant données leur persistance et leur importante toxicité. Les deux familles de produits sont des perturbateurs endocriniens. La 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD(2)), réputée comme la plus toxique des dioxines a, de plus, des effets immuno-toxiques et aurait un rôle dans la promotion de tumeurs. D'autre part, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP(3)) sont des produits cancérogènes avérés. La première publication décrite dans cette note étudie l'effet de l'exposition simultanée à ces produits sur l'athérogenèse. La seconde met en évidence les mécanismes par lesquels les PCBs et les dioxines accentueraient l'effet cancérogène induit par les HAP(3).

Augmentation de l'athérogenèse chez les souris ApoE-null co-exposées aux polychlorobiphényles et au 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine

Shan Q, Wang J, Huang F, Xiaowen LV, Ma M, Du Y. Augmented atherogenesis in ApoE-null mice co-exposed to polychlorinated biphenyls and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;**276**(2):136-46.

Résumé

Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'effet de la co-exposition aux polychlorobiphényles (PCB(1)) et à la 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD(2)) sur l'athérogenèse et identifier les éventuels mécanismes mis en jeu. L'étude a été réalisée sur quatre groupes de six souris mâles APOE$^{-/-}$(4) exposées à 15 µg/kg de TCDD(2) et à 55 mg/kg d'Arocolor1254, considéré comme étant un mélange représentatif des PCB(1). Ainsi, durant six semaines, quatre injections intra-péritonéales des produits seuls ou en mélange ont été administrées aux souris. Les deux premières injections ont eu lieu au cours de la première semaine et les deux autres pendant la quatrième semaine. Dans les deux cas les injections étaient effectuées à trois jours d'intervalle.

Des lésions athéroscléreuses ont été observées chez les souris exposées à la seule TCDD(2). L'athérosclérose était fortement exacerbée chez les souris co-exposées aux deux produits. Les premières modifications pathologiques aggravées par la co-exposition comprenaient une nette augmentation de l'accumulation du facteur plaquettaire 4 (PF4(5)) et l'augmentation de l'expression de la cytokine pro-inflammatoire MCP-1(6) et du gène critique de l'immunité RIG-I(7). Les résultats montrent donc que la co-exposition à la TCDD(2) et aux PCB(1) accentue l'athérogenèse chez les souris APOE$^{-/-}$(4). Les observations histologiques suggèrent un risque cardiovasculaire plus important par rapport à ceux rapportés dans les expositions à un seul produit.

Commentaire

Cette étude est intéressante dans la mesure où elle a mis en évidence un accroissement de l'athérosclérose chez les souris exposées simultanément aux PCB(1) et à la TCDD(2). Le mécanisme d'action des toxiques comprendrait une accumulation accrue du facteur plaquettaire PF4(5) qui aurait un rôle dans la formation de vaisseaux collatéraux et la néovascularisation de la plaque d'athérosclérose (1). La genèse de l'athérosclérose serait également accentuée par l'accroissement, lors des co-expositions, de l'expression du facteur MCP-1(6) impliqué dans la migration dirigée des cellules inflammatoires. Le mécanisme d'action ferait également intervenir une régulation positive du gène suppresseur de tumeur RIG-I(7). Ce gène code pour une protéine du même nom et pouvant être induite par divers stimuli inflammatoires, dont l'athérosclérose (2).

Dans cette étude, bien qu'une dose unique des deux produits ait été administrée aux souris étudiées, elle correspondrait aux niveaux de concentrations généralement trouvées chez l'Homme après une exposition aigüe. Cependant, la toxicité du mélange PCB(1) utilisé dans cette étude (Aroclor 1254) peut varier d'un lot à l'autre (3). D'autre part, l'exposition des souris a été réalisée par injection intra-péritonéale alors que l'exposition humaine à ces composés se fait généralement via l'alimentation, notamment la consommation d'aliments ou d'eaux contaminés ou par l'inhalation d'air pollué.

Étude de l'effet de la TCDD, du PCB153 et de l'œstradiol sur la voie de signalisation p53 induite par les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Al-Anati L, Kadekar S, Högberg J, Stenius U. PCB153, TCDD and estradiol compromise the benzo[a]pyrene-induced p53-response *via* FoxO3a. *Chem Biol Interact* 2014; doi: 10.1016/j.cbi.2014.06.007.

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de la TCDD(2), du PCB(1)153 et de l'œstradiol sur la voie de signalisation p53(8) induite par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP(3)) dans la lignée cellulaire du carcinome hépatocellulaire humain HepG2. Les auteurs rapportent une amplification de l'accumulation du p53(8) nucléaire induite par deux HAP(3), le Benzo(a)pyrène (BaP(9)) ou par le Dibenzo(a,l)pyrène (DBP(10)). Cette accumulation s'accompagne d'une diminution de l'apoptose et d'une baisse des taux de phosphorylation de FoxO3a(11) sur la Thr32 induites par les HAP(3). Cette baisse serait à l'origine de l'accumulation de la protéine p53(8) nucléaire. L'inhibition de la phosphatase PP2A rétablit le niveau initial de FoxO3a(11) phosphorylée, aboutit au transfert de la p53(8) vers le cytosol et active l'apoptose médiée par p53(8) et induite par le BaP(9). Le rôle de FoxO3a(11) dans l'accumulation nucléaire de la p53(8) est confirmé par l'expérience d'inactivation de FoxO3a(11) par les siRNA(12) ou par la protéine inhibitrice 14-3-3. L'ensemble de ces résultats suggère qu'il existe une interaction entre p53(8), FoxO3a(11) et la protéine inhibitrice 14-3-3 conduisant à l'atténuation de l'effet d'apoptose induit par le BaP(9) dans les cellules traitées par la TCDD(2), le PCB(1) 153 ou l'œstradiol.

Commentaire

Cette étude présente l'avantage de mettre en évidence le mécanisme par lequel la TCDD(2), le PCB(1)153 et l'œstradiol pourraient accroitre le potentiel cancérogène des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Elle fait ressortir le rôle clé que pourrait jouer la phosphatase PP2A dont l'inhibition empêcherait la déphosphorylation du facteur de transcription FoxO3a(11) et l'accumulation de p53(8) au niveau du noyau. Il serait intéressant d'étudier comment la TCDD(2) et le PCB(1)153 ont entraîné l'inhibition de la phosphatase PP2A. Par ailleurs, une étude *in vivo* avec administration de plusieurs doses de polluants permettrait d'étudier davantage les effets de la co-exposition à ces composés ubiquitaires dans notre environnement.

Conclusion générale

Les polychlorobiphényles (PCB(1)) accentuent les lésions athéroscléreuses induites par la 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD(2)) chez des souris ApoE$^{-/-}$. D'autre part, ces produits (PCB(1) et TCDD(2)), à leur tour, augmenteraient le risque cancérogène généré par l'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. Dans les deux cas, la co-exposition engendre des interférences aboutissant à l'accentuation de l'effet toxique initial observé en mono-exposition. Ces résultats font ressortir les limites des études d'expositions individuelles et mettent en évidence l'intérêt de se rapprocher autant que possible des conditions réelles puisque l'Homme est le plus souvent exposé simultanément à plusieurs polluants.

General conclusion

Polychlorobiphenyls (PCBs) enhance 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced atherogenesis in apoE$^{-/-}$ mice. On the other hand, these products (PCBs and TCDD) may increase the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) carcinogenic potential. In both cases, co-exposure generates interferences leading to the enhancement of the original toxic effects. These results show the limit of individual toxicology studies and highlight the great attention that should be devoted to the effect of combined contaminants since humans are usually exposed to different mixtures of pollutants.

Lexique

(1) PCB : Polychlorobiphényles
(2) TCDD : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine
(3) HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
(4) APOE$^{-/-}$: Souris Knock out pour le gène APOE, modèle animal permettant d'augmenter l'hyperlipémie à VLDL et donc le développement d'athérosclérose sous régime normal.
(5) PF4 : Platelet Factor 4 ou Facteur plaquettaire 4
(6) MCP-1 : Monocyte chemoattractant protein 1 appelée également Chemokine ligand 2
(7) RIG-I : Retinoic acid-inducible gene 1
(8) P53 : Facteur de transcription qui régule des fonctions cellulaires importantes
(9) BaP : Benzo(a)pyrène
(10) DBP : Dibenzo(al)pyrène
(11) FoxO3a : Forkhead box O3, protéine codée par le gène FOXO3
(12) siRNA : Small interfering RNA ou petits ARN interférents

Publications de référence

(1) **Bikfalvi.** Le rôle du facteur plaquettaire 4 dans la régulation et l'inhibition de l'angiogenèse. *Hématologie* 2004;**10**(5):365-9.
(2) **Imaizumi T, Yagihashi N, Kubota K, *et al.*** Expression of retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) in macrophages: possible involvement of RIG-I in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb 2007*;**14**(2):51-5.
(3) **Kodavanti PRS, Kannan N, Yamashita N, *et al.*** Differential effects of two lots of Aroclor 1254: Congener-specific analysis and neurochemical end point. *Environ Health Persp* 2001;**109**(11):1153-61.

Autres publications identifiées

Qu R, Wang X, Wang Z, *et al.* Metal accumulation and antioxidant defenses in the freshwater fish *Carassius auratus* in response to single and combined exposure to cadmium and hydroxylated multi-walled carbon nanotubes. *J Hazard Mater* 2014; doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.04.051.
Cette étude a concerné les effets de l'exposition simultanée du poisson rouge Carassius auratus au cadmium et aux nanotubes de carbone hydroxylés à parois multiple, pendant des périodes de 3 et 12 jours. Pour cette deuxième durée, l'accumulation de cadmium au niveau du foie des poissons co-exposés était significativement plus élevée que dans les cas de mono-expositions. Un stress oxydatif beaucoup plus marqué a également été observé chez le groupe de poissons co-exposé à ces produits.
Jin H, Wang C, Shi J, *et al.* Evaluation on joint toxicity of chlorinated anilines and cadmium to Photobacterium phosphoreum and QSAR analysis. *J Hazard Mater* 2014 ; doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.068.
Cette publication décrit l'étude menée pour évaluer la toxicité liée à l'exposition au cadmium et aux anilines chlorée et déterminée par la mesure de l'IC50 (concentration entrainant une diminution de 50 % de bioluminescence). Les résultats montrent que la toxicité des mélanges était plus faible, qu'aux moyennes et aux fortes concentrations de cadmium.
Marques RC, Bernardi JVE , Dórea JG, *et al.* Perinatal multiple exposure to neurotoxic (lead, methylmercury, ethylmercury, and aluminum) substances and neurodevelopment at six and 24 months of age. *Environ Pollut* 2014; doi: 10.1016/j.envpol.2014.01.004.
Le neurodéveloppement a été étudié chez les nourrissons de deux communautés : des enfants vivant à proximité de mines d'étain et de fonderies (TOKS) en comparaison avec des enfants vivant dans un village de pêcheurs(Itapuã). Les concentrations moyennes de mercure dans les cheveux étaient significativement plus élevées chez les enfants de Itapuã qui avaient des concentrations plus faibles d'éthylmercure provenant des vaccins contenant du thimérosal (TCV). Les concentrations de plomb dans le lait maternel dans la région de TOKS étaient en revanche plus élevées. L'indice de développement mental de Bayley (MDI), ainsi que l'indice de développement psychomoteur (DPI) étaient significativement plus faibles chez les enfants de 24 mois de TOKS. La régression multivariée a montré que MDI était affecté négativement par le plomb du lait maternel et le mercure dans les cheveux, alors que PDI était positivement affecté par l'allaitement et négativement par l'éthylmercure. L'âge de l'acquisition de la marche et de la parole était négativement affecté, respectivement, par le plomb dans le lait maternel et le mercure dans les cheveux.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Effets du bisphénol A médiés par le récepteur nucléaire orphelin ERRγ chez le poisson zèbre

Période : avril 2014 à août 2014

Véronique MACHELON | **veronique.machelon@u-psud.fr**

CNRS – UMR S 996 Inserm – Clamart 92140 – France

Mots-clés : **bisphénol A, estrogen-related receptor gamma (ERRγ), poisson zèbre**

Le bisphénol A (BPA[1]) est un perturbateur endocrinien[2] dont les effets sont généralement attribués à son affinité pour les récepteurs des estrogènes[3] (ER). Un certain nombre de travaux récents montre pourtant que le BPA[1] peut induire des effets indépendamment des ERs[3], suggérant que la gamme des effets induits par ce composé dépasse largement la sphère contrôlée par les ERs[3]. Ainsi, en 2011 l'équipe de Vincent Laudet a montré que le BPA[1] induit un développement anormal de la vésicule otique[4] chez le poisson-zèbre[5], cet effet n'étant pas dépendant des ERs[3] (1). En parallèle, une équipe japonaise a montré chez le poisson zèbre que le BPA[1] se lie avec une très forte affinité au récepteur nucléaire orphelin estrogen-related receptor gamma[6] (ERRγ) (2,3). La première publication présentée dans cette note vient de l'équipe japonaise précédemment citée décrivant avec précision les interactions moléculaires entre le BPA[1] et ERRγ[6]. La seconde publication provient de l'équipe de Vincent Laudet qui a identifié le récepteur ERRγ[6] comme le médiateur des effets du BPA[1] sur la formation des otolithes[4] chez le poisson zèbre[5], montrant pour la première fois que le BPA[1], via le récepteur ERRγ[6], a un effet biologique *in vivo*.

Un support structurel spécifique de la poche de liaison du bisphénol A du récepteur nucléaire humain ERRγ

Liu X, Matsushima A , Shimohigashi M, Shimohigashi Y. A characteristic back support structure in the bisphenol A-binding pocket in the human nuclear receptor ERRγ. *Plos One* 2014;**9**(6): e101252.

Résumé

Ce travail est une étude détaillée de la structure du domaine de liaison du récepteur ERRγ[6] au BPA[1]. Dans deux publications antérieures (2,3), cette équipe avait démontré par une analyse de biochimie structurale que le BPA[1] se lie avec une forte affinité au récepteur ERRγ[6], qui a la particularité d'être constitutivement actif en absence de ligand. Ainsi, la liaison du BPA[1] au récepteur ERRγ[6] n'a pas d'effet notable sur la conformation du récepteur et son activité transcriptionnelle[7]. Dans cette étude, les auteurs se sont attachés à étudier par mutagenèse dirigée[8] l'impact des différents aminoacides composant le domaine de liaison du récepteur au BPA[1] en partant de l'hypothèse que certains résidus, tout en ne se liant pas directement au ligand, constituent un support structurel conditionnant la liaison du BPA[1] au récepteur ERRγ[6]. L'activité transcriptionnelle[7] des mutants obtenus a été mesurée sur la lignée HeLa[9] par un dosage faisant appel à un gène rapporteur[7]. La structure de la région entourant le site de liaison au cycle phénolique du BPA[1] a été étudiée par rayons X. L'affinité du ligand pour le récepteur a été mesurée en utilisant dans des conditions compétitives un ligand marqué au tritium et un ligand non marqué. Les auteurs ont ainsi identifié un certain nombre d'acides aminés, tel que la valine[10] à la position 313, qui sans être en contact direct avec le BPA[1] permet de maintenir une structure appropriée pour la liaison du BPA[1] au récepteur. Pour quelques résidus comme la valine313[10], la substitution de la valine[10] par l'alanine[10] induit un changement de conformation tel que l'activité transcriptionnelle[7] est fortement diminuée, même en présence de doses très élevées de BPA[1]. L'ensemble des résultats montre que la très forte affinité du BPA[1] pour le récepteur ERRγ[6] s'appuie sur une structure en double couche des sites de liaison.

Commentaire

Cette étude est la dernière en date d'un ensemble de travaux de la même équipe portant sur la liaison du BPA[1] au récepteur ERRγ[6] (4-5). Elle suggère que la forte affinité du BPA[1] pour ERRγ[6] est la conséquence d'une structure du domaine de liaison en double couche, structure compatible avec le fait que le récepteur ERRγ[6] a une activité transcriptionnelle[7] très élevée en l'absence de ligand et que la liaison du BPA[1] ne modifie pas de façon sensible la conformation du récepteur et son activité transcriptionnelle[7]. Quelques résidus du domaine de liaison tels que la valine à la position 313[10] ont un rôle déterminant pour la conformation du site de liaison et leur mutation réduit très sensiblement l'activité transcriptionnelle[7] du récepteur, même en présence de doses très élevées de BPA[1]. Ces données suggèrent que la structure en double couche du domaine de liaison, préalable à la liaison au BPA[1], permet la liaison du BPA[1] avec une forte affinité. Se pose la question de l'impact biologique de la liaison du BPA[1] au récepteur ERRγ[6]. Est-elle susceptible d'induire des effets biologiques si

l'activité transcriptionnelle[7] du récepteur est constitutive et n'est pas sensiblement modifiée par sa liaison au BPA[1] ? Une des hypothèses avancées par les auteurs est que le BPA[1] en se liant à ERRγ[6] avec une très forte affinité (la valeur de l'IC50[11] est de l'ordre du nanomolaire) maintient l'activité constitutive de ce récepteur et empêche d'autres molécules, en particulier celles qui ont une activité antagoniste, de se lier à ERRγ[6].

Estrogen-related receptor γ est un récepteur du bisphénol A *in vivo*

Tohmé M, Prudh'homme SM, Boulahtouf A, Samarut E, Brunet F, Bernard L, Bourguet W, Gibert Y, Balaguer P, Laudet V. Estrogen-related receptor γ is an *in vivo* receptor of bisphenol A. *FASEB J* 2014;**28**(7):3124-33.

Résumé

En combinant des approches pharmacologiques (utilisation de dérivés du BPA[1]) et fonctionnelles (extinction de l'expression du récepteur par l'utilisation d'oligonucléotides antisens[12], obtention de formes mutées du récepteur, surexpression du récepteur par modification de la séquence du gène codant pour le récepteur), l'équipe de Vincent Laudet a montré chez le poisson zèbre[5] que le récepteur nucléaire orphelin ERRγ[6] est le médiateur des malformations induites par le BPA[1] des otolithes[4], petites structures minéralisées permettant aux animaux de réguler leur équilibre. En utilisant des molécules dérivées du BPA[1], ils ont montré que l'affinité de liaison de ces produits pour ERRγ[6] corrèle avec leur capacité à induire des malformations des otolithes[4]. La suppression fonctionnelle des ERRγ inhibe l'effet du BPA[1] sur les otolithes[4] et inversement la surexpression des ERRγ[6] induit un phénotype de type BPA[1]-induit, même en présence de doses subliminales de BPA[1]. Ces résultats sont une preuve que ERRγ[6] est nécessaire pour obtenir un effet du BPA[1] sur la vésicule otique[4].

Commentaire

Un certain nombre de travaux antérieurs utilisant des outils biochimiques avaient apporté la preuve que le BPA[1] se lie à ERRγ[6] avec une forte affinité. Manquaient encore les preuves biologiques de cette interaction. La présente publication en apporte la démonstration *in vivo* sur le poisson zèbre[5] en utilisant des outils génétiques et pharmacologiques. Ces résultats sont importants car ERRγ[6] est fortement exprimé dans de nombreux tissus et organes, placenta, tissus fétaux, cerveau, cœur et les muscles squelettiques (6,7). Par ailleurs, ce récepteur est impliqué dans des voies métaboliques essentielles comme la néoglucogenèse[13] (8-10). Il faut ajouter que l'affinité du BPA[1] pour ERRγ[6], qui est de l'ordre du nanomolaire, est au moins mille fois plus élevée que pour les ERs[3]. Reste à évaluer cet effet chez l'Homme dans la mesure où les effets observés dans des modèles animaux ne sont pas forcément transposables à l'espèce humaine (11).

Conclusion générale

Ces deux publications apportent des données biochimiques très précises sur le site de liaison du récepteur ERRγ[6] au BPA[1], et la preuve que l'effet du BPA[1] sur la formation des otolithes est médié par ERRγ[6]. Elles permettent ainsi une avancée significative dans l'appréhension des effets potentiels du BPA[1] et elles apportent des données nouvelles pour évaluer les risques liés à l'exposition au BPA[1]. Jusqu'à présent, les récepteurs nucléaires hormonaux (ERs[3] et récepteurs des androgènes) étaient considérés comme les cibles majeures du BPA[1]. Pour cette raison, le BPA[1] a été rangé dans la catégorie des perturbateurs endocriniens, son action ciblant les fonctions de la reproduction, comme cela a été abondamment décrit *in vitro* et sur des modèles animaux. Toutefois dans l'espèce humaine le sujet reste controversé (12,13) et les derniers résultats publiés ne sont pas unanimes (14,15). Ces deux publications apportent des arguments pour penser que le BPA[1] pourrait avoir des effets indépendamment de son interaction avec les ERs[3], en lien avec l'expression des ERRγ[6], notamment dans les tissus fétaux et dans de nombreux organes où ils pourraient être impliqués dans la régulation de la néoglucogenèse[13] et du métabolisme énergétique (8-10). Ces travaux apportent des données qui pourraient être pertinentes pour la santé humaine et ils incitent à poursuivre les recherches dans ce sens.

General conclusion

These two publications bring very precise biochemical data on the interactions between BPA[1] and ERRγ[6] for the first one, and for the second one, they bring new findings showing that BPA[1] action on oolithes is mediated by ERRγ[6]. These results allow to better understand how BPA[1] could act and they constitute new data to fully evaluate the risks associated to BPA[1] exposure. By now, nuclear hormonal receptors (ERs[3] and androgen receptors) have been considered as the major targets of BPA[1], making BPA[1] an endocrine disruptor with a range of activities tightly associated to reproductive functions, as a number of studies have reported it in vitro, or using animal models. However, in Humans, issues remain still controversial (12, 13) as shown by two recent publications (14,15). These recent publications which have enlarged the field of BPA[1] effects provide new data suggesting that BPA[1] action might be associated with the expression of ERRγ[6], notably in fetal tissues and different organs implicated in energetic metabolism and neoglycogenesis (8-10). These new findings might be relevant for human health that still requires to reinforce the scientific research in this field.

Lexique

(1) BPA : Bisphénol A, molécule utilisée comme plastifiant, présente dans les emballages alimentaires et les canettes.

(2) Perturbateur endocrinien : Un perturbateur endocrinien est une substance d'origine naturelle ou artificielle capable d'induire une perturbation endocrinienne dans un organisme intact ou chez ses descendants en mimant, bloquant ou modifiant l'effet d'une hormone.

(3) ER : Récepteur des estrogènes, récepteur de l'estradiol et de ses dérivés (estrogènes) qui sont des hormones sexuelles dérivant du métabolisme du cholesterol, essentiellement produite chez la femme par les cellules ovariennes.

(4) Otolithes : Les otolithes sont des concrétions calcaires qui apparaissent au cours du développement de la vésicule otique. Chez certains poissons (Osteichtiens) elles sont en contact direct avec le cerveau et permettent à l'animal de se situer dans son milieu et de permettre l'audition, faisant office de « gyromètre ».

(5) Poisson zèbre : Le poisson zébre (*Danio rerio*) est un poisson téléostéen de 2 à 5 cm de long, souvent utilisé comme modèle animal dans les laboratoires car il a la capacité de régénérer toutes les parties de son corps et sa larve transparente permet des observations faciles et non invasives.

(6) ERRγ : ERRγ pour Estrogen-Related Receptor gamma ou isoforme gamma du récepteur apparenté au récepteur des estrogènes. C'est un récepteur dit « orphelin » car son ou ses ligand(s) n'ont pas été identifiés. Il est fortement exprimé dans les tissus à forte activité métabolique comme le cœur, les reins, les muscles, le système nerveux central, le tissu adipeux.

(7) Activité transcriptionnelle/gène rapporteur : L'activité transcriptionnelle d'un gène mesure la synthèse de l'acide ribonucléique messager (ARNm), support temporaire de l'information génétique contenue dans l'ADN et nécessaire à la fabrication des protéines par la cellule, dont la structure reproduit les séquences transcrites et traduites du gène et constitue la matrice à partir de laquelle sera synthétisée la protéine. L'activité transcriptionnelle se mesure à l'aide d'un gène rapporteur dont on peut mesurer commodément l'activité (fluorescence, activité enzymatique).

(8) Mutagenèse dirigée : C'est l'induction contrôlée d'une ou plusieurs mutations dans un génome.

(9) Lignée HeLa : C'est une lignée cellulaire immortalisée, fabriquée à partir de cellules de cancer de l'utérus et communément utilisée en recherche au laboratoire.

(10) Valine/alanine : Ce sont des acides aminés, molécules constituantes des protéines et alignées selon une séquence que l'on identifie par un numéro. Valine 313 c'est le résidu valine placé en position 313.

(11) IC50 : IC50 pour inhibiting concentration ou concentration inhibitrice médiane, cet indice mesure la quantité d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50 % de la fonction biologique d'une molécule.

(12) Oligonucléotides antisens : Les oligonucléotides antisens sont de courts segments d'acides nucléiques, une dizaine de nucléotides, obtenus par synthèse destinés à inhiber la synthèse de la protéine ciblée.

(13) Néoglucogenèse : La néoglucogenèse est la formation de glucose à partir de précurseurs non glucidiques tels que le pyruvate, le lactate, le glycérol et la plupart des acides aminés. Elle se produit essentiellement dans le foie et, à un moindre degré dans le cortex rénal.

Publications de référence

(1) **Gibert Y, Sassi-Messai S, Fini J-B, *et al.*** Bisphenol A induces otolith malformations during vertebrate embryogenesis. *BMC Dev Biol* 2011;**11**(4). doi: 10.1186/1471-213X-11-4.

(2) **Taganayagi S, Tokunaga T, Liu X, *et al.*** Endocrine disruptor bisphenol A strongly binds to human estrogen-related receptor g (ERRγ) with high constitutive activity. *Toxicol Lett* 2006;**167**(2):95-105.

(3) **Okada H, Tokunaga T, Liu X, *et al.*** Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor γ (ERRγ). *Environ Health Perspect* 2008;**116**(1):32-8.

(4) **Matsushima A, Kakuta Y, Teramoto T, *et al.*** Structural evidence for endocrine disruptor bisphenol A binding to human receptor ERR gamma. *J Biochem* 2007;**142**:517-24

(5) **Liu X, Matsushima A, Nakamura M, *et al.*** Fine spatial assembly for construction of the phenol binding pocket to capture bisphenol A in the human estrogen-related receptor γ. *J Biochem* 2012;**151**(4):403-15.

(6) **Takeda Y, Liu X, Sumiyoshi M, *et al.*** Placenta expressing the greatest quantity of bisphenol A receptor ERRγ among the reproductive tissues : Predominant expression of type1 ERRγ isoform. *J Biochem* 2009;**146**(1):113-22.

(7) **Heard DJ, Norby PL, Holloway J, *et al.*** Human ERR gamma, a third member of the estrogen receptor-related receptor (ERR) subfamily of orphan nuclear receptors: tissue-specific isoforms are expressed during development and in the adult. *Mol Endocrinol* 2000;**14**(3):382-92.

(8) **Bianco S, Sailland J, Vanacker JM.** ERRs and cancers: effect on metabolism and on proliferation and migration capacities. *J Steroid Biochem* 2012;**130**(3-5):180-5.

(9) **Kim DK, Kim JR, Koh M, *et al.*** Estrogen-related receptor gamma (ERR gamma) is a novel transcriptional regulator of phosphatidic acid phosphatase, LIP1N1, and inhibits hepatic insulin signaling. *J Biol Chem* 2011;**286**(44):38035-42.

(10) **Kim DK, Ryu D, Koh M, *et al.*** Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor gamma (ERR gamma) is key regulator of hepatic gluconeogenesis. *J Biol Chem* 2012;**287**(26):21628-39.

(11) **Nohynek GJ, Borgert CJ, Boulahtouf A, *et al.*** Selectivity of natural, synthetic and environmental estrogens for zebrafish estrogen receptors. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;**280**(1):60-9.

(12) **Teeguarden J, Hanson-Drury S, Fisher JW, *et al.*** Are typical human serum BPA concentrations measurable and sufficient to be estrogenic in the general population? *Food Chem Toxicol* 2013;**62** :949-63.

(13) **Pinto C, Grimaldi M, Dietrich D, *et al.*** Endocrine disruption : Fact or urban legend ? *Toxicol Lett* 2013;**223**(3):295-305.
(14) **Lathi RB, Liebert CA, Brookfield KF, *et al.*** Conjugated bisphenol A in maternal serum in relation to miscarriage risk. *Fert Steril* 2014;**102**(1):123-8.
(15) **Buck Louis GM, Sundaram R, Sweeney AM, *et al.*** Urinary bisphenol A, phtalates, and couple fecundity : the longitudinal investigation of fertility and the environment (LIFE) study. *Fert Steril* 2014;**101**(5):1359-66.

Revues de la littérature

Caserta D, Di Segni N, Mallozzi M, *et al.* Bisphenol A and the female reproductive tract : an overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;**12**:37

Giguère V. Transcriptional control of energy homeostasis by the estrogen-related receptors. *Endocr Rev* 2008;**29**(6):677-96.

Machtinger R, Orvieto R. Bisphenol A, oocyte maturation, implantation and IVF outcome : review of animal and human data. *Reprod Biomed Online* 2014; doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.06.013

Baker ME, Hardiman G. Transcriptional analysis of endocrine disruption using zebrafish and massively parallel sequencing. *J Mol Endocrinol* 2014;**52**(3):R241-56.

Autres publications identifiées

Nohynek GJ, Borgert CJ, Boulahtouf A, *et al.* Selectivity of natural, synthetic and environmental estrogens for zebrafish estrogen receptors. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;**280**(1):60-9.

Le poisson zèbre (Dario rerio) est un des modèles animaux le plus utilisé dans les laboratoires de recherche, notamment pour des études pharmacologiques. Dans cette étude, les auteurs ont construit à l'aide de la lignée cellulaire HeLa des lignées exprimant sélectivement chacun des trois récepteurs des estrogènes connus pour le poisson zèbre. Ces lignées leur ont permis d'identifier les réponses spécifiques de l'estradiol, médiées par chacun des trois récepteurs et de les comparer à celles du bisphénol A et d'autres perturbateurs endocriniens. Les auteurs mettent aussi en garde contre une transposition systématique à l'espèce humaine des résultats obtenus chez le poisson zèbre.

Bhan A, Hussain I, Ansari KI, *et al.* Histone methyltransferase EZH2 is transcriptionally induced by estradiol as well as estrogenic endocrine disruptors bisphenol-A and diethylstilbestrol. *J Mol Biol* 2014; doi: 10.1016/j.bbagrm.2014.08.011.

Cette étude de génétique moléculaire met en évidence les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les effets de l'estradiol et de perturbateurs endocriniens comme le bisphénol A ou le diethylstilbestrol sur l'expression de l'histone methyl transférase dont l'expression est associé au cancer du sein.

Dhimolea E, Wadia PR, Murray TJ, *et al.* Prenatal exposure to BPA alters the epigenome of the rat mammary gland and increases the propensity to neoplastic development. *Plos One* 2014;**9**(7): e99800.

Cette étude faite sur des rates met en lumière les risques d'une exposition fétale aux perturbateurs endocriniens sur le développement ultérieur de lésions prénéoplasiques et néoplasiques dans le sein. De plus, les auteurs mettent en évidence des effets épigénétiques du bisphénol A touchant le processus de méthylation de l'histone H3K4.

Lathi RB, Liebert CA, Brookfield KF, *et al.* Conjugated bisphenol A in maternal serum in relation to miscarriage risk. *Fert Steril* 2014;**102**(1):123-8.

Les concentrations de bisphénol A ont été mesurées dans le sérum de 115 femmes parmi lesquelles 47 ont donné naissance à un enfant vivant et 68 ont fait une fausse couche (46 aneuploïdies et 22 euploïdies). Les analyses statistiques concluent à une corrélation positive entre le risque de fausse couche et la concentration de bisphénol A dans le sérum.

Buck Louis GM, Sundaram R, Sweeney AM, *et al.* Urinary bisphenol A, phtalates, and couple fecundity : the longitudinal investigation of fertility and the environment (LIFE) study. *Fert Steril* 2014;**101**(5): 1359-66.

Sur une cohorte de 501 couples en âge de procréer, les quantités de bisphénol A dans les urines ont été mesurées par chromatographie en phase liquide et corrélées au temps écoulé entre le désir de grossesse et la grossesse effective (TTP, time to pregnancy). Les résultats mettent en évidence chez les partenaires masculins une diminution d'environ 20 % de la fertilité lorsque les quantités de bisphénol A dans les urines sont plus élevées. En revanche, il n'y a pas de corrélation chez les femmes entre les taux de bisphénol A et la fertilité.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de Veille Scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 25 • Décembre 2014
Notes d'actualité scientifique

Agents biologiques

Avancées et limites dans l'utilisation de techniques à haut débit en épidémiologie et microbiologie clinique

Période : avril 2014 à août 2014

Pierre FECHTER | **P.Fechter@ibmc-cnrs.unistra.fr**

CNRS – UPR 9002 – Strasbourg – France

Mots-clés : **Haut débit, PCR, séquençage, staphylocoques, tiques**

Les avancées dans les techniques à haut débit (séquençage, PCR...) permettent actuellement d'avoir rapidement des informations quantitatives sur plusieurs génomes bactériens entiers, ou seulement sur quelques gènes d'une grande population de bactéries. Les progrès dans ce domaine permettent l'accès à des informations qui nécessitaient auparavant la combinaison de plusieurs méthodologies, et à des coûts de moins en moins élevés. Des retombées sont attendues aussi bien en microbiologie clinique qu'en microbiologie fondamentale.

Deux études épidémiologiques seront présentées, illustrant certains avantages, limites et attentes liés à ces techniques. La première étude porte sur l'identification de pathogènes portés par des tiques, et la fréquence de leur portage. La deuxième étude concerne le séquençage complet du génome de nombreuses souches de *Staphylococcus haemolyticus*, soulignant la diffusion de clones multirésistants dans les hôpitaux européens.

Détection à haut débit de pathogènes transmis par les tiques en Europe

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, van der Wal FJ, Sprong H, Boye Pihl TP, Klitgaard K, Bodker R, Fach P, Moutailler S. High throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;**4**:103

Résumé

Les tiques sont d'importants vecteurs de zoonoses[1]. Ils sont souvent associés à la maladie de Lyme, causée par différentes espèces de bactéries du genre *Borrelia,* l'un des pathogènes majeurs porté par les tiques dans nos forêts. Cependant, les tiques sont également capables de transmettre d'autres maladies, causées par d'autres pathogènes (1, 2). Les moyens d'investigations actuels pour identifier le/les pathogènes transmis par un tique sont généralement limités à la recherche des pathogènes majeurs. Le développement et la multiplication des transports humains/animaux et les changements environnementaux favorisent néanmoins la dissémination des tiques et de leur pathogènes. Ainsi, il paraît nécessaire de mener des études épidémiologiques plus vastes, pour détecter précisément la présence de l'ensemble des pathogènes, ainsi que la fréquence de leur présence.

Dans cette étude, la détection des pathogènes a été effectuée à partir d'ADN isolé à partir d'échantillons de tiques. Des PCR[2] en temps réels[3] à haut débit ont ensuite été effectuées, permettant d'amplifier un fragment d'ADN spécifique de chaque pathogène dont les auteurs voulaient tester la présence. Ceci a permis de contrôler la présence de trente-sept pathogènes portés par les tiques dans quarante-cinq échantillons de tiques, capturées dans six sites (en France, au Danemark, et aux Pays Bas), ainsi que la fréquence de leur présence. Grâce à cette méthodologie, les auteurs ont pu avoir une vision complète de la situation épidémiologique des pathogènes portés par les tiques dans ces six sites européens. Ils ont ainsi confirmé la prévalence des différents pathogènes connus pour infecter les tiques dans ces régions, qu'ils soient fréquents ou non. Cette méthodologie a également permis la détection de pathogènes rares ou inattendus, comme *Bartonella henselae,* de certaines *Borrelia* (*spielmanii, miyamotoi*) et *Babesia* (*divergens*, *venatorum*) pour la première fois au Danemark et de constater l'absence de vingt-cinq des pathogènes testés, comme *Coxiella burnetii*, et *Franscisella tularensis* confirmant le faible risque de transmission de ces vecteurs par les tiques.

Commentaire

Cette étude a permis d'identifier un grand nombre de pathogènes portés par les tiques, et d'en déduire la fréquence de leur présence. La méthodologie, basée sur un système de PCR microfluidique[4] (3), a permis de considérablement diminuer la quantité d'ADN nécessaire pour effectuer ces PCR, comparativement aux techniques classiques de détection par amplification, et donc d'obtenir beaucoup plus d'informations à partir d'un même échantillon. Il est à noter que la présence de certains pathogènes n'a été détectée que par un seul produit PCR dans cette étude pilote, ce qui peut s'avérer faiblement discriminant dans certains cas, de l'avis même des auteurs.

De manière générale, cette méthodologie peut tout à fait être généralisée à l'identification et la caractérisation de pathogènes issus d'autres échantillons complexes. Dans ce cas, il sera bien sûr indispensable d'augmenter le nombre de locus[5] amplifiés par pathogène pour une meilleure discrimination. Par exemple,

il pourrait être intéressant de choisir des gènes de ménage pour identifier les bactéries, et des gènes de virulence, dont la présence et le niveau d'expression est plus variable (il s'agirait dans ce cas de développer de la qRT-PCR[3]), et caractéristique d'un état ou d'une infection particulière. Enfin, cette étude pilote permet également d'envisager de déterminer l'ensemble des pathogènes portés non par un échantillon de tiques, mais par une seule tique, afin de déterminer les pathogènes pouvant co-infecter un hôte, et d'étudier la co-évolution de ces pathogènes (voir la référence 4 pour une étude allant dans ce sens).

Dissémination clonale de *Staphylococcus haemolyticus* multirésistant révélée par séquençage complet de génomes

Cavanagh JP, Hjerde E, Holden MTG, Kahlke T, Klingenberg C, Flaegstad T, Parkhill J, Bentley SD, Ericson Sollid JU. Whole-genome sequencing reveals clonal expansion of multiresistant *Staphylococcus heamolyticus* in European hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2014;**69**:2920-7

Résumé

Staphylococcus haemolyticus est une cause émergente de maladies nosocomiales[6], affectant notamment les enfants nés prématurément et les patients immunodéprimés. *S. haemolyticus* est souvent résistant aux antibiotiques couramment utilisés. Il est admis que l'échange rapide d'informations génétiques entre les différentes souches de staphylocoques est associé à la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques. En séquençant de nombreux isolats de *S. haemolyticus*, les auteurs ont cherché à comprendre les bases moléculaires de l'émergence de cette bactérie comme source de maladies nosocomiales.

L'ADN génomique de différentes souches de *S. haemolyticus*, isolées entre 1988 et 2010 en provenance de plusieurs hôpitaux d'Europe et du Japon, a été extrait puis entièrement séquencé grâce à un appareil Illumina Genome Analyzer GAII. L'assemblage des génomes a montré que plus de 20 % des gènes codés par *S. haemolyticus* sont des gènes accessoires (non essentiels aux fonctions vitales de la bactérie), dont la moitié associée à des éléments mobiles[7], plus facilement échangeables entre différentes souches de staphylocoques. De plus, de nombreuses recombinaisons[8] ont été observées dans les gènes codant pour des protéines de surface ou des gènes impliqués dans la virulence. Le fort degré de recombinaison, ainsi qu'un échange d'ADN fréquent reflètent une flexibilité du génome de *S. haemolyticus* qui lui confère probablement une forte capacité d'adaptation. Une analyse phylogénétique[9], basée sur les SNP[10] des régions non accessoires a également permis de montrer que les clones étudiés, isolés dans différents pays d'Europe, ont une origine commune (probablement lié aux activités humaines comme les voyages...).

Commentaire

Les techniques classiques de MLST[11], basées sur le séquençage de locus[4] spécifiques de la bactérie, ne permettent pas forcément de reconstituer des phylogénies qui peuvent renseigner sur l'émergence, la dissémination ou la capacité d'adaptation de clones bactériens proches. Les auteurs de cette étude ont montré qu'une telle étude est possible grâce au séquençage de génomes entiers. D'autres exemples récents illustrent l'apport du séquençage de génomes entiers pour la comparaison de clones génétiquement très proches. Ainsi, le séquençage du génome d'une souche de *S. aureus* présentant une résistance intermédiaire à la vancomycine a permis de montrer que cette résistance est due à une seule mutation ponctuelle (5). Une autre étude a également montré l'intérêt du séquençage de génomes dans le contrôle d'une épidémie de *S. aureus* résistante à la méticilline au sein d'un hôpital (6).

Conclusion générale

Les progrès récents dans les techniques à haut débit (PCR, séquençage) permettent un accès de plus en plus facile, et à des coûts de plus en plus faibles, à de nombreuses informations génomiques. Ils permettent d'obtenir en une seule étape les informations qui étaient auparavant obtenues en combinant différentes approches, qui prenaient plus de temps. Les applications de ces techniques dans le diagnostic et le suivi épidémiologique se multiplient, comme dans les exemples décrits ci-dessus. Mais l'utilisation de ces techniques en routine demandera encore de nombreuses améliorations. Outre le prix, encore supérieur aux différentes approches utilisées actuellement, ces technologies fournissent une grande quantité de données, dont l'interprétation n'a pas encore été automatisée et standardisée, et dont le traitement peut devenir problématique. Il est donc indispensable de travailler à établir un processus de traitement des informations standardisé et accessible à toute la communauté scientifique. De plus, l'ensemble de ces données, issues d'échantillons prélevés dans notre environnement (animaux sauvages, hôpitaux...) et non issus de laboratoires est une source d'informations qui va également révolutionner la manière d'aborder la microbiologie fondamentale (7, 8). *In fine*, ces techniques de PCR et séquençage à haut débit demanderont et permettront de tisser des liens plus fréquents entre recherche clinique et recherche fondamentale (7, 8).

General conclusion

Recent advances in high-throughput techniques (PCR, sequencing) allow increasingly easy and more affordable access, to many genomic information. They can provide one-step information previously obtained by combining different time consuming approaches. The use of these techniques in the diagnosis and epidemiological monitoring is developing, as in the examples described above. But the use of these techniques in routine yet requires many improvements. Besides the price, still higher than the different approaches currently used, these technologies provide a large amount of data, whose interpretation has not yet been standardized and automated. It is thus essential to establish a process of standardized information treatment that can be accessible to the entire scientific community. Moreover, all these data obtained from environment collected samples (wildlife, hospitals ...) and not from laboratories is a source of information that will revolutionize the approach to fundamental microbiology (7 8). Ultimately, these PCR and high-throughput screening techniques will necessitate and will allow for weaving more frequent links between clinical and basic research (7, 8).

Lexique

(1) Zoonose : Infection naturellement transmise de l'animal à l'homme (ou vice versa). Elles peuvent être causées par divers agents biologiques, comme des bactéries, virus, champignons ...

(2) PCR : Sigle anglais pour réaction en chaîne par polymérase. C'est une technique qui permet d'amplifier par cycles successifs un fragment d'ADN *in vitro*. Cette technique permet notamment de détecter la présence d'un locus génomique particulier dans un mélange complexe d'ADN.

(3) PCR en temps réel ou qRT-PCR : La quantité d'ADN amplifiée est mesurée à chaque cycle d'amplification. Ainsi, la PCR en temps réel permet d'obtenir une quantification absolue de la quantité initiale de l'ADN cible, et donc de comparer au final les quantités d'ADN spécifiques de chaque bactérie.

(4) Locus : Emplacement physique précis et invariable sur un chromosome.

(5) Microfluidique : Technologie utilisant des petits volumes de fluides qui circulent dans des canaux de quelques micromètres, à l'intérieur desquels peuvent se dérouler des réactions. Ainsi, grâce à cette technologie, il est possible de réaliser de PCR dans des volumes très petits, et de consommer donc très peu de matériels.

(6) Maladie nosocomiale : Maladie qui se déclenche à l'hôpital, ou suite à une intervention chirurgicale. Elle est due à la haute fréquence d'utilisation d'antibiotiques, de produits ménagers... Les hôpitaux peuvent être à l'origine de la sélection de pathogènes multirésistants.

(7) Élément mobile : Ce sont des séquences d'ADN (parfois de plusieurs kilobases, et pouvant inclure plusieurs gènes) qui peuvent se déplacer de manière autonome dans le génome, ou être transmis à d'autres microorganismes. Ce sont des vecteurs puissants d'évolution des génomes, et sont souvent associés à la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

(8) Recombinaison : C'est un échange d'information génétique (fragment d'ADN) entre deux génomes différents. Cet événement permet un brassage génétique au sein d'une espèce.

(9) Phylogénie : Étude de la relation de parenté entre différents être vivants. Une étude phylogénétique peut être obtenue en comparant la séquence de certains locus particuliers, soit des locus très conservés pour reconstituer par exemple l'évolution des espèces, soit des locus plus variables, pour comparer des individus proches.

(10) SNP : Polymorphisme d'une seule paire de base, est la variation d'une seule paire de base du génome entre individus d'une même espèce. Ces variations sont fréquentes, et sont utilisées pour reconstituer des arbres phylogénétiques, et/ou étudier l'évolution entre des individus proches.

(11) MLST : Multilocus sequence typing, permet de caractériser des espèces microbiennes par la présence de séquences d'ADN spécifiques à certains gènes de ménage. Ces séquences d'ADN sont souvent amplifiées par PCR, puis séquencées individuellement.

Publications de référence

(1) **De la Fuente J, Estrada Pena A, Venzal JM, *et al.*** Overview : ticks and vectors of pathogens that cause desease in humans and animals. *Front Biosci* 2008;**13**:6938-6946.

(2) **Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S**. Host range of emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis* 2005;**11**:1842-7.

(3) **Fairfax MR, Salimnia H**. Diagnostic in molecular microbiology: a 2013 snapshot. *Clin Lab Med*. 2013;**33**:787-803.

(4) **Jacquot M, Bisseux M, Abrial D, *et al.*** High-throughput sequence typing reveals genetic differentiation and host specialization among populations of the *Borrelia burgdorferi* species complex that infect rodents. *PLOS One* 2014;**9**:e88581.

(5) **Howden BP, McEvoy CR, Allen DL, *et al.*** Evolution of multidrug resistance during *Staphylococcus aureus* infection involves mutation of the essential two component regulator WalKR. *PLOS Pathog*. 2011;**7**:e1002359.

(6) **Harris SR, Cartwright EJ, Török ME, *et al***. Whole-genome sequencing for analysis of an outbreak of meticillin-resistant Staphylococcous aureus : a descriptive study. *Lancet Infec Dis* 2013;**13**:130-6.

Revues de la littérature

(7) **Caboche S, Audebert C, Hot D.** High-throughput sequencing, a versatile weapon to support genome based diagnosis in

infectious diseases : applications to clinical bacteriology. *Pathogens* 2014;**3**:258-79.

(8) **McAdam P, Richardson EJ, Fiztgerald JR.** High throughput sequencing for the study of bacterial pathogen biology. *Curr Opin Microbiol* 2014;**19**:106-13.

Autres publications identifiées

Quelques publications sur l'application de techniques à haut débit dans le diagnostic de certaines maladies, humaines ou infectieuses.

Gillespie RL, O'Sullivan J, Ashworth J, *et al.* Personalized diagnosis and management of congenital cataract by next-generation sequencing. *Ophthalmology* 2014 (Jul). pii:S0161-6420(14)00507-7.

Les auteurs testent l'intégration de données issues du séquençage à haut débit de certains locus particuliers amplifiés par PCR aux examens phénotypiques pour le diagnostic de la cataracte congénitale.

Schmitt M, Depuydt C, Stalpaert M, *et al.* Bead-based multiplex sexually transmitted infection profiling. *J Infec.* 2014;**69**:123-33.

Cette étude décrit la mise au point d'une méthode permettant le diagnostic de 18 infections transmises sexuellement par multiplexage de PCR.

Guan Y, Hu H, Peng Y, *et al.* Detection of inherited mutations for hereditary cancer using target enrichment and next generation sequencing. *Fam Cancer* 2014 (Aug), in press.

Il s'agit de l'application du séquençage à haut débit dans le diagnostic de cancers héréditaires. Les auteurs ont amplifié par PCR de nombreux gènes d'intérêts, marqueurs de cancer, et séquencés l'ensemble des produits PCR obtenus.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;

☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Gènes de résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine agricole ou urbaine

Période : avril 2014 à août 2014

Alain HARTMANN* et Edward TOPP | alain.hartmann@dijon.inra.fr**

* INRA – UMR1347 Agroécologie – Dijon – France

** Agriculture et Agroalimentaire Canada – Centre de Recherche du Sud sur la phytoprotection et les aliments – London (Ontario) – Canada

Mots-clés : **agro-écosystèmes, eaux douces superficielles, eaux usées, fumier bovin, gènes de résistance aux antibiotiques, sols**

L'émergence de souches bactériennes résistantes à de nombreux antibiotiques pourrait remettre en cause l'utilisation de ces molécules pour lutter contre les maladies infectieuses. L'OMS parle même de pandémie concernant l'émergence de souches résistantes à plusieurs antibiotiques dont les bêta-lactamines[1]. Face à ce problème de santé publique, il est nécessaire de définir les éléments responsables de l'émergence de ces bactéries multi-résistantes. Il est maintenant établi que l'environnement représente une source et/ou un réservoir de bactéries résistantes ou de gènes de résistance aux antibiotiques qui pourraient être transmissibles à l'Homme. De nombreux produits résiduaires organiques (fumiers, lisiers, boues de station d'épuration) sont utilisés comme engrais sur les sols agricoles et les eaux usées traitées ou les eaux des rivières dans lesquelles ces eaux usées sont rejetées, peuvent être utilisées pour irriguer les cultures (1). Or, ces produits résiduaires liquides ou solides rejetés dans l'environnement contiennent des bactéries résistantes, des gènes de résistance aux antibiotiques, ainsi que des molécules médicamenteuses (dont des antibiotiques). Certaines pratiques agricoles peuvent donc potentiellement conduire à la dissémination environnementale de gènes de résistance aux antibiotiques et à la contamination des animaux, des productions végétales et des ressources en eau. L'impact de ces pratiques doit être analysé attentivement pour éviter qu'elles induisent des risques sanitaires pour l'Homme au travers de la contamination de nos aliments, mais aussi des ressources en eau et de nos environnements récréatifs naturels (2). L'environnement (en particulier les sols) peut être également une source de gènes de résistance aux antibiotiques (3, 4). Les deux publications choisies mettent en évidence la présence et la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dans des effluents urbains (1re publication) et des fumiers bovins (2e publication). Des méthodes d'analyse originales montrent l'abondance et la grande diversité de ces gènes de résistances aux antibiotiques dans ces différents résidus.

Les eaux usées : une source ponctuelle pour les gènes de résistance aux antibiotiques retrouvés dans les sédiments des lacs d'eau douce

Czekalski N, GasconDiez E, Burgmann HBU. Wastewater as a point source of antibiotic- resistance genes in the sediment of a freshwater lake. *ISME J* 2014;**8**:1381–90. doi:10.1038/ismej.2014.8

Résumé

L'objectif de ce travail était de déterminer la distribution spatiale de gènes de résistance aux antibiotiques (*sul*1, *sul*$_2$, *tet*(B), *tet*(M), *tet*(W) et *qnr*(A))[2] dans les sédiments d'un lac d'eau douce à proximité d'un point d'élimination d'eaux usées traitées. Le site choisi pour l'étude était la baie de Vidy (lac Léman, Suisse) qui subit les rejets de la station d'épuration d'eaux usées (STEP) de Lausanne, plus grande ville à proximité du lac Léman. La contamination par ces gènes de résistance aux antibiotiques a été quantifiée par PCR quantitative en temps réel et a été comparée avec la concentration en mercure total, un contaminant inorganique fréquemment lié à des particules dont les concentrations naturelles de base sont connues. La cartographie bidimensionnelle des contaminants dans les sédiments du lac a été réalisée à l'aide d'outils géostatistiques. Le gène *qnr*A n'a jamais été détecté parmi les échantillons provenant du lac. Pour les autres gènes analysés, les auteurs ont pu montrer que la quantité des gènes de résistance aux antibiotiques était 200 fois plus élevée dans les sédiments proches du point de rejet des effluents que celle mesurée dans les sédiments d'une zone éloignée (centre du lac). La quantité de ces gènes décroît de manière exponentielle selon la distance au point de rejet. De plus, la distribution des différents gènes de résistance étudiés est similaire, *sul*1 étant cependant retrouvé en quantité plus élevée que les autres gènes. La distribution spatiale des gènes de résistance n'était pas corrélée aux teneurs en mercure total, indiquant que ces deux contaminants sont disséminés et transportés de manières différentes ou bien qu'il existe d'autres sources de gènes de résistance que les rejets de station d'épuration des eaux usées. La distribution spatiale des gènes de résistance aux antibiotiques ainsi que d'autres résultats indiquent que la sédimentation de particules contenant des bactéries issues des effluents de traitement des eaux usées pourrait être à l'origine de la contamination des sédiments par les gènes de résistance aux antibiotiques. Finalement, les courants

et des connexions du lac avec les cours d'eau sont aussi des paramètres importants qui expliquent la distribution des gènes de résistance dans le lac et en particulier l'existence de zones de dissémination diffuses éloignées du point de rejet (pouvant même impacter la qualité de l'eau près du point de pompage pour la préparation d'eau potable qui est situé à 3,2 km de la STEP de Lausanne).

Commentaire

Cet article établit clairement l'impact du rejet d'effluents d'eaux usées traitées sur la contamination des sédiments lacustres par des gènes de résistance aux antibiotiques. La dissémination n'est pas seulement ponctuelle mais liée aussi à la circulation des masses d'eau. La contamination à grande échelle par des gènes de résistance aux antibiotiques des eaux douces superficielles et des sédiments des rivières impactés par de tels rejets est probable (5). La présence de ces contaminants dans les sédiments et les eaux utilisées pour la préparation d'eau potable, l'abreuvement des animaux de rente ou l'irrigation des cultures pourrait expliquer le maintien dans l'environnement et le transfert éventuel vers l'Homme de gènes de résistance aux antibiotiques ou de souches résistantes aux antibiotiques commensales ou pathogènes. Une des limites de cette étude est l'absence de culture sur milieu sélectif (mis à part un essai d'isolement sur milieu contenant des quinolones ou fluoroquinolones) qui aurait permis d'identifier les bactéries viables hébergeant ces gènes de résistance. De plus, les gènes de résistance aux bêta-lactamines codant pour des BLSE[3] (bêta–lactamase à spectre étendu) n'ont pas été recherchés alors que ces gènes sont régulièrement retrouvés dans les eaux usées car ils peuvent être portés par des *Escherichia coli* responsables d'infections communautaires et nosocomiales. La conclusion majeure de cette publication est la nécessité de développer des moyens techniques pour limiter la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques à partir des effluents de STEP ainsi que pour purifier l'eau potable en éliminant ces gènes, les bactéries résistantes et les résidus chimiques.

Divers gènes de résistance aux antibiotiques sont présents dans le fumier de vaches laitières

Wichmann F, Udikovic-Kolic N, Andrew S, Handelsman J. Diverse antibiotic resistance genes in dairy cow manure. *mBio* 2014;**5**:e01017–13, doi:10.1128/mBio.01017-13

Résumé

L'épandage sur les terres agricoles de fumiers issus d'animaux traités par des antibiotiques semble favoriser la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement. Cependant, les connaissances sur la nature, la diversité et la distribution de ces gènes de résistance aux antibiotiques sont actuellement limitées. Cet article présente une analyse du résistome[4] du fumier de vache laitière, un amendement organique couramment utilisé par les exploitants agricoles. Une nouvelle combinaison de méthodes a été utilisée dans cette étude. Des banques métagénomiques[5] ont été réalisées (dans des fosmides[6] ou à partir de petits inserts) à partir d'ADN extraits du fumier, puis criblées à la recherche de gènes de résistance aux bêta-lactamines[1], phénicolés, aminosides et tétracyclines (criblage fonctionnel). Cette technique a permis la détection de 80 « nouveaux » gènes de résistance aux antibiotiques, principalement au chloramphénicol et à la kanamycine, ne présentant que 50 à 60 % d'identité avec des gènes répertoriés jusqu'alors. Ils sont le plus souvent disposés de façon contigüe, suggérant ainsi la présence simultanée de plusieurs gènes de résistance au sein de certains microorganismes retrouvés dans le fumier. Cette étude a permis également la mise en évidence d'un gène codant pour une nouvelle famille d'acétyl-transférases, ces enzymes conférant une résistance au chloramphénicol. Même si la pression antibiotique exercée sur les bovidés est moindre comparativement à celle observée dans les élevages de porcs et poulets, le microbiome des bovins, ainsi que les fumiers produits, représentent un réservoir potentiel important de gènes de résistance aux antibiotiques.

Commentaire

Dans cette étude, les auteurs ont démontré que les traitements à base de céphalosporines (ceftiofur, céfapirine) modifiaient significativement le résistome[4] des fèces de bovins (différence avant/après traitement). Ces résultats suggèrent que les traitements vétérinaires à base de céphalosporines favorisent l'émergence rapide de gènes de résistance à cette famille d'antibiotiques. À noter qu'il n'a pas été possible d'étudier l'effet d'autres antibiotiques puisque les bovins n'ont été traités que par des céphalosporines. Une limite importante de ce travail est sa représentativité vu le faible nombre d'animaux testés ainsi que leur origine géographique commune (utilisation d'une seule ferme expérimentale). De plus, une confusion existe dans cet article entre le terme fèces (prélevé *in vivo*) et le terme fumier. La plupart des banques de gènes ont été réalisées à partir de fèces et non pas de fumier. Il aurait également été intéressant d'analyser le devenir des gènes décrits, dans le fumier au cours de sa maturation, puis dans les sols après épandage en utilisant les mêmes outils de métagénomique. Aussi, afin de confirmer l'assignation taxonomique des nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés (décrits comme majoritairement originaires de bactéries à Gram positif), il serait nécessaire de réaliser des isolements bactériens sur milieu de culture sélectifs. L'approche méthodologique utilisée dans ce travail, associant la métagénomique fonctionnelle[7] et le séquençage de 3^{e} génération PacBio, a permis d'allonger significativement la liste des gènes de résistance aux antibiotiques présents dans les communautés bactériennes intestinales (microbiome) des animaux. Cette approche devrait permettre de mieux comprendre l'origine et les voies de dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques dans les agro-écosystèmes et l'environnement médical. L'utilisation de fumier de bovins ou de déjections d'animaux ayant reçu des doses élevées d'antibiotiques peut contribuer à introduire dans les sols amendés par ces résidus, de nouveaux gènes de résistances aux antibiotiques. Ce risque doit être évalué dans le cadre de la gestion durable des sols agricoles (6, 7).

Conclusion générale

Les deux publications analysées mettent en évidence la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans des résidus organiques et des effluents d'origines agricole et urbaine. La première publication met en évidence la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans les effluents de station de traitement d'eaux usées d'origine urbaine. La deuxième publication montre que le résistome des fumiers de bovins est très riche, bien que ces animaux reçoivent peu d'antibiotiques par comparaison avec d'autres espèces. L'utilisation de ces produits en agriculture soulève la question du devenir de ces gènes dans les matrices environnementales, voire de leur transfert à des microorganismes pathogènes pour l'Homme. La circulation des microorganismes résistants aux antibiotiques et des gènes de résistance dans la biosphère, leurs transferts entre les agroenvironnements, les productions agricoles primaires et les industries de transformation doivent donc être intégrés dans l'évaluation du risque sanitaire lié aux aliments mais aussi aux activités récréatives dans notre environnement (baignades en milieu naturel...). Les effluents de STEP ou les eaux douces de surface affectées par les rejets de ces effluents sont utilisables pour l'irrigation des cultures ou l'abreuvement des animaux de rente. Ceci peut induire une contamination des productions agricoles primaires par des gènes de résistance aux antibiotiques. Dans le contexte du changement climatique, la diminution des ressources en eau conduira de plus en plus à utiliser prioritairement ces effluents pour l'irrigation des cultures. L'amendement des terres cultivables à l'aide de produits résiduaires organiques (PRO) d'origine animale (fumier, lisiers...), urbaine ou industrielle (boues de station d'épuration, boues industrielles) est une pratique de plus en plus courante en agriculture. Elle peut entraîner une dissémination environnementale de bactéries résistantes ou de gènes de résistance aux antibiotiques. La présence de résidus d'antibiotiques non dégradés dans les effluents et les déchets organiques, permettraient non seulement leur maintien mais pourraient les sélectionner *de novo* dans l'environnement. Dans une perspective d'évaluation du risque, il est nécessaire de déterminer les conditions d'utilisation de ces effluents ou de ces déchets organiques qui permettront de limiter les transferts d'agents résistants aux antibiotiques et de gènes de résistance aux antibiotiques vers les productions agricoles et d'évaluer leur persistance dans les filières de transformation afin de renforcer la sécurité sanitaire des aliments et des milieux naturels. Finalement, l'évaluation du risque devrait également prendre en compte l'effet d'apports répétés de résidus d'antibiotiques dans les sols ce qui pourrait sélectionner des bactéries porteuses de gènes de résistance dans les sols, voire induire l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance. Les progrès récents dans les techniques à haut débit (PCR, séquençage) permettent un accès de plus en plus facile, et à des coûts de plus en plus faibles, à de nombreuses informations génomiques. Ils permettent d'obtenir en une seule étape les informations qui étaient auparavant obtenues en combinant différentes approches, qui prenaient plus de temps. Les applications de ces techniques dans le diagnostic et le suivi épidémiologique se multiplient, comme dans les exemples décrits ci-dessus. Mais l'utilisation de ces techniques en routine demandera encore de nombreuses améliorations. Outre le prix, encore supérieur aux différentes approches utilisées actuellement, ces technologies fournissent une grande quantité de données, dont l'interprétation n'a pas encore été automatisée et standardisée, et dont le traitement peut devenir problématique. Il est donc indispensable de travailler à établir un processus de traitement des informations standardisé et accessible à toute la communauté scientifique. De plus, l'ensemble de ces données, issues d'échantillons prélevés dans notre environnement (animaux sauvages, hôpitaux...) et non issus de laboratoires est une source d'informations qui va également révolutionner la manière d'aborder la microbiologie fondamentale (7, 8). *In fine*, ces techniques de PCR et séquençage à haut débit demanderont et permettront de tisser des liens plus fréquents entre recherche clinique et recherche fondamentale (7, 8).

General conclusion

The two publications deal with antibiotic resistance genes in organic amendments of agricultural origin, and in municipal wastewater. The first publication reveals that antibiotic resistance genes are abundant in municipal wastewater treatment plant effluent. The second indicates that dairy manure is rich in antibiotic resistance genes, even though dairy cows in general receive very few antibiotics compared to other livestock. The fate of these genes in agricultural production systems and potential transfer to human pathogens is cause for concern. The movement of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes within animal and crop production systems, and through the food production chain to the consumer should be considered in any food safety risk assessment, as well as recreational bathing in waters impacted by wastewater effluents. Furthermore, with climate change, it can be expected that irrigation with reclaimed wastewater will increase. Amendment of soils with organic matter of animal (manures) or human (sewage sludge) is a commonly employed agricultural practice that could promote the dissemination of antibiotic resistance in the environment. Antibiotic residues carried in these

materials could select for resistance in environmental bacteria. With a view to mitigating risk, practices that minimize the transfer of antibiotic resistant bacteria and genes within agroecosystems, and the food production chain need to be identified. Finally, the potential impacts of repeated exposure of agricultural soils to antibiotic residues needs to be evaluated, particularly with respect to potential potentiation of antibiotic resistance.

Lexique

(1) Bêta-lactamines : Famille d'antibiotiques ayant en commun le cycle bêta-lactame (motif chimique à l'origine de l'activité antibiotique)

(2) *sul*1, *sul*2, *tet*(B), *tet*(M), *tet*(W) et *qnr*A : Gènes de résistance aux sulfamides (*sul*1, *sul*2), aux tétracyclines (*tet*(B), *tet*(M), *tet*(W)) et aux fluoroquinolones (*qnr*A)

(3) BLSE : Bêta-lactamase à spectre élargi : famille d'enzymes capables d'hydrolyser le cycle β-lactame de plusieurs types de β-lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactames). Les bactéries produisant ces enzymes sont résistantes à l'ensemble de cette famille d'antibiotiques, excepté les carbapénèmes.

(4) Résistome : Ensemble des gènes de résistance présents dans un échantillon ou un compartiment biologique ou environnemental.

(5) Banque métagénomique : Banque de gènes réalisée à partir d'ADN métagénomique extrait à partir de communautés d'organismes vivants (ici communautés microbiennes du tube digestif ou de fèces des vaches laitières).

(6) Fosmide : Vecteur de clonage permettant de cloner de grands fragments d'ADN (environ 30 à 40kb) qui permet également l'expression des gènes localisés sur l'insert dans la bactérie hôte (*Escherichia coli*). Ce vecteur est construit à partir du plasmide F d'*E. coli*, il est introduit dans la bactérie hôte par injection à l'aide du phage lambda.

(7) Métagénomique fonctionnelle : Criblage d'une banque métagénomique par un test fonctionnel : ici la résistance à différents antibiotiques

Publications de référence

(1) **Arrêté du 25 juin 2014 modifiant l'arrêté du 2 août 2010 relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires urbaines pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts**. JORF n°0153 du 4 juillet 2014 page 11059 texte n°29

(2) **Ashbolt NJ, Amézquita A, Backhaus T, *et al.*** Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environ Health Perspec* 2013;**121**:993-1001.

(3) **Wellington EMH, Boxall ABA, Cross P, *et al.*** The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis* 2013;**13**:155-65.

(4) **Finley RL, Collignon P, Larsson DGJ, *et al.*** The scourge of antibiotic resistance: the important role of the environment. *Clin Infect Dis* 2013;**57**:704-10.

(5) **Marti E, Variatza E, Balcazar JL.** The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends Microbiol* 2014;**22**:36-41.

(6) **Marti R, Tien Y-C, Murray R, Scott A, *et al.*** Safely coupling livestock and crop production systems: how rapidly do antibiotic resistance genes dissipate in soil following a commercial application of swine or dairy manure? *Appl Environ Microbiol* 2014;**80**:3258-65.

(7) **Durso LM, Cook KL.** Impacts of antibiotic use in agriculture: what are the benefits and risks? *Curr Op Microbiol* 2014;**19**:37-44.

Autres publications identifiées

Seiffert SN, Tinguely R, Lupo A, *et al.* High prevalence of extended-spectrum-cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in poultry meat in Switzerland: Emergence of CMY-2- and VEB-6-Possessing *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;**57**:6406–8
La lutte contre les bactéries hautement résistantes (BHR) aux antibiotiques est un véritable challenge. L'étude de l'origine et de la circulation de ces souches est primordiale si l'on veut mettre en œuvre des moyens adaptés. L'homme n'est pas le seul acteur. Son environnement et le monde animal sont à considérer attentivement. Dans cet article les auteurs décrivent des souches de Proteus mirabilis isolées dans de la viande de dinde génotypiquement identiques à une souche responsable du décès d'un patient hospitalisé au CHU de Dijon. Cette bactérie présentait une résistance à des molécules de choix pour le traitement des infections graves : céphalosporines de troisième génération, fluoroquinolones, aminoglycosides. La circulation des BHR entre l'animal et l'Homme est donc bien réelle.

Amoureux L, Bador J, Fardeheb S, *et al.* Detection of *Achromobacter xylosoxidans* in hospital, domestic, and outdoor environmental samples and comparison with human clinical isolates. *Appl Environ Microbiol* 2013;**79**:7142–9.
Achromobacter xylosoxidans (AXX) est un pathogène émergent chez les patients atteints de mucoviscidose ainsi que chez les patients immunodéprimés. Sa résistance naturelle aux antibiotiques ainsi que la fréquence élevée des résistances acquises limitent drastiquement les choix thérapeutiques. Dans cet article les auteurs décrivent la mise au point d'une technique pour détecter les souches environnementales d'AXX. Des souches d'AXX ont été détectées dans tous les environnements : hospitalier (siphons), domestique (siphons) mais également naturel (eau de rivière ou de canal). Le génotypage des souches environnementales et des souches humaines a démontré que certaines souches sont identiques, signature d'une circulation importante. Les patients sont susceptibles de se contaminer par éclaboussure d'eau à partir des siphons lors de la toilette ou du brossage des dents.

Forsberg KJ, Patel S, Gibson MK, *et al.* Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats. *Nature 2014;**509**:612-6.*
Cette étude exhaustive répertorie les gènes de résistance aux

antibiotiques dans 18 sols de culture ou sols de prairies par une approche de métagénomique fonctionnelle (résistance à 18 antibiotiques). Près de 3 000 gènes « nouveaux » (non déjà décrits) sont mis en évidence dans ce travail indiquant l'extrême diversité du résistome des sols agricoles. Il est légitime de se poser plusieurs questions : Quel est l'impact de l'apport répété de résidus d'antibiotiques dans des sols contenant une telle diversité de gènes de résistance ? Quels sont les risques d'émergence ou de sélection de gènes de résistance et de leur transfert à des bactéries pathogènes de l'Homme ou de l'animal ?

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Animaux de compagnie et staphylocoques résistants à la méticilline

Période : avril 2014 à août 2014

Marie-Thérèse LABRO* et Jean-Marie BRYSKIER | marie-therese.labro@inserm.fr**

* Inserm – Pôle Expertise Collective Hôpital Paul Brousse – Villejuif – France

** DMV – Salency – France

Mots-clés : **animal de compagnie, antibiotique, chien, méticilline, MRSA, résistance, SARM, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* pseudintermedius, staphylocoque**

La résistance des bactéries aux antibiotiques suscite une inquiétude mondiale (1,2). Parmi les bactéries préoccupantes pour les infections hospitalières et communautaires, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM[1]) tient une place importante. Depuis sa description initiale au Royaume-Uni en 1961, le SARM[1] s'est propagé au niveau mondial (3). Initialement, les souches de SARM[1] étaient détectées en milieu hospitalier (hospital-acquired methicillin-resistant *S. aureus* -HA-MRSA)[1]. Dans les années 1990, sont apparues des infections communautaires dues à des souches identifiées comme community-acquired (CA)-MRSA[1]. La troisième vague de ce « paysage dynamique » de l'évolution des SARM[1] a été la découverte inattendue de souches associées au bétail (livestock-associated (LA)-MRSA[1]chez les animaux de rente, les porcs, en particulier, et l'homme en contact avec eux. Le développement des outils de biologie moléculaire a permis de préciser l'épidémiologie des SARM[1] en identifiant les séquence types (ST)[2] et les complexes clonaux (CC)[2] caractéristiques des souches humaines et animales, de définir ainsi les grands clades[3] pandémiques et de montrer leur diffusion au niveau national et international (4). Un certain nombre de lignées « multi-hôtes » de SARM[1], ont été identifiées, capables de coloniser et infecter un large éventail d'espèces de mammifères et d'oiseaux, et la possibilité que les animaux puissent servir de réservoirs de SARM[1] a fait évoquer l'existence d'une zoonose émergente (5, 6). Ainsi, des souches appartenant au CC398, caractéristiques de LA-MRSA[1] peuvent coloniser les personnels agricoles, leur famille ou les vétérinaires, et dans certains cas être responsables d'infections (7, 8). Les animaux de compagnie, comme les chats, les chiens et les chevaux, sont aussi fréquemment colonisés par le SARM[1] et peuvent être infectés (9, 10). En général, les souches de ces animaux ont des caractéristiques génétiques de SARM[1] communautaires ou hospitaliers, d'origine humaine (11-13). La première publication analysée démontre le brassage des souches du clade[3] pandémique SARM[1]-15 (EMRSA-15, epidemic MRSA-15) entre l'homme et les animaux de compagnie. La deuxième étude a examiné la prévalence du portage nasal de staphylocoques chez les chiens au Royaume-Uni, et a déterminé les caractéristiques des isolats retrouvés. Ces études renforcent l'idée qu'il existe un réservoir commun pour l'homme et les animaux de compagnie à l'origine d'échanges bidirectionnels de SARM[1] responsables de colonisations et d'infections.

Un clade épidémique de *Staphylococcus aureus* 15 résistant à la méticilline circule chez l'homme et les animaux de compagnie

Harrison EM, Weinert LA, Holden MT, Welch JJ, Wilson K, Morgan FJ, Harris SR, Loeffler A, Boag AK, Peacock SJ, Paterson GK, Waller AS, Parkhill J, Holmes MA. A shared population of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 15 circulates in humans and companion animals. *MBio* 2014;**5**(3):e00985-13

Résumé

Les auteurs ont séquencé le génome de 46 souches de SARM[1] ST[2]22, provenant de 42 chiens et 4 chats infectés, isolées entre août 2003 et août 2007 dans deux grands hôpitaux vétérinaires et de petites structures du Royaume Uni. Les isolats provenaient d'infections similaires aux infections humaines (principalement plaies, infections cutanées et des tissus mous).Vingt-deux souches humaines ST[2]22 séquencées dans une autre étude (14) étaient inclues dans l'analyse. Les caractéristiques de ces souches ont été comparées à l'arbre phylogénomique[4] de souches ST22 humaines, établi récemment (15). Toutes les souches provenant d'animaux de compagnie appartiennent au clade[3] pandémique SARM[1]-15 qui regroupe la majorité des souches hospitalières du Royaume-Uni. Aucun polymorphisme nucléotidique simple (SNP)[5] ou de facteurs de virulence spécifiques de l'hôte n'ont été identifiés. Le clade[3] de SARM[1] ST[2]22 vraisemblablement apparu chez l'homme au Royaume-Uni dans les années 1980, s'est propagé à l'échelle mondiale et s'est adapté aux autres mammifères. Cette capacité à infecter différents hôtes caractérise ce qui a été appelé un génotype de « spectre étendu ».

Commentaire

Cette 1re analyse génomique à haute résolution des SARM[1] provenant d'animaux de compagnie confirme les données épidémiologiques et les résultats des techniques moléculaires à basse résolution[6] sur l'existence d'une transmission homme-animal (et *vice versa*) du clade pandémique SARM-15. L'origine humaine de ce clade est vraisemblable, et, comme dans les hôpitaux humains, il se transmet facilement dans le milieu hospitalier vétérinaire. Ce réservoir commun Homme-animal

permet une transmission bactérienne bidirectionnelle, ce qui suggère que les animaux de compagnie (infectés ou porteurs sains) représentent une source potentielle de réinfection humaine à partir de ce réservoir. La présence moindre pour les souches d'animaux de compagnie du gène plasmidique *erm*C, qui code pour la résistance à l'érythromycine, est en accord avec l'absence d'utilisation de l'érythromycine en médecine vétérinaire au Royaume-Uni, et donc d'une pression sélective moins forte.

Portage de *Staphylococcus* spp. chez les chiens en visite chez le vétérinaire au Royaume-Uni : caractérisation moléculaire de la résistance et de la virulence

Wedley AL, Dawson S, Maddox TW, Coyne KP, Pinchbeck GL, Clegg P, Jamrozy D, Fielder MD, Donovan D, Nuttall T, Williams NJ. Carriage of *Staphylococcus* species in the veterinary visiting dog population in mainland UK: molecular characterisation of resistance and virulence. *Vet Microbiol* 2014;**170**(1-2):81-8.

Résumé

Les staphylocoques sont des bactéries saprophytes des muqueuses de l'homme et des animaux en bonne santé, mais peuvent être à l'origine d'infections. Chez le chien, les deux espèces les plus importantes cliniquement sont les staphylocoques coagulase(7) positifs *S. pseudintermedius* et, plus rarement, *S. aureus*, associé aux pyodermites, infections de plaie, septicémies et otites. Des staphylocoques coagulase(7) négatifs (CoNS) ont également été isolés à partir d'échantillons cliniques. Cette étude analyse la prévalence du portage de staphylocoques résistants à la méticilline (MR) chez les chiens en bonne santé au Royaume-Uni. Au total, 724 chiens ont subi des prélèvements par écouvillon nasal. Une forte prévalence de portage de staphylocoques (55,1 %) a été observée: 11 % des chiens étaient porteurs de *S. pseudintermedius* et 7,5 % de *S. aureus*, mais seuls 7 chiens (1 %) étaient porteurs de SARM(1), identifié comme EMRSA-15, ST(2)22, la souche hospitalière humaine dominante au Royaume Uni ; 5,5 % des chiens étaient porteurs de MR-CoNS mais aucun MR-*S. pseudintermedius* n'a été détecté. En outre, plus de la moitié (54,4 %) des isolats a montré une résistance à au moins un agent antimicrobien (principalement acide fusidique, ciprofloxacine et tétracycline), et une multirésistance (résistance à au moins trois classes d'agents antibactériens) a été mise en évidence dans 87,5, 35,2 et 13,6 % des MR-CoNS, *S. aureus* et *S. pseudintermedius* respectivement.

Commentaire

Plusieurs études ont analysé le portage de staphylocoques résistants aux antibiotiques par les animaux de compagnie (chiens, chats) en bonne santé (16, 17). Cette étude confirme la présence (même à un taux faible) de la souche épidémique SARM-15 dans la population canine du Royaume-Uni. Un aspect critique est la détection d'un portage de staphylocoques présentant des profils de résistance à des antibiotiques importants en clinique humaine. D'autres études menées au Royaume-Uni (16) et aux États-Unis (17) ont également mis en évidence un portage fréquent de staphylocoques résistants aux antibiotiques, par les animaux de compagnie en bonne santé. L'existence d'un réservoir de staphylocoques résistants dans la population canine peut présenter un risque de diffusion de ces bactéries dans la communauté humaine, voire en milieu hospitalier par l'intermédiaire de personnel soignant propriétaire d'animaux porteurs sains.

Conclusion générale

Plusieurs études ont mis en évidence un portage de staphylocoques résistants par les animaux de compagnie (10, 16, 17). Les staphylocoques pathogènes pour les chiens et les chats sont représentés principalement par *S. pseudintermedius*, et les souches résistantes à la méticilline (MR-SP) sont un défi thérapeutique en médecine vétérinaire car ils sont également résistants à de nombreux antibiotiques (aminoglycosides, macrolides, lincosamides, tétracyclines, triméthoprime, chloramphénicol et fluoroquinolones) (18).

***S. aureus* est plus rarement impliqué en médecine vétérinaire. Chez les chiens, les taux de portage de SARM(1) vont de 0,7 % au Portugal (10), à 2,3 à 9 % au Royaume-Uni (12, 19), et jusqu'à 20 % en cas d'épidémie au Canada (20). Selon une étude menée en Allemagne en 2010-2012 (21), la prévalence des SARM(1) dans les prélèvements d'animaux de compagnie infectés était de 5,8 et 12,2 %, respectivement, pour les chiens et les chats. Les SARM(1) isolés à partir d'animaux de compagnie correspondent généralement à des lignées retrouvées dans les populations humaines dans la même zone géographique (13, 21, 22) et l'origine humaine peut parfois être démontrée (23, 24, 25).**

La proximité des contacts entre les animaux de compagnie et les êtres humains rend vraisemblable un risque important de transmission bactérienne entre eux. Un petit nombre d'études a identifié les animaux de compagnie comme la source probable d'infection à SARM(1) chez l'Homme (26, 27). Un cycle de transmission de SARM(1) entre des chiens hospitalisés et le personnel soignant a également été mis en évidence (28).

Les publications analysées confirment l'existence d'un réservoir de SARM(1) et de staphylocoques multirésistants chez les animaux de compagnie. Outre l'utilisation prudente des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, qui vise à réduire les risques d'apparition d'antibiorésistance, il est important d'éviter la dissémination de ces bactéries dans les communautés humaine et animale. En particulier, pour le SARM(1), des mesures de contrôle ont été proposées telles que le dépistage de tous les cas d'infection entrant et/ou le portage nasal à l'admission dans un hôpital vétérinaire, ainsi que des mesures d'hygiène, qui sont sans doute l'aspect le plus important (29, 30).

General conclusion

Some observations outline the role of healthy but colonized pets as vectors of resistant staphylococci (10, 16, 17). S. pseudintermedius is the species that colonizes and causes infections in dogs and cats, methicillin – resistant S. pseudintermedius (MRSP) pose a therapeutic challenge in veterinary medicine because they are also resistant to many antibiotics (aminoglycosides, macrolides, lincosamides, tetracyclines, trimethoprim, chloramphenicol and fluoroquinolones) (18).

S. aureus is less frequently involved in veterinary medicine. In dogs, the carriage rate for SARM(1) varies from 0.7 % in Portugal (10), 2.3 to 9 % in the UK (12, 19), and up to 20 % for an outbreak in Canada (20). According to a study conducted in Germany in 2010-2012 (21), the prevalence of SARM[1] in samples of infected pets was 5.8 % and 12,2 % for dogs and cats, respectively. The SARM(1) isolated from pets generally correspond to strains found in human populations in the same geographical area (13, 21, 22) and the human origin can sometimes be demonstrated (23, 24, 25).

As regards to companion animals, it is likely that the close contacts between them and humans are associated with important risks of bacterial transmission. A small number of studies have identified the pets as the likely source of infection SARM(1) in humans (26, 27). A transmission cycle between SARM(1) between hospitalized dogs and carers has also been shown (28).

The analyzed publications confirm the existence of a reservoir of multidrug-resistant staphylococci and SARM(1) in pets. In addition to the prudent use of antibiotics in human and veterinary medicine that aims to reduce the risk of developing antibiotic resistance, it is important to prevent the spread of these bacteria in the human and animal communities. In particular, for the SARM(1), control measures have been proposed such as the detection of all incoming cases of infection and/or nasal carriage at admission in a veterinary hospital, and hygiene measures –undoubtedly the most important aspect (29, 30).

Lexique

(1) SARM (MRSA) : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (un antibiotique de la famille des β-lactamines) et à toutes les molécules de cette famille (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)

(2) Sequence type (ST), complexe clonal (CC) : (voir techniques moléculaires de résolution)

(3) Clade : Groupe de populations possédant un ancêtre commun mais présentant une grande diversité génétique

(4) Arbre phylogénomique : Schéma arborescent montrant les relations de parentés entre des groupes d'êtres vivants, basé sur l'analyse de la combinaison d'un grand nombre de gènes ou de génomes complets

(5) Polymorphisme nucléotidique simple (SNP) : variation (polymorphisme) d'une seule paire de bases du génome, entre individus d'une même espèce

(6) Techniques moléculaires à basse résolution : Techniques de biologie moléculaire permettant la caractérisation d'une souche par : le séquençage de 7 gènes de ménage (en anglais, MLST pour *multilocus sequence typing*) Un type de séquence -en anglais, ST pour *sequence type*- est attribué à chaque souche analysée ; tous les ST ayant 5 des 7 gènes en commun sont regroupés dans un même complexe clonal (CC) ; la caractérisation de la séquence codante de la protéine A de *S. aureus* (*spa typing*) et la caractérisation de la cassette contenant le gène de résistance *mecA* à la méticilline (SCC*mec* pour *staphylococcal chromosomal cassette*). http://www.invs.sante.fr/publications/2005/snmi/pdf/sarm.pdf

(7) Coagulase : La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la coagulase est considérée comme un critère absolu d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine. En médecine vétérinaire, d'autres staphylocoques peuvent avoir une réaction positive, notamment *Staphylococcus pseudintermedius* et *Staphylococcus hyicus*.

Publications de référence

(1) **Prescott JF.** The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology. *Vet Microbiol* 2014;**171**:273-8.

(2) **World Health Organization.** Antimicrobial resistance: global report on surveillance. 2014 http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/

(3) **Pantosti A, Venditti M.** What is MRSA? *Eur Respir* 2009;**34**:1190-6

(4) **Robinson DA, Enright MC.** Evolutionary models of the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;**47**:3926-34

(5) **Stein RA**. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*--the new zoonosis. *Int J Infect Dis* 2009;**13**(3):299-301

(6) **Labro MT, Bryskier JM.** Bacterial resistance: an emerging "zoonosis"? *Exp Rev Anti Infect Ther* 2014;**28**:1-21 http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1586/14787210.2014.976611?ai=9b46&ui=20spd&af=T

(7) **Schijffelen MJ, Boel CH, van Strijp JA, *et al.*** Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. *BMC Genomics* 2010;**11**:376. doi: 10.1186/1471-2164-11-376

(8) **Köck R, Schaumburg F, Mellmann A, *et al.*** Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. *PLoS One* 2013;**8**(2):e55040.

(9) **Duquette RA, Nuttall TJ.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *J Small Anim Pract* 2004;**45**(12):591-7.

(10) **Couto N, Pomba C, Moodley A, *et al.*** Prevalence of meticillin-resistant staphylococci among dogs and cats at a veterinary teaching hospital in Portugal. *Vet Rec* 2011;**169:**72.

(11) **Walther B, Wieler LH, Vincze S, *et al.*** MRSA variant in companion animals. *Emerg Infect Dis* 2012;**18:**2017–20.

(12) **Loeffler A, Boag AK, Sung J, *et al.*** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005;**56:**692–7

(13) **Haenni M, Saras E, Chatre P, *et al.*** A USA300 variant and other human-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains infecting cats and dogs in France. *J Antimicrob Chemother* 2012;**67**:326–9

(14) **Paterson GK, Harrison EM, Craven EF, *et al*.** Incidence and characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from nasal colonisation in participants attending a cattle veterinary conference in the UK. *PLoS ONE* 2013;**8**(7): e68463.

(15) **Holden MT, Hsu LY, Kurt K, *et al*.** A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. *Genome Res* 2013; **23:**653– 64

(16) **Schmidt VM, Williams NJ, Pinchbeck G, *et al*.** Antimicrobial resistance and characterisation of staphylococci isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. *BMC Vet Res* 2014;**10**:17 doi:10.1186/1746-6148-10-17.

(17) **Davis JA, Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, *et al*.** Carriage of methicillin-resistant staphylococci by healthy companion animals in the US. *Lett Appl Microbiol* 2014;**59**:1-8

(18) **Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, *et al.*** Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2010;**65** (6):1145-54

(19) **Loeffler A, Boag AK, Sung J, *et al.*** Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005;**56:**692–7

(20) **Weese JS, Faires M, Rousseau J, *et al.*** Cluster of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a small animal intensive care unit. *J Am Vet Med Assoc* 2007;**231:**1361–4.

(21) **Vincze S, Stamm I, Kopp PA, *et al.*** Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010-2012. *PLoS One* 2014;**9**(1): e85656

(22) **Strommenger B, Kehrenberg C, Kettlitz C, *et al.*** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. *J Antimicrob Chemother* 2006;**57:**461–5.

(23) **Ferreira JP, Anderson KL, Correa MT, *et al.*** Transmission of MRSA between companion animals and infected human patients presenting to outpatient medical care facilities. *PLoS One* 2011;**6:**e26978.

(24) **Rutland BE, Weese JS, Bolin C, *et al.*** Human-to-dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2009;**15**:1328 –30.

(25) **Nienhoff U, Kadlec K, Chaberny IF, *et al.*** Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between humans and dogs: two case reports. *J Antimicrob Chemother* 2009;**64**(3):660-2

(26) **Scott GM, Thomson R, Malone-Lee J, *et al.*** Cross infection between animals and man: possible feline transmission of *Staphylococcus aureus* infection in humans? *J Hosp Infect* 1988;**12:**29–34

(27) **Manian FA.** Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clin Infect Dis* 2003;**36:**e26–e28.

(28) **Baptiste KE, Williams K, Willams NJ, *et al.*** Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. *Emerging Infect Dis* 2005;**11**:1942–4.

(29) **Leonard FC, Markey BK.** Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *Vet J* 2008;**175**(1):27-36

(30) **Suthar N, Roy S, Call DR, *et al.*** An individual-based model of transmission of resistant bacteria in a veterinary teaching hospital. *PLoS One.* 2014;**9**(6):e98589

Revues de la littérature

Paterson GK, Harrison EM, *et al.* The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2014;**22**(1):42-7.

Anstead GM, Cadena J, Javeri H. Treatment of infections due to resistant *Staphylococcus aureus*. *Methods Mol Biol* 2014;**1085**:259-309.

Boyen F, Smet A, Hermans K, *et al.* Methicillin resistant staphylococci and broad-spectrum β-lactamase producing *Enterobacteriaceae* in horses. *Vet Microbiol* 2013;**167**(1-2):67-77

Cain CL. Antimicrobial resistance in staphylococci in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2013;**43 (**1):19-40

Petinaki E, Spiliopoulou I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts. *Clin Microbiol Infect* 2012;**18** (7):626-34

Johnson AP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. *J Antimicrob Chemother* 2011;**66** Suppl 4:iv43-iv48

Loeffler A, Lloyd DH. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community? *Epidemiol Infect* 2010;**138** (5):595-605

Weese JS, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol* 2010;**140** (3-4):418-29

Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother* 2008;**62** (6):1181-7

Autres publications identifiées

LoPinto AJ, Mohammed HO, Ledbetter EC. Prevalence and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* in dogs with keratitis. *Vet Ophthalmol* 2014 Aug 13. doi: 10.1111/vop.12200.
Présence de staphylocoques résistants à la méticilline dans 24 % environ des souches isolées dans des cas de kératite ; la profession des propriétaires (milieu vétérinaire ou hospitalier) était un facteur de risque.
Gold RM, Cohen ND, Lawhon SD. Amikacin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J Clin Microbiol* 2014;**52** (10):3641-6
Les souches de Staphylococcus pseudintermedius résistantes à la méticilline sont plus fréquemment résistantes à l'amikacine.
Becker K, Ballhausen B, Köck R, *et al.* Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: The "mec alphabet" with specific consideration of mecC, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *Int J Med Microbiol* 2014 Jun 28. pii: S1438-4221(14)00076-9. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.06.007.
Une revue sur les caractéristiques de biologie moléculaire des SARM insistant sur mecC (le récent homologue du gène mecA).

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de veille scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 25 • Décembre 2014
Notes d'actualité scientifique

Qualité des milieux

Détermination des effets épigénétiques liés à l'exposition aux polluants de l'air

Période : avril 2014 à août 2014

Marie-Cécile CHALBOT et Ilias KAVOURAS | **mchalbot@uams.edu**

Université de l'Arkansas pour les Sciences Médicales – Santé Environnementale et Professionnelle – Little Rock – États-Unis

Mots-clés : **épigénétique, exposition prénatale, métaux, méthylation, particules fines, polluants organiques persistants, trafic**

Les modifications épigénétiques sont des liaisons covalentes effectuées sur la chromatine(1) formant l'ADN, qui se maintiennent lors de la division cellulaire (1-3). Le mécanisme épigénétique le plus étudié concerne la méthylation du Carbone 5 de résidus Cytosines (5-mC) au niveau des dinucléotides CpG. L'état de méthylation de l'ADN influe sur la structure et la stabilité de la chromatine(1), ainsi que sur l'expression des gènes. Les expositions environnementales à des produits toxiques peuvent induire des modifications épigénétiques en interagissant avec les enzymes responsables de la méthylation de l'ADN. Les recherches en épidémiologie épigénétique tendent à montrer que des marques épigénétiques peuvent moduler le risque ou la sévérité d'une maladie, et être utilisés comme marqueurs de certains cancers ou d'exposition (4-8). Les trois articles analysés dans cette note présentent des études épigénétiques portant sur les modifications de la méthylation de l'ADN liées à la pollution. Les deux premiers articles portent sur l'effet de l'exposition aux particules de l'air et la troisième sur l'effet de l'exposition prénatale aux polluants organiques persistants (POP).

Les influences épigénétiques sur les associations entre la pollution de l'air et la fonction respiratoire chez des hommes âgés : l'étude normative du vieillissement.

Lepeule J, Bind MAC, Baccarelli AA, Koutrakis P, Tarantini L, Litonjua A, Sparrow D, Vodkonas P, Schwartz JD. Epigenetic influences on associations between air pollution and lung function in elderly men: the normative aging study. *Environ Health Perspect* 2014;**122** (6):566-72.

Résumé

La fonction respiratoire est généralement diminuée chez les personnes âgées (9). L'exposition aux polluants de l'air peut entraîner une diminution significative de la fonction respiratoire chez ces personnes (10). Des changements de méthylation de certains gènes de l'inflammation et de la fonction respiratoire chez les personnes âgées ont été associés aux marqueurs de la fonction respiratoire (CVF(2) et VEMS(3))(11). L'article de Lepeule *et coll.* étudie si des changements dans la méthylation de l'ADN a un effet sur la réponse respiratoire à la pollution. Les mesures ont été faites sur une cohorte de 776 personnes âgées de sexe masculin vivant à Boston (âge moyen 72,3 ± 6,8 ans) lors d'une à quatre visites médicales entre 1999 et 2009 (au total 1515 visites). La méthylation (concentration des 5-mC) de 9 gènes exprimés dans les leucocytes et liés à la fonction respiratoire, l'inflammation et le stress oxydatif a été mesurée. Les effets de chaque polluant sur la fonction respiratoire (Carbone élémentaire (CE, marqueur du trafic), $PM_{2,5}$(4), CO, O_3 et NO_2) ont été estimés pour plusieurs fenêtres d'exposition allant de quatre heures à vingt-huit jours, sur chaque indicateur de santé respiratoire (CVF(2) ou VEMS(3)). Les modèles ont également été ajustés en fonction des paramètres obtenus à chaque visite médicale (asthme, maladies respiratoires et cardiovasculaires, niveau d'études, tabagisme). Puis l'effet possible des taux de méthylation (élevé ou faible) fut déterminé dans les différents modèles obtenus pour une exposition cumulée de vingt-huit jours. Les concentrations ambiantes en CE et $PM_{2,5}$(4), vingt-quatre heures avant les visites médicales (moyenne des 1515 mesures) étaient relativement faibles (moyenne de 0,9±0,4 et 11±7 µg/m³ respectivement). Cette étude a déterminé qu'une augmentation d'un écart interquartile (IQR) lors d'une exposition subchronique de trois à vingt-huit jours cumulés, est associée avec une diminution de CVF(2) et VEMS(3) qui varie de 1 à 5 % selon le polluant. Cette association était plus forte chez les participants ayant un faible taux de méthylation en position 2 et 5 du gène *TLR2*(5), ou un fort taux de méthylation du gène *GCR*(6). Les taux de méthylation des autres gènes n'avaient pas d'effet sur cette association.

Commentaire

Cette étude a montré que certaines marques épigénétiques ont un impact sur la fonction respiratoire et peuvent moduler les effets de la pollution. Cette étude ne tient pas compte de la variation des $PM_{2,5}$(4) en fonction du temps qui a pu diminuer entre le début et la fin de l'étude. Or, une détérioration moins importante de la fonction respiratoire qui a lieu avec l'âge a été associée à une diminution des concentrations en PM_{10}(7) suite aux politiques de réduction des émissions (12). Une autre étude a montré qu'une exposition aux polluants ($PM_{2,5}$(4), NO_2 and O_3) lorsque l'indice de qualité de l'air est modéré entraîne une diminution de la fonction respiratoire par rapport à une exposition lorsque l'indice est bon (13). L'étude analysée ici montre que l'exposition aux polluants, même en quantité faible, sur une durée de plusieurs jours jusqu'à presque un mois, entraîne une diminution de la

fonction respiratoire. Ceci s'explique car les $PM_{2,5}$[4] sont émis principalement par le trafic dans cette étude et affectent particulièrement la fonction respiratoire. Cette diminution est plus importante quand les taux de méthylation de certains gènes sont modifiés (hyperméthylation ou hypométhylation) et sont des marqueurs potentiels pour mesurer le degré de susceptibilité d'un individu à la pollution de l'air.

Altération de la méthylation de séquences répétées en tandem et concentrations en composés élémentaires des particules de l'air inhalables

Hou L, Zhang X, Zheng Y, Wang S, Dou C, Guo L, Byun HM, Motto V, McCracken J, Diaz A, Kang CM, Koutrakis P Bertazzi PA, Li J, Schwartz JD, Baccarelli AA. Altered methylation in Tandem Repeat Element and elemental component levels in inhalable air particles. *Environ Mol Mutagen* 2014;**5**(3):256-65

Résumé

L'exposition aux particules de l'air est associée à un risque accru de développement de cancer du poumon. Lors d'études *in vivo* sur des tissus cancéreux, des modifications de l'état de méthylation de séquences répétées en tandem[8] localisées près de gènes codants ont été observées. D'autre part, des études d'exposition au travail ont montré que l'exposition à des concentrations importantes de particules (PM_{10}[7] moyen de 233 µg/m³ pendant trois jours) entraîne une modification de la méthylation de gènes suppresseurs de tumeurs (14). L'article de Hou *et coll.* porte sur une cohorte de soixante chauffeurs routiers et de soixante employés de bureau à Pékin. L'objectif est de déterminer s'il existe une corrélation entre l'exposition des particules et la méthylation de séquences répétées en tandem[8] *D4Z4*[9], *NBL2*[10] et *SAT*α[11], dont les changements de méthylation ont été liés au cancer. Les participants ont eu deux visites médicales espacées d'une à deux semaines avec une prise de sang à chaque visite. Les $PM_{2,5}$[4] ont été prélevées à l'aide d'échantillonneurs personnels portés huit heures pendant le travail, les deux jours d'observation. Les 2 groupes présentent des caractéristiques similaires d'âge moyen (30,3 ± 8,0 et 33,5 ± 5,7 ans chez les chauffeurs et les employés de bureau respectivement), de sexe (quarante hommes et vingt femmes pour chaque groupe), et de niveau d'éducation. Les routiers sont exposés en moyenne à 126,8 ± 68,8 µg/m³ de $PM_{2,5}$[4], et les employés de bureau à 94,6 ± 64,9 µg/m³ de $PM_{2,5}$[4]. Les concentrations en composés minéraux mesurés dans les $PM_{2,5}$ (Al, Si, S, K, Ca, Ti, Fe, Zn) étaient également supérieures chez les routiers. La méthylation moyenne des séquences étudiées ne diffère pas significativement entre les deux cohortes étudiées, car les deux populations sont exposées à des concentrations comparables de $PM_{2,5}$. Les associations entre une augmentation de 10 % de la concentration de chaque minéral et la méthylation des séquences ont été estimées en prenant en compte la concentration en $PM_{2,5}$[4] (facteur confondant potentiel) et d'autres facteurs confondants (âge, sexe, BMI et tabagisme). Cette étude a montré que la méthylation de *NBL2*[10] est directement associée aux concentrations de Si (0,12, $IC_{95\%}$ = [0,03 ;0,212) et Ca (0,065, $IC_{95\%}$ = [0,014 ;0,115] chez les routiers, tandis que la méthylation de *SAT*α[11] est directement associée aux concentrations de S (0,015, $IC_{95\%}$ = [0,034 ;0,196] chez les employés de bureau.

Commentaire

Cette étude a montré qu'une augmentation de l'exposition de certains minéraux présents dans les particules fines induit une augmentation de la méthylation de séquences répétitives en tandem spécifiques. D'une part, Ca et Si (traceurs des poussières de la route) sont associés à *NBL2*[10] chez les routiers qui sont particulièrement exposés aux poussières de la route remises en suspension. Les poussières de la route sont identifiées ici comme élément important de la toxicité des particules à considérer en santé publique et professionnelle. Les émissions des pots d'échappement, les débris de pneu, les traces de frein modifient la composition chimique des poussières du sol sur les routes. D'autre part, les employés de bureau présentent une hyperméthylation de *SAT*α[11] due à une exposition au soufre, émis lors de la combustion du charbon. Les routiers sont également exposés à cette pollution, mais aucun effet n'est observé chez eux, ce qui tend à montrer que l'effet épigénétique induit par le soufre serait masqué par l'effet de l'exposition aux poussières de la route. Enfin, les routiers sont exposés à une concentration en $PM_{2,5}$ plus grande par rapport aux employés de bureau, mais présentent des taux de méthylation similaires. Lors d'une autre étude (15) il a été montré que la méthylation de *SAT*α[11] est diminuée en prenant en compte la masse totale des $PM_{2,5}$[4] et PM_{10}[7]. Les effets épigénétiques observés sont donc liés à la composition chimique des particules.

Effet de l'âge, du sexe et des polluants organiques persistants sur la méthylation de l'ADN chez l'enfant

Huen K, Yousefi P, Bradman A, Yan L, Harley KG, Kogut K, Eskenazi B, Holland N. Effect of age, sex and persistent organic pollutants on DNA methylation in children. *Environ Mol Mutagen* 2014;**23**(3):209-22.

Résumé

La méthylation des éléments nucléaires intercalés courts (Alu[12]) ou longs (LINE-1[13]) est souvent étudiée pour élucider le mécanisme du cancer, car elles représentent 50 % de la méthylation globale du génome (16). Les polluants organiques persistants (POP) tels que les organochlorés, PCB ont été associés à des changements dans la méthylation de ces séquences (17). L'article de Huen *et coll.* porte sur la cohorte mère-enfant CHAMACOS dans une zone rurale de Californie et étudie l'exposition prénatale aux POPs mesurée dans le sérum maternel à la fin de la grossesse et la méthylation des séquences Alu[12] et LINE-1[13] chez des nouveau-nés et des enfants de neuf ans. Les POPs étudiés sont trois organochlorés (2DDT[14] et 1DDE[15]) et quatre congénères de PBDE[16]. 134 enfants ont eu une prise de sang à la naissance et à l'âge de neuf ans, 112 enfants ont eu une prise de sang à la naissance uniquement, et 112 enfants à neuf ans uniquement. Les

associations entre exposition aux POPs et méthylation ont été estimées en tenant compte de l'âge, du sexe, de la formulation sanguine en globules blancs, et des interactions possibles entre DDT[14]/DDE[15] et PBDE[16]. Les auteurs ont trouvé d'une part que la méthylation des séquences Alu[12] et LINE-1[13] est plus faible à l'âge de neuf ans par rapport à la naissance, et d'autre part ces séquences sont plus méthylées chez les garçons que chez les filles. Des associations significatives ont été observées entre exposition forte au DDT[14] et DDE[15] et une perte de méthylation à la naissance pour la séquence Alu, avec un coefficient β de -0,37 ($IC_{95\%}$ = [-0,69;-0,05]) pour *o,p'*-DDT[14], et de -0,33 ($IC_{95\%}$ = [-0,64;-0,01]) pour *p,p'*-DDE[15]; entre méthylation de LINE-1[13] et co-exposition avec *o-p'*-DDT[14] et PBDE[16] (β = 0,70, $IC_{95\%}$ = [-0,19;1,59], et co-exposition avec *p,p'*-DDE[15] et PBDE[16] (β = 0,82, $IC_{95\%}$ = [-0,03;1,67]). Pour finir, en stratifiant, les auteurs ont observé une hypométhylation de LINE-1[13] lors d'une exposition faible en *p,p'*-DDE[15] et forte en PBDE[16], et une hyperméthylation lors d'une exposition forte en *p,p'*-DDE[15] et PBDE[16]. Chez les enfants de neuf ans, aucune association n'a été trouvée.

Commentaire

Cette étude a mis en évidence une association entre la méthylation de Alu et une augmentation de l'exposition à *o,p'*-DDT[14] et *p,p'*-DDE[15], en ajustant le modèle en fonction de la nature des globules blancs. Il a en effet déjà été montré que la méthylation est différente selon le type de tissu (11). Cette étude montre aussi une différence de méthylation entre les filles et les garçons, et en fonction de l'âge. Cette notion est déjà connue mais n'avait pas été auparavant caractérisée chez les enfants. Des associations ont été trouvées avec la méthylation de LINE-1[13] seulement dans le cas de co-expositions, *o-p'*-DDT[14] et PBDE[16] d'une part, *p,p'*-DDE[15] et PBDE[16] d'autre part. Ces résultats, en accord avec d'autres études (18), indiquent que la méthylation d'Alu[12] et de LINE-1[13] sont indépendantes et ont une susceptibilité différente suite à une exposition de polluants. Les associations ont également été mises en évidence uniquement à la naissance donc ne sont pas stables dans le temps, ce qui n'exclut pas que d'autres associations peuvent exister en mesurant l'exposition aux POP pendant l'enfance, ce que les auteurs se proposent d'étudier par la suite. Les enfants sont fortement exposés aux PBDE[16], car ces retardateurs de flamme sont largement utilisés dans les produits pour enfants (vêtements, matelas, couvertures, et autres). Les enfants de cette cohorte sont également exposés à de fortes concentrations en pesticides. L'exposition aux métaux, aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et autres polluants serait également à prendre en compte, pour estimer au mieux les expositions environnementales des enfants et leur influence sur l'épigénome.

Conclusion générale

Récemment, des études *in vitro* d'exposition environnementale ou professionnelle ont lié exposition à des polluants de l'air et changements épigénétiques. L'épidémiologie épigénétique est une discipline émergente qui peut expliquer l'effet d'une exposition environnementale sur des maladies telles que asthme, maladies cardiovasculaires, respiratoires, et cancer. Cette note porte sur trois études reliant la méthylation de l'ADN, mécanisme épigénétique le plus souvent étudié, et l'exposition aux polluants environnementaux. Elles apportent des éléments de réponse à différentes questions sur l'impact des altérations épigénétiques sur le risque de maladies, et identifient les gènes pouvant être des biomarqueurs potentiels de maladies ou d'exposition. Le premier article porte sur une cohorte de personnes âgées qui, bien que subissant une faible exposition aux polluants ($PM_{2,5}$[4]), a une fonction respiratoire diminuée, mais cette diminution est moindre lorsque certains gènes sont hyperméthylés. La deuxième étude relie hyperméthylation de séquences répétitives en tandem liées au cancer, NBL2[10] et SATα[11], et la composition en métaux et minéraux des particules fines inhalées, en particulier Ca, Si et S. La séquence hyperméthylée n'est pas la même selon la nature de l'exposition. La troisième étude montre une association entre modification de la méthylation des séquences Alu[12] et LINE-1[13] chez les nouveau-nés et exposition prénatale aux POP (DDT[14], DDE[15] et PBDE[16]). Ces deux dernières études portent sur des cohortes ayant une forte exposition aux polluants. Il ressort de cette note que, si d'autres associations peuvent être montrées (en étudiant d'autres polluants ou différents constituants des particules de l'air par exemple, et d'autres marqueurs d'exposition épigénétiques), il existe un besoin de recherche pour démontrer que les modifications épigénétiques nouvellement caractérisées et liées à une exposition environnementale sont un facteur de risque de maladies.

General conclusion

Recently, in vitro studies, environmental or occupational exposure have linked exposure to air pollutants and epigenetic changes. Epigenetic epidemiology is an emerging discipline that can explain the effect of environmental exposure on diseases such asthma, cardiovascular and respiratory diseases, and cancer. This paper discusses three studies linking DNA methylation, epigenetic mechanism most often studied, and exposure to environmental pollutants. They provide answers to various questions about the impact of epigenetic changes on the risk of disease, and to identify genes that may be potential biomarkers of disease or exposure. The first article deals with a cohort of people who, although having low exposure to pollutants (PM2.5) has a lung function decreased, but the decrease is less when certain genes are hypermethylated. The second study connects hypermethylation of repetitive sequences in tandem related cancer, NBL2 and SATα, and the composition of metals and inorganic fine particles inhaled, especially Ca, Si and S. The hypermethylated sequence is not the same depending on the nature exposure. The third study shows an association between change in methylation of Alu and LINE-1 sequences in newborn and prenatal exposure to POP (DDT, DDE, and PBDE). These last two studies focus on cohorts with high exposure to pollutants. It appears from this note that if other associations can be shown (by studying other pollutants or different components of air particles for example, and other epigenetic markers exposure), there is a need for research to show whether epigenetic modifications newly characterized and linked to environmental exposure is a risk factor for disease.

Lexique

(1) Chromatine : Structure nucléoprotéique constitutive de l'ADN dont l'état de condensation varie.
(2) CVF : Capacité vitale forcée ou volume expiratoire mesuré après une expiration forcée après inspiration maximale.
(3) VEMS1 : Volume expiratoire maximal seconde, mesuré à la première seconde après une expiration rapide et forcée.
(4) $PM_{2,5}$: Particules de diamètre aérodynamique inférieur à 2,5 µm.
(5) *TLR2* : Gène codant pour le récepteur Toll-like 2, impliqué dans la réponse inflammatoire
(6) *GCR* : Gène codant pour le récepteur des Glucocorticoïdes impliqué dans la réponse inflammatoire
(7) PM_{10} : Particules de diamètre aérodynamique inférieur à 10 µm.
(8) Séquences répétées en tandem : Séquences d'ADN de 5 à quelques milliers de bases qui se répètent de façon adjacente à différents endroits du génome (Séquence satellite)
(9) D4Z4 : Séquence macrosatellite de 3,3 kb répétée en tandem (11 à 100 copies) située sur la région subtélomérique des chromosomes 4 et 10 (extrémité des bras longs).
(10) *SAT*α : Séquence satellite de 170 paires de bases répétées un très grand nombre de fois et situées dans les régions centromériques des chromosomes.
(11) *NBL2* : Séquence satellite de 1,4 kb répétées un très grand nombre de fois et situées dans les chromosomes acrocentriques.
(12) Alu : Séquence répétée de 300 paires de bases (de 300 000 à 900 000 copies) dispersée dans le génome des mammifères.
(13) LINE-1 : Séquence répétée de 6,5 kb (de 20 000 à 50 000 copies) dispersée dans le génome des mammifères.
(14) DDT : Dichlorodiphényl trichloroéthane, pesticide banni en 1972 mais utilisé au Mexique jusqu'en 2000 pour lutter contre le paludisme.
(15) DDE : Dichlorodiphényl dichloroéthylène, produit de la décomposition du DDT
(16) PBDE : Polybromodiphényléthers, retardateurs de flammes, présents dans les produits textiles, les plastiques, les appareils électroniques, et les produits automobiles.
(17) Boîte Forkhead FOXP3 : Facteur de transcription régulant l'expression des lymphocytes T régulateurs qui ont une action immunosuppressive.

Publications de référence

(1) **Portela A, Esteller M.** Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotech* 2010;**28**(10):1057-68.
(2) **O'Hagan HM, Tang WY.** Increased understanding of the impact of environmental exposures on the epigenome. *Environ Mol Mutagen* 2014;**55**(3):151-4.
(3) **Freil R, Fraga MF.** Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nature Rev Gen* 2012;**13**:97-109
(4) **Bakulski KM, Fallin MD.** Epigenetic epidemiology: promises for public health research. *Environ Mol Mutagen* 2014;**55**(3):171-83.
(5) **Sakai E, Nakajima A, Kaneda A.** Accumulation of aberrant DNA methylation during colorectal cancer development. *World J Gastroenterol* 2014;**20**(4):978-87.
(6) **Joubert BR, Haberg SE, Nilsen RM, *et al.*** 450k epigenome-wide scan identifies differential DNA methylation in newborns related to maternal smoking during pregnancy. *Environ Health Perspect* 2012;**120**:1425-31.
(7) **Yang M, Park JY.** DNA methylation in promoter region as biomarkers of prostate cancer. *Methods Mol Biol* 2012;**863**:67-109
(8) **Perera F. Tang WE, Herbstman J, *et al.*** Relation of DNA Methylation of 5'-CpG Island of ACSL3 to Transplacental Exposure to Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Childhood Asthma. *PLoS ONE* 4(2):e4488.
(9) **Vaz Fragoso CA, Gill TM.** Respiratory impairment and the aging lung: a novel paradigm for assessing pulmonary function. *J Gerontol Biol Sci Med Sci* 2012;**67A**(3):264-75.

(10) **Lee JT, Son JY, Cho YS.** The adverse effect of fine particle air pollution on respiratory function in the elderly. *Sci total Environ* 2007;**385**(1-3):28-36.
(11) **Lepeule J, Baccarelli A, Tarantini L, *et al.*** Gene promoter methylation is associated with lung function in the elderly. *Epigen* 2012;**7**(3):261-9.
(12) **Downs SH, Schindler C, Liu LJ, *et al.*** Reduced exposure to PM10 and attenuated age-related decline in lung function. *N Engl J Med* 2007;**357**:2338–47.
(13) **Rice MB, Ljungman PL, Wilker EH, *et al.*** Short-Term Exposure to Air Pollution and Lung Function in the Framingham Heart Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;**188**(11) :1351-7
(14) **Hou L, Zhang X, Tarantini L.** Ambient PM exposure and DNA methylation in tumor suppressor genes: a cross-sectional study. *Part Fiber Toxicol* 2011;**8**
(15) **Guo L, Byun HM, Zhong J, *et al.*** Effects of short-term exposure to inhalable particulate matter on DNA methylation of tandem repeats. *Environ Mol Mutagen* 2014;**55**:322-35.
(16) **Neale RE, Clark PJ, Fawcett J, *et al.*** Association between hypermethylation of DNA repetitive elements in white blood cell DNA and pancreatic cancer. *Cancer epidemiol* 2014; **S1877-7821** (14):146-5.
(17) **Rusicki JA, Baccarelli A, Bolatti V, *et al.*** Global DNA methylation is associated with high serum-persistent organic pollutants in Greenlandic Inuit. *Environ Health Perspect* 2008;**116**:1547-52
(18) **Baccarelli A, Bollati V.** Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr* 2009;**21** (2):243-51

Revues de la littérature

Klingbeil EC, Hew KM, Nygaard, UC *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons, tobacco smoke, and epigenetic remodeling in asthma. *Immunol Res* 2014;**58**:369-73

Autres publications identifiées

Guo L, Byun HM, Zhong J, *et al.* Effects of short-term exposure to inhalable particulate matter on DNA methylation of tandem repeats. *Environ Mol Mutagen* 2014;**55**:322-35.
Cette étude porte sur l'exposition aux $PM_{2,5}$ et PM_{10} et la méthylation des séquences répétées en tandem SATα, NBL2 et D4Z4, sur la cohorte de 60 routiers et 60 employés de bureau de Pékin décrite dans l'analyse de la 2e publication sélectionnée. Une exposition à la fois aux $PM_{2,5}$ et PM_{10} entraîne une perte de méthylation des séquences répétées SATα. Cet effet est plus prononcé chez les routiers. D'autre part, l'exposition aux PM_{10} est associée à une perte de méthylation de NBL2 chez les routiers, mais pas les employés de bureau. Le fait que la méthylation des séquences en tandem SATα et NBL2 soit négativement associée à l'exposition aux PM, mais positivement associée à l'exposition aux métaux des $PM_{2,5}$ (publication sélectionnée 2) indique une spécificité de l'exposition.
Hew KM, Walker AI, Kohli A, *et al.* Childhood exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons is linked to epigenetic modifications and impaired systemic immunity in T Cells. *Clin Exp Allergy* 2014, doi: 10.1111/cea.12377
Sur une cohorte de 256 enfants et jeunes adultes (10 à 21 ans dont 85 asthmatiques et 171 non asthmatiques), une association entre exposition aux HAP ambiants (particules et gazeux) plus importante que la normale et une augmentation de la méthylation de la boîte Forkhead FOXP317, entraînant une diminution de l'expression de la protéine FOXP3, a été observée chez les enfants ayant de l'asthme.
Fry RC, Rager JE, Bauer R, *et al.* Air toxics and epigenetic effects: ozone altered microRNAs in the sputum of human subjects. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014;**306**:L1129-L1137.
Cet article présente les effets épigénétiques (expression des miARN) suite à une exposition à l'ozone en conditions contrôlées par analyse des expectorations provenant des voies aériennes centrales (trachée et grosses bronches), car l'ozone diffuse préférentiellement pendant un effort physique dans les voies respiratoires centrales. 20 adultes en bonne santé ont été exposés à 0,4 ppm d'ozone pendant 2 heures, en faisant de l'exercice pendant 4 fois 15 minutes. Les expectorations sont recueillies après inhalation d'une solution hypertonique à l'aide d'un nébuliseur pendant 21 minutes. L'exposition à l'ozone induit une augmentation significative de l'expression de 10 miARN. Des analyses de prédiction in silico ont déterminé que ces miARN et les ARN des gènes qu'ils ciblent sont impliqués dans dix fonctions biologiques et constituent les signatures de maladies, dont l'inflammation et des maladies immunitaires.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Nouvelles stratégies de dépollution *in situ* de sols contaminés par des métaux, à l'aide de techniques biologiques

Période : avril 2014 à août 2014

Thierry LEBEAU | **thierry.lebeau@univ-nantes.fr**

Université de Nantes – LPG-Nantes, UMR 6112 CNRS – Nantes – France

Mots-clés : **bioaugmentation, biodisponibilité, cadmium, champignons mycorhiziens, gestion des risques, métaux, nickel, phytoremédiation, sol, vers de terre**

Alors que la gestion *ex situ*(1) de sols pollués, appliquée le plus souvent aux pollutions ponctuelles(2), s'appuie sur différentes méthodes efficaces et bien décrites (essentiellement physico-chimiques) (1), il n'en va pas de même pour les pollutions diffuses(3) qui touchent, notamment, les sols à usage agricole. Dans ce contexte, seule une gestion *in situ* est envisageable. Il est en effet économiquement inconcevable d'excaver le sol sur de grandes surfaces et ce, d'autant plus qu'il s'agit d'une ressource non renouvelable. Il convient donc de ne pas la gaspiller au regard des besoins mondiaux en sol (en particulier pour l'agriculture), tout sol une fois excavé devenant par ailleurs un déchet.

La phytoremédiation est une technique prometteuse pour la dépollution *in situ* des sols modérément pollués par des métaux, mais les résultats parfois décevants d'expériences au champ (5) et la durée des traitements freinent encore aujourd'hui son utilisation à grande échelle. Il est en effet inconcevable d'immobiliser des surfaces productives pendant parfois plusieurs dizaines d'années, durée nécessaire à la dépollution des sols, bien qu'il ne soit pas concevable non plus d'autoriser des cultures sur des sols pollués à moins de limiter le choix des plantes cultivées à celles qui n'accumulent pas les métaux indésirables.

Deux approches, qui peuvent se compléter, font actuellement l'objet de recherches pour lever ce verrou technologique. Il s'agit d'une part de réduire la durée du traitement, objet de cette présente note, en augmentant la fraction de métal mobilisable par la plante à un instant donné et en améliorant les performances d'extraction des métaux par les plantes. D'autre part, et de manière complémentaire, il est possible de co-cultiver dans le cas de sols agricoles, des plantes dépolluantes tout en maintenant certaines cultures alimentaires (plantes pas ou peu accumulatrices) (6), en prenant soin de vérifier que les teneurs en métaux dans les parties consommées ne dépassent pas les teneurs maximales autorisées.

Les deux articles présentés portent sur deux démarches proposant d'améliorer la technique de phytoremédiation. Le premier compare une monoculture à des cultures associées de plantes hyperaccumulatrices. Le second teste la stratégie de bioaugmentation(4) du sol qui peut être associée à la phytoextraction (3). Le plus souvent testée avec les bactéries et des champignons mycorhiziens, cette méthode expérimente depuis quelques années l'effet des vers de terre (2,4).

Effet de la composition de la couverture en plantes hyperaccumulatrices et des bactéries associées à la rhizosphère, sur l'efficacité de l'extraction du nickel du sol

Lucisine P, Echevarria G, Sterckeman T, Vallance J, Rey P, Benizri E. Effect of hyperaccumulating plant cover composition and rhizosphere-associated bacteria on the efficiency of nickel extraction from soil. *Appl Soil Ecol* 2014;**81**:30-6

Résumé

Les plantes sélectionnées en phytoextraction sont la plupart du temps utilisées en monoculture. Pourtant d'autres systèmes de culture existent qui, en modifiant les communautés microbiennes de la rhizosphère, sont susceptibles d'augmenter le niveau d'extraction des métaux par les plantes. Dans ce travail, un couvert végétal associant trois plantes hyperaccumulatrices de nickel a été testé sur un sol naturellement riche en nickel (Ni). Il s'agit de *Leptoplax emarginata*, *Noccaea tymphaea* et *d'Alyssum murale*. Ces plantes ont été cultivées séparément (monocultures) et en association (co-cultures) en mésocosmes(5), dans des conditions contrôlées pendant 92 jours. Les résultats montrent que *L. emarginata* et *A. murale* produisent plus de biomasse en co-culture qu'en monoculture. La biomasse microbienne est plus importante dans le cas d'une co-culture, et la nature du couvert végétal (plantes hyperaccumulatrices en monoculture *vs*. co-culture) influence significativement la structure de la communauté bactérienne de la rhizosphère. En revanche, la concentration en Ni accumulé dans les parties aériennes des plantes et la quantité de Ni (produit de la concentration en métal et de la biomasse végétale) ne change pas lorsqu'une monoculture est remplacée par une co-culture. L'analyse des teneurs en Ni du sol extractible à l'acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA)(6) ne change pas avec ou sans couvert végétal, quel que soit le système de culture.

Commentaire

Ce travail présente l'intérêt de tester des co-cultures de plantes hyperaccumulatrices alors que la quasi-totalité des recherches portent sur des monocultures. Même si l'association de plantes proposée n'a pas augmenté la quantité de nickel accumulé dans les parties aériennes, l'augmentation de biomasse microbienne semble avoir augmenté la biomasse végétale de la co-culture, bien qu'aucune donnée n'ait été réellement montrée par les auteurs (idem pour les analyses de la structure de la communauté bactérienne), ce qui laisse toutefois espérer que ce type d'association végétale soit bénéfique dans le cas de couplages bioaugmentation-phytoextraction, technique prometteuse (3) dont la preuve du concept en conditions réelles de terrain n'est pas encore faite. Malheureusement, cette étude ne permet pas de conclure sur ce point, au regard de l'analyse des interrelations entre la structure de la communauté des bactéries rhizosphériques, leurs fonctions et l'impact sur les performances de phytoextraction du Ni. Par exemple, une corrélation significative existe entre le nombre de bactéries cultivables du sol (mais pas le carbone microbien) et la quantité de Ni dans les plantes (Tableau 3), qui devrait se traduire, puisque la biomasse microbienne est supérieure en co-culture à celle des monocultures (données non montrées), par une augmentation sensible de la quantité de Ni accumulé par la co-culture (Figure 1). Or, aucune différence significative n'est mise en évidence.

La fraction du Ni du sol extraite au DTPA-TEA[6] (dite « bioaccessible ») et donc susceptible d'être absorbée par la plante, ne montre aucune différence significative de concentration, que le sol soit nu ou cultivé, ce qui est surprenant. Une analyse de la spéciation chimique[7] complète du Ni devrait permettre de mieux distinguer les différentes phases du sol sur lesquelles se fixe le métal et de mieux évaluer son potentiel à être absorbé par la plante mais aussi son potentiel de lessivage. Ces données sont essentielles à une meilleure évaluation des risques et à leur gestion. Il est en effet indispensable, dans le cas de la phytoextraction, de mesurer non seulement l'accumulation des métaux indésirables dans les parties récoltables (essentiellement les parties aériennes) mais aussi de considérer l'impact de la phytoextraction sur la spéciation des métaux dans le sol. Car augmenter la mobilité d'un métal dans le sol pour augmenter son absorption par la plante peut aussi se traduire par un risque de lessivage en profondeur, bien que l'on puisse raisonnablement admettre que la fraction mobile du métal qui ne serait pas absorbée par la plante se fixera à nouveau sur les différentes phases du sol.

Enfin, ce concept de co-cultures pourrait être étendu à la problématique des pollutions inorganiques mixtes (plusieurs métaux), cas le plus fréquent dans les sols pollués, en associant les espèces végétales les plus performantes pour chacun des métaux considérés, en prenant garde d'associer des espèces écologiquement compatibles.

Influence de la co-inoculation de vers de terre et de mycorhizes sur la spéciation du Cd dans un sol contaminé

Aghababaei F, Raiesi F, Hosseinpur A. The influence of earthworm and mycorrhizal co-inoculation on Cd speciation in a contaminated soil. *Soil Biol Biochem* 2014;**78:** 21-9.

Résumé

L'expérience vise à comprendre le rôle de vers de terre (*Lumbricus rubellus* L.) et de champignons mycorhiziens à arbuscules[9] (*Glomus intraradices* et *Glomus mosseae*), considérés séparément ou simultanément, sur la spéciation du Cd dans un sol calcaire artificiellement contaminé par cet élément (10 et 20 mg Cd kg^{-1} de sol).

Les résultats montrent qu'en présence de vers de terre introduits dans le sol (bioaugmentation), la fraction non-résiduelle[8] du Cd augmente (respectivement de 10 %, 37 % et 10 % pour le Cd échangeable, le Cd lié à la fraction organique du sol et le Cd lié à la fraction inorganique du sol, respectivement) tandis que la fraction résiduelle[8] diminue de 9,6 %. À l'inverse, l'inoculation du sol avec les champignons mycorhiziens augmente cette fraction résiduelle et diminue le Cd associé à la fraction organique du sol. L'ajout combiné de ces deux organismes ne montre aucun effet d'interaction sur la fraction non résiduelle du Cd. En revanche, il est observé une interaction additive de l'introduction des deux organismes dans le sol sur le Cd de la fraction résiduelle du sol lorsque le cadmium est présent à la concentration de 10 mg Cd kg^{-1} dans le sol. Cette interaction est négative lorsque le cadmium est présent à la concentration de 20 mg Cd kg^{-1}. Globalement, ces résultats ne montrent aucun intérêt d'associer les vers de terre et les champignons mycorhiziens en phytoextraction du Cd puisque chacun modifie indépendamment de l'autre la spéciation du Cd du sol. Ainsi, seul l'effet des vers de terre doit être considéré, aussi bien dans la perspective d'améliorer les performances de phytoextraction que dans une démarche d'évaluation des risques de mobilisation du Cd et de contamination de l'hydrosphère.

Enfin, la masse de vers de terre diminue de 26 % pour 10 mg Cd kg^{-1} de sol et de 39 % pour 20 mg de Cd kg^{-1} de sol mais les vers de terre accumulent plus de Cd à 20 qu'à 10 mg Cd kg^{-1} de sol. Le facteur de bioaccumulation[10] est plus faible à la plus forte concentration en Cd du sol.

Commentaire

L'intérêt de l'étude porte sur deux aspects : 1) l'effet combiné des vers de terre et des champignons mycorhiziens à arbuscules sur la spéciation du Cd des sols alors les précédentes études ne s'attachent pas à préciser les interactions possibles (2, 4) et 2) dans la pratique de gestion des sols pollués, il est potentiellement intéressant d'associer ces deux organismes, les vers de terre augmentant la fraction bioaccessible des métaux pour accroître les performances de phytoremédiation ; les champignons mycorhiziens à arbuscules protégeant la plante de la toxicité des métaux.

Les résultats obtenus doivent être vérifiés, en conditions réelles. En effet, le sol a été artificiellement contaminé par Cd,

bien qu'il ait été mis à équilibrer pendant quatre mois pour atténuer l'effet du prélèvement, tamisage, etc. En revanche, sa stérilisation, pour éliminer tout champignon autres que ceux étudiés (bioaugmentation), a probablement altéré certaines caractéristiques du sol (plus particulièrement celle de la matière organique) et donc modifié la spéciation du Cd. Par ailleurs, d'un point de vue microbiologique, la structure des communautés microbiennes est très certainement différente de celle naturellement présente dans le sol (stérilisation du sol ensuite réensemencé uniquement par la communauté bactérienne). Le pH très élevé du sol (8,1) et son effet direct sur la spéciation du Cd et/ou indirect *via* les vers de terre et les champignons mycorhiziens à arbuscules doit aussi nous faire relativiser les résultats en termes de transposition à d'autres sols à pH plus bas, ce qui pourrait se traduire par des pourcentages plus élevés de Cd échangeable et facilement mobilisable par les organismes vivants. Plus généralement, selon les caractéristiques du sol, l'origine de la pollution, les différences physiologiques et écologiques des différentes espèces de vers de terre et aussi des protocoles de spéciation utilisés, l'impact des vers de terre sur la spéciation des métaux du sol peut différer.

Enfin, l'utilisation des vers de terre en association avec la phytoextraction est un moyen d'améliorer les performances de cette technique de dépollution grâce à l'augmentation de la fraction du Cd du sol mobilisable par la plante. En parallèle, des expériences doivent évaluer le risque potentiel de lessivage du Cd du sol.

Conclusion générale

La phytoextraction doit, pour être crédible en dépollution des sols, gagner en efficacité et les durées de traitement être raccourcies. De nouvelles stratégies émergent en recherche : l'utilisation de co-cultures de plantes hyperaccumulatrices et l'association de la bioaugmentation (microorganismes, microfaune) à la phytoextraction. Il s'agit en particulier de modifier la forme chimique des métaux du sol pour les rendre plus facilement mobilisables, et en plus grande quantité, par les plantes afin d'augmenter les performances de phytoextraction. Ces nouvelles méthodes de dépollution, dites « douces », sont amenées à se développer et à compléter les autres méthodes pour la gestion (réduction) des risques des sols pollués par des contaminants inorganiques. Une attention particulière devra être portée au risque de lessivage des métaux mobiles qui n'auraient pas été prélevés par la plante.

General conclusion

Phytoextraction used in soil remediation, must, to be credible, improve in its efficiency and in the duration of the treatment. New research strategies are emerging: use of co-cultures with hyperaccumulating plants and association of bioaugmentation (microorganisms, microfauna) with phytoextraction. It intends to change the chemical form of soil metals to make them more available, and in larger quantities for plants, in order to improve the phytoextraction performances. These new "gentle" methods should develop and complement other methods used to manage (to reduce) the risks in soils polluted by inorganic contaminants. A special attention should be given to the risk of mobile metals leaching which would have not been taken by the plant.

Lexique

(1) Gestion *ex situ* des sols pollués : Sols excavés puis traités en dehors du site de prélèvement.

(2) Pollution ponctuelle : pollution circonscrite à de petites surfaces mais dont les teneurs en contaminants sont le plus souvent élevées.

(3) Pollution diffuse : pollution affectant des surfaces étendues mais dont les teneurs en contaminants sont le plus souvent modérées.

(4) Bioaugmentation : microorganismes ou microfaune sélectionnés à partir d'échantillons environnementaux, cultivés en masse *ex situ et* inoculés dans le sol d'origine ou dans un autre sol.

(5) Mésocosme : lieu confiné et contrôlé ou semi-contrôlé où un expérimentateur peut faire varier tout ou partie des paramètres du milieu.

(6) Acide diéthylène triamine penta acétique : extractant chimique de l'ensemble des fractions mobiles et mobilisable des métaux.

(7) Spéciation chimique : distinction entre les différentes formes de liaisons possibles de l'élément (métal) considéré dans un environnement donné. Les analyses de spéciation se basent sur l'utilisation d'extractants de force croissante.

(8) fraction non-résiduelle *vs* résiduelle : la fraction résiduelle en métal n'est pas mobilisable alors que la fraction non-résiduelle l'est plus ou moins. Les différentes fractions reposent sur les analyses de spéciation chimique.

(9) Champignons mycorhiziens à arbuscules : champignons symbiotiques de plantes. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (structures ramifiées des hyphes) colonisent environ 80 % des plantes vasculaires terrestres.

(10) Bioaccumulation : capacité des organismes à absorber et concentrer certaines substances chimiques dans tout ou partie de leur organisme. Dans l'article, il s'agit du rapport de la concentration en Cd dans les vers de terre rapportée à la concentration en Cd du sol.

Publications de référence

(1) **Ademe**. Taux d'utilisation et coûts des différentes techniques et filières de traitement des sols et des eaux souterraines polluées en France, synthèse des données 2010. 2012, 26 p.

(2) **Jusselme MD, Poly F, Miambi E, *et al.*** Effect of earthworms on plant Lantana camara Pb-uptake and on bacterial communities in root-adhering soil. *Sci Total Environ* 2012;**416:**200-7.

(3) **Lebeau T, Braud A, Jézéquel K.** Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: a review. *Environ Poll* 2008;**153:**497-522.

(4) **Ruiz E, Rodríguez L, Alonso-Azcárate J.** Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. *Chemosphere* 2009;**75:**1035-41.

(5) **Vangronsveld J, Herzig R, Weyens N, *et al.*** Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ Sci Pollut Res Int* 2009; **16:**765-94.

(6) **Wu QT, Wei ZB, Ouyang Y.** Phytoextraction of metal-contaminated soil by *Sedum Alfredii* H: Effects of chelator and co-planting. *Water Air Soil Poll* 2007;**180:**131-9.

Revues de la littérature

Sessitsch A, Kuffner M, Kidd P, *et al.* The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biol Biochem* 2013; **60:** 182-94.

Autres publications identifiées

Du YL, He MM, Xu M, *et al.* Interactive effets between earthworms and maize plants on the accumulation and toxicity of soil cadmium. *Soil Biol Biochem* 2014;**72:**193-202.
La présence de vers de terre dans un sol cultivé avec du maïs augmente la mobilité et la biodisponibilité du Cd mais réduit les teneurs en Cd dans les racines et n'augmente pas celles des tiges et des feuilles. La présence de maïs réduit la toxicité du Cd vis-à-vis des cocons de vers de terre, l'accumulation de Cd, et empêche une réduction de leur biomasse individuelle. En présence de vers de terre, les biomasses racinaires et aériennes ne sont pas modifiées. La présence de vers de terre affecte la structure de la communauté bactérienne du sol avec un nombre d'espèces plus important. Cette différence est amplifiée en présence de Cd.

Leveque T, Capowiez Y, Schreck E, *et al.* Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environ Pollut* 2014;**191:**199-206.
L'article étudie l'effet de l'activité des vers de terre sur le transfert de Cd et Pb du sol vers la plante (laitue). Les vers de terre augmentent le pH du sol, la macroporosité et la teneur en matière organique issue de la transformation de la paille de blé. Leur activité a pour conséquence d'augmenter la concentration en Cd et Pb dans les laitues (jusqu'à 46 %). Elle ne s'explique pas (résultat majeur de cette étude) par l'action des vers de terre sur les métaux extraits au $CaCl_2$ et à l'EDTA mais par la bioturbation du sol.

Quartacci MF, Micaelli F, Sgherri CB. *Brassica carinata* planting pattern influences phytoextraction of metals from a multiple contaminated soil. *Agrochimica* 2014;**58**:77-89.
Un sol polycontaminé (Cu, Mn, Pb, Mn) est traité par phytoextraction avec Brassica carinata en mono-culture, en co-culture avec de l'orge ou en rotation avec cette même plante. Les deux dernières modalités sont les plus intéressantes : teneurs en métaux extractibles du sol et dans les parties aériennes de B. carinata plus élevées en particulier pour la rotation. Les exsudats racinaires de cette association végétale augmentent la solubilité des métaux du sol et contribuent à améliorer la technique de phytoextraction sans avoir recours aux complexants chimiques.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Estimation de l'impact sanitaire d'une source environnementale à l'aide de prélèvements environnementaux de l'habitat (poussières/sol/air/eau)

Période : avril 2014 à août 2014

Muriel MAZZUCA | **muriel.mazzuca@univ-lille2.fr**

PRES Lille Nord de France – UDSL – EA 4483 Impact de l'Environnement Chimique sur la Santé Humaine – Lille – France

Mots-clés : **enfants, évaluation des risques, exposition, identification des sources, métaux lourds, poussières, sol**

L'estimation de l'impact sanitaire lié à la proximité d'une source de contamination est une démarche difficile à mettre en œuvre. En effet, celle-ci, pour être la plus fidèle possible à la situation étudiée, doit intégrer un grand nombre de données, notamment environnementales, qui se traduisent par des prélèvements de différents compartiments comme le sol, l'eau, l'air et les poussières. Afin de comprendre la complexité des mécanismes de transferts entre ces compartiments et l'Homme, certains auteurs multiplient les modes d'échantillonnages et leurs nombres tandis que d'autres se cantonnent à l'utilisation de la modélisation à l'aide des résultats issus de ces prélèvement pour tenter de caractériser l'impact d'une source de pollution sur la santé humaine.
C'est ainsi que, dans le premier article, Gulson *et coll*. tentent de montrer l'influence des transferts entre différents compartiments de l'habitat sur l'imprégnation des enfants au plomb et au manganèse, ainsi que celle de la distance des voies de circulation et du temps. Dans le deuxième article, Barbieri *et coll*. s'attachent à identifier des liens entre les poussières intérieures de l'habitat et l'imprégnation d'enfants à sept métaux dans deux contextes environnementaux distincts tandis que Getaneh *et coll*., dans le dernier article, utilisent leurs résultats environnementaux pour alimenter un modèle d'estimation de l'imprégnation au plomb. Ainsi, différentes approches peuvent être employées pour tenter de comprendre quels sont les facteurs de risque les plus pertinents à prendre en compte pour estimer l'impact sanitaire d'une pollution environnementale.

Observations des voies d'exposition au Pb et au Mn dans une étude longitudinale de cinq ans chez des jeunes enfants et mesures environnementales en milieu urbain

Gulson B, Mizon K, Taylor A, Korsch M, Davis JM, Louie H, Wu M, Gomez L, Antin L. Pathways of Pb and Mn observed in a 5-year longitudinal investigation in young children and environmental measures from an urban setting. *Environ Pollut* 2014;**191**:38-49

Résumé

Les poussières de maison jouent un rôle important dans l'imprégnation des enfants par les métaux (1-3). Les concentrations en métaux de ces poussières peuvent être mesurées à partir de prélèvements réalisés à l'aide d'aspirateur ou par l'utilisation de lingettes humides (4, 5), mais il existe également des méthodes qui intègrent l'accumulation des métaux au fil du temps, comme les bacs (6) ou les boites de Pétri (7). Les auteurs ont cherché à évaluer la modification de la contamination de l'environnement et de l'exposition des jeunes enfants au plomb et au manganèse, d'une part, suite à l'introduction du MMT[1] en 2001 et de son arrêt d'utilisation en 2004, et d'autre part, suite à la suppression du plomb dans l'essence en 2002, en Australie. Les objectifs étaient 1) de définir les sources et les voies d'exposition du plomb et du manganèse, 2) d'évaluer l'impact de l'introduction du MMT et de la suppression du plomb dans l'essence en comparant les concentrations en métaux dans le sang des enfants et dans les prélèvements environnementaux en fonction de la distance aux voies de circulation et du temps, et 3) d'en déduire l'influence du trafic automobile.
Les données présentées dans cet article incluent les échantillonnages de sol, de poussières déposées sur les surfaces extérieures (béton, briques, pavés), de poussières intérieures et extérieures recueillies sur boîtes de Pétri, de poussières présentes sur les mains des enfants avant et après avoir joué à l'extérieur de la maison et de sang. Ceux-ci sont accompagnés d'un questionnaire actualisé à chaque recueil, relatif à l'adresse du lieu de résidence, sa proximité par rapport au trafic, son état, son âge et à l'exposition des enfants aux métaux.
Les résultats montrent une diminution progressive de la plombémie[2] des enfants au cours des cinq dernières années en lien avec l'élimination du plomb dans l'essence en 2002 (8). Néanmoins, il n'existe pas de relation significative entre les teneurs en plomb et en manganèse dans les prélèvements environnementaux et la proximité de la circulation. Cependant, il existe une association légèrement significative entre la plombémie des enfants, les teneurs en plomb dans les poussières intérieures et dans les sols. Les concentrations en plomb dans les poussières recueillies par lingettes sur les mains des enfants avant et après avoir joué à l'extérieur sont significativement corrélées à celles des poussières intérieures et celles des sols.

Les auteurs suggèrent que l'utilisation des boîtes de Pétri pour le recueil des poussières intérieures et extérieures peut être un bon indicateur pour évaluer l'accumulation de plomb dans l'habitat. Après une étude détaillée de la littérature, ils indiquent que leurs résultats corroborent ceux déjà démontrés comme les relations avérées entre les concentrations en métaux dans l'environnement et les niveaux d'imprégnation, mais de façon plus faible (9, 10).

Commentaire

Les travaux de Gulson *et coll.* s'appuient sur plus de 7 000 prélèvements, recueillis tous les six mois de juillet 2001 à juillet 2006, auprès de 108 enfants âgés de moins de huit ans, vivant à différentes distances des grandes voies de circulation de Sydney et de sa banlieue. Ces prélèvements visent à caractériser la contamination de l'environnement des enfants par plusieurs métaux et ce, en utilisant des techniques classiques, comme le balayage pour le recueil de poussières, mais aussi plus innovantes, comme le recueil de poussières sur les mains des enfants ou celui sur des boîtes de Pétri qui permet d'intégrer une dimension temporelle liée à l'accumulation des poussières. À noter que les prélèvements de poussières sur les mains des enfants devraient intégrer la même notion de temps passé à l'extérieur avant et après le recueil des poussières ce qui permettrait d'établir une comparaison entre plusieurs groupes d'enfants en lien avec la distance à la circulation.

Cette publication décrit les résultats englobant la période sur cinq ans pour le plomb et manganèse et concerne plus spécifiquement les données relatives aux poussières. En raison des effets limités observés pour le manganèse et de l'intérêt général accru pour le plomb, les auteurs signalent que l'accent a été mis plus fortement sur le plomb. La moyenne géométrique des plombémies des enfants âgés de 0,5 à 2 ans, est égale à 27 µg/L, soit un niveau comparable à celui observé en Australie après la suppression du plomb dans l'essence. Cette moyenne est inférieure au seuil de recommandations de 50 µg/L fixé par le CDC[3] (11, 12) et récemment préconisé par le HCSP[4] en France (13). La moyenne géométrique des teneurs en manganèse dans le sang des enfants de l'échantillon est de 10 µg/L, celle-ci est en dessous de la valeur recommandée pour les adultes non exposés au manganèse. En outre, compte tenu des techniques innovantes de prélèvements, certains résultats environnementaux ne peuvent être comparés à ceux de la littérature.

Même si les auteurs n'observent pas de liens forts entre la contamination de l'environnement des enfants et les données biologiques et ne montrent pas l'influence de l'introduction puis de la suppression du MMT dans l'environnement, cette étude n'a pas d'équivalent dans la littérature car elle emploie des recueils de prélèvements inhabituels (poussières sur les mains des enfants) et en intégrant une dimension temporelle (boite de Pétri) avec un grand nombre prélèvements environnementaux représentatifs de l'habitat.

Pollution métallique intérieure et exposition des enfants dans une ville minière

Barbieri E, Fonturbel FE, Herbas C, Barbieri FL, Gardon J. Indoor metallic pollution and children exposure in a mining city. *Sci Total Environ* 2014;**15** (487):13-9.

Résumé

Les sites industriels et notamment les sites miniers peuvent être à l'origine d'une pollution environnementale par les éléments traces métalliques[5] (ETM), susceptibles d'atteindre l'environnement intérieur des résidences situées à proximité, notamment à travers les poussières. En Bolivie, dans la ville minière d'Oruro située dans les Andes, les auteurs ont voulu évaluer les corrélations entre les concentrations en ETM des poussières à l'intérieur des logements et celles mesurées dans les cheveux des enfants. Ces associations ont été comparées dans deux contextes de contamination différents (zone minière urbaine *versus* zone de banlieue non minière), en prenant en compte le comportement des enfants et d'autres déterminants pouvant avoir un impact sur leurs expositions. Des enfants âgés de sept à douze ans scolarisés dans cinq écoles maternelles de la ville d'Oruro ont participé à l'étude (14). Ainsi, 61 échantillons de cheveux d'enfants et 56 échantillons de poussières de maisons situées en secteur minier urbain ont été comparés à 52 échantillons de cheveux d'enfants et 41 échantillons de poussières de maisons situées en banlieue non minière.

Les premières analyses indiquent qu'il existe des corrélations significatives entre les concentrations en métaux présents dans les cheveux et les poussières intérieures pour l'arsenic (As), le plomb (Pb) et l'antimoine (Sb), dans la zone minière mais que celles-ci n'existent pas dans la zone de banlieue. L'analyse canonique des corrélations[6] (ACC) a confirmé l'existence de fortes corrélations entre les concentrations en ETM des échantillons de cheveux et de poussières intérieures au niveau du district minier. En revanche, elles ont montré que celles-ci sont moins fortes pour les oligo-éléments (Cu, Zn) par rapport aux autres ETM (As, Cd, Pb, Sb et Sn). L'analyse des déterminants des niveaux d'imprégnation des enfants résidant dans la zone minière, montre qu'outre la présence de poussières contaminées dans le logement, le genre et certains comportements sont associés aux concentrations en ETM mesurées dans les cheveux. Plus précisément, l'exposition de l'enfant est plus élevée si celui-ci joue avec de la terre (Pb, Sb et Cu), s'il porte ses mains ou ses jouets à sa bouche (Cd) et s'il est de sexe masculin (Cd). Certains facteurs socio-économiques et environnementaux, tels que l'absence de routes goudronnées ou de revêtements sur les murs et les sols des maisons, pourraient contribuer à la surexposition de la population du district minier, par une accumulation plus grande des poussières dans le logement.

Commentaire

Les auteurs ont choisi d'utiliser les cheveux comme matrice pour caractériser l'exposition des enfants à sept ETM. Ce choix inhabituel est justifié par son caractère non invasif qui a incité les parents à autoriser leur enfant à participer

à l'étude. De même, la présentation des résultats issus du balayage en concentrations massiques pour caractériser le degré de contamination des poussières intérieures au plomb est également assez atypique dans ce type d'études qui ont tendance à privilégier des concentrations surfaciques de plomb. Le choix de ces indicateurs, même s'ils permettent d'aboutir aux objectifs fixés par les auteurs, est assez regrettable car il rend difficile les comparaisons avec les données d'autres études ainsi qu'avec des données de référence. De plus, il est regrettable que les auteurs ne mentionnent aucune précision concernant les modalités de prélèvements des poussières (balai, aspirateur, lingette ?) et des cheveux (lavés, non lavés ?) alors que celles-ci figurent dans d'autres articles. Les auteurs auraient également pu aller plus loin dans leur démarche en caractérisant les poussières extérieures des logements et leur sol afin d'établir une meilleure comparaison entre les deux zones étudiées en fonction de la distance avec le site minier. Ainsi, d'autres liens auraient pu ressortir entre ces compartiments, notamment en ce qui concerne la zone de banlieue non minière sur laquelle aucune corrélation n'a pu être établie.

Néanmoins, les conclusions obtenues confirment les résultats de la littérature concernant l'impact du comportement de l'enfant sur son degré d'exposition (1, 2), même si il n'y a pas eu d'ajustement sur l'âge des enfants.

Exposition et évaluation du risque sur la santé liée à la présence de plomb dans les communautés de la ville de Jimma, Ethiopie du sud-ouest

Getaneh Z, Mekonen S, Ambelu A. Exposure and health risk assessment of lead in communities of Jimma town, southwestern Ethiopia. *Bull Environ Contam Toxicol* 2014;**93** (2):245-50.

Résumé

Les auteurs évaluent le risque sanitaire de la population de Jimma, exposée au plomb, à l'aide du modèle IEUBK[7] (15) qui permet d'estimer les plombémies attendues chez les enfants et les adultes, à partir de données d'exposition environnementale. La ville de Jimma, située au sud-ouest de l'Ethiopie, présente une forte densité de population et un nombre important de sources d'émission de plomb, notamment liées à l'utilisation d'essence plombée (trafic automobile et stations service) et de canalisations d'eau en plomb. Les auteurs ont divisé la ville en quatre zones dans lesquelles, pour chacune, ils ont effectué vingt prélèvements d'eau du robinet, vingt prélèvements d'air et vingt prélèvements de sol. Ils ont également réalisé ces mêmes prélèvements dans un village de référence, situé près de Doyo, à 20 km de Jimma, dans lequel il n'existe pas de source anthropique de plomb.

La comparaison des résultats des prélèvements issus des quatre zones de Jimma avec ceux du village de référence, indique que la ville de Jimma présente des concentrations en plomb dans le sol, l'air et l'eau, significativement plus élevées que le village de référence. Dans la ville de Jimma, toutes les concentrations en plomb dans l'eau sont supérieures à la valeur recommandée par l'OMS[8], fixée à 10 µg/L de plomb dans l'eau (16). De plus, toutes les concentrations en plomb dans l'air dépassent également la norme de qualité de l'air ambiant de 0,15 µg/m^3, fixée par l'US EPA[9] (17). En ce qui concerne les sols, les concentrations en plomb observées sont, pour la plupart, en dessous du seuil réglementaire fixé à 400 mg/kg par l'US HUD[10] (5). La concentration maximale mesurée dans le sol est néanmoins de 635,3 mg/kg. La zone n° 4, qui comporte une forte densité de trafic automobile ainsi que de nombreux garages et stations service, présente des concentrations en plomb significativement plus élevées dans l'eau, le sol et l'air, par rapport à celles des trois autres zones.

Les auteurs concluent que la présence de tuyaux en plomb dans le réseau d'acheminement de l'eau pourrait être responsable de la contamination de l'eau par le plomb étant donné que plus la distance par rapport au site de traitement augmente, plus la contamination de l'eau est importante. La contamination de l'air serait liée à l'augmentation du trafic automobile dans certaines zones de la ville, notamment dans la zone n° 4.

Après la prise en compte des données d'exposition environnementale recueillies dans le cadre de cette étude, les auteurs indiquent que le risque pour la santé des adultes vis-à-vis du plomb semble écarté (indice de risque égal à 0,37), tandis que chez les enfants, celui-ci semble avéré (indice de risque égal à 1,41). L'intégration de ces données d'exposition dans le modèle IEUBK montre que 7,51 % des enfants pourraient avoir une plombémie supérieure à 100 µg/L, seuil de déclaration du saturnisme infantile.

Commentaire

Afin de réaliser une évaluation du risque sanitaire lié à l'exposition au plomb de la population de la ville de Jimma, en Ethiopie, les auteurs ont mesuré les concentrations en plomb dans différents compartiments de l'environnement (eau, air, sol) afin de les inclure dans le modèle IEUBK. Cependant, aucune donnée relative à l'alimentation ou aux poussières n'a été collectée et utilisée dans ce modèle, ce qui pourrait sous-estimer le risque d'exposition de la population, compte tenu du degré de contamination de la ville mis en évidence.

Les auteurs ne s'interrogent pas sur les liens qui pourraient exister entre les compartiments de l'environnement et les sources potentielles de plomb présentes dans la ville. Aucune recherche n'a été réalisée pour identifier de façon spécifique les sources de pollution et leur mode de transfert dans l'environnement et vers la population.

Cette analyse de risque calculée reste alors plutôt basique comparée aux autres études présentées mais demeure une première étape pour estimer le risque sanitaire de la population de Jamma vis-à-vis du plomb tout en considérant les moyens du pays. Elle pourrait être complétée par des mesures environnementales plus nombreuses, et enrichies par des analyses de poussières et/ou des données relatives à l'alimentation, pour une utilisation plus adaptée et plus fine du modèle, ce qui permettrait de confirmer ces premières observations. Le cas échéant, un dépistage du saturnisme infantile semble indispensable au vue du niveau de pollution mis en évidence et des résultats issus du modèle IEUBK.

Conclusion générale

La caractérisation d'un impact sanitaire lié à une contamination environnementale repose sur l'obtention de données quantitatives qui doivent permettre d'identifier les principaux facteurs de risque d'exposition de la population. L'identification de ces facteurs s'appuie sur l'évaluation de l'exposition de la population et se traduit par des enquêtes de terrain pour quantifier les concentrations en polluants dans divers compartiments de l'environnement. Un grand nombre de prélèvements est nécessaire pour obtenir une bonne estimation de la contamination l'environnement et de l'imprégnation des populations. Ainsi, les trois articles présentés tentent de caractériser les teneurs en métaux présents dans l'habitat de populations soumises à une pollution. Ceci se traduit par l'échantillonnage de différents compartiments environnementaux domestiques (sol, poussières, air, eau) en utilisant des techniques de prélèvements diverses qui mériteraient d'être harmonisées afin de pouvoir confronter les résultats obtenus. Ces concentrations en métaux sont ensuite comparées à celles relatives à l'imprégnation des populations qui ont été déterminées sur des échantillons biologiques différents (sang, cheveux) ou modélisés en fonction des moyens matériels disponibles et de façon éthique. Les résultats des trois articles montrent qu'il existe une augmentation de l'imprégnation des populations lorsque celles-ci vivent à proximité d'une source de pollution, qui se traduit par une augmentation des concentrations en métaux à l'intérieur des habitats. Ces résultats pourraient être complétés par l'étude des phénomènes complexes des transferts entre ces compartiments et la population. C'est à partir de la comparaison de l'ensemble de ces données que des facteurs de risque pourraient être identifiés et qu'ainsi des plans de prévention pourraient être mis en place de manière efficace.

General conclusion

Characterization of a related environmental contamination health impact based on obtaining quantitative data should identify the main risk factors for population exposure. Identifying these factors relies on the exposure assessment of the population and results in field surveys to quantify the concentrations of pollutants in various environmental compartments. A large number of samples are required to obtain a good estimate of the environmental contamination and the impregnation of the populations. It is also desirable to identify relevant risk factors, understand the complexity of the phenomena of transfer between compartments and population. This is from the comparison of all the data that risk factors can be identified and thus prevention plans can be implemented efficiently.

Lexique

(1) MMT : Méthylcyclopentadiényle tricarbonyle de manganèse principalement utilisé comme additif dans les carburants.
(2) Plombémie : Taux de plomb dans le sang mesuré sur sang veineux exprimé en µg/L de sang total. Cette mesure du taux de plomb dans le sang permet d'évaluer les niveaux d'imprégnation d'un individu au plomb.
(3) CDC : Centers for Disease Control and Prevention (Centre américain pour le Contrôle et la Prévention des Maladies).
(4) HCSP : Haut Conseil de la Santé Publique
(5) ETM : Eléments Traces Métalliques, comme le fer, le plomb, le mercure, le chrome, le cuivre, l'étain, le cadmium, l'argent, le zinc, le titane, l'or, le nickel...
(6) ACC : Analyse Canonique des Corrélations qui permet de comparer deux groupes de variables quantitatives appliqués tous deux sur les mêmes individus.
(7) IEUBK : Integrated Exposure Uptake Biokinetic (IEUBK), développé par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis, permet d'estimer à partir d'une série d'équations, la concentration de plomb sanguin en fonction de l'exposition au plomb par l'air, les aliments, l'eau ou les poussières
(7) OMS : Organisation Mondiale de la Santé
(8) US EPA : United States Environmental Protection Agency (Agence de Protection de l'Environnement des Etats Unis)
(9) US HUD : United States Housing and Urban Development (Département du logement et du développement urbain des États-Unis)

Publications de référence

(1) **Bornschein RL, Succop P, Dietrich KN, *et al.*** The influence of social and environmental factors on dust lead, hand lead and blood lead levels in young children. *Environ Res* 1985;**108**:108-18.
(2) **Lanphear BP, EmondM, Jacobs DE, *et al.*** A side-by-side comparison of dust collection methods for sampling lead-contaminated house-dust. *Environ Res* 1995;**68**:114-23
(3) **Mielke HW, Laidlaw MA, Gonzales C**. Lead (Pb) legacy from vehicle traffic in eight California urbanized areas: continuing influence of lead dust on children's health. *Sci Total Environ* 2010;**408**(19):3965-75.
(4) **US EPA** (United States Environmental Protection Agency), Lead-Based Paint Poisoning - Prevention in Certain Residential Structures Code of Federal Regulations. 2000;**24**:312-3
(5) **US HUD** (United States Housing and Urban Development). National Survey of Lead and Allergens in Housing, Final Report. Analysis of Lead Hazards, Office of Lead Hazard Control, U.S. Department of Housing and Urban Development, Vol. 1, 2001
(6) **Van Alphen MA.** Atmospheric heavy metal deposition plumes adjacent to a primary lead-zinc smelter. *Sci Total Environ* 1999;**236**:119-34
(7) **Gulson B, Korsch M, Matisons M, *et al.*** Windblown lead carbonate as the main source of lead in blood of children from a seaside community: an example of local birds as "canaries in the mine". *Environ Health Perspect* 2009;**117**:148-54

(8) **Gulson B, Mizon K, Taylor A, *et al.*** Longitudinal monitoring of selected elements in blood of healthy young children. *J Trace Elem Med Biol* 2008;**22**(3):206-14.
(9) **Zahran S, Mielke HW, McElmurry SP, *et al.*** Determining the relative importance of soil sample locations to predict risk of child lead exposure. *Environ Int* 2013;**60**:7-14.
(10) **Oulhote Y, LeTertre A, Etchevers A, *et al.*** Implications of different residential lead standards on children's blood lead levels in France: predictions based on a national cross-sectional survey. Int J Hyg *Environ Health* 2013;**216**(6):743-50.
(11) **Centers for Disease Control and Prevention and Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention.** Low level lead exposure harms children: a renewed call for primary prevention http://www.cdc.gov/nceh/lead/ACCLPP/Final_Document_030712.pdf 2012
(12) **Centers for Disease Control and Prevention National Center for Environmental Health.** http://www.cdc.gov/nceh/lead/ 2012
(13) **Haut conseil de la santé publique** (HCSP) Expositions au plomb : détermination de nouveaux objectifs de gestion ; *Collection avis et rapport* - 101 pp *www.hcsp.fr* - juin 2014
(14) **Barbieri FL, Cournil A, Souza Sarkis JE, *et al.***. Hair trace elements concentration to describe polymetallic mining waste exposure in Bolivian Altiplano. *Biol Trace Elem Res* 2011;**139**:10-23.
(15) **White PD, Van Leeuwen P, Davis BD, *et al.*** The conceptual structure of the integrated exposure uptake biokinetic model for lead in children. *Environ Health Perspect* 1998;**106**(6):1513-30
(16) **WHO** (World Health Organization) Guidelines for drinking-water quality, 3rd edn. WHO, 2006 Geneva
(17) **US EPA** (United States Environmental Protection Agency) National ambient air quality standards for lead; Final rule. *Federal Register* 2008;**73**(219)

Revues de la littérature

Datko-Williams L, Wilkie A, Richmond-Bryant J. Analysis of U.S. soil lead (Pb) studies from 1970 to 2012. *Sci Total Environ* 2014;**468-469**:854-63

Li Z, Ma Z, van der Kuijp TJ, Yuan Z, Huang L. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Sci Total Environ* 2014;**468-469**:843-53

Moya J, Phillips L. A review of soil and dust ingestion studies for children. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2014 Apr 2. doi: 10.1038/jes.2014.17.

Autres publications identifiées

Taylor MP, Winder C, Lanphear BP. Australia's leading public health body delays action on the revision of the public health goal for blood lead exposures. *Environ Int* 2014;**70**:113-7.
Les auteurs cherchent à démontrer que le gouvernement australien doit prendre en compte les différentes études qui démontrent que, dans un environnement où le plomb a été fortement utilisé comme dans certaines villes de l'Australie, l'exposition de la population au plomb ne doit pas être négligée. Aussi, ils encouragent l'Australie à abaisser de toute urgence son niveau d'intervention à 50 µg/L de plomb chez les enfants de moins de cinq ans comme le préconisent le CDC et de nombreuses autres instances de santé internationales.

Yoshinaga J, Yamasaki K, Yonemura A, *et al.* Lead and other elements in house dust of Japanese residences-source of lead and health risks due to metal exposure. *Environ Pollut* 2014;**189**:223-8.
Les concentrations de 25 éléments ont été mesurées dans les poussières de maison prélevées dans 100 résidences japonaises et des analyses factorielles ont été effectuées. Ainsi, plusieurs relations ont pu être mises en évidence entre les métaux et certaines sources de contamination comme les sources de soudures et de plastiques qui peuvent être reliées à des concentrations importantes de plomb dans les poussières. Une estimation des risques sur la santé des enfants a été mise en œuvre sur la base des doses journalières tolérables en métaux et n'a pas montré de risques significatifs pour la plupart des métaux analysés.

Ikegami M, Yoneda M, Tsuji T, *et al.* Effect of Particle Size on Risk Assessment of Direct Soil Ingestion and Metals Adhered to Children's Hands at Playgrounds. *Risk Anal* 2014;**34**:1677-87
Après avoir démontré que seules les particules de petites tailles adhéraient aux mains des enfants et que celles-ci avaient les concentrations les plus élevées en métaux, les auteurs s'interrogent sur le fait de tamiser les sols à 2 mm pour déterminer les concentrations en métaux des sols afin de les intégrer dans des études de risques. Ils évoquent alors une sous-estimation du risque et le fait que la distribution granulométrique des particules dans les sols doit être prise en compte dans ces analyses.

Li Q, Ji H, Qin F, *et al.* Sources and the distribution of heavy metals in the particle size of soil polluted by gold mining upstream of Miyun Reservoir, Beijing: implications for assessing the potential risks. *Environ Monit Assess* 2014;**186**:6605-26
Les exploitations minières en amont du réservoir de Miyun en Chine près de Pékin ont causé une sérieuse contamination des sols de cette région en métaux lourds. Cela est particulièrement vrai pour le Cd, Hg et Pb, dont les concentrations observées sont beaucoup plus élevées que celles du fond géochimique (plus de 30 fois pour le mercure). Les auteurs ont montré que les concentrations en métaux lourds et en matières organiques totales dans les particules de sol augmentent lorsque la taille de ces particules diminue et qu'il existe des corrélations entre la plupart des métaux et les quantités de matières organiques totales et que les concentrations en métaux les plus élevées se situent dans les particules les plus fines. Celles-ci devraient alors être prises en considération dans les évaluations de risque des métaux sur la santé. A noter que les origines des concentrations métalliques ont également été déterminées.

Mielke HW, Gonzales C, Powell E, *et al.* Evolving from reactive to proactive medicine: community lead (pb) and clinical disparities in pre- and post-katrina new orleans. *Int J Environ Res Public Health* 2014;**11**(7):7482-91.
En 2012, le Center for Disease Control (CDC) a fixé la valeur de référence du plomb dans le sang à 50 µg/L. les auteurs ont réalisé des analyses sur les concentrations en plomb dans les poussières et les plombémies des enfants issues d'études réalisées à la Nouvelle Orléans avant et après le passage de l'ouragan Katrina. L'objectif est de vérifier si les teneurs en poussières peuvent être un bon indicateur vis-à-vis de l'exposition des enfants au plomb et d'examiner si le seuil de plomb dans les sols fixé à 400 mg/kg est toujours justifié en termes de prévention des risques.
Chatham-Stephens K, Caravanos J, Ericson B, *et al.* The pediatric burden of disease from lead exposure at toxic waste sites in low and middle income countries. *Environ Res* 2014;**132**:379-83
L'impact de la contamination au plomb sur les enfants liée à des sites de déchets toxiques dans les pays à faible et moyen revenu n'a pas été effectué en raison du manque de données sur leur exposition. Les auteurs ont cherché à calculer cet impact en années de vie ajustées sur l'incapacité, en utilisant le modèle IEUBK (exposition intégrée par absorption biocinétique) et les plombémies des enfants en utilisant les données relatives à la baisse de QI liées à la plombémie.
Kaufman AS, Zhou X, Reynolds MR, *et al.* The possible societal impact of the decrease in U.S. blood lead levels on adult IQ. *Environ Res* 2014;**132**:413-20.
Même s'il est démontré que les niveaux de plomb dans le sang ont diminué de façon très significative aux Etats Unis, l'impact sur le QI n'a pas été réalisé, aussi les auteurs ont cherché à déterminer si le QI moyen des adultes américains, ajusté sur la démographie, a augmenté de façon inversement proportionnelle aux niveaux de plomb en se basant sur l'étude de huit cohortes. Les résultats obtenus suggèrent une augmentation de 4 à 5 points de QI ce qui est conforme aux prédictions même si le plomb n'est pas la seule variable à prendre en compte.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Industrie laitière : de la vache à la fromagerie, identification des tâches générant de fortes quantités de bioaérosols

Période : avril 2014 à août 2014

Anne OPPLIGER | **Anne.Oppliger@hospvd.ch**

Institut Universitaire Romand de Santé au Travail, Université de Lausanne – Epalinges-Lausanne – Suisse

Mots-clés : **agriculture, bioaérosol, estimation de l'exposition, élevage d'animaux, endotoxines**

La France possède le plus grand cheptel bovin d'Europe, dont environ la moitié de vaches laitières (82 000 exploitations de vaches laitières avec 45 vaches en moyenne (RGA 2010, agreste)). La forte densité des animaux, l'utilisation de litière d'origine organique (copeaux de bois, paille), la distribution de fourrage sec (foin, grain) et l'accumulation d'excréments génèrent d'énormes quantités de poussières organiques. De plus, la taille des exploitations a tendance à s'agrandir avec une mise à l'herbe des animaux de moins en moins importante et donc une exposition des travailleurs plus importante à la poussière organique. Cette poussière peut être très riche en endotoxines(1) issues de la membrane cellulaire de certaines bactéries. Les effets sur la santé d'une exposition chronique aux endotoxines sont bien connus et concernent principalement des atteintes du système respiratoire (1-4) ainsi que des atteintes systémiques, avec l'apparition d'un état fébrile, lors d'exposition aiguë à de fortes concentrations. La plupart du temps, les études ayant mesuré l'exposition des fermiers aux endotoxines n'ont pas déterminé précisément quelle(s) tâche(s) spécifique(s) ou quelles caractéristiques de l'élevage étaient associées avec la plus forte exposition. Pourtant, une meilleure identification de ces tâches est essentielle à la mise en place de mesures de prévention ciblée. La première étude présentée a analysé, à l'aide d'outils statistiques performants, les déterminants de l'exposition personnelle à la poussière inhalable et aux endotoxines des travailleurs de fermes de vaches laitières. La seconde étude s'est intéressée à l'exposition aux bioaérosols lors des étapes de maturation du fromage. En effet, celle-ci nécessite l'utilisation délibérée de bactéries et de moisissures spécifiques qui sont facilement aérosolisées. L'exposition des travailleurs à ces microorganismes peut être responsable de maladies respiratoires de type allergique (5-7) dont la maladie des laveurs de fromages.

Facteurs influençant l'exposition à la poussière inhalable et aux endotoxines chez les éleveurs de vaches laitières

Basinas, I, Sigsgaard T, Erlandsen M, Andersen NT, Takai H, Heederik D, Omland O, Kromhout H, Schlünssen V. Exposure-affecting factors of dairy farmers exposure to inhalable dust and endotoxin. *Ann Occup Hyg* 2014;**58**(6):707-23.

Résumé

Le but de cette étude menée au Danemark est d'identifier les tâches et les caractéristiques des exploitations de vaches laitières qui influencent le niveau d'exposition des fermiers aux endotoxines(1) et à la poussière inhalable. Au total, 124 mesures d'exposition personnelle(2) ont été réalisées sur 77 fermiers travaillant dans 26 fermes de tailles variables (42 à 530 animaux) dont une série de mesures en hiver et l'autre en été. Les différentes tâches effectuées (22 en tout), les caractéristiques des étables et des conditions d'hygiène (28 en tout) ont aussi été collectées. Les résultats montrent qu'en moyenne, les fermiers sont exposés à 1 mg/m³ de poussière inhalable et à 360 unités d'endotoxines(1) (UE)/m³. Les facteurs associés à une augmentation significative de l'exposition aux endotoxines sont une température extérieure plus basse et l'utilisation d'un système d'évacuation du purin par gravité ou par système de chasse d'eau. Ces derniers systèmes sont associés à une exposition deux à trois fois plus importante que lors de l'utilisation d'un système d'évacuation par grattoirs ou nettoyage à grandes eaux. Les tâches de préparation et distribution de litière, de traite et de manipulation de nourriture sont aussi associées à une augmentation de l'exposition aux endotoxines. Les tâches qui consistent à replacer les animaux dans leur stalle, à laver les stalles de traite, à réparer les installations et à remplir la grange ou les silos avec les fourrages sont des travaux exposant fortement aux poussières inhalables. L'utilisation d'un système automatique de raclage du sol des allées centrales diminue fortement l'empoussièrement. L'exposition à la poussière est deux fois plus élevée dans les exploitations utilisant un robot de traite. Dans les autres exploitations, l'utilisation de système de distribution de nourriture à l'aide d'un rail augmente l'exposition à la poussière. La tâche qui expose le plus, à la fois aux endotoxines et aux poussières, est la préparation et la distribution de la litière et de l'alimentation.

Dans la discussion, les auteurs soulignent que l'exposition moyenne des fermiers aux endotoxines est quatre fois plus élevée que la valeur limite d'exposition professionnelle (90 UE/m³) proposée par la Hollande (seul pays ayant fixé une valeur limite) et qu'un tiers des fermiers sont aussi exposés à des concentrations de poussières supérieures aux recommandations de ce même pays (1,5 mg/m³).

Commentaire

Les résultats de cette étude sont importants car ils donnent des informations qui vont permettre d'orienter la prévention des risques professionnels. Par exemple, il ressort que des modifications techniques des exploitations (système de traite, de fourragement et d'évacuation du purin) permettent de diminuer les expositions des travailleurs. La mise en évidence d'une forte augmentation de l'exposition à la poussière lors de l'utilisation de robots de traite est intéressante car ces systèmes sont de plus en plus utilisés. Il est important de souligner que cette augmentation n'est pas due au robot lui-même mais au changement organisationnel qu'il engendre. En effet, ce robot permet d'augmenter le nombre d'animaux pris en charge par un travailleur et celui-ci passe davantage de temps à faire des tâches plus exposantes aux poussières.

Estimation de l'exposition aux bioaérosols chez les travailleurs d'une fromagerie française

Simon X, Duquenne P. Assessment of workers' exposure to bioaerosols in a French cheese factory. *Ann Occup Hyg* 2014;**58** (6):677-92.

Résumé

Cette étude a été menée en France dans une usine de maturation de fromage (30 ouvriers). L'inoculation de la flore bactérienne et fongique nécessaire à la maturation des fromages « frais » se fait naturellement au contact de l'atmosphère de la cave où sont entreposés des fromages « mûrs ». Durant cette maturation, les fromages sont lavés avec de la saumure (à la main ou à l'aide d'une machine), brossés ou essuyés et retournés par les ouvriers. Ensuite, les fromages sont transportés dans un autre secteur de l'usine pour être emballés. Les concentrations aéroportées de bactéries, champignons et endotoxines dans les différents secteurs de l'usine ainsi que des expositions personnelles(2) des ouvriers ont été mesurées durant trois jours consécutifs.

Les résultats montrent que, pour les champignons cultivables, les concentrations sont 7 à 15 000 fois plus élevées dans les différents secteurs de l'usine que dans l'air extérieur et l'exposition personnelle des ouvriers est 55 à 180 000 fois plus élevée qu'à l'extérieur. La plupart des espèces ou genres de champignons retrouvés font partie de la flore normale des fromages. La pièce où les fromages sont brossés/retournés contient les plus hautes concentrations ($1{,}1 \times 10^7$ UFC^3/m^3) et les ouvriers y sont les plus exposés ($1{,}5 \times 10^8$ UFC^3/m^3). Les prélèvements personnels des bactéries aéroportées montrent une exposition à des concentrations 1 000 à 5 000 fois plus élevées que celles de l'air extérieur. Concernant les endotoxines, les plus fortes concentrations ont été mesurées dans la pièce où se déroule le nettoyage du matériel et dans la pièce d'emballage avec une moyenne respectivement de 275 et 85 UE/m^3. Les auteurs concluent que l'exposition aux champignons de tous les ouvriers est très importante et dépasse largement toutes les recommandations internationales en vigueur. Dès lors, le risque de problème allergique et/ou toxique est non négligeable chez ces travailleurs.

Commentaire

Malgré le fait qu'une seule usine ait été investiguée avec un nombre assez restreint de prélèvements, cette étude montre que les travailleurs des fromageries sont fortement exposés aux bioaérosols. Les données d'exposition dans ce secteur de travail sont très rares, voire absente pour les expositions personnelles, et ce genre d'étude est absolument nécessaire pour orienter la prévention des risques professionnels. Des études de plus grandes envergures sont nécessaires afin de caractériser de manière plus générale l'exposition des fromagers aux bioaérosols. Il serait intéressant de recueillir des informations sur la présence ou l'absence de symptômes respiratoires chez ces ouvriers.

Conclusion générale

Ces deux études apportent des connaissances nouvelles sur les déterminants de l'exposition aux bioaérosols dans l'industrie laitière et elles proposent, toutes les deux, des pistes pour une prévention ciblée (améliorations techniques ou port de protections respiratoires lors de tâches spécifiques). L'une a identifié précisément les déterminants de l'exposition aux poussières organiques et aux endotoxines dans les exploitations laitières et l'autre a mis en évidence une exposition majeure à des champignons lors de certaines tâches dans une usine de maturation de fromages. Des études épidémiologiques sont nécessaires pour faire le lien entre les expositions mesurées et les effets sur la santé, et des propositions de valeurs limites d'exposition professionnelle spécifiques à chaque secteur de travail pourraient alors en découler.

General conclusion

These two studies provide new insights into the determinants of exposure to bioaerosols in the dairy industry and they both offer avenues for targeted prevention (technical improvements or use of respiratory protection during specific tasks). One identified precisely the determinants of exposure to organic dusts and endotoxin in dairy farms and the other showed a significant exposure to fungi in certain tasks in a cheese maturation manufactory. Epidemiological studies are needed to make the connection between measured exposures and health effects, and proposed occupational exposure limit values specific to each work area could then be obtained.

Lexique

(1) Endotoxines : Lipopolysaccharides (LPS) présents dans la membrane externe de la plupart des bactéries à GRAM négatif. Les endotoxines sont libérées lors de la multiplication des bactéries et lors de leur lyse. Elles peuvent être attachées

à d'autres éléments de la membrane bactérienne comme des protéines. Les endotoxines peuvent avoir un effet pyrogène (provoquant de la fièvre) et leur inhalation peut être à l'origine de symptômes respiratoires (toux, dyspnée).

(2) Prélèvement personnel : Prélèvement d'air réalisé sur un travailleur dans la zone de respiration. Ceci permet d'avoir une bonne estimation de l'exposition personnelle de l'individu.

(3) UFC : Unité formant colonie. C'est l'unité de mesure utilisée pour la quantification des bactéries ou champignons cultivables.

Publications de référence

(2) **Donham KJ, Reynolds SJ, Whitten P, *et al*.** Respiratory dysfunction in swine production facility workers: dose-response relationship of environmental exposures and pulmonary function. *Am J Ind Med* 1995;**27**:405-18.

(3) **Vogelzang PF, van der Gulden JW, Folgering H, *et al*.** Endotoxin exposure as a major determinant of lung function decline in pig farmers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;**157**:15-8

(4) **Heederik D, Sigsgaard T, Thorne PS, *et al*.** Health effects of airborne exposures from concentrated animal feeding operations. *Environ Health Perspect* 2007;**115**:298-302.

(7) **Guglielminetti M, Valoti E, Cassini P, *et al*.** Respiratory syndrome very similar to extrinsic allergic alveolitis due to *Penicillium verrucosum* in workers in a cheese factory. *Mycopathologia* 2001;**149**:123-9.

Revues de la littérature

(1) **Reynolds SJ, Nonnenmann MW, Basinas I, *et al*.** Systematic review of respiratory health among dairy workers. *J Agromedicine* 2013;**18**:219-43.

(5) **Douwes J, Thorne P, Pearce N, *et al*.** Bioaerosol health effects and exposure assessment : progress and prospects. *Ann Occup Hyg* 2003;**47**:197-200.

(6) **Eduard W.** Fungal spores : a critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. *Crit Rev Toxicol* 2009;**39**:799-864.

Autres publications identifiées

Bonifait L, Veillette M, Létourneau V, *et al*. Detection of *Steptococcus suis* in bioaerosols of swine confinment buildings. *Appl Environ Microbiol* 2014;**80**:3296-304.
Étude très intéressante mettant en évidence la présence de bactéries pathogènes pour les animaux et l'homme dans l'air des élevage de porcs au Canada.

Kang W, Kim IH, Lee TJ, *et al*. Effect of temperature on bacterial emissions on composting of swine manure. *Waste Manag* 2014;**34**:1006-11
Cette étude a montré que le purin des porcs générait une forte émission d'endotoxines et de bactéries et que cette émission était influencée par la température du substrat.

Tamer Vestlund A, Al-Ashaab R, Tyrrel SF, *et al*. Morphological classification of bioaerosols from composting using scanning electron microscopy. *Waste Manag* 2014;**34**:1101-8.
Cette étude a caractérisé en laboratoire, la forme et la structure des bioaérosols émis par du compost. Les résultats montrent que la majorité des particules émises sont des cellules simples (non agrégées) de forme sphérique.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de veille scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille nº 25 • Décembre 2014

Notes d'actualité scientifique

Pathologies

Bisphénol A et exposition précoce : les actions observées sur les cellules souches et l'épigénome pourraient favoriser le développement de cancers hormono-dépendants

Période : avril 2014 à août 2014

Martine PERROT-APPLANAT | martine.applanat@inserm.fr

CNRS – Inserm U965 – Paris – France

Mots-clés : **bisphénol A, cancers hormono-dépendants, cellules souches, épigénétique, glande mammaire, prostate**

Les cancers de la prostate chez l'homme et du sein chez la femme sont deux cancers hormono-dépendants dont l'incidence[1] (nombre de cas) est en constante augmentation ces cinquante dernières années (1). Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers chez la femme (49 000 nouveaux cas estimés en France en 2012) et il est responsable du plus grand nombre de décès par cancer. Cette incidence augmente généralement avec l'âge ; cependant on dépiste actuellement de plus en plus de cancer du sein chez la femme jeune (1). Le cancer de la prostate, dont l'incidence est de 56 850 nouveaux cas estimés en 2012 (1), est d'évolution lente (85 % sont détectées chez les patients de plus de 65 ans). Son étiologie est encore très largement inconnue.

Les facteurs environnementaux sont suspectés favoriser l'apparition des cancers hormono-dépendants (2). Parmi eux, les perturbateurs endocriniens de type oestrogénique[2] sont particulièrement étudiés car ils sont largement présents dans l'environnement. Le bisphénol A (BPA)[3], constitue l'une des molécules 'œstrogène-like' phares[2] retrouvées dans l'environnement. Le BPA, très utilisé comme plastifiant, peut être relargué de certains contenants en plastique (boisson, alimentation), mais aussi de matériel dentaire et de résines époxy, suggérant une exposition humaine (3). Il a été largement retrouvé sous forme active (BPA non conjugué) dans de nombreux types de prélèvements, dans les plasmas d'homme, de femme, d'enfants et de fœtus à des concentrations de quelques ng/l, mais aussi à des doses environnementalement relevantes dans le sang de cordon (3). Si le BPA exerce des effets oestrogéniques par l'intermédiaire des récepteurs aux oestrogènes classiques (sous-types REa et REb), des études récentes ont mis en évidence d'autres modes d'action impliquant en particulier des effets plus rapides initiés au niveau de la membrane plasmique. L'objectif de cette note est d'illustrer deux recherches récentes sur les effets d'une exposition précoce au BPA sur le développement tumoral de la prostate et de la glande mammaire, effets pouvant conduire à des cancers hormono-dépendants.

Dans le premier article, les auteurs cherchent à évaluer si une exposition précoce au BPA modifie *in vivo* le risque de cancer dans l'épithélium de prostate humaine. Ils montrent que le renouvellement de cellules souches[4] de prostate humaine est augmenté après exposition au BPA; lorsque ces cellules multipotentes sont placées dans un système de reconstitution *in vivo* de prostate en présence de mésenchyme[5] de rat, l'épithélium de prostate formé et exposé au BPA pourrait présenter une susceptibilité accrue au cancer après exposition prolongée à une combinaison d'oestrogènes et androgènes (situation retrouvée chez l'homme âgé). Le second article analyse chez le rat, les effets d'une exposition fœtale au BPA sur la survenue de modifications épigénétiques[5] dans la glande mammaire lors de son développement post-natal (péripuberté).

Le bisphénol A favorise l'autorenouvellement de cellules progénitrices de prostate humaine et augmente *in vivo* la tumorigénèse dans l'épithélium de la prostate humaine

Prins GS, Hu WY, Shi GB, Hu DP, Majumdar S, Li G, Huang K, Nelles JL, Ho SM, Walker CL, Kajdacsy-Balla A, van Breemen RB. Bisphenol A Promotes Human Prostate Stem-Progenitor Cell Self-Renewal and Increases In Vivo Carcinogenesis in Human Prostate Epithelium. *Endocrinology* 2014;**155**:805-17.

Résumé

L'objectif de cette étude est de décrire comment une exposition précoce au BPA peut augmenter le renouvellement de cellules souches et le développement de cancer prostatique à l'âge adulte.

Tout d'abord, les auteurs ont isolé des cellules souches (progéniteurs) à partir de prostate humaine prélevée sur de jeunes donneurs sains ; ils montrent que ces cellules sont sensibles de manière comparable au BPA (à faible dose, 10 nM) et aux œstrogènes (voie de signalisation membranaire rapide, en 15 minutes) au niveau de la croissance sous forme de sphères et au niveau de l'expression de certains gènes spécifiques des cellules souches. L'œstradiol et le BPA augmentent la fraction de cellules souches progénitrices[4] dans la population épithéliale. Dans un second temps, pour évaluer la tumorigénèse *in vivo*, les cellules souches de prostate humaine ont été combinées à du mésenchyme[5] urogénital de rat, puis greffées sous la capsule rénale de souris nude, pour obtenir en un mois un épithélium de prostate humanisée. Les souris (n = 27-38/groupe) ont ensuite été exposées ou non par gavage pendant deux semaines après la greffe aux doses de 100 ou 250 µg BPA/kg poids correspondant à des concentrations sériques de BPA libre (forme active) de 0,39 et 1,35 ng/mL, respectivement. La carcinogénèse a été induite par un traitement combiné de deux hormones, la testostérone et l'œstradiol pendant deux à quatre mois pour mimer l'imprégnation hormonale observée au cours du vieillissement chez l'homme. Les auteurs ont observé une augmentation significative de l'incidence de cancers épithéliaux de haut grade et d'adénocarcinomes chez les animaux greffés et exposés au BPA (33 % à 36 %) par rapport aux animaux greffés non exposés (13 %). En outre, l'incidence de cancers épithéliaux de haut grade augmente significativement jusqu'à 45 % lorsque les cellules souches sont traitées au BPA à la dose de 200 nM préalablement à la greffe, les souris étant ensuite exposées au BPA à la dose de 250 µg/kg. Les auteurs de cette étude montrent que les cellules progénitrices de prostate humaine sont des cibles directes du BPA et qu'une exposition précoce au cours du développement de la prostate au BPA augmente la tumorigénèse hormono-dépendante dans l'épithélium prostatique humain.

Commentaire

Cette étude s'appuie sur un protocole expérimental rigoureux. La stratégie consiste à utiliser une double approche, *in vitro* sur des cellules de prostate provenant de jeunes hommes, et *in vivo* en utilisant un nouveau modèle humanisé de prostate, une xénogreffe de chimère cellules souches de prostate humaine-mésenchyme de rat, chez la souris. Les points importants de cette étude concernent : - l'exposition à une dose de BPA environnementalement relevante qui conduit à un taux sérique de la forme bioactive <1,5 ng/ml (10 % du niveau sérique de BPA total) ; - la sensibilité accrue au BPA de l'épithélium de prostate développé dans un modèle chimère à partir de cellules souches humaines et, - l'augmentation de la carcinogénèse prostatique induite par la testostérone et un taux élevé d'œstrogènes. Dans ce travail, les auteurs ne relèvent pas d'effet dose du BPA dans la carcinogénèse de prostate. Des travaux ultérieurs devront montrer la relevance de ce travail chez l'humain.

Une exposition précoce au bisphénol A modifie l'épigénome de la glande mammaire de rat et favorise le développement tumoral

Dhimolea E, Wadia PR, Murray TJ, Settles ML, Treitman JD, Sonnenschein C, Shioda T, Soto AM. Prenatal Exposure to BPA Alters the Epigenome of the Rat Mammary Gland and Increases the Propensity to Neoplastic Development. *PlosOne* 2014,**9**:e99800

Résumé

Des données antérieures du groupe d'A. Soto chez la souris, le rat et le singe montrent que l'exposition fœtale au BPA induit des changements morphologiques de la glande mammaire, croissance des canaux en particulier, associés à la maturation du tissu adipeux, des changements dans la composition du stroma, et des modifications de l'expression génique dans l'épithélium et le stroma (6). Quand ces animaux sont exposés à un carcinogène à la puberté ou à l'âge adulte, ils développent plus de carcinomes que les animaux non exposés au BPA. L'objectif de cette étude est de déterminer si une exposition précoce (exposition fœtale) au BPA induit des altérations épigénétiques[6] de la glande mammaire en relation avec le développement ultérieur d'un cancer. Dans cette étude, des rates gestantes (Wistar-Furth, n = 4-5/group) ont été exposées à la dose de 250 mg BPA/kg/j du jour 9 de la gestation à la naissance, une dose qui induit des carcinomes *in situ* chez le rat. Les concentrations sériques de BPA ont été examinées chez les descendants femelles âgés de 4 et 21 jours (impubères) et de 50 jours (lors du premier cycle œstral). Les animaux exposés ont été comparés aux animaux non exposés du même âge. Les paramètres associés à des modifications épigénétiques[6] (méthylation de l'ADN sur ilots CpG et méthylation des histones[7]) et des analyses transcriptomiques[8] ont été rapportés à chaque âge.

Les auteurs ont observé que le BPA induisait des changements du patron de méthylation de l'ADN aux différents temps d'observation par rapport aux animaux non exposés ; cependant, la majorité des changements associés à la méthylation de l'ADN survenait à 21 jours. En revanche, les analyses transcriptomiques montraient des différences dans l'expression génique entre animaux exposés et animaux contrôles à 50 jours (soit à un moment où l'incidence des lésions hyperplasiques est observée). Par ailleurs, au jour 4, bien que l'analyse transcriptomique ne révèle pas un grand nombre de gènes modifiés après

exposition prénatale au BPA, les auteurs ont montré que l'exposition prénatale au BPA induisait un niveau d'histone H3K4 triméthylée[7] plus élevé au site d'initiation de la transcription du gène lactalbumine, parallèlement à une augmentation de l'expression de ce gène. Cette étude suggère qu'une exposition fœtale au BPA induit des changements dans l'épigénome[8] de la glande mammaire aux stades post-natal et adulte et modifie le profil de l'expression génique.

Commentaire

Depuis quelques années, l'implication de processus épigénétiques dans les effets adverses induits par l'exposition environnementale au BPA est recherchée et fortement suspectée, qu'il s'agisse d'une exposition précoce sur le développement ou d'une susceptibilité accrue au cancer, notamment à des cancers hormono-dépendants (4, 7-11). En dépit des nombreuses données expérimentales mettant en relation une exposition fœtale au BPA et la carcinogénèse mammaire (hyperplasie ductale, voire carcinome *in situ* bien après l'arrêt du traitement) (12), les mécanismes restent encore mal connus. L'association méthylome et transcriptome dans un système biologique est effectivement une bonne approche puisqu'il permet de faire des corrélations entre le statut de méthylation d'une région régulatrice et son état transcriptionnel. Dans l'étude de Dhimolea *et coll.*, la dose de 250 mg BPA/kg/j délivrée par une pompe osmotique conduisant à un niveau sérique détectable dans 100 % des animaux (1,7 ng/ml BPA non conjugué) a été retenue, ce qui n'était pas le cas pour les animaux exposés à 25 mg BPA/kg/j. Les auteurs suggèrent que les différences de méthylation de l'ADN surviennent principalement à 21 jours, au moment où les ovaires commencent à sécréter les œstrogènes. Les grandes différences dans l'expression génique observées à 50 jours pourraient être dues au fait que le BPA augmente la réponse aux œstrogènes et à la progestérone, comme ces mêmes auteurs l'ont montré dans de précédents travaux (6). Cependant le lien entre les anomalies de la méthylation et l'expression des gènes n'est pas réellement démontré dans le modèle murin présenté. Cela pourrait être lié au faible nombre d'animaux. De plus, l'approche par 'microarray' utilisée pour l'analyse de méthylation est limitante par rapport aux nombres de régions analysées (car on ne regarde que les régions présentes sur les puces). Une approche de séquençage haut débit permettrait d'analyser tout le génome (13) et tenter d'identifier un lien entre les anomalies de méthylation et le cancer.

Conclusion générale

Plusieurs équipes ont montré à l'aide de modèles animaux qu'une exposition fœtale à de faibles doses de BPA modifie les développements de la prostate et de la glande mammaire, et augmente l'incidence de cancers hormono-dépendants. Les deux publications analysent certains mécanismes impliqués dans le lien entre exposition précoce au BPA et carcinogénèse hormono-dépendante à partir de deux modèles expérimentaux : une exposition dans un modèle *in vivo* de développement 'chimère' de prostate humaine, et une exposition *in utero* chez le rat pour l'analyse de la glande mammaire

L'étude de Prins montre que des cellules souches[4] de prostate humaine peuvent être reprogrammées par le BPA, conduisant ultérieurement à une susceptibilité accrue de la prostate au cancer lors d'une exposition estrogène/androgène, une exposition mimant la situation chez l'homme âgé. Des études précédentes du même groupe avaient déjà montré que des altérations épigénétiques identifiées dans la prostate après exposition néonatale au BPA peuvent être à l'origine du développement tumoral de cet organe à un âge plus avancé (4, 7).

La deuxième étude suggère des changements dans l'épigénome[8] de la glande mammaire de rat aux stades post-natal et adulte après une exposition fœtale au BPA. D'autres études expérimentales sur la glande mammaire mettent en évidence le rôle des cellules souches et des modifications épigénétiques dans la carcinogénèse précoce induite par le BPA (9, 15).

Les concentrations sériques de BPA libre dans les deux modèles animaux sont proches des concentrations humaines trouvées dans les sangs de cordon et de nouveau-nés. L'ensemble des études expérimentales montre qu'une exposition précoce au BPA pourrait favoriser le développement de cancers hormono-dépendants par des actions sur les cellules souches et l'épigénome. Cependant, il est difficile d'établir un tel lien chez l'homme en raison de difficultés telles que mesure de l'exposition, interactions possibles, mesure en population générale. La compréhension des mécanismes qui permettraient de faire ce lien nécessite de développer de nouveaux modèles expérimentaux sur un plus grand nombre d'animaux et à différentes expositions.

General conclusion

Research groups have shown based on experimental models that pre-natal exposition to low doses of BPA induces changes in the development of prostate and mammary gland, and increases risk for hormono-dependent cancers. These two papers contribute to a better understanding of the effects of an early exposure of BPA during the critical phase of development in two different models, prostate and mammary glands. Both studies analyze two mechanisms: -epigenetic modifications and -stem cell self-renewal, which could explain the link between prenatal or early development exposure to BPA and the propensity to neoplastic lesions that manifest during adulthood (breast and prostate cancers).

The study from Prins shows that prostate stem cells can be reprogrammed by BPA, leading to increased susceptibility to cancer after estrogen/androgen exposure. Others studies had previously shown that epigenetic alterations within prostate after neo-natal exposure to BPA induce tumoral development at a later stage (4, 7).

The second study suggests that fetal exposure to BPA induces changes in the mammary gland epigenome from the post-natal and adult rats. Other studies on mammary gland highlight the role of stem cells and epigenetic changes in BPA-induced carcinogenesis (9, 15).

Blood concentrations of free BPA in both models are similar to human blood concentration in umbilical cord and newborns. However new models using larger series of animals at various exposure will be required to reveal a link between early environmental exposure to estrogenic perturbation and hormono-dependent cancers for human being, due to the difficulties to measure the exposure, possible interactions, and measure in general population.

Lexique

(1) Incidence : Nombre de nouveaux cas survenant durant une période et dans une population considérée. S'exprime en nombre ou en taux, la période considérée étant généralement l'année.

(2) Perturbateurs endocriniens de Type oestrogénique : Molécules chimiques pouvant conduire à des effets néfastes en interférant avec la synthèse, le métabolisme, la liaison, ou les réponses cellulaires des œstrogènes naturels.

(3) BPA : Bisphénol A, molécule chimique utilisée comme plastifiant, présente dans les emballages alimentaires et les canettes, mais également présent dans le matériel dentaire et des résines époxy.

(4) Cellules souches et progénitrices : Cellules ayant la capacité à donner de multiples types cellulaires et à fort potentiel régénératif *in vivo*.

(5) Mésenchyme : Stroma, par différence avec les cellules épithéliales d'un organe, en l'occurrence de la prostate ou de la glande mammaire dans cette note.

(6) Épigénétique : Ensemble des processus moléculaires qui modifient l'expression des gènes sans modifier la séquence de l'ADN, et permettent à l'organisme vivant de s'adapter à son environnement. Ces modifications impliquent principalement des méthylations de l'ADN (ilots CpG) et les modifications post-traductionnelles des histones.

(7) Histones : Protéines autour desquelles s'enroule l'ADN dans la chromatine, et pouvant être le siège de modifications épigénétiques.

(8) Analyse transcriptomique : Analyse du niveau d'expression de l'ensemble des ARN dans une population de cellules dans des conditions données.

(9) Épigénome : Ensemble des marques épigénétiques portées par les gènes d'une cellule au niveau de l'ADN ou de la chromatine.

Publications de référence

(1) **Les cancers en France en 2013.** Editions INCA, janvier 2014

(2) **Franceschi S, Wild CP**. Meeting the global demands of epidemiologic transition - the indispensable role of cancer prevention. *Mol Oncol* 2013; **7**(1):1-13.

(3) **Expertise collective sur les effets sanitaires du BPA**. Anses 2013

(4) **Prins GS, Tang WY, Belmonte J, *et* al**. Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;**102**(2):134-8

(5) **Hu WY, Shi GB, Lam HM, *et al*.** Estrogen-initiated transformation of prostate epithelium derived from normal human prostate stem-progenitor cells. *Endocrinology* 2011; **152**(6):2150-63.

(6) **Muñoz-de-Toro M, Markey CM, Wadia PR, *et al*.** Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology* 2005;**146**(9):4138-47.

(7) **Ho SM, Tang WY, Belmonte de Frausto J, *et al*.** Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res* 2006; **66**(11):5624-32.

(8) **Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL.** Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;**104**(32):13056-61

(9) **Doherty LF, Bromer JG, Zhou Y, *et al*.** *In utero* exposure to diethylstilbestrol (DES) or bisphenol-A (BPA) increases EZH2 expression in the mammary gland: an epigenetic mechanism linking endocrine disruptors to breast cancer. *Horm Cancer* 2010;**1**(3):146-55.

(10) **Singh S, Li SS.** Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol A and phthalates. *Int J Mol Sci* 2012;**13**(8):10143-53.

(11) **Weinhouse C, Anderson OS, Bergin IL, *et al*.** Dose-dependent

incidence of hepatic tumors in adult mice following perinatal exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* 2014; **122**(5):485-91.
(12) **Murray TJ, Maffini MV, Ucci AA, *et al.*** Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma *in situ* following fetal bisphenol A exposure. *Reprod Toxicol* 2007; **23**:383-90.
(13) **Kim JH, Sartor MA, Rozek LS, *et al.*** Perinatal bisphenolA exposure promotes dose-dependent alterations of the mouse methylome. *BMC Genomics* 2014;**15**:30.
(14) **Taylor JA, Richter CA, Suzuki A, *et al.*** Dose-related estrogen effects on gene expression in fetal mouse prostate mesenchymal cells. *PLoS One* 2012; **7**(10):e48311.
(15) **Wang D, Gao H, Bandyopadhyay A, *et al.*** Pubertal bisphenol A exposure alters murine mammary stem cell function leading to early neoplasia in regenerated glands. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014; **7**(4):445-55.

Revues de la littérature

Baylin SB, Ohm JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nat Rev Cancer* 2006; **6**(2):107-16.
Ohm JE, McGarvey KM, Yu X, *et al.* A stem cell-like chromatin pattern may predispose tumor suppressor genes to DNA hypermethylation and heritable silencing. *Nat Genet* 2007; **39**(2):237-42.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

L'exposition aux perturbateurs endocriniens induit-elle un risque d'obésité chez l'enfant ?

Période : avril 2014 à août 2014

Chiara SCOCCIANTI et Béatrice LAUBY-SECRETAN | scocciantic@iarc.fr

CIRC – IMO/Handbook of Cancer Prevention – Lyon – France

Mots-clés : **espèce humaine, exposition *in utero*, indice de masse corporelle, perturbateurs endocriniens, sang de cordon ombilical**

En Europe, une moyenne de 21 %-23 % des enfants est obèse (Indice de Masse Corporelle, IMC[1] ≥ 30 kg/m²) ou en surpoids (IMC[1] ≥ 25 kg/m²) d'après les références de l'International Obesity Task Force, principalement à cause d'un déséquilibre entre dépense énergétique et apport calorique (1). Entre 20 % et 50 % des enfants obèses en âge préscolaire le reste à l'âge adulte. De nombreuses maladies à l'âge adulte peuvent être attribuées à un excès pondéral, dont 8 à 38 % des cancers de l'œsophage, colon rectum, vésicule biliaire, pancréas, sein (post-ménopausée), endomètre, ovaire et rein (2). Récemment, un comité de conseil pour les Monographies du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé l'obésité et le surpoids parmi les agents à évaluer avec une haute priorité (3).

L'obésité est une maladie complexe pour laquelle existent différents facteurs de risque, d'origine génétique, comportementale et environnementale. En particulier, il a été suggéré que l'exposition à des composés chimiques tels les perturbateurs endocriniens[2], notamment en période pré- et périnatale, soit associée à de nombreux problèmes de santé chez l'enfant (4), dont l'obésité (5,6).

Une grande partie de la population est exposée au quotidien à des perturbateurs endocriniens[2] tels que les insecticides organochlorés (p. ex. DDT[3]) ou les plastifiants (p. ex. DEHP[4]). Ces agents peuvent induire une réponse biologique dite non-monotone (avec des effets différents selon la dose) et à partir de doses extrêmement faibles. De plus, leurs effets peuvent se conjuguer (effet cocktail). L'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le Programme sur l'environnement des Nations Unies et la Société d'endocrinologie américaine ont tous souligné l'importance des effets à faibles doses et des réponses non-monotones dans l'étude des perturbateurs endocriniens[2] (7).

Cette note présente deux études européennes évaluant le lien entre exposition *in utero* aux perturbateurs endocriniens[2] et la composition corporelle chez le jeune enfant, cette dernière étant un facteur de risque du développement de l'obésité chez l'adulte (8,9).

Croissance durant la première année de vie en relation avec une exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens – une étude de cohorte prospective néerlandaise

de Cock M, de Boer MR, Lamoree M, Legler J, van de Bor M. First year growth in relation to prenatal exposure to endocrine disruptors - a Dutch prospective cohort study. *Int J Environ Res Public Health* 2014;**11**(7):7001-21.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer s'il existe une association entre une exposition prénatale à différents perturbateurs endocriniens[2] largement répandus dans l'environnement, et la croissance de l'enfant pendant sa première année, dans une cohorte de 89 paires mère-enfant, habitant une communauté à faible niveau d'urbanisation. L'exposition au métabolite principal du pesticide DDT[3] (le p,p'-DDE[3]), et à trois phtalates métabolites du plastifiant DEHP[4] (MECPP, MEHHP, et MEOHP)[4] est analysée dans le sang du cordon ombilical ou dans le lait maternel par chromatographie liquide et spectrométrie de masse triple quadripolaire. La croissance des enfants a été suivie par mesure du poids, de la taille et de la circonférence crânienne à la naissance et à intervalles de deux mois jusqu'à onze mois. L'interaction entre les quartiles d'exposition et les mesures anthropométriques a été modelée en fonction de l'âge de l'enfant avec ajustement sur covariables (ex. âge gestationnel et poids de naissance).

La comparaison de l'IMC[1] moyen entre les groupes définis révèle que les garçons dont la mère a été exposée à de faibles quantités de p,p'-DDE[3] ont un IMC[1] systématiquement supérieur et une prise de poids plus rapide comparés à leur pairs dans les quartiles d'exposition supérieurs. Aussi, de faibles concentrations de MEOHP[4] étaient significativement associées à un IMC[1] supérieur, et des concentrations élevées à une plus grande circonférence crânienne. A l'inverse des garçons, on a observé chez les filles une stabilisation de l'IMC[1] entre six et onze mois, en accord avec les courbes d'IMC[1] de référence de l'OMS (10), indépendamment de la dose d'exposition.

La prise de poids rapide chez les garçons entre six et onze mois exposés à de faibles doses de p,p'-DDE[3] avait aussi été observée dans une cohorte espagnole exposée à des doses similaires de p,p'-DDE[3] (11). Les effets des phtalates sur l'IMC[1] et sur la circonférence crânienne chez les garçons suggèrent que l'exposition *in utero* au DEHP[4] peut induire un profil obèse.

Commentaire

Cette étude examine l'exposition *in utero* aux phtalates et au p,p'-DDE(3) en relation avec le développement du nourrisson. Les auteurs ont testé l'association entre l'exposition au p,p'-DDE(3) et d'autres perturbateurs(2) et le sexe et l'âge des enfants, et suggèrent que chez les garçons l'IMC(1) varie entre différentes doses d'exposition au p,p'-DDE(3) indépendamment de l'âge.
Malheureusement cette étude présente de nombreuses limitations : par exemple, aucune information n'est reportée sur la sélection des sujets de la cohorte ni sur sa représentativité, la durée de gestation ne semble pas avoir été prise en compte, ce qui peut influencer les indicateurs anthropométriques durant les premiers mois du nourrisson, les effectifs par quartiles sont très faibles, et l'exposition après la naissance n'a pas été suivie.
Certains perturbateurs endocriniens(2) peuvent interagir de façon synergétique ou antagoniste ; une analyse de régression multiple aurait probablement aidé à établir l'association de chacun d'entre eux avec l'IMC(1).
Aucun des agents chimiques analysés ne montre une réponse linéaire mais il reste à clarifier si les associations observées sont de type non-monotone.

Exposition prénatale aux polluants environnementaux et composition corporelle à l'âge de 7-9 ans

Delvaux I, Van Cauwenberghe J, Den Hond E, Schoeters G, Govarts E, Nelen V, Baeyens W, Van Larebeke N, Sioen I. Prenatal exposure to environmental contaminants and body composition at age 7-9 years. *Environ Res 2014*;**132**:24-32.

Résumé

L'objectif de cette étude longitudinale est d'évaluer l'association entre l'exposition prénatale à différents perturbateurs endocriniens(2) et la composition corporelle d'enfants pré-pubères dans une cohorte de 114 enfants participants à la première étude Flamande sur l'Environnement et la Santé (12). L'exposition aux perturbateurs endocriniens(2) (cadmium, polychlorobiphényles (PCBs(5)), p,p'-DDE(3), hexachlorobenzène et dioxines) a été mesurée dans le sang du cordon ombilical lors de la naissance, par différentes méthodes, telles que la spectrométrie de masse à haute résolution couplée par induction ou la chromatographie en phase gazeuse. Les mesures anthropométriques - hauteur, poids, circonférence abdominale et plis cutanés - ont été prises sur les enfants à l'âge de 7-9 ans. Les associations ont été analysées par régression linéaire et ajustées pour de nombreux facteurs de confusion (p. ex. tabagisme, âge et IMC(1) maternels au moment de la grossesse).
Une association positive entre l'exposition prénatale au p,p'-DDE(3) et toutes les mesures anthropométriques, exceptée la taille, a été observée et a confirmé les résultats obtenus précédemment dans la même cohorte à l'âge de trois ans (13). Notamment, chez les filles, l'exposition prénatale au p,p'-DDE(3) était positivement associée de façon significative à une augmentation du tour de taille (coefficient de régression = 1,018; p = 0,023) et du rapport tour de taille sur taille (coefficient de régression = 1,037; p = 0,023) ; aussi, l'exposition au cadmium était inversement associée à la masse de tissu adipeux (coefficient de régression = -0,749; p = 0,005). Aucune association significative n'a été observée avec les autres perturbateurs endocriniens(2) analysés.
Les auteurs soulignent que le niveau d'exposition au p,p'-DDE(3) dans cette étude est inférieur à la médiane reportée dans d'autres études récentes (14,15), et que la comparaison des résultats doit aussi tenir compte du milieu analysé (sang maternel *versus* cordon ombilical). Une activation du récepteur par les proliférateurs de peroxysomes, impliqué dans de nombreuses voies ayant un effet sur le système endocrine (16), est suggérée ici comme mécanisme potentiel à l'origine des associations observées avec le p,p'-DDE(3).

Commentaire

Au niveau méthodologique, il est regrettable que les niveaux d'exposition à ces perturbateurs depuis la naissance jusqu'à 7-9 ans, liés à l'alimentation ou une exposition environnementale, n'aient pas été recueillis et analysés.
Physiologiquement, l'IMC(1) augmente pendant la première année de vie, puis diminue jusqu'à l'âge de six ans, âge à partir duquel on observe un rebond de la corpulence. Les résultats de cette étude auraient bénéficiés d'être ajustés à ces variations. Une analyse de régression multiple visant à séparer les effets des expositions corrélées entre elles aurait permis d'étudier leurs interactions et d'éventuelles synergies.
Les résultats de cette étude paraissent en effet être en contraste avec, d'une part l'association positive observée dans la même cohorte âgée de trois ans (13), et d'autre part l'interaction connue des PCBs(5) avec des facteurs de transcription des gènes de croissance en période prénatale (17).
Les nombreuses mesures anthropométriques recueillies ont permis de distinguer entre tissu adipeux sous-cutané et intra-abdominal, lequel semble influencer le risque de cancer indépendamment d'autres mesures anthropométriques.

Conclusion générale

Ces deux études documentent l'association entre une exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens(2), mesurée dans le cordon ombilical, et les caractéristiques anthropométriques en lien avec l'obésité, mesurés chez le nourrisson (article 1), et chez l'enfant jusqu'à 7-9 ans (article 2).

Le premier article révèle chez les garçons un IMC(1) plus grand dans les quartiles inférieurs d'exposition au p,p'-DDE(3) ou au MEOHP(4), ainsi qu'une circonférence crânienne plus grande dans les quartiles supérieurs d'exposition au MECPP(4). Dans la deuxième étude l'exposition à des quantités croissantes de p,p'-DDE(3) est associée à une augmentation de toutes les mesures anthropométriques (sauf la taille), et en particulier du tissu adipeux abdominal chez les filles.

Ces études suggèrent que l'exposition pendant la jeune enfance aux perturbateurs endocriniens(2) peut induire des effets obésogènes qui dépendent de la dose, de la période du développement et du sexe de l'enfant. Il en ressort la nécessité lors des études sur l'exposition *in utero*, de rigoureusement caractériser les doses d'expositions pendant la période post-natale aussi, afin de pouvoir établir des réelles associations de dose-réponse et des effets à long-terme. De plus, des analyses de régression multiple auraient aidées à décrire les interactions complexes de ces perturbateurs endocriniens(2) pouvant se révéler synergétiques ou antagonistes.

Malgré de nombreuses incertitudes et les limites méthodologiques de ces études, ces résultats confirment l'hypothèse que la période du développement fœtal représente une fenêtre de susceptibilité aux perturbateurs endocriniens² en tant que facteurs de risque pour l'obésité.

General conclusion

In these two studies, the association between prenatal exposure to endocrine disruptors, measured in cord blood, and its effect on anthropometric parameters linked to obesity have been explored in young children during their first year of age (article 1) and until 7-9 years old (article 2).

The first study reports a higher BMI(1) at low exposure quartiles of p,p'-DDE(3) or MEOHP(4), and a higher head circumference at high exposure quartiles of MECPP(4), both in boys. The second study reveals that increasing exposure to p,p'-DDE(3) is positively associated with a large set of anthropometric indicators, and in particular with an increase of abdominal fat in girls.

These studies suggest that childhood exposure to endocrine disruptors may induce obesogenic effects that might be dose, developmental age and sex-specifics. In utero exposure studies need to rigorously characterize the exposure during the post-natal period as well, in order to establish real dose-response associations and long-term effects. In addition, multiple regression analyses would have helped to disentangle the complex interaction of those endocrine disruptors having synergistic or antagonistic effects.

Despite the methodological limitations of the studies and the numerous remaining challenges, these results support the hypothesis that foetal development represents a high susceptibility window of exposure to endocrine disruptors as risk factors for obesity.

Lexique

(1) IMC : L'indice de masse corporelle (masse/taille², en kg/m²) est une mesure qui permet d'estimer la corpulence d'une personne en fonction de sa taille et de sa masse. Il est utilisé par l'OMS comme standard d'évaluation des risques liés au surpoids chez l'adulte.

(2) Perturbateur endocrinien : Substance exogène qui interfère avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, l'action ou l'élimination d'hormones naturelles.

(3) DDT et DDE : Le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et son métabolite principal le para,para-dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE), sont des pesticides dont la production est bannie depuis plusieurs décennies en Europe mais qui persistent dans l'environnement et sont bioaccumulés dans la chaîne alimentaire.

(4) Phtalates et DEHP : Produits chimiques dérivés de l'acide phtalique et utilisés comme plastifiants; le principaux métabolites du DEHP (diethylhexylphtalate) sont le MECPP (mono(2-ethyl-5-carboxypentyl)phtalate), le MEHHP (mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phtalate), et le MEOHP (mono(2-ethyl-5-oxohexyl)phtalate).

(5) PCBs : Les polychlorobiphényles étaient autrefois très utilisés en Europe dans les transformateurs. Étant biopersistants, les PCBs sont aujourd'hui des polluants ubiquitaires. La population générale est exposée principalement par l'ingestion d'aliments contaminés, en particulier de produits animaux riches en graisses. Les PCBs, les PCBs « dioxin-like », ainsi que le PCB126, sont classés cancérogènes par le CIRC (groupe 1).

Publications de référence

(1) **OECD.** Obesity Update. *OECD Publishing* 2014. http://www.oecd.org/els/health-systems/Obesity-Update-2014.pdf
(2) **World Cancer Report**. Updated Cancer preventability estimates for body fatness. *World Cancer Research Fund (WCRF)/American Institute for Cancer Research (AICR)* 2014 http://www.wcrf.org/cancer_statistics/preventability_estimates/preventability_estimates_body_fatness.
(3) **Straif K, Loomis D, Guyton K, *et al.*** Future priorities for the IARC Monographs. *Lancet Oncol* 2014 ;**15**(7):683-4
(4) **WHO**. Possible developmental early effects of endocrine disrupters on child health. *WHO* 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75342/1/9789241503761_eng.pdf):22-48.
(5) **La Merrill M, Birnbaum LS**. Childhood obesity and environmental chemicals. *Mt Sinai J Med* 2011;**78**(1):22-48.
(6) **Birnbaum LS.** When environmental chemicals act like uncontrolled medicine. *Trends Endocrinol Metab* 2013 ; **24**(7):321-3
(7) **Kessler R.** Prevention: Air of danger. *Nature* 2014;**509**(7502): S62-3.
(8) **Odegaard AO, Choh AC, Nahhas RW, *et al*.** Systematic examination of infant size and growth metrics as risk factors for overweight in young adulthood. *PLoS One* 2013;**8** doi: 10.1371/journal.pone.0066994
(9) **Gittner LS, Ludington-Hoe SM, Haller HS**. Utilising infant growth to predict obesity status at 5 years. *J Paediatr Child Health* 2013;**49**:564-74.
(10) **WHO**. World Health Organization Child Growth Standards BMI-for-Age. Available online: http://www.who.int/childgrowth/standards/bmi_for_age/en/
(11) **Mendez MA, Garcia-Esteban R, Guxens M, *et al*.** Prenatal organochlorine compound exposure, rapid weight gain and overweight in infancy. *Environ Health Perspect* 2011;**119**:272-8
(12) **Schoeters G, Den HE, Colles A, *et al*.** Concept of the Flemish human biomonitoring programme. *Int J Hyg Environ Health* 2012;**215**:102-8.
(13) **Verhulst SL, Nelen V, Hond ED, *et al*.** Intrauterine exposure to environmental pollutants and body mass index during the first 3 years of life. *Environ Health Perspect* 2009;**117**:122-6.
(14) **Valvi D, Mendez M A, Martinez D, *et al*.** Prenatal concentrations of polychlorinated biphenyls, DDE, and DDT and overweight in children: a prospective birth cohort study. *Environ Health Perspect* 2012;**120**:451-7.
(15) **Gladen BC, Ragan NB, Rogan WJ.** Pubertal growth and development and prenatal and lactational exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyldichloroethene. *J Pediatr* 2000;**136**:490-6.
(16) **Grant KL, Carpenter DO, Sly LJ, *et al*.** Environmental contributions to obesity and type 2 diabetes. *J Environ Immunol Toxicol* 2013;**1**:80-91.
(17) **Cao Y, Winneke G, Wilhelm M, *et al*.** Environmental exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls reduce levels of gonadal hormones in newborns: results from the Duisburg cohort study. *Int J Hyg Environ Health* 2008;**211**:30-9.

Revues de la littérature

Kim SH, Park MJ. Phthalate exposure and childhood obesity. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 2014;**19**(2):69-75.
Dhurandhar EJ, Keith SW. The aetiology of obesity beyond eating more and exercising less. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014;**28**(4):533-44.

Autres publications identifiées

Ferguson K, Peterson K, Lee J, *et al*. Prenatal and peripubertal phthalates and bisphenol A in relation to sex hormones and puberty in boys. *Reprod Toxicol* 2014;**47**:70-6
Cette étude analyse la relation entre exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens (phtalates et bisphenol A) et âge du début de la puberté chez les garçons de 8-14 ans, avec un modèle longitudinal. Les résultats suggèrent, cependant avec des grands intervalles de confiance, un effet anti-androgène de ces polluants.
Hulin M, Bemrah N, Nougadère A, *et al*. Assessment of infant exposure to food chemicals: the French Total Diet Study design. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2014;**31**(7):1226-39
Cette étude française de l'Anses analyse la présence de plusieurs perturbateurs endocriniens dans l'alimentation des enfants âgés de moins de trois ans. Les résultats issus de ce programme seront de la plus grande utilité pour étudier les effets des perturbateurs endocriniens sur la population française.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Toxicité de l'herbicide paraquat : mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale parkinsonienne et potentiel thérapeutique d'une molécule anti-inflammatoire

Période : avril 2014 à août 2014

Agnès PETIT-PAITEL | **paitel@ipmc.cnrs.fr**

CNRS – Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire – UMR7275 – Valbonne – France

Mots-clés : **α-synucléine, dopamine, fibrose pulmonaire, intoxication, herbicide, maladie de Parkinson, neurodégénérescence, neurotoxine, paraquat**

Le paraquat est un des herbicides[1] les plus employés au monde. Bien que très toxique, il est encore utilisé par les agriculteurs d'une centaine de pays à cause de son faible coût et de sa facilité d'utilisation. En Europe, son utilisation est interdite depuis 2007.
L'intoxication aigüe par le paraquat cause une fibrose pulmonaire[2] généralement fatale (1).
Bien qu'il n'existe pas de preuve formelle de la neurotoxicité[3] du paraquat chez l'homme, des études menées sur des rongeurs suggèrent qu'il causerait des lésions cérébrales semblables à celles de la maladie de Parkinson (MP). Le paraquat, comme d'autres pesticides, est donc suspecté de favoriser l'apparition de MP chez les agriculteurs (2).
Les mécanismes de toxicité du paraquat sont basés sur sa capacité à induire dans les tissus biologiques un stress oxydant[4] aboutissant à la mort neuronale (3). Lors d'une intoxication par voie respiratoire, le paraquat pourrait pénétrer dans le cerveau par l'épithélium olfactif[5], où il entraînerait l'agrégation intraneuronale de la protéine a-synucléine (syn) puis favoriserait la mort des neurones dopaminergiques de la substance noire qui projettent leurs axones dans le striatum[6] et la survenue de symptômes parkinsoniens (4).
Dans le premier article, les auteurs suggèrent l'existence d'un réseau entre neurones dopaminergiques olfactifs et striataux dont le dysfonctionnement, favorisé par l'exposition au paraquat, pourrait induire l'apparition de la MP (5).
Aucune des différentes thérapeutiques anti-oxydantes ou chélatrices[7] testées à ce jour ne s'est révélée efficace contre l'intoxication au paraquat (6).
Dans le second article, les auteurs décrivent les altérations périphériques et centrales provoquées chez le rat par le paraquat et évaluent le potentiel thérapeutique d'un traitement préventif par un inhibiteur sélectif du récepteur aux chimiokines CXCR2[8,9] (7).

L'exposition de souris transgéniques, exprimant de manière conditionnelle l'α-synucléine, à une neurotoxine environnementale suggère l'existence d'un réseau fonctionnel entre les systèmes dopaminergiques olfactifs et striataux dans les premiers stades de la maladie de Parkinson

Nuber S, Tadros D, Fields J, Overk CR, Ettle B, Kosberg K, Mante M, Rockenstein E, Trejo M, Masliah E. Environmental neurotoxic challenge of conditional alpha-synuclein transgenic mice predicts a dopaminergic olfactory-striatal interplay in early PD. *Acta Neuropathol* 2014;**127**:477-94.

Résumé

La MP est caractérisée par des déficits moteurs dus à la mort des neurones de la substance noire[10] qui projettent leurs axones vers le striatum, l'ensemble formant la voie nigro-striée. Les déficits olfactifs font partie des premiers symptômes de la MP (8) mais leurs causes ne sont pas encore clairement expliquées. Les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif sont les premiers neurones à présenter des inclusions intracellulaires de syn (synucléinopathie) (9).
Les auteurs étudient la contribution de la synucléinopathie[11] olfactive dans la progression de la MP, ainsi que l'influence du paraquat. Ils montrent que la surexpression d'une forme mutée d'a-synucléine humaine (A30P syn, responsable d'une forme héréditaire de la maladie) sélectivement dans les neurones olfactifs de souris suffit à provoquer un comportement hyperactif provoqué par l'élévation du taux de dopamine[12] dans le striatum.
Un traitement de 6 semaines à de faibles doses de paraquat (5 mg/kg), par voie intrapéritonéale[13], s'oppose au phénotype hyperactif des souris A30P syn. De manière intéressante, le paraquat n'induirait la mort des neurones dopaminergiques olfactifs que chez les souris surexprimant l'A30P syn, suggérant ainsi qu'elle augmenterait la sensibilité des neurones au paraquat.
Les auteurs montrent que le paraquat induirait l'augmentation

de l'activité d'une protéase[14] appelée calpaïne aboutissant à la fois à l'inhibition de l'autophagie[15] et à l'augmentation des niveaux de la forme tronquée de syn (CT syn). Ces deux phénomènes favoriseraient l'accumulation de la forme entière insoluble et l'agrégation de la forme tronquée CT syn dans les neurones olfactifs.
Globalement, les auteurs proposent un modèle selon lequel de faibles doses de paraquat induiraient l'accumulation et l'agrégation de syn dans les neurones olfactifs, provoquant l'augmentation indirecte du taux de dopamine dans le striatum, qui à son tour favoriserait l'accumulation de syn dans les neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée et la mort neuronale, faisant ainsi progresser la maladie.

Commentaire

Le paraquat engendrerait, en présence de syn, une cascade pathologique aboutissant à la mort des neurones dopaminergiques olfactifs qui pourrait influencer la mort neuronale dans le striatum. On peut toutefois regretter que les auteurs aient choisi une voie d'administration intrapéritonéale pour le paraquat, la voie respiratoire ou intranasale semblant plus pertinente. Des études récentes suggèrent que la syn se comporterait chez les patients atteints de la MP selon un mécanisme proche de celui de la protéine prion (10). La syn anormale aurait ainsi la possibilité de s'agréger mais aussi de se propager de neurones en neurones. Bien que ce mécanisme soit évoqué dans la discussion de l'article, il est dommage que n'ait pas été explorée la possibilité de la propagation de l'agrégation de la syn des neurones dopaminergiques olfactifs aux neurones de la voie nigro-striée.

L'inhibition pharmacologique des récepteurs aux chimiokines CXCR2 module l'intoxication au paraquat de rats

Costa KM, Maciel IS, Kist LW, Campos MM, Bogo MR. Pharmacological inhibition of CXCR2 chemokine receptor modulates paraquat-induced intoxication in rats. *PLoS ONE* 2014;**9**(8): e105740.

Résumé

Lors d'une intoxication, le paraquat se concentre dans les poumons, provoquant une fibrose tissulaire et une infiltration massive de leucocytes[16] (11). Les leucocytes seraient recrutés en réponse à l'inflammation locale provoquée par l'augmentation du taux d'interleukine-8 (IL-8), qui se lie au récepteur CXCR2 présent à la surface des leucocytes sanguins et permet leur migration (12). Les auteurs ont évalué sur un modèle de rat les altérations tissulaires et fonctionnelles induites par le paraquat en périphérie et dans le système nerveux central. Ils ont également étudié les effets d'un traitement avec l'antagoniste sélectif du récepteur CXCR2 (SB225002) sur ces paramètres. Les animaux intoxiqués ont reçu des injections répétées de paraquat dans le péritoine (ip) (dose totale 50 mg/kg, correspondant à une intoxication aigue) et les animaux témoins une solution saline. Des groupes séparés d'animaux ont été traités avec le SB225002, administré 30 min avant chaque injection de paraquat. Au 15e jour, les animaux ont été euthanasiés et les poumons, le sang, le striatum ont été prélevés et analysés. Le paraquat induit une diminution du poids corporel, une hypothermie[17], une augmentation de la perception de la douleur, des perturbations locomotrices ainsi qu'une migration de leucocytes dans le sang et les poumons. Au niveau cérébral, il provoque une augmentation des marqueurs de l'inflammation dans le striatum. Le SB225002 permet le maintien partiel des paramètres physiologiques, une modération des altérations comportementales et une réduction de l'inflammation cérébrale. Les auteurs suggèrent donc que le blocage du CXCR2 par le SB225002 pourrait limiter les dommages périphériques et centraux induits par le paraquat.

Commentaire

Le lavage gastrique, la dialyse et les perfusions sanguines sont les seules armes thérapeutiques pour tenter de lutter contre l'empoisonnement au paraquat. L'utilisation de molécules anti-oxydantes a également été testée, sans succès. Ici, les auteurs évaluent l'intérêt thérapeutique d'une molécule inhibant la migration leucocytaire dans les poumons. Les résultats sont encourageants puisque le SB225002 permet, chez le rat intoxiqué, une amélioration des symptômes induits par le paraquat. Du point de vue expérimental, il aurait été plus pertinent de tester le SB225002 post-intoxication plutôt qu'en traitement préventif. Aucune donnée quant à la survie à court et long terme des animaux n'est donnée. Enfin, aucune explication mécanistique n'est apportée pour expliquer les améliorations apportées par le SB225002 au niveau central.

Conclusion générale

Bien que la dangerosité du paraquat soit connue et que son utilisation en Europe soit interdite depuis quelques années, il reste un des herbicides les plus employés au monde et cause chaque année de nombreux décès par empoisonnement accidentel ou volontaire (6). Le premier article présenté tente de démontrer comment le paraquat influencerait le développement de la MP chez les personnes exposées. Grâce un modèle de souris transgéniques exprimant une forme mutée de la protéine α-synucléine (syn) dans le bulbe olfactif, les auteurs suggèrent l'existence d'un réseau fonctionnel liant l'accumulation de syn dans les neurones dopaminergiques olfactifs, qui est un signe précoce de la MP, à la mort de neurones dopaminergiques, responsables des déficits moteurs classiques de la maladie. Les auteurs du second article s'intéressent au rôle de l'inflammation et de l'infiltration des neutrophiles après empoisonnement de rats au paraquat, et utilisent le composé SB225002, bloquant du récepteur à la chimiokine IL-8 CXCR2, comme une nouvelle voie thérapeutique envisageable. Toutefois, des études complémentaires visant à étudier les effets curatifs de ce composé administré après empoisonnement au paraquat seraient nécessaires.

General conclusion

Although the danger of paraquat is known and its use has been banned in Europe for several years, it remains one of the most widely used herbicides in the world and causes many deaths each year by accidental or intentional poisoning. In the first paper the authors study how paraquat exposure could influence the development of PD. Using a model of transgenic mice expressing a mutated human alpha-synuclein in the olfactory bulb, the authors suggest the existence of a functional network linking the death of olfactory dopaminergic neurons, which is an early sign of PD, to the death of nigral dopaminergic neurons, responsible for the conventional motor deficits of the disease. The second article focuses on the role of inflammation and neutrophil infiltration after paraquat poisoning in rats, and draws attention to the SB225002 compound, a blocker of the CXCR2 chemokine IL-8 receptor, as a putative new therapeutic option. However, further studies to investigate the therapeutic effects of this compound administered after paraquat poisoning are necessary.

Lexique

(1) Herbicide : Substance active de la famille des pesticides, ayant la capacité de tuer des végétaux.
(2) Fibrose pulmonaire : Lésion des poumons caractérisée par la présence d'un excès de tissu conjonctif fibreux.
(3) Neurotoxicité : Toxicité au niveau des neurones.
(4) Stress oxydant : Le stress oxydant est caractérisé au niveau cellulaire par la production de radicaux libres.
(5) Epithélium olfactif : Muqueuse de la cavité nasale composé de quatre types cellulaires, dont des neurones olfactifs dont les projections remontent jusqu'au bulbe olfactif cérébral.
(6) Striatum : Structure cérébrale située sous le cortex, impliquée dans l'exécution des mouvements et le contrôle de la douleur.
(7) Chélation : Approche médicale visant à désintoxiquer l'organisme des substances nuisibles. C'est un procédé par lequel une substance organique (l'agent chélateur) se lie à des minéraux ou des métaux ionisés (chargés électriquement), comme le fer, le calcium, le plomb, le cuivre, etc. Le complexe qui en résulte étant stable, inactif, non toxique et soluble, peut facilement être éliminé par voie urinaire.
(8) Chimiokine : Protéine soluble de la famille des cytokines qui attire les cellules immunes vers le lieu de l'inflammation.
(9) CXCR2 : Récepteur transmembranaire de l'interleukine-8, exprimé à la surface de certains leucocytes, les neutrophiles, permettant leur migration vers un site inflammatoire.
(10) Substance noire : Petite zone du cerveau dont les neurones sécrètent la dopamine, un neurotransmetteur (substance permettant aux messages de circuler entre les neurones) permettant de réguler les mouvements.
(11) Synucléinopathie : Maladie neurodégénérative caractérisée par l'accumulation d'agrégats de protéine a-synucléine dans les neurones ou les cellules gliales. La maladie de Parkinson, la démence à corps de Lewy et l'atrophie multisystématisée sont des synucléinopathies.
(12) Dopamine : Neurotransmetteur (composé chimique assurant la transmission des messages entre neurones) impliqué dans la sensation de plaisir, l'addiction, le contrôle de la motricité volontaire et les apprentissages. Dans la maladie de Parkinson, sa diminution au niveau du striatum engendre les symptômes de la maladie.
(13) Injection intrapéritonéale : Injection d'une substance dans le péritoine, permettant une action rapide.
(14) Protéase : Enzyme qui coupe les liaisons peptidiques d'une protéine.
(15) Autophagie : Mécanisme cellulaire consistant en la dégradation partielle du contenu du cytoplasme de la cellule en utilisant ses propres organelles de dégradation (lysosomes). L'autophagie permet entre autres à la cellule de se débarrasser des protéines dénaturées.
(16) Leucocytes : Egalement appelés globules blancs. Cellules sanguines du système immunitaire, comprenant les granulocytes (dont les neutrophiles), les lymphocytes et les monocytes.
(17) Hypothermie : Baisse de la température normale du corps.

Publications de référence

(1) **Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sanchez-Navarro A, *et al.*** Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit Rev Toxicol* 2008;**38**:13-71.

(2) **Berry C, La Vecchia C, Nicotera P.** Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death Differ* 2010;**17**:1115-25.

(3) **McCormack AL, Atienza JG, Johnston LC, *et al.*** Role of oxidative stress in paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *J Neurochem* 2005;**93**:1030-7.

(4) **Prediger RD, Aguiar AS, Jr., Matheus FC, *et al.*** Intranasal administration of neurotoxicants in animals: support for the olfactory vector hypothesis of Parkinson's disease. *Neurotox Res* 2012;**21**:90-116.

(5) **Nuber S, Tadros D, Fields J, *et al.*** Environmental neurotoxic challenge of conditional alpha-synuclein transgenic mice predicts a dopaminergic olfactory-striatal interplay in early PD. *Acta Neuropathol* 2014;**127**:477-94.

(6) **Gawarammana IB, Buckley NA.** Medical management of paraquat ingestion. *Br J Clin Pharmacol* 2011;**72**:745-57.

(7) **Costa KM, Maciel IS, Kist LW, *et al.*** Pharmacological inhibition of CXCR2 chemokine receptors modulates paraquat-induced intoxication in rats. *PLoS One* 2014;**9**:e105740.

(8) **Doty RL.** Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 2012;**8**:329-39.

(9) **Braak H, Del Tredici K, Rub U, *et al.*** Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003;**24**:197-211.

(10) **Luk KC, Kehm V, Carroll J, *et al.*** Pathological alpha-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science* 2012;**338**:949-53.

(11) **Martin WJ 2nd, Howard DM.** Paraquat-induced neutrophil alveolitis: reduction of the inflammatory response by pretreatment with endotoxin and hyperoxia. *Lung* 1986;**164**:107-20.

(12) **Bianchi M, Fantuzzi G, Bertini R, *et al.*** The pneumotoxicant paraquat induces IL-8 mRNA in human mononuclear cells and pulmonary epithelial cells. *Cytokine* 1993;**5**:525-30.

Autres publications identifiées

Baltazar T, Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, *et al.* Paraquat research: do recent advances in limiting its toxicity make its use safer? *Br J Pharmacol* 2013, **168:**44-5.

Cette revue fait le point sur les récentes avancées de la recherche permettant d'envisager de nouveaux traitements préventifs et thérapeutiques dans le but de rendre l'utilisation du paraquat plus sûre.

Izumi Y, Ezumi M, Takada-Takatori Y, *et al.* Endogenous dopamine is involved in the herbicide paraquat-induced dopaminergic cell death. *Toxicol Sci* 2014, **139:**466-78.

Cette étude intéressante montre que le paraquat induirait une élévation intracellulaire de dopamine qui participerait à la vulnérabilité des neurones dopaminergiques. Ces résultats sont en accord avec l'article de Nuber et coll.(5) ainsi qu'avec d'autres études suggérant qu'un excès de dopamine pourrait favoriser le stress oxydant et causer la mort des neurones dopaminergiques.

Martin CA, Barajas A, Lawless G, *et al.* Synergistic effects on dopamine cell death in a Drosophila model of chronic toxin exposure. *Neurotoxicology* 2014;**44**:344-51

La maladie de Parkinson idiopathique résulterait de la combinaison de plusieurs facteurs de risque, environnementaux et génétiques. Les auteurs présentent ici un modèle d'exposition chronique de drosophiles transgéniques à différentes combinaisons de pesticides. Le but est de tester les effets à long terme des pesticides, et d'étudier les mécanismes par lesquels le paraquat et d'autres pesticides peuvent interagir avec certaines susceptibilités génétiques.

Neuner J, Ovsepian SV, Dorostkar M, *et al.* Pathological alpha-synuclein impairs adult-born granule cell development and functional integration in the olfactory bulb. *Nat Commun* 2014, **5:**3915.

Cette étude très intéressante montre que la synucléine mutée (A30P syn) altèrerait l'intégration et la survie des cellules granulaires néoformées du bulbe olfactif. Ceci apporte une indication mécanistique expliquant les déficits olfactifs précoces liés aux cas familiaux de MP.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de veille scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille nº 25 • Décembre 2014
Notes d'actualité scientifique

Outils et méthodes

Évaluation de la toxicité de produits pharmaceutiques relargués dans les effluents

Période : avril 2014 à août 2014

Annie PFOHL-LESZKOWICZ | leszkowicz@ensat.fr

Université de Toulouse, UMR CNRS/INPT/UPS 5503 – Laboratoire de Génie Chimique, Département Bioprocédés et Systèmes Microbiens, UMR CNRS 5503 – École Nationale Supérieure Agronomique Toulouse – Avenue Agrobiopole – Auzeville-Tolosane – France

Mots-clés : **antibiotiques, biomarqueurs, écotoxicité, effluents, érythromycine, génotoxicité, ibuprofène, œstrone, produits pharmaceutiques, triclosan**

Des mélanges de produits pharmaceutiques ainsi que des produits de désinfection ou des résidus de pesticides (voir revue 4) sont retrouvés dans l'environnement notamment dans l'eau (souterraine, de surface voire de boisson) suite à leur rejet dans les effluents hospitaliers et urbains, et agricoles (1-4). Ces produits sont souvent mal ou incomplètement éliminés par les stations d'épuration (1, 5, 6). L'impact environnemental de ces faibles doses et de leur présence simultanée sur la faune et la flore est mal connu et il n'existe pas de stratégie définie (voir revues ci-dessous 2-3, 5). L'évaluation du risque de ces contaminants est en général faite sur la base de calculs théoriques à partir des données de contamination (2,3). Certains de ces produits, notamment les hormones, semblent être impliqués dans la perte de fertilité et le changement de sexe/ratio chez les poissons (7,8). Quant aux antibiotiques, ils pourraient contribuer aux résistances et modifications des microorganismes dans le sol voire dans les boues de stations d'épuration (9,10). De plus ces produits peuvent s'accumuler, ce qui pourrait engendrer des effets toxiques (voir revue 1). Les tests conventionnels d'écotoxicité mesurant la viabilité de divers organismes (Microtox®, Algaltox®...) ne sont pas applicables aux effets à faible dose, ni à l'évaluation de la génotoxicité (11). L'évaluation du risque lié à ces contaminants émergeants à faibles doses ainsi que le suivi de l'efficacité de systèmes d'épuration, nécessitent le développement de biomarqueurs(1) et de bioessais(2) (voir revues n° 6, 7). La moule et le poisson constituent des organismes sentinelles de choix déjà utilisés avec d'autres contaminants comme les dérivés d'hydrocarbures ou métaux (12-21). Dans le premier article, la moule d'eau douce (*Dreissena polymorpha*) est utilisée comme organisme sentinelle pour l'évaluation de la qualité de l'eau dans une zone polluée par divers produits chimiques incluant des médicaments et des pesticides. Dans le deuxième article, l'effet toxique de rejets d'antibiotique est évalué sur un poisson, la carpe. Dans les deux cas, les biomarqueurs portent sur l'effet oxydatif et permettent de distinguer entre des zones différemment polluées.

Diversité des réponses moléculaires pour différencier des effluents liquides chez des moules d'eau douce

Falfushynska HI, Gnatyshyna LL, Osadchuk OY, Farkas A, Vehovsky A, Carpenter DO, Gyori J, Stoliar OB. Diversity of the molecular responses to separate wastewater effluents in freshwater mussels. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2014;**164**:51-8

Résumé

Plusieurs bioessais(2), reflétant le stress oxydatif(3), la génotoxicité(4), la toxicité générale et la reprotoxicité(5) ont été appliqués sur des moules prélevées sur un site non pollué et sur un site pollué par des rejets agricoles et urbains ne possédant pas de station d'épuration (STEP). En parallèle l'impact de trois composés (l'ibuprofène IBU (anti-inflammatoire) ; le triclosan TCS (antimicrobien) et l'œstrone E (hormone)) a été évalué à l'aide de ces mêmes essais sur des moules exposées en laboratoire pendant quatorze jours à des concentrations voisines de celles pouvant être retrouvées en milieu naturel. Les réponses moléculaires sont significativement différentes entre les moules provenant du site de référence et les moules issues du milieu pollué. Il y a augmentation du taux des espèces réactives de l'oxygène(3) (1,4 fois), de glutathion oxydé (4,3 fois), de lipofuscine(6) (2,2 fois), de cassures de l'ADN dans les glandes digestives avec une induction de la caspase 3(7) et de l'expression de la vitellogénine(8) dans les gonades(9). Cette différence persiste même après vingt et un jours de transplantation des moules du site pollué dans de l'eau propre. Les trois molécules testées indépendamment à raison de 250 ng/L IBU ; 500 ng/L TCS ; 100 ng/L d'E modulent aussi ces activités chez les moules exposées durant deux semaines. Une analyse statistique discriminante des résultats a permis de montrer une similitude de réponses, en ce qui concerne le stress oxydatif et la génotoxicité, entre les moules exposées à l'IBU et les moules de la zone de référence, d'une part et une similitude entre les moules du site pollué et celles exposées au TCS ou à l'E, d'autre part. Dans tous les cas, une diminution du métabolisme en aérobie a été observée chez les moules exposées en laboratoire ainsi que celles provenant du site pollué (diminution de la concentration en pyruvate et élévation du rapport lactate/pyruvate) par rapport aux moules provenant du site de référence. Grâce aux deux

données du métabolisme, il est possible de distinguer entre des expositions à court terme (IBU, E) et à long terme (moule du site pollué). L'augmentation de la vitellogénine chez les moules mâles de la zone polluée (marqueur d'une activité œstrogénique) n'est observée qu'après exposition à l'IBU.

Commentaire

Cet article montre que la moule représente un bon organisme sentinelle, permettant grâce à l'utilisation de plusieurs bioessais d'évaluer le risque potentiel lié à des contaminants et refléter une exposition. Pour confirmer l'intérêt de ces bioessais et éventuellement expliquer les réponses, ces bioessais ont été appliqués sur des moules exposées à des composés, notamment médicamenteux pouvant contaminer le milieu. Il aurait été intéressant d'avoir quelques données concernant les contaminants réellement présents au niveau du site pollué, autre que la présence de nitrites, phosphate, ammonium, cuivre et phénol. D'autre part l'étude expérimentale aurait dû aussi être réalisée avec des mélanges de produits, afin d'évaluer les possibles interactions.

Distribution tissulaire, bioaccumulation, métabolisation et effets de l'érythromycine chez la carpe (*Carassius auratus*).

Liu J, Ding J, Zhang Z, Wang Y. Tissue distribution, bioconcentration, metabolism, and effects of erythromycin in crucian carp (*Carassius auratus*). *Sci Total Environ* 2014;**490**:914-20.

Résumé

Dans cette étude, la répartition tissulaire et la bioaccumulation de l'érythromycine ERY (antibiotique) ont été mesurées chez la carpe exposée pendant vingt-huit jours. En parallèle, la métabolisation et l'impact sur des biomarqueurs d'effets précoces (activité de l'acétylcholine estérase au niveau du cerveau, activité ethoxyrésorufine dééthylase (EROD) et superoxyde dismutase (SOD) dans le foie) ont été évalués. La plus petite dose testée (4 µg/L) est inférieure à la concentration maximale retrouvée dans des effluents de station d'épuration (STEP). Le muscle accumule une plus grande quantité d'ERY que les branchies, le foie et la bile lors d'exposition entre sept et vingt et un jours. Au bout de vingt-huit jours le tissu présentant le plus d'ERY est la branchie. Quel que soit le temps d'exposition ou le tissu, il n'y a pas de relation entre la dose d'exposition et la concentration dans les tissus, indiquant une saturation des capacités de stockage. Cette saturation est néanmoins obtenue plus rapidement (à sept jours) lors de forte exposition (70,5 µg/L) et décroît à partir de cette date, alors que pour les deux autres concentrations, la saturation est observée à quatorze jours. L'augmentation de l'activité EROD est continue tout au long de l'exposition ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la métabolisation de l'ERY au niveau hépatique et de l'excrétion au niveau biliaire. Le facteur de bioconcentration (BCF)[10] a été calculé à sept jours et quatorze jours d'exposition, et est dans tous les tissus inversement proportionnel à la concentration d'exposition. Suivant l'exposition les BCF oscillent entre 0,020 et 72,200 dans le muscle, 0,080 et 2,730 dans les branchies, 0,050 et 2,180 dans le foie et 0,003 et 0,180 dans la bile. Des métabolites de l'ERY, mesurés par UPLC/MS/MS[11] ont été retrouvés dans la bile au vingt et unième jour d'exposition. Les trois métabolites (N-déméthyl ERY, di-déméthyl ERY et descladinose ERY) ont aussi été détectés dans le foie, le muscle et les branchies des poissons même aux faibles concentrations d'exposition. Cette accumulation d'ERY et de ces métabolites chez le poisson est associée à une inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau des animaux proportionnellement à la dose d'exposition et une induction de l'activité EROD et de la SOD.

Commentaire

Cette étude est intéressante car elle permet de faire un lien entre l'exposition, le devenir de la substance dans l'organisme et des perturbations biochimiques. Il est judicieux d'avoir mesuré le facteur de bioconcentration pour plusieurs périodes d'exposition. La relation inverse entre l'exposition et l'accumulation met en avant le fait qu'il n'est pas possible de définir un facteur unique de bioaccumulation d'une substance. Il aurait été intéressant de discuter la diminution des BCF en fonction de l'augmentation de la métabolisation. Ceci a un impact primordial dans l'évaluation du risque environnemental. Ces résultats suggèrent que les BCF devraient être calculées en prenant en compte le composé parent ainsi que ces métabolites retrouvés dans les tissus par rapport à la concentration du composé initial dans l'eau. Ceci pointe aussi le fait que de petites expositions sur une période plus ou moins prolongée peuvent être aussi préoccupantes qu'une exposition sporadique à forte concentration. L'analyse des métabolites dans la bile peut être considérée comme un biomarqueur d'exposition des poissons aux produits pharmaceutiques dans la mesure où chez le poisson les métabolites formés au niveau du foie sont relargués dans l'intestin via la bile.

Conclusion générale

L'utilisation d'animaux aquatiques (moule d'eau douce ou poisson) *in situ* et en laboratoire démontre que l'analyse de certains biomarqueurs (stress oxydatif, induction enzymatique, perturbation endocrinienne) permet de distinguer les zones polluées des zones non polluées. L'application de plusieurs bioessais en parallèle sur des animaux *in situ* ou en condition d'exposition en laboratoire permet d'avoir une bonne vision de la pollution. Ces biomarqueurs montrent que les faibles doses (équivalentes à celles retrouvées parfois dans l'environnement) peuvent être à l'origine de modifications biochimiques. Ceci permet de confirmer que les stations d'épuration ne sont pas totalement adaptées à l'élimination de ces contaminants émergeants. Ces biomarqueurs constituent des outils indispensables et sensibles pour l'évaluation de la qualité des eaux, mais également pour la mise en place de moyen de décontamination.

General conclusion

The use of aquatic animals (freshwater mussel or fish) in situ and laboratory analysis demonstrate that the analysis of some biomarkers (oxidative stress, enzyme induction, endocrine disruption) distinguishes polluted areas from unpolluted areas. Applying several bioassays in parallel on animals in situ or in laboratory conditions provides a good view of the pollution. These biomarkers show that low doses (equivalent to those sometimes found in the environment) can cause biochemical changes. This confirms that water treatment plants are not fully adapted to the elimination of these emerging contaminants. These biomarkers are sensitive and essential tools for water quality assessment, but also for setting up decontamination means.

Lexique

(1) Biomarqueur : Un biomarqueur est une caractéristique biologique mesurable liée à un processus normal ou non. Un biomarqueur permet de détecter la présence de polluants dans l'environnement et l'impact de certaines pratiques.

(2) Bioessai : Un bioessai ou test d'écotoxicité est un test qui permet de détecter et de mesurer la concentration d'un polluant dans l'environnement en prenant en compte les réponses d'organismes vivants.

(3) Stress oxydatif : Type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives de l'oxygène (ROS, *Reactive Oxygen Species* en anglais) et aux espèces réactives oxygénées et azotées (RONS, N pour *Nitrogen* en anglais), correspondant à ce qu'on appelle radicaux libres (possède un électron libre)

(4) Génotoxicité : Atteinte de l'intégrité du génome (molécule d'ADN)

(5) Reprotoxicité : Toxicité sur les fonctions de reproduction incluant l'impact sur les gamètes, l'embryon, le fœtus.

(6) Lipofuscine : La lipofuscine est un pigment cellulaire composé de débris. Provient du vieillissement du lysosome

(7) Caspase : Les « caspases » (de l'anglais cysteinyl-aspartate-cleaving proteases) sont un groupe de protéase à cystéine qui joue un rôle essentiel dans les phénomènes inflammatoires, mais aussi dans l'apoptose (mort cellulaire programmée) et la nécrose.

(8) Vitellogénine : Hormone impliquée dans la régulation endocrine de la reproduction chez certaines espèces comme le poisson. Sa mesure est utilisée comme biomarqueur d'un effet perturbateur endocrinien

(9) Gonade : Organe reproducteur (testicule, ovaire)

(11) LC/MS : Chromatographie liquide couplée à un spectre de masse

Publications de référence

(1) **Pesseoa G, De Souza NC, Vidal CB, *et al.*** Occurence and removal of estrogens in Brazilian waste water treatment plants. *Sci Total Environ* 2014;**490**:288-95

(2) **Wen ZH, Chen L, Meng XZ, *et al.*** Occurrence and human health risk of wastewater(derived pharmaceuticals in a drinking water source for Shangai, East China. *Sci Total Environ* 2014;**490**:987-93

(3) **Houtman CJ, Kroesbergen J, Lekkerkerker-Teunissen, *et al.*** Human health risk assessment of the mixture of pharmaceuticals in Dutch drinking water n dits soures based on frequent monitoring data. *Sci Total Environ* 2014;**496**:54-62

(4) **Cromona E, Andreu V, Pico Y.** Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River basin : From waste to drinking water. *Sci Total Environ* 2014;**484**:53-63

(5) **Verlicchi P, Galletti A, Petrovic, *et al.*** Hospital eflluents as a source of emerging pollutants:an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *J Hydrol* 2010;**389**:416-28

(6) **Verlicchi P, Al Aukidy M, Zambello E.** Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater:removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. *Sci Total Environ* 2012;**429**:123-55.

(7) **Jobling S, Nolan M, Tyler CR, *et al.*** Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ Sci Technol* 1998;**32**:2498-2506

(8) **Purdom CE, Hardiman PA, Bye VVJ, *et al.*** Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem Ecol* 1994;**8**:275-285

(9) **Harris S, Morris C, Morris D, *et al.*** Antimicrobial resistant E.Coli in the municiapl wastewater system : Effect of hospital effluent and environmental fate. *Sci Total Environ* 2014;**468-469**:1078-85

(10) **Kümmerer K.** Antibiotic in the aquatic environment-A review Part II *Chemosphere* 2009 ;**75**(4) :435-41

(11) **Zounkova R, Kovalova L, Blaha L, *et al.*** Ecotoxicity and genotoxicity assessment of cytotoxic antineoplastic drugs and their metabolites. *Chemosphere* 2010;**81**:253–60

(12) **Izagirre U, Garmendia L, Soto M, *et al.*** Health status assessment through an integrative biomarker approach in mussels of different ages with a different history of exposure to the Prestige oil. *Sci Total Environ* 2014;**493**:65-78

(13) **Giarratano E, Gil MM, Malanga G.** Biomarkers of environmental stress in gills of ribbed mussel Aulacomya atra atra (Nuevo Gulf, Northern Patagonia. *Ecotox Environ Safety* 2014;**107**:111-9

(14) **Barhouni B, Le Menach K, Clérandeau C, *et al.*** Assessment pollution in the Bizerte lagoon (Tunisia) by the combined use of chemical and biochemical markers in mussels, Mytilus galloprovincialis. *Mar Pollut Bull* **2014**;84:379-90

(15) **Burgeot T, Bocquéné G, Porte C, *et al.*** Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern mediterranean sea. *Mar Ecol Prog Ser* 1996;**131**:125-41

(16) **Amat A, Castegnaro M, Burgeot T, *et al.*** DNA adducts as a biomarker of pollution- Field study on the genotoxic impact

evolution of the Erika oil spill on mussels (*Mytilus edulis*) over an eleven months period. *Polycyclic aromatic compounds* 2004;**24**:713-32

(17) **Bocquéné G, Chantereau S, Raffin B, *et al.*** Biological effects of the "ERIKA" oil spill on the common mussel (Mytilus edulis). *Aquatic living ressources* 2004;**17**(3):309-16

(18) **Amat A, Burgeot T, Castegnaro M, *et al.*** DNA adducts in fish following an oil spill exposure. *Environ Chemistry Letters* 2006;**4**:93-9.

(19) **Cachot J, Cherel Y, Larcher T, *et al.*** Histopathological lesions and DNA adducts in the liver of European Flounder (Platichthys flesus) collected in the Seine estuary *versus* two estuarine system on the French Atlantic coast. *Environ Sci Pollut Res* 2013;**20**:723-37

(20)**Châtel A, Faucet-Marquis V, Perret M, *et al.*** Genotoxicity assessement and detoxification induction in Dreissena polymorpha exposed to benzo[a]pyrene. *Mutagenesis* 2012;**27**(6):703-11

(21) **Châtel A, Faucet-Marquis V, Gourlay-Francé C, *et al.*** Genotoxicity and activation of cellular defenses in transplanted zebra mussels Dreissena polymorpha along the Seine River. *Ecotoxicol Environ Saf* 2014 (sous presse) http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.023

Revues de la littérature

(1) **Zenker A, Cicero MT, Prestinaci F, *et al.*** Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *J Environ Management* 2014;**133**:378-87

(2) **Toolaram AP, Kümmerer K, Schneider M.** Environmental risk assessment of anti-cancer drugs and their transformation products: A focus on their genotoxicity characterization-state of knowledge and short comings. *Mut Res* 2014;**760**:18-25

(3) **Al Aukidy M, Verlicchi P, Voulvoulis.** A framework for the assessment of the environmental risk posed by pharmaceuticals originating from hospital effluents. *Sci Total Environ* 2014;**493**:54-64

(4) **Pal A, He Y, Jekel M, *et al.*** Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environ Int* 2014;**71**:46-62

(5) **Vasquez MI, Lambrinides A, Schneider M, *et al.*** Environmental side effects of pharmaceutical cocktails :What we know and what we should know. *J Hazardous Mat.* 2014;**279**:169-189

(6) **Wyke S, Pena-Fernanadez A, Brooke N *et al.*** The importance of evaluating the physicochemical and toxicological properties of a contaminant for remediating environments affected by chemical incidents. *Environ Int* 2014;**72**:109-18

(7) **Gavina JMA, Yao C, Feng YL.** Recent developments in DNA adduct analysis by mass spectrometry : A tool for exposure biomonitoring and identification of hazard for environmental pollutants. *Talanta* 2014;**130**:475-94

Autres publications identifiées

Caspillo NR, Volkova K, Hallgren S. Short-term treatment of adult male zebrafish (*Danio Rerio*) with 17a-ethinylestradiol affects the transcription of genes involved in development and male sex differentitation. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2014;**164**:35-42

Dans la but de pouvoir établir un éventuel lien entre les phénomènes de reproduction chez les poissons et le rejet d'éthinyl œstradiol (EE2) dans l'eau, les auteurs ont analysé quatre gènes impliqués dans la maturation sexuelle chez le poisson zèbre. Les doses testées sont en corrélation avec les quantités susceptibles d'être retrouvées dans l'environnement et potentiellement responsable de la baisse de reproduction et des malformations des gonades. La dérégulation de ces gènes chez le poisson mâle suite à l'exposition à l'EE2 peut expliquer une démasculinisation du testicule et refléter la perturbation de la reproduction. Ce type d'analyse peut constituer un biomarqueur sensible de l'impact environnemental de l'EE2 sur le poisson.

Baumann M, Weiss K, Maletzki D, *et al.* Aquatic toxicity of the macrolide antibiotic clarithromycin and its metabolites. *Chemosphere* 2015;**120**:192-8.

L'impact écotoxicologique de la clarithromycine (antibiotique largement utilisé) et de ses principaux métabolites a été évalué en suivant le principe scientifique édicté dans le guide 'Technical guidance for deriving environmental quality standard'. Cinq biomarqueurs portant sur la viabilité de plusieurs organismes ont été pris en compte (embryons de poissons zèbres ; Daphnie (microcrustacée) ; Lemna Minor (plante aquatique);Desmodesmus subspicatus (algue) ; Anabaena flos aquae (cynobactérie)). Ceci permet de définir les tests pouvant être mis en œuvre pour un suivi en routine de la qualité de l'eau.

Osachoff HL, Mohammadi M, Skirrow RC, *et al.* Evaluating the treatment of a synthetic wastewater containing a pharmaceutical and personal care product chemical cocktail/Compound removal efficiency and effects on juvenile rainbow trout. *Water Res* 2014;**62**:271-80

L'intérêt de cette étude était de tester l'efficacité de la boue active à éliminer des produits pharmaceutiques et de désinfection pouvant se retrouver dans les effluents hospitaliers . Un effluent synthétique composé d'œstrone, éthinyl œstradiol, ibuprofène, naproxène, 4 nonyphenol, di(2 éthyl) phtalate, tonalide, triclocarban, triclosan, caféine a été épuré dans un bioréacteur de laboratoire et utilisé pour l'exposition de truites.

Ferrando-Climent L, Rodriguez-Mozaz S, Barcelo D. Incidence of anticancer drugs in an aquatic urban system: From hospital effluents through urban wastewater to natural environment. *Environ Pollut* 2014;**193**:216-23

Cette publication met en avant le fait que certains médicaments utilisés dans le traitement des cancers ne sont pas complétement éliminés par les stations d'épuration(STEP), notamment la ciprofloxacine, le cyclophosphamide et le tamoxifène. Leurs concentrations dans l'eau de sortie de STEP sont de l'ordre de dizaine à centaine de nanogramme/L. Ces taux sont susceptibles d'engendrer des effets délétères sur la faune.

Negreira N, Lopez de Alda M, Barcelo D. Cytotstatic drugs

and metabolites in municipal and hospital wastewaters in Spain : Filtration, occurrence, and environmental risk. *Sci Total Environ* 2014 ; **497-498** : 68-77.
Les auteurs ont analysé la présence de treize agents cytostatiques et quatre de leur métabolites dans les eaux usées issues d'un hôpital et les eaux d'entrée et de sortie de STEP. Une évaluation du risque compte tenu des concentrations mesurées aété évalué sur la base des études écotoxicologiques existantes. Les conclusions qui peuvent en être tirées sont que si un risque de toxicité aiguë n'est pas envisageable, les concentrations et le fait de la présence simultanée de ces produits peut être à l'origine d'effet chronique avec notamment un impact sur la reproduction des poissons.
Cruz-Morato C, Lucas D, Llorca M, *et al.* Hospital wastewater treatment by fungal bioreactor: Removal efficiency for pharmaceuticals and endocrine disruptor compounds. *Sci Total Environ* 2014 ; **493** : 365-76.
Dans cette étude, le test du microtox® est utilisé pour suivre l'efficacité d'un nouveau procédé d'épuration des effluents hospitaliers. L'analyse a été réalisée dans un bioréacteur de laboratoire. Il s'avère que le champignon 'Trametes versicolor' est relativement efficace pour épurer ce type d'effluent. La réduction du taux de contaminants est corrélée à la baisse de toxicité.
Mater N, Géret F, Castillo L, *et al.* Ecological risk assessment of ciprofloxacine, tamoxifen and cyclophosphamide in range of concentrations released in hospital waste water and river. *Environ Int* 2014 ; **63** : 191-200
Une batterie de tests (viabilité cellulaire, cassure ADN, microtox, algaltox) a été mise en œuvre pour évaluer l'impact toxique des faibles doses de trois médicaments utilisés dans le traitement du cancer (ciprofloxacine, cyclophosphamide, tamoxifène). Les concentrations testées correspondent à celle pouvant être retrouvées soit dans les effluents hospitaliers, soit dans les stations d'épuration, soit dans les rivières voire l'eau de boisson. Il apparaît que les tests sont complémentaires, et qu'il est important de tester l'effet mélange.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Bulletin de Veille Scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 25 • Décembre 2014
Notes d'actualité scientifique

Risques sanitaires et société

Inégalités sociales et facteurs environnementaux au Canada

Période : avril 2014 à août 2014

Gilles MAIGNANT | gilles.maignant@unice.fr

CNRS – UMR 7300 ESPACE – Nice – France

Mots-clés : **analyse spatiale, Canada, facteurs environnementaux, maladies, ville**

De très nombreuses études européennes et internationales mettent en exergue des relations entre facteurs environnementaux, inégalités sociales et problèmes de santé mais peu d'entre elles s'intéressent aux différenciations spatiales de ces phénomènes. Les trois publications choisies permettent d'approfondir cette question. A travers des études à l'échelle urbaine et périurbaine, une approche des inégalités en matière de prévalence des maladies chroniques en lien avec l'espace est déclinée sur la province de la Nouvelle-Ecosse au Canada (article de Terashima *et coll.*). Une deuxième étude portant sur les facteurs environnementaux de proximité permet d'explorer des facteurs de confusion sur les occurrences de lésions chez les adolescents (article de Vafaei *et coll.*) Le troisième article (Roy *et coll.*) porte à connaissance la surveillance des inégalités sociales et spatiales dans les questions de logement. Ces trois études s'appliquent au Canada, pays particulièrement sensibilisé aux questions de santé publique.

Analyse des inégalités dans la prévalence des maladies chroniques dans des collectivités urbaines et non urbaines de la province de la Nouvelle-Écosse au Canada, période 2007-2011

Terashima M, Rainham DGC, Levy AR. A small-area analysis of inequalities in chronic disease prevalence across urban and non-urban communities in the Province of Nova Scotia, Canada, 2007-2011. *BMJ Open* 2014;**4**:e004459. DOI : 10.1136/bmjopen-2013-004459

Résumé

Les travaux explorant l'influence de l'environnement de vie sur les inégalités de santé n'ont cessé de croître durant les vingt dernières années et constituent un pan de recherche important de la santé publique. L'environnement social et socio-économique analysé à travers des indicateurs comme la défaveur matérielle, l'instabilité résidentielle ou encore le manque d'allocations sociales sont reconnus comme des facteurs augmentant la prévalence des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète et des troubles psychiques, même après ajustement sur les facteurs individuels (niveau d'éducation, revenu...). Dans ce contexte, l'objectif de l'étude est d'étudier l'effet des caractéristiques individuelles et contextuelles dans le risque de survenue de quatre maladies chroniques (maladies cardiaques, cancer, diabète et AVC) dans une petite province du Canada, la Nouvelle-Écosse. Il s'agit d'une étude multiniveaux dont l'échelle géographique d'analyse est la « communauté[1] », regroupant en moyenne 3 476 habitants. La zone d'étude est composée de 276 unités géographiques. Les données contextuelles, obtenues à partir du recensement de la population canadienne, ont permis d'une part de créer les indices de défaveur sociale et matérielle et d'autre part de classer les 276 unités géographiques selon le type d'urbanisation (urbain/ville/rural). Les données individuelles exploitées proviennent quant à elles de l'étude « Canadian Community Health Survey » conduite entre 2007 et 2011. Les adresses postales individuelles ont été géocodées à l'échelle administrative d'intérêt, la « commauté ». Les populations résidant en ville ressortent toujours comme celles les plus à risque de maladies cardiaques (Odds-Ratio[2]=1,47 – $IC_{95\%}$[3] = [1,07 ; 2,02]) et de cancer (Odds-Ratio=1,42 – $IC_{95\%}$ = [1,02 ; 1,99]). La défaveur matérielle est significativement associée au risque de diabète uniquement (Odds-Ratio=1,62 – $IC_{95\%}$ = [1,10 ; 2,38]). Concernant les facteurs individuels, plusieurs augmentent le risque de souffrir d'au moins une des quatre maladies. L'effet sanitaire est augmenté selon le genre, en particulier dans les zones rurales, la composition de la famille (avoir un enfant) diminuerait le risque dans les villes, de même le chômage augmenterait le risque quel que soit le type d'espaces considéré : communauté, ville ou rural.

Commentaire

Alors que le modèle de régression logistique est une méthode d'analyse statistique relativement classique en épidémiologie, l'ajout de la dimension multiniveaux apporte une originalité au travail. La stratification selon le niveau d'urbanisation de la zone étudiée (ville, campagne) constitue également une originalité de l'étude ; cela apporte notamment des éléments nouveaux sur le rôle différencié de certains facteurs de risque contextuels mais également individuels des maladies étudiées ; citons par exemple le genre : le fait de perdre son emploi a un effet sur la santé plus important chez les hommes que chez les femmes. D'autre part, le questionnaire est auto-administré et des erreurs de classification notamment des événements de santé pourraient produire des estimations erronées des risques ; cela pourrait être particulièrement dommageable si cette erreur de classification était socialement différenciée. Une autre étude a permis de valider la concordance entre données rapportées et données provenant des bases de données administratives pour certaines pathologies. De plus, certains facteurs de risques

ne sont pas pris en compte (par exemple, la consommation d'alcool) mais on peut faire l'hypothèse que dans une certaine mesure, l'indice de défaveur contextuelle constitue un proxy de certains facteurs de risque non disponible. Les auteurs mettent également en évidence la limite de l'étude due à la taille de l'échantillon qui, même s'il peut paraitre de taille importante, est finalement de taille insuffisante au regard du nombre de facteurs testés. Il serait également pertinent de tenir compte de certaines spécificités des communautés notamment en termes de planification de politiques de santé publique.

Facteurs environnementaux contextuels et survenues de blessures chez les adolescents canadiens : une étude de validation et d'exploration de facteurs de confusion

Vafaei A, Pickett W, Alvarado BE. Neighbourhood environment factors and the occurrence of injuries in Canadian adolescents: a validation study and exploration of structural confounding. *BMJ Open* 2014;**4**:e004919 DOI : 10.1136/bmjopen-2014-004919

Résumé

Il est important de tenir compte du mécanisme de confusion dit structurel dans les études visant à étudier l'impact des facteurs sociaux sur la santé : plus précisément ce type de biais se définit par le fait que certains groupes de population pourraient ne jamais être exposés aux différents niveaux d'expositions socioéconomiques contextuels étudiés. Aucune méthode standard ne permet d'explorer la présence ou non de ce biais ; la plus couramment mise en œuvre est l'analyse de « tabulation ». Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de développer une méthode visant à tester la fiabilité et la validité d'indicateurs composites multi-échelles spatiales tenant compte du capital social[4], du niveau socio-économique, du SSE[5], et de l'aménagement urbain et d'explorer également le biais structurel que pourraient avoir ces mêmes variables dans l'étude de la survenue de blessures chez les jeunes adolescents. Les quelques caractéristiques contextuelles des écoles et des unités spatiales voisines seront comparées à celles mesurées sur le lieu de résidence. Cette étude s'appuie sur une base de données de 26 000 adolescents âgés de onze à quinze ans entre 2009 et 2010, répartis dans 436 écoles sur onze des treize provinces du Canada. L'événement d'intérêt, la survenue de blessures, a été collecté ; les écoles et leurs environnements proches sont considérés comme des unités spatiales de référence, pour lesquelles l'impact du bruit et du SSE[5] sur les occurrences de maladies est mesuré. Des indicateurs construits à partir d'un questionnaire auto-administré couplé à des caractéristiques socio-économiques et démographiques ont permis d'estimer le pourcentage d'enfants souffrant de blessures selon le niveau socioéconomique, la présence d'espaces verts ou encore la cohésion sociale. Les indices composites (socioéconomiques et environnementaux) ont montré de bonnes propriétés psychométriques (Cronbach'α>0,7) [6]. Aucun biais structurel n'a été mis en évidence. Ce résultat suggère qu'il peut être approprié d'explorer le rôle des facteurs sociaux dans la survenue de blessures chez l'adolescent sans tenir compte de ce biais et en mettant en œuvre une régression multiniveaux classique.

Commentaire

Les apports de cette présente étude est avant tout méthodologique. En effet, si l'objectif d'explorer le rôle des facteurs sociaux individuels et contextuels dans le risque sanitaire est assez classique, le fait de tenir compte du biais structurel par une analyse dite de « tabulation » est vraiment original. De même, utiliser des méthodes de validation psychométrique pour juger de la qualité des indicateurs composites constitue un point d'originalité supplémentaire. Concernant les résultats obtenus, en se basant sur des analyses stratifiées, les auteurs mettent en évidence un taux de blessures différent entre garçons et filles (15,4 % *versus* 12,9 %). Cependant peu de différences ont été notées concernant ceux qui répondaient aux questions de capital social et ceux qui n'y répondaient pas. Des distributions normales ont été observées pour les indicateurs SSE[6] et de connectivité de rue, répondant ainsi aux principales hypothèses pour l'analyse factorielle (profils). Ainsi, les élèves scolarisés dans des écoles à faible capital social sont plus âgés que les autres, sont plus souvent des filles et sont moins susceptibles de vivre dans des familles à niveau de revenu moyen ou élevé. La première limite de cet article tient dans la classification selon l'âge (quinze ans n'est pas le bon âge pour séparer convenablement l'échantillon en termes d'éducation). La seconde tient dans la pertinence des indicateurs de connectivité urbaine choisis (densité d'intersection, longueur moyenne de bâtiment, nombre de nœuds connectés dans un rayon de 1 km autour de chaque école), autant de paramètres utilisés dans les études mais néanmoins jamais validés. De même, il serait intéressant de compléter la base de données, notamment par l'information sur les espaces verts qui est absente pour 27 % des écoles choisies ; cette information manquante est de plus distribuée de manière non-aléatoire sur l'ensemble du territoire créant un biais supplémentaire.

Surveillance des inégalités sociales et spatiales dans les questions liées au logement : le cas des cantons de l'Est, Québec (Canada)

Roy M, Généreux M, Lavardière E, Vanasse A. Surveillance of social and geographic inequalities in housing-related issues : the case of the eastern townships, Quebec (Canada). Int. J. Environ. Res. Public Health 2014;**11**:4825-44 ; DOI : 10.3390/ijerph 110504825

Résumé

Les expositions environnementales sont aujourd'hui reconnues comme des déterminants des inégalités sociales de santé ; notamment celles en lien avec le logement et ses caractéristiques sachant que nous y passons 2/3 de notre temps. La majorité des études investiguant le lien entre le niveau social et les caractéristiques physiques de l'environnement incluant celles liées au logement sont Européennes ; peu d'études explorent cette problématique au Canada. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'examiner la répartition inégale de ces

caractéristiques au sein de populations. L'étude a été conduite dans l'un des dix-huit territoires de santé au Québec (mélange de communautés urbaines, semi-urbaines et rurales avec une population de 315 000 personnes). Les données d'exposition en lien avec les caractéristiques du logement ont été collectées via un questionnaire. Les cinq dimensions de l'environnement physique (monoxyde de carbone, combustion du bois, stress lié à la chaleur, la FTA[7] et le bruit) ont été estimées à partir de dix-neuf items. Les indicateurs socioéconomiques incluaient au niveau individuel, le niveau de revenu du foyer et le niveau d'éducation, et au niveau contextuel, deux indicateurs composites de défaveur matérielle et de densité de population.

Sur les dix-neuf items étudiés, treize sont rapportés comme étant significativement associés aux caractéristiques socioéconomiques : globalement, des conditions de logement dégradées sont plus fréquemment rencontrées chez les populations les plus défavorisées. Les tableaux de l'article permettent d'identifier plus précisément les relations entre un déterminant socioéconomique particulier et une caractéristique environnementale.

Commentaire

Comme dans toutes les études sociogéographiques, la principale difficulté est l'obtention de données, le choix des indicateurs ainsi que l'échelle de mesure. L'étude permet de mieux cerner les facteurs d'inégalités sociales dues au logement mais présente toutefois quelques limites classiques. Comme l'enquête est faite par téléphone, seules les personnes disposant d'un téléphone (cellulaire ou fixe, environ 86 % des personnes) sont contactées. Les personnes les plus avenantes à répondre aux questionnaires téléphoniques sont mobilisées ce qui crée un biais de représentation si les non répondants sont associés aux caractéristiques socioéconomiques. L'exposition à la fumée peut également être sous-estimée en raison de la désirabilité individuelle[8] en la matière. Mais, la principale limite réside dans le bruit des données collectées par questionnaire auto-administré. Il serait souhaitable de disposer de données objectives, mesurées mais cela obligerait à réduire substantiellement le volume de l'enquête. Plusieurs inégalités en matière de logement extrêmement marquées doivent nous encourager à mieux les mesurer, alerter les décideurs publics et à renforcer la promotion de la santé.

Conclusion générale

Les trois publications font le lien entre inégalités sociales et inégalités de santé au Canada en mettant l'accent sur les facteurs explicatifs de ces différenciations spatiales, qu'ils soient environnementaux ou socio-économiques. A travers des questionnaires et des méthodes de statistiques spatiales, les différentes échelles sont appréhendées, ainsi les études de Vafaei *et coll.* et de Roy *et coll.* sont plus globales et ne distinguent pas les relations multiscalaires contrairement à l'étude de Terashima *et coll.* Ces trois études, très complémentaires, permettent de questionner la pertinence et les limites des questionnaires auto-administrés (Sont-ils réellement pertinents dans le domaine de la santé ?). En effet, ce type de questionnaires d'une part présuppose que la personne enquêtée ait les compétences nécessaires en lecture et écriture, d'autre part que le choix des indicateurs à mobiliser ne favorise pas les surreprésentations des extrêmes.

General conclusion

The three publications make the link between social inequality and health inequality in Canada focusing on the factors explaining these spatial differences, whether environmental or socio-economic. Through questionnaires and methods of spatial statistics, the different scales are apprehended, studies of Vafaei et al. and Roy et al. are global and do not distinguish between multiscale relationships unlike the study of Terashima et al. These three studies highly complementary, question the relevance and limitations of self-administered questionnaires (are they really relevant in the health's field?). Indeed, this type of questionnaires firstly assumes that the respondent has the necessary skills in reading and writing, on the other hand that the choices of indicators to mobilize do not promote extreme overrepresentation.

Lexique

(1) Communautés/Community : Collections, clusters ou quartiers définis pour leur identité homogène en lien avec des processus sociaux pertinents pour leur santé.

(2) Odds ratio : Risque relatif rapproché ou odds ratio, mesure statistique exprimant le degré de dépendance entre des variables aléatoires qualitatives. Permet de mesurer l'effet d'un facteur.

(3) IC : Intervalle de confiance [moyenne – écart type ; moyenne + écart type].

(4) Capital social : Ensemble des ressources actuelles ou potentielles qui sont liées à la possession d'un réseau durable de relations plus ou moins institutionnalisées

d'interconnaissance et d'inter-reconnaissance (selon Bourdieu).

(5) SSE : Statut socioéconomique

(6) Coefficient alpha de Cronbach : Le coefficient alpha de Cronbach, parfois appelé simplement coefficient α est une statistique utilisée notamment en psychométrie pour mesurer la cohérence interne (ou la fiabilité) des questions posées lors d'un test (les réponses aux questions portant sur le même sujet devant être corrélées). Sa valeur s'établit entre 0 et 1, étant considérée comme "acceptable" à partir de 0,7.

(7) FTA : Fumée de tabac ambiante

(8) Désirabilité individuelle : Motivation ou affect particuliers qu'une personne peut ressentir à l'égard d'un objet ou d'une personne.

Publications de référence

(1) **Apouey BH, Geoffard PY.** Child health and access to health care in France: evidence on the role of family income. *Rev Epidémiol Santé Publique* 2014;**62**:179-90.

(2) **De la Haye K, D'Amico EJ, Miles JNV, *et al.*** Covariance among multiple health risk behaviors in adolescents. *Plos One* 2014;**9**:e98141.

(3) **Xie X, Wu Q, Hao Y, *et al.*** Identifying determinants of socioeconomic inequality in health service utilization among patients with chronic non-communicable diseases in China. *Plos One* 2014;**9**:e100231.

Autres publications identifiées

Zhou J, Ru X, Hearst N. Individual and household-level predictors of health related quality of life among middle-aged people in rural Mid-east China: a cross-sectional study. *BMC Public Health, 2014;**14**:660.*

L'article de Zhou et coll. a également été sélectionné pour son approche qualité de vie et santé. En effet, il présente l'intérêt de se focaliser sur les personnes d'âge moyen (population grandissante en Chine) et sur la qualité de vie liée au logement, et son impact sur la santé tout en essayant de distinguer les variables de confusion. La méthodologie développée dans cet article est également une méthode par questionnaires mais se focalise uniquement sur une échelle spatiale à savoir la campagne. De plus, l'échantillon de personnes est faible : 428 personnes réparties dans douze villages.

Chen Y, Yin Z, Xie Q. Suggestions to ameliorate the inequity in urban/rural allocation of healthcare resources in China. *I J Equity Health* 2014;**13**:34

L'article de Chen et coll. propose de réfléchir aux améliorations possibles de répartition des ressources du système de santé en Chine, notamment en gommant la disparité monde urbain/monde rural. Il s'agit de repérer ces disparités afin de proposer à la sphère décisionnelle des moyens d'optimisation des systèmes de santé. Bien qu'intéressant cet article n'a pas été retenu de par le pays concerné.

Asada Y, Whipp A, Kindig D, *et al.* Inequalities in multiple health outcomes by education, sex and race in 93 US counties: Why we should measure them all. *I J Equity Health* 2014;**13**:47

Cet article s'intéresse aux inégalités de santé dans 93 comtés américains en se focalisant sur la part de facteurs comme l'éducation, le sexe ou encore la race. En croisant toutes ces données sur plusieurs années et en s'intéressant à quatre effets sur la santé : mauvaise santé, mauvaise santé physique, mauvaise santé mentale, faible poids à la naissance ; il permet de déterminer des profils soulignant le rôle majeur des disparités de l'éducation dans leur impact sur la santé.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;

☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Adversités psychosociales précoces et santé physique et mentale à l'âge adulte

Période : avril 2014 à août 2014

Stéphanie PINEL-JACQUEMIN et Chantal ZAOUCHE GAUDRON | **Pinel-jacquemin@univ-tlse2.fr**

Université Toulouse - Jean Jaurès – Laboratoire LISST-CERS – Toulouse – France

Mots-clés : **Adversités psychosociales précoces, facteurs de risque, santé physique et mentale**

Le lien entre les adversités psychosociales précoces et la santé physique et mentale à l'âge adulte a largement été démontré dans la littérature scientifique. Néanmoins, dans une grande majorité des études, l'adversité est mesurée rétrospectivement et les mécanismes liant adversités et santé à long terme restent encore à expliquer. Les trois publications choisies ont l'avantage de mettre en perspective les problématiques actuelles dans ce domaine de recherche qui sont d'une part la prise en compte de plusieurs niveaux d'analyse des facteurs de risque (à la fois individuels, interactionnels et socioculturels), la nécessité sur le plan méthodologique de réaliser des études prospectives, l'intervention de variables médiatrices (comme par exemple, l'indice de masse corporelle et la symptomatologie dépressive) et, d'autre part l'effet cumulé des adversités précoces, comme par exemple la psychopathologie parentale et les difficultés financières subies dans l'enfance.

L'origine ethnique, la négligence des besoins de l'enfant et la précarité précoce prédisent-elles la santé physique à l'âge adulte ? Une analyse prospective multi-niveaux

Nikulina V, Spatz Widom C. Do race, neglect, and childhood poverty predict physical health in adulthood? A multilevel prospective analysis. *Child Abuse Neglect* 2014;**38**:414–24.

Résumé

Cette publication examine les effets indépendants et conjoints de la négligence des besoins de l'enfant (en vêtements, logement, alimentation et soins médicaux), de son origine ethnique et d'un environnement social précaire dans l'enfance sur la santé physique à l'âge adulte. Elle se base sur un modèle écologique qui souligne la nécessité de considérer l'individu dans son environnement large, tenant compte ainsi des influences des différents milieux de vie qu'il côtoie et de leurs interactions (1). La méthodologie choisie est prospective et concerne une cohorte d'enfants blancs et noirs, dont une partie a été reconnue judiciairement comme victimes d'abus/négligence avant onze ans (n = 908) et l'autre, équivalente en âge, sexe, origine ethnique et milieu social, ne l'étant pas (n = 667). Les recueils de données (tests physiques, prises de sang, entretiens de santé, etc.) ont été effectués à quatre reprises, en 1967-1971, soit au moment de la procédure judiciaire, en 1989-1995 (N = 1196), en 2000-2002 (N = 896) et en 2003-2005 (N = 806). Trois indicateurs de santé sont mesurés : l'hypertension, le fonctionnement pulmonaire et la protéine C-réactive (CRP[1]), indicateur du risque de maladies cardio-vasculaires. Les résultats présentés ici concernent le dernier recueil de données (2003-2005) et indiquent l'interaction entre l'origine ethnique et les adversités précoces pour prédire la santé physique à l'âge adulte. La précarité familiale induit davantage de risque d'hypertension pour les noirs que pour les blancs ($OR_{95\%}$[5] = 1,78, IC[6] [0,97-3,26]). Parmi ces derniers, la négligence précoce est associée à une augmentation de la CRP[1] ($OR_{95\%}$[5] = 2,18, CI[6] [1,29-3,67]). La précarité du voisinage dans l'enfance interagit avec la précarité familiale pour influencer le fonctionnement pulmonaire à l'âge adulte. Une interaction genre/origine ethnique révèle que les femmes d'origine caucasienne, mais pas celles d'origine africaine, ont plus de risque d'avoir un dysfonctionnement pulmonaire que les hommes ($OR_{95\%}$[5] = 5,22, IC[6] [1,14-23,90]).

Commentaire

Sur le plan méthodologique, la nature prospective des données évite les biais de réminiscence et permet d'isoler les différentes influences des expériences vécues durant l'enfance sur la santé physique ultérieure. L'échantillon du dernier recueil effectué plus de vingt-cinq ans après le premier représente 67,4 % de l'échantillon initial. Il faut cependant noter que ces individus ne représentent pas la majorité des enfants abusés ou maltraités car tous ne finissent pas avec une procédure judiciaire.

La prise en compte de différents niveaux d'analyse, aussi bien individuel, familial, social que culturel, et de leurs interactions, a cependant longtemps été souhaitée dans la littérature, mais rarement évaluée du fait des contraintes méthodologiques. Elle apparaît incontournable pour comprendre leur influence conjointe et cibler de façon appropriée toute politique d'intervention.

De plus, les anglo-saxons, en particulier les Nord-Américains, ne font pas, malgré la complexité des relations et des influences multiples, des différences raciales un tabou et soulèvent l'importance de comprendre ce qu'englobe la notion de « race » (discrimination raciale, difficultés socio-économiques...) et pourquoi les réactions face aux environnements adverses diffèrent selon ce critère. Davantage d'études sont ici attendues, en n'oubliant pas d'interroger la pertinence de la catégorisation raciale (2).

L'adversité cumulée dans l'enfance et les facteurs de risque émergents pour la santé à long terme

Slopen N, Koenen KC, Kubzansky LD. Cumulative Adversity in Childhood and Emergent Risk Factors for Long-Term Health. *J Pediatr* 2014; **164**:631-8.

Résumé

Cette étude approfondit la question du lien entre l'adversité précoce (avant sept ans) et la santé ultérieure, à sept et onze ans, en tenant compte des périodes sensibles, c'est-à-dire quand les effets de l'expérience sont particulièrement forts sur une période limitée du développement, du niveau de l'exposition au risque et de sa chronicité, mais aussi de l'effet cumulé des adversités.

Les données concernant huit risques psychosociaux définissant l'adversité (psychopathologie maternelle, nombre d'adultes dans le foyer, problèmes judiciaires parentaux, enfant placé en institution ou chez des parents, blessure physique, abus sexuel, difficultés financières et environnement défavorisé) d'une cohorte suivie de 3 348 enfants anglais (49,76 % de filles) ont été relevées à quatre périodes développementales : entre zéro et un an et demi, entre un an et demi et trois ans, entre trois et cinq ans et entre cinq et sept ans.

Trois indicateurs de santé communément relevés dans l'enfance par les pédiatres, sont évalués : la tension, l'indice de masse corporelle (IMC(3)) et les troubles du comportement (internalisés, soit émotionnels et avec les pairs, et externalisés, soit les troubles de la conduite et l'hyperactivité) ont été relevés à sept et onze ans.

Les résultats indiquent qu'à sept ans, l'adversité moyenne et l'exposition chronique à une adversité élevée sont associées à un IMC(3) plus élevé et aux symptômes internalisés (INT(4)) et externalisés (EXT(2)), mais pas à une tension plus élevée. L'adversité cumulée entre un an et demi et trois ans est la seule à être associée à une hausse de l'IMC (3) entre sept ans et onze ans, l'exposition à l'adversité cumulée durant les autres périodes développementales, l'adversité cumulée moyenne entre zéro et sept ans et l'exposition chronique à l'adversité cumulée ne sont pas associées à cette hausse d'IMC (3) entre sept et onze ans.

L'adversité dans les autres périodes développementales est également associée à davantage de symptômes INT(4) et EXT(2). Aucune différence de genre n'est notée.

Commentaire

Cette étude apporte deux contributions majeures en tenant compte, en plus de l'adversité durant l'enfance, du cumul des adversités et des périodes d'exposition à l'adversité, de la trajectoire de vie et de la différenciation entre les résultats comportementaux dans l'enfance et les résultats physiques d'IMC(3) et de tension : les premiers sont plus affectés par l'adversité psychosociale précoce que les seconds. Les variations possibles dans l'évaluation de l'adversité cumulée (ex : âge de l'exposition, chronicité) sont prises en compte et influencent différemment les indicateurs de santé à long terme relevés dans l'enfance. Cette influence peut sans doute s'expliquer par des mécanismes qui régulent le métabolisme et les comportements ou qui compromettent le parentage de par des conditions stressantes (3). Ils mériteraient d'être approfondis, notamment en intégrant plus de variables de confusion ou de médiation.

L'approche cumulative ne permet pas la prise en compte de l'intensité variable de chaque risque pris individuellement et peut conduire à sa sous-estimation (4), pour des modèles alternatifs d'évaluation des risques multiples. Certaines variables auraient par ailleurs pu être prises en compte dans l'analyse des résultats, notamment les facteurs individuels alimentaires, l'activité physique et les antécédents familiaux (deuils, séparation, etc.) de même que les enfants perdus de vue lors du recueil des données entre sept (N = 4 361) et onze ans (N = 3 348).

Adversité socioéconomique précoce et maladie physique de jeunes adultes : le rôle de l'indice de masse corporelle et de la symptomatologie dépressive

Wickrama KAS, Kwon JA, Oshri A, Lee TK. Early Socioeconomic Adversity and Young Adult Physical Illness: The Role of Body Mass Index and Depressive Symptoms. *J Adolesc Health* 2014;**55**:556-63

Résumé

Cette étude s'intéresse à l'influence de l'adversité socioéconomique précoce cumulée (ex : éducation parentale, précarité familiale et communautaire) sur la santé de jeunes adultes (huit maladies répertoriées : hépatite, cancer/leucémie, diabète, maladie cardiaque, asthme ou bronchite chronique, migraine avec tension, MST(7)) directement ou indirectement *via* les trajectoires de symptomatologie dépressive et d'IMC(3).

Le recueil longitudinal de données (quatre temps : 1995, 1996, 2001 et 2008) sur 12 424 adolescents américains ($M_{age\ en\ 1995}$ = 15,5 ans ; étendue = 12-19 ans ; de 134 écoles de niveau intermédiaire et secondaire ; 53 % de femmes) indique que des trajectoires de vie révélant une augmentation de symptomatologie dépressive (β = 0,06, $p < 0,05$) et d'IMC(3) (β = 0,16, $p < 0,001$) induisent davantage de maladies physiques à l'âge adulte et sont activées par les adversités socioéconomiques précoces et leur sévérité initiale. Les adversités socioéconomiques précoces viennent s'ajouter aux conduites adaptatives de l'adolescent et conduisent potentiellement à des réponses au stress qui exacerbent les processus métaboliques pouvant favoriser une prise de poids plus importante des adolescents.

Commentaire

Cette étude montre que la prise en compte des trajectoires individuelles des caractéristiques psychophysiologiques de l'adolescence à l'âge adulte prédit davantage les risques de santé que des mesures ponctuelles. Elle montre aussi et surtout que l'adversité précoce cumulée influence l'état de santé adulte via son impact sur les taux initiaux et les trajectoires des syndromes dépressifs et d'IMC.

Elle ne précise cependant pas les mécanismes explicatifs de l'impact de l'adversité cumulée dans le temps. S'agit-il davantage d'une exposition plus intense à un contexte stressant, d'une augmentation de la susceptibilité à ce contexte stressant ou

bien encore d'une intensification ultérieure de l'impact des dommages psycho-physiologiques précoces ?
Une autre limite de l'article est de mélanger dans la variable adversité socioéconomique précoce des critères économiques individuels et « communautaires » (l'éducation parentale, la privation économique familiale et les mesures d'adversité communautaire telle qu'évaluées par le recensement américain et constituées des proportions communautaires des familles vivant dans la précarité, des familles monoparentales, des adultes employés dans le secteur industriel et du nombre de chômeurs) alors même que les mécanismes en jeu diffèrent en fonction du niveau auquel on se place.

Conclusion générale

Ces trois études examinent le lien entre les adversités précoces et l'état de santé ou des marqueurs de santé à l'âge adulte. Elles soulèvent un certain nombre de questions d'actualité dans ce domaine de recherche : la question de la prise en compte des trajectoires de vie plutôt que des mesures recueillies ponctuellement, de l'existence de chaînes de causalité et des variables médiatrices comme la dépression ou l'IMC(3), celle également du cumul des adversités ainsi que du rôle du contexte de vie au-delà de l'individu. De plus, elles s'intéressent à la santé physique, là où la plupart des publications focalisent leur attention sur la santé mentale. Ainsi, elles amènent des informations intéressantes dans la compréhension de l'incorporation biologique des adversités précoces, essentielle pour les politiques de santé publique à venir et soulignent la nécessité de faire de la prévention à l'adolescence pour acquérir des bonnes habitudes de vie dans ces populations à risque.

General conclusion

These three studies consider the link between the early adversities and the development of disease in the adulthood. They raise a number of topical questions in this domain of research: the question of the consideration of the trajectories of life rather than punctual measures, the mediating variables as the depression or the BMI(3), the accumulation of the adversities or the life context beyond the individual. Furthermore, they look into the physical health, where most of the publications focus on the mental health. They, therefore, bring interesting information in the understanding of the "biological embodiment", biological incorporation of the early adversities for public health policies to come and underline the necessity of taking preventive action in the adolescence to acquire good life habits in these populations at risk.

Lexique

(1) CRP : Protéine C-réactive : indicateur du risque de maladies cardio-vasculaires
(2) EXT : Troubles externalisés : les troubles de la conduite et l'hyperactivité
(3) IMC : Indice de masse corporelle = BMI : Body Mass Index
(4) INT : Troubles internalisés : troubles émotionnels et avec les pairs
(5) OR : Odds Ratio ou rapport de chance
(6) IC : Intervalle de confiance
(7) MST : Maladie sexuellement transmissible

Publications de référence

(1) **Bronfenbrenner U.** *The Ecology of Human Development: Experiments by Nature and Design* 1979. Cambridge, MA: Harvard University Press.
(2) **Bonniol JL.** Que faire de la « race » ? Du diagnostic à la thérapie. *Ann Dermatol Venereol* 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.annder.2014.06.016
(3) **Kettani M, Troupel-Cremel O, Pinel-Jacquemin S.** L'adaptation socio-affective des enfants de 2 à 6 ans en situation de précarité : le rôle de l'engagement paternel. *Empan* 2011;**84**:139-144.
(4) **Evans GW, Li D, Sepanski Whipple S.** Cumulative risk and child development. *Psychol Bull* 2013; **137**: 1342-96.

Revues de la littérature

Roepke AM. Psychosocial Interventions and Posttraumatic Growth: A Meta-Analysis. *J Consult Clin Psychol* 2014; 19 May. Advance online publication. http://dx.doi.org/10.1037/a0036872

Autres publications identifiées

Raposa EB, Hammen CL, Brennan PA, *et al.* Early adversity and health outcomes in young adulthood: The role of ongoing stress. *Health Psychol* 2014;**33**:410-8.
Cette étude confirme l'impact de l'adversité précoce sur le stress et la dépression entre quinze et vingt ans. Stress qui a des effets en retour sur la santé physique à vingt ans, directement ou indirectement via la dépression.
Roy A, Raver CC. Are all risks equal? Early experiences of poverty-related risk and children's functioning. *J Fam Psychol 2014;***28**:391-400.
Insiste sur l'importance de distinguer différents profils de précarité selon l'exposition et quatre risques, en lien avec la précarité (ex : monoparentalité, logement surpeuplé, dépression parentale et stresseurs de vie multiples). Bien que les risques co-varient, les profils de risque diffèrent selon l'origine ethnique et conduisent à des adaptations différentes dans les domaines scolaire et comportemental.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :
☒ n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
☐ avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Comité Éditorial

Catherine DEMAILLY-MULLIE : Enseignant-chercheur - Faculté de pharmacie d'Amiens
Nathalie HERLIN : CEA-CNRS – Chercheur - Laboratoire Francis Perrin (URA 2453)
Nicolas DE MENTHIÈRE : Irstea-Directeur de la prospective et de la veille scientifique et technique
Michel HERY : INRS - Direction générale - Mission Veille et prospective
Lionel LAFAY : INCa - Chef de projet épidémiologie - Département Observation, veille et évaluation
Mimoza MANIKA : CHU de Toulouse - Université Paul Sabatier représentant le CEHUMT
Hélène GOULARD : InVS - Département Santé Travail
Anne MASSON : ANSM - Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé - Pôle de Documentation
Nathalie VELLY : InVS - Département Santé Environnement

Relecteurs

Jacques ACAR: Professeur Émérite de Microbiologie - expert auprès de l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale)
Martine AGGERBECK : UMR-S 1124 Inserm - Université Paris Descartes
Morgane BACHELOT : Anses – Direction de l'évaluation des risques
Bernard BARTENLIAN : Chercheur - CNRS - Institut d'Électronique Fondamentale de l'Université Paris-Sud
Laurent BODIN : Anses - Direction de l'évaluation des risques
Corinne COTINOT : DR1 - UMR1198 - Biologie du Développement et Reproduction - INRA - Jouy-en-Josas
Séverine DEGUEN : EHESP École de Santé Publique - INSERM U1085 (IRSET) - Rennes
Anh-Tuan DINH XUAN : Hôpital Cochin, Université Paris Descartes
Patrick FENICHEL : MD, PhD - Inserm U1065 - CHU de Nice
Pierre-Olivier FERNAGUT : CNRS UMR 5293 - Institut des Maladies Neurodégénératives - Université de Bordeaux
Damien FOURNIER : Laboratoire de Bactériologie - CHRU de Besançon
Barbara GOUGET : Anses - Conseiller scientifique - Direction des laboratoires
Aurélie GOUTTE : École pratique des hautes études et l'Université Pierre et Marie Curie
Marisa HAENNI : Anses - Unité Antibiorésistance et Virulence Bactériennes - Laboratoire de Lyon
Didier HOCQUET : Laboratoire d'hygiène hospitalière - UMR 6249 Chrono-environnement - CHRU Besançon
Pierre LE CANN : Professeur de Microbiologie - École des hautes Études en santé Publique – Rennes
Romain MARTI : Équipe « Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement » - UMR5557 Écologie Microbienne - Université Lyon 1 - CNRS - Vetagro-Sup
Luc MULTIGNER : Directeur de Recherche - Inserm U1085 - IRSET
Sandra PEREZ : Maître de Conférences Géographie - UMR 7300 ESPACE - Université Nice Sophia-Antipolis
Malak SAFI : Chercheuse-Postdoctorante à l'Institut d'Électronique Fondamentale de l'Université Paris-Sud

Coordination - Anses

Directeur de publication : Marc MORTUREUX
Rédactrice en chef : Régine ROBICHON
Comité de rédaction : Régine ROBICHON, Louis LAURENT, Gérard LASFARGUES
Responsable d'édition : Fabrice COUTUREAU
Assistante d'édition : Céline LETERQ

Le *Bulletin de veille scientifique* de l'Anses (*BVS*) est un recueil de notes en français revues par les pairs, dans lesquelles des experts en santé-environnement, santé-travail, font une analyse critique de deux à trois publications internationales parues pendant une période de veille récente de quelques mois. L'auteur présente dans chaque note une introduction générale de la problématique, suivie pour chaque publication, d'un résumé et d'un commentaire dans lequel les points pertinents sont analysés. Enfin, une conclusion générale fait le lien entre les publications choisies, et propose une mise en perspective des résultats.

Le *BVS* produit en collaboration avec le réseau des partenaires de l'Anses, a pour objectif principal de diffuser une information actualisée et validée en appui aux politiques publiques. Il s'adresse à tous, décideurs, chercheurs, représentants du milieu associatif ou entrepreneurs.

anses

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

ISSN 1950-4764 – Dépôt légal : décembre 2014 – © Anses Éditions : décembre 2014 – Conception et réalisation : Parimage – Crédit photo : Rémi Bonardo/ONF