

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Santé / Environnement / Travail





Edito

Au menu de ce BVS 24, un ensemble copieux.

Quatre notes traitent de risques qui font l'objet de beaucoup de réflexions, du monde de la recherche à celui des gestionnaires de risques : les perturbateurs endocriniens et les nanomatériaux. C'est ainsi qu'on parlera de toxicité, de produits de substitution au bisphénol A, de catégorisation des nanoparticules par type de danger.

Quatre autres notes abordent un sujet tout autant d'actualité, celui des situations d'expositions complexes liées à l'activité humaine et parfois à son histoire. On traitera ainsi de pesticides, de produits organiques persistants, de métaux. Parmi les sujets à l'honneur, les contaminants multiples, les expositions suivant plusieurs voies, l'amplification de toxicité par des contaminants en mélange.

Les agents biologiques ne sont pas en reste, avec également quatre notes traitant de l'exposition de la population à des toxines, du lien possible entre certaines toxines et les maladies neurodégénératives, de leptospirose, du lien entre proximité de fermes et santé.

On parlera aussi des méthodes. Pour réduire les essais sur des modèles animaux, par exemple en faisant appel à des insectes. Ou alors l'utilisation de plantes, de microalgues ou de bactéries pour analyser la contamination de l'eau, voire fixer des contaminants. Autre sujet, une application des nanotechnologies pour réaliser des détecteurs sensibles de contaminants est discutée.

Enfin, une note sur le thème « science et société » traite du cas des nanotechnologies, des outils à mettre en place pour impliquer une large audience sociale dans la gouvernance des technologies émergentes.

Pour inviter le lecteur à se plonger dans ce tout nouveau numéro, ajoutons que sa lecture nous emmènera aux quatre coins du monde, au Viêtnam, au Canada, dans l'Iowa, en Afrique, à l'île de Guam, en Chine, en Nouvelle-Calédonie et, bien sûr, en Europe.

Le comité de rédaction

Agents physiques 7**Existe-t-il un lien entre caractéristiques physico-chimiques des nanomatériaux et leur écotoxicité ?** 8

Camille Larue

Le domaine de l'écotoxicologie des nanomatériaux évolue vers une meilleure compréhension des mécanismes de toxicité et notamment vers l'identification d'un lien entre propriétés physico-chimiques et effets biologiques. Le but de ces recherches, à terme, est de s'affranchir des études au cas par cas, coûteuses et longues. Dans cette note, trois articles sont présentés qui étudient le lien entre diamètre, solubilité et enrobage de trois types de nanoparticules (solubles : Ag et ZnO vs. insoluble : TiO₂) et leur toxicité sur trois organismes aquatiques (poisson, crustacé, bactérie). Si le lien semble évident entre la taille et la toxicité photo-induite pour les nanoparticules de TiO₂, il n'est pas clair pour les autres particules dites solubles. Les recherches doivent donc continuer dans ce sens en s'élargissant également aux organismes terrestres.

Quantum dots : détecteurs et/ou sources de contamination ? 12

Yann Sivry

Les quantum dots sont des nanocristaux semi-conducteurs, dont la petite taille leur confère des propriétés électroniques spécifiques telles que la photoluminescence sous excitation UV par exemple. Les applications recouvrent aussi bien les transistors, les cellules solaires, les LEDs ou encore l'imagerie médicale. Une utilisation des plus prometteuses concerne la détection et la quantification de contaminants aquatiques. Comme souvent avec les nanotechnologies, leur développement rapide génère des interrogations sur les risques potentiels associés à leur usage. Les deux premières études présentées ici portent sur le développement de QDs¹ comme détecteurs de cadmium ionique (Hu et coll.) et de bisphénol A (Zhang et coll.) en milieu aquatique. La troisième étude, réalisée par Blickley et coll. porte sur l'évaluation de la toxicité des QDs¹ vis-à-vis d'une espèce de poisson estuarien, *Fundulus heteroclitus*.

Agents chimiques 17**Evaluer l'exposition des enfants aux pesticides, tout un défi !** 18

Sophie Crèvecoeur et Suzanne Rémy

L'exposition aux pesticides des enfants, public particulièrement sensible et vulnérable, est à surveiller. L'identification des sources d'exposition dans les environnements de vie des jeunes enfants est indispensable pour prévenir et diminuer leur exposition. Les deux articles analysés dans cette note présentent plusieurs manières d'évaluer l'exposition des enfants aux pesticides via différentes voies. Dans la première étude, le lien entre le phénomène de dérive et la présence de résidus de pesticides dans différentes matrices environnementales a été recherché. La seconde publication a mis en évidence des aliments dont la fréquence de consommation contribue à l'exposition des enfants aux pesticides, documentée par des biomarqueurs urinaires. Ces deux études illustrent la difficulté d'évaluer l'exposition aux pesticides chez les enfants mais également l'intérêt de poursuivre le développement de ce type d'études.

Effets du bisphénol A et du Di-(2-ethylhexyl) phtalate, sur la formation des follicules ovariens dans le modèle souris 22

Véronique Machelon

L'infertilité concerne 10 % à 15 % des couples en âge de procréer. Parmi les causes supposées d'infertilité, on trouve le bisphénol A (BPA) et les phtalates, très utilisés comme plastifiants. Définis comme des perturbateurs endocriniens oestrogénomimétiques, ils pourraient être à l'origine d'infertilité. Leurs mécanismes d'action restent encore à préciser. Les deux études sélectionnées portent sur les effets d'une exposition au BPA ou aux phtalates pendant la période périnatale, quand se mettent en place les follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne. Elles établissent qu'une exposition au BPA ou aux phtalates réduit le nombre des follicules primordiaux, ce qui pourrait diminuer la réserve ovarienne et expliquer en partie les effets de ces contaminants sur l'infertilité féminine.

Le bisphénol A peut-il être remplacé sans risque par des analogues structuraux ? 27

Marie-Anne Robin

Devant la volonté des pouvoirs publics d'interdire le bisphénol A (BPA), les industriels se sont tournés vers des analogues structuraux pour le remplacer. D'ores et déjà, un grand nombre de ces analogues sont retrouvés dans les contenants alimentaires ainsi que dans notre environnement. Contrairement au cas du BPA, il n'existe pas d'obligation de déclaration pour ces composés et peu d'études ont été réalisées sur leurs effets potentiellement toxiques. Pourtant, du fait même de leur analogie de structure, la probabilité qu'ils présentent aussi des propriétés de perturbateur endocrinien est élevée. Les deux études commentées dans cette note vont dans ce sens, l'une par des méthodes de modélisation et *in vitro* et la seconde, par une expérimentation sur le poisson zèbre. Ainsi, l'utilisation d'analogues du BPA pourrait ne pas diminuer les risques de perturbation endocrinienne, voire les amplifier.

Etats des niveaux de concentration en dioxines et furanes dans le lait maternel 31

Claude Emond

Les États membres de la Convention de Stockholm (sur les polluants organiques persistants) se sont obligés à analyser

périodiquement les teneurs des POPs³ dans le lait maternel. La biosurveillance permet ainsi de documenter les niveaux d'exposition et de tracer un profil temporel. Les deux articles permettent de faire un état des lieux. À savoir où se situe le Vietnam, fortement contaminé en PCDD/Fs par rapport à un autre pays non directement surexposé comme le Canada. La conclusion majeure est qu'il existe encore des régions fortement contaminées au Vietnam, plus de quarante ans après l'épandage de défoliant. Ce qui est encore plus à craindre c'est, qu'en raison des niveaux de concentration dans le lait maternel mesurés, le risque d'exposition des enfants soit à prendre en considération. Les doses ingérées sont en effet largement supérieures à la dose journalière tolérable de l'OMS qui se situe à 4 pg TEQ/kg de masse corporelle.

Impact des co-expositions sur les effets toxiques de l'arsenic 36

Radhouane Chakroun et Faycal Faïdi

L'arsenic est un contaminant important des eaux. L'exposition à l'arsenic est souvent associée à l'exposition à d'autres éléments inorganiques, organométalliques ou organiques. Les trois articles analysés dans cette note étudient les interactions et, dans certains cas, les mécanismes en rapport avec l'exposition simultanée de l'arsenic avec des éléments inorganiques tels que le cadmium et le fluor et aussi avec le benzo(a)pyrène, polluant organique ubiquitaire dans notre environnement.

Agents biologiques 41

La leptospirose : zoonose d'importation, nouveaux réservoirs, et challenge du diagnostic 42

Marie Thérèse Labro et Jean-Marie Bryskier

La leptospirose est une maladie sous-estimée en Europe. Elle est encore perçue comme une zoonose principalement restreinte aux expositions professionnelles et aux zones rurales, et les cliniciens peuvent ne pas la prendre en compte en milieu urbain. Elle est potentiellement grave mais son tableau clinique peu spécifique peut retarder le traitement antibiotique. La mise en place de fiches d'information pour les médecins généralistes et de systèmes d'alerte lors d'épisodes climatiques tels ceux connus récemment en Europe et en France (fortes pluies, inondations), peuvent diminuer les risques. La contamination humaine repose sur le contact avec les animaux malades ou réservoirs. Les animaux domestiques en général, les chiens en particulier, voire les chats, peuvent être impliqués dans la transmission de la maladie. La création d'un laboratoire de référence vétérinaire serait nécessaire pour un suivi épidémiologique.

Evaluation des mycotoxines et leurs métabolites dans les fluides biologiques comme biomarqueurs d'exposition 48

Annie Pfohl-Leszkowicz

L'estimation de l'exposition des individus aux mycotoxines s'effectue souvent par la mesure du taux de mycotoxines dans les aliments. Pour une meilleure corrélation entre l'exposition réelle et l'imprégnation de l'organisme, les biomarqueurs urinaires constituent un outil de premier choix. Les mycotoxines sont excrétées dans l'urine telles quelles ou sous forme de leurs métabolites. Des corrélations entre les contaminations des aliments et l'excrétion des biomarqueurs ont été mises en évidence. Il apparaît que l'exposition à certaines mycotoxines à l'heure actuelle est sous-estimée. Les biomarqueurs urinaires servent déjà aux études épidémiologiques et leur utilisation devra être affinée.

Modèle expérimental invertébré et bioluminescence : de nouvelles voies pour accroître l'efficacité de l'expérimentation animale 54

Steffi Rocchi et Gabriel Reboux

La directive européenne 2010/63/UE impose une amélioration du traitement des animaux de laboratoire. Les chercheurs doivent mettre au point des méthodes alternatives. Les deux publications présentées portent sur des études *in vivo* novatrices dans les thématiques fongiques : le modèle invertébré de la drosophile et la mesure par bioluminescence (BLI). Les bio-essais utilisant des drosophiles mutantes montrent, de façon efficace, que les retards de développement et la mort des drosophiles exposées aux composés organiques volatils fongiques varient selon le type de gène impliqué dans l'apoptose. La BLI est adaptée au suivi des infections par *Candida albicans* et à la formation d'un biofilm. Elle permet un suivi continu des animaux en réduisant le nombre d'euthanasies. Ces nouvelles approches (invertébrés et mesure non invasive) paraissent efficaces pour étudier l'effet des champignons microscopiques *in vivo*.

Qualité des milieux 59

Prévention du risque d'exposition en milieux aquatiques : biosurveillance par les plantes, microalgues et bactéries 60

David Delmail

Depuis de nombreuses années, la qualité des eaux est au cœur des préoccupations des pouvoirs publics. Evaluer l'exposition aux contaminants est essentiel pour des raisons de santé publique et de préservation des écosystèmes, et le choix des

méthodes employées demeure déterminant. La biosurveillance est une méthodologie s'inscrivant dans cette démarche d'estimation des risques, tout en étant respectueuse de l'environnement et peu onéreuse. L'utilisation d'organismes autochtones et/ou accumulateurs d'un contaminant est efficace et valorise les espèces locales. Les travaux présentés ici constituent une base pour la mise en place d'outils de biosurveillance utilisables en Europe et applicables pour des Gisements miniers (végétaux) ou des effluents industriels (bactérie et microalgue). De même, la capacité de certaines plantes à extraire les métaux favorise la remédiation des milieux contaminés.

Identification des sources de contamination des sols et évaluation des risques sanitaires liés aux métaux en Chine..... 64

Muriel Mazzuca

Depuis plus de trente ans, la Chine connaît un véritable essor, aussi bien concernant son urbanisation que son industrialisation. Cela entraîne une dégradation de la qualité de l'environnement qui n'est pas sans conséquences sur la santé de sa population. Les scientifiques s'en préoccupent de plus en plus et multiplient les études d'évaluation de risque sanitaire. Celles-ci doivent intégrer des données fiables concernant l'environnement étudié pour permettre d'identifier les principales sources de pollution. Les deux articles présentés s'attachent à mettre en œuvre une évaluation du risque sanitaire concernant l'exposition aux métaux de populations vivant à proximité de sites industriels à partir de concentrations en métaux des sols et de données environnementales.

Propagation dans l'environnement des micro-organismes et autres particules organiques issus des élevages intensifs et conséquences pour la santé des riverains..... 69

Anne Oppliger

L'exposition aux poussières organiques émises dans l'environnement extérieur par les élevages d'animaux suscite des craintes pour la santé des riverains. Cependant, une étude réalisée en Hollande sur plus de 90 000 personnes montre que les riverains d'élevages d'animaux ont moins de probabilité de développer certaines maladies respiratoires que les personnes résidant à plus de 1 km de ces élevages. Une autre étude montre, qu'aux USA, des vétérans résidant à moins de 1,6 km d'un élevage de porcs ne sont pas plus fréquemment colonisés au niveau nasal par des bactéries résistantes aux antibiotiques que les vétérans vivant plus loin. En revanche, le nombre d'animaux présents dans ces élevages a une influence sur la probabilité de colonisation des riverains. Des études plus poussées sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

Pathologies 73

Cyanotoxine environnementale : implication dans des cas de sclérose latérale amyotrophique en France et mécanismes moléculaires impliqués dans les tauopathies..... 74

Agnès Petit-Paitel

Le BMAA, neurotoxine produite par les cyanobactéries présentes dans tous les milieux aquatiques à travers le monde, est suspectée d'être responsable ou de favoriser la survenue d'un certain nombre de maladies neurodégénératives dévastatrices. Le premier article présenté identifie un foyer de cas de sclérose latérale amyotrophique dans la région de l'étang de Thau en France et émet l'hypothèse d'un lien éventuel avec une contamination alimentaire au BMAA par la consommation de mollusques. Le second article propose un mécanisme moléculaire d'action par lequel le BMAA pourrait favoriser la mort neuronale dans les cas de démences parkinsoniennes de l'île de Guam. Cette note souligne l'importance d'évaluer les risques dus à l'exposition, notamment par l'alimentation, au BMAA dans un contexte d'apparition de maladies neurodégénératives qui affectent un nombre croissant de personnes dans la population mondiale.

Risques sanitaires et Société..... 79

De la « gouvernance d'anticipation » à la régulation des nanotechnologies..... 80

Stéphanie Lacour

La régulation des nanotechnologies appelle, selon les auteurs des articles sélectionnés, de nouveaux développements. Qu'il s'agisse de mieux mobiliser les recherches et outils de connaissance des risques ou bien de doter l'ensemble des acteurs concernés des outils nécessaires à un débat public et politique transparent sur notre avenir commun, les deux articles donnent à voir plusieurs échelles d'action et procédures envisageables. Parmi les normes mobilisables, la France a, pour l'instant, donné une place particulière à la forme législative, mode d'action relativement sous-estimé par les analyses anglo-saxonnes ici décrites. L'articulation de nos spécificités et des pistes suggérées par les auteurs issus des STS de ces articles ouvre des pistes de réflexions prometteuses pour les nanotechnologies dans notre pays.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Agents physiques

Existe-t-il un lien entre caractéristiques physico-chimiques des nanomatériaux et leur écotoxicité ?

Période : Décembre 2013 à Mars 2014

Camille Larue | camille.larue@rub.de

Ruhr Universität Bochum – Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie – Bochum – Allemagne

Mots clés : caractérisation physico-chimique, diamètre, dissolution, écosystème aquatique, écotoxicologie, enrobage, environnement, nanoparticule

Alors que les nanotechnologies se développent très vite (1) et sont même qualifiées de nouvelle révolution industrielle par le gouvernement français (2), leurs impacts sur l'environnement sont toujours peu connus. La fin de l'année 2013 a vu la mise en place de la déclaration obligatoire des nanomatériaux produits et importés sur le territoire français (3). La base de données co-gérée par l'Anses et l'analyse qui en a découlé, ont mis en évidence la difficulté d'obtenir des informations fiables et de choisir des paramètres pertinents pour la déclaration (identification chimique du matériau notamment). Elle souligne également une très grande diversité de nanomatériaux et d'utilisations. Des études au cas par cas des effets de ces différents nanomatériaux sur l'environnement représentent une quantité de travail astronomique et prendraient des dizaines d'années. Les questions qui découlent donc de ces constats sont : Est-il possible de regrouper les nanomatériaux en classes possédant un comportement (toxicité) similaire ? Sur quel(s) critère(s) seraient fondés ces regroupements ?

Dans cette note, trois articles sont présentés investiguant l'influence de la taille, de l'enrobage et de la solubilité sur la toxicité de trois types de nanoparticules (NPs) : le dioxyde de titane, l'argent et l'oxyde de zinc.

Utilisation de nanoparticules de TiO₂ fonctionnalisées au citrate pour étudier l'effet de la taille des particules sur leur toxicité envers l'embryon du poisson-zèbre.

Kim M-S, Louis KM, Pedersen JA, Hamers RJ, Peterson RE, Heideman W. Using citrate-functionalized TiO₂ nanoparticles to study the effect of particle size on zebrafish embryo toxicity. *Analyst* 2014; **139**:964-72.

Résumé

Cet article traite des effets photo-induits de nanoparticules (Nps) de dioxyde de titane (TiO₂) de 6, 12 et 15 nm enrobées de citrate (stabilisant) sur l'embryon du poisson *Danio rerio*. Ces NPs sont largement utilisées dans l'industrie pour leurs propriétés photocatalytiques ou comme filtre UV ; on les retrouve notamment dans les produits cosmétiques. Les auteurs démontrent que, lorsque les NPs sont illuminées (lumière simulant la lumière du soleil sous 1 m d'eau), celles de 6 nm sont les plus toxiques pour les embryons, avec une mortalité plus importante (LC₅₀¹ de 23,4 mg/L pour 6 nm, 610 mg/L pour 12 nm et non déterminable pour 15 nm). D'autre part, une exposition à 500 mg/L entraîne des problèmes de développement embryonnaire pour 85 % des individus exposés (15 % pour le groupe témoin, 55 % et 40 % pour les groupes exposés aux NPs de 12 et 15 nm respectivement). Il est à noter que ces effets ne sont pas détectés lorsque les NPs ne sont pas illuminées. Ces effets sur les individus sont en lien avec la quantité de radicaux

hydroxyles produite par les NPs : celles de 6 nm en produisent deux et trois fois plus que les NPs de 12 et 15 nm respectivement. Par conséquent, la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les embryons exposés aux NPs de 6 nm est également plus importante et généralisée dans tout l'organisme. Les NPs de 6 nm entraînent également significativement plus de dommages à l'ADN que les particules de tailles plus importantes.

Commentaire

Cet article met en évidence un lien inversement proportionnel entre le diamètre de la NP et sa toxicité, cette toxicité étant imputée à la quantité d'espèces réactives de l'oxygène produite par les NPs. Dans le cadre de cette étude, le diamètre nominal² et le diamètre hydrodynamique³ des NPs varient en parallèle (les NPs avec le plus faible diamètre nominal sont également celles qui forment les plus petits agglomérats en solution) et ne nous permettent donc pas de tirer de conclusion quant à l'importance relative de ces deux paramètres sur la toxicité des NPs. D'un point de vue général, cette question est intéressante lorsqu'il s'agit de savoir si les NPs agglomérées conservent le même potentiel toxique que les NPs individualisées.

Sur ces dernières, les différences de toxicité sont observables dans une très petite gamme de tailles (6 à 15 nm), les NPs de 15 nm étant nettement moins toxiques. Il aurait été intéressant d'inclure une taille supplémentaire (de l'ordre de 30 nm par

exemple) pour essayer de déterminer un diamètre-seuil entraînant la toxicité. On peut avancer l'hypothèse que la toxicité induite ne s'étendrait pas à toute la gamme de taille des NPs telles qu'elles sont aujourd'hui arbitrairement définies (1 à 100 nm) ce qui remet donc en exergue le débat sur la définition des NPs : faut-il prendre en considération uniquement la taille de la particule (<100 nm) ou également l'apparition de nouvelles propriétés qui la différencient du même matériau à une échelle microscopique (4) ? Si un diamètre-seuil (en dessous duquel la toxicité était détectée) existe, cela pourrait aider à restreindre le champ des recherches en (éco)-toxicologie des NPs.

Dans la discussion, les auteurs abordent également un autre point qui fait débat dans le domaine de la nanotoxicologie : les unités utilisées pour quantifier les NPs dans un milieu d'exposition : massique (mg/L), surfacique (m²/L) ou numérique (nombre de particules/L). Dans cette étude, les résultats sont principalement présentés en unité massique, mais lorsque les auteurs les expriment selon les deux autres unités, les différences entre NPs ne sont plus aussi évidentes voire disparaissent. Il serait donc intéressant, dans le futur, d'employer ces différentes unités dans les études toxicologiques.

Toxicité de nanoparticules d'argent de tailles et d'enrobages différents pour la bactérie *Pseudomonas putida* : risques pour l'environnement aquatique ?

Matzke M, Jurkschat K, Backhaus T. Toxicity of differently sized and coated silver nanoparticles to the bacterium *Pseudomonas putida* : risks for the aquatic environment? *Ecotox* 2014; DOI 10.1007/s10646-014-1222-x

Résumé

Cette étude s'intéresse à la toxicité de l'argent (Ag) sous forme d'ions ou de nanoparticules (NPs) de 8 à 60 nm, avec enrobage (citrate, acide tannique) ou sans, sur une culture en flasque de *Pseudomonas putida* (bactéries des sols et des eaux). A ce jour, les NPs d'Ag sont très employées en nanotechnologie, en particulier pour leurs propriétés antibactériennes. La dissémination de ces NPs dans l'environnement interroge donc quant à la pérennité des écosystèmes microbiens.

Les auteurs ont caractérisé sept NPs différentes (diamètre, enrobage) avant exposition, mais n'ont pu le faire durant l'exposition en raison de trop faibles concentrations dans le milieu (quantité de NPs en dessous des limites de détection des appareils de caractérisation). La conclusion de l'étude est que la forme ionique est la plus toxique et qu'aucune des caractéristiques testées (diamètre, enrobage) n'a pu expliquer les différences de toxicité entre les NPs. *Pseudomonas putida* est un organisme particulièrement sensible, avec une EC₅₀⁴ de 0,16 µg/L pour la forme ionique et de 0,25 à 13,4 µg/L pour les NPs.

Dans la discussion, les auteurs postulent que la toxicité des NPs d'Ag est principalement déterminée par leur dissolution dans le milieu. Mais les interconnexions entre les différents facteurs (enrobage, solubilité, diamètre) sont complexes, et

aucune règle générale n'est déductible. Ils avancent donc que l'évaluation des risques peut être basée sur la concentration totale en argent dissous qui est la forme la plus toxique. Quant à la question du risque actuel lié à la dissémination de NPs d'Ag dans l'environnement, les concentrations actuellement relevées sont trop variables (six ordres de grandeur) pour pouvoir tirer une conclusion, il faut procéder à une étude au cas par cas.

Commentaire

A l'inverse du précédent article, les auteurs n'ont pas pu mettre en évidence un effet de la taille – ou de l'enrobage – des NPs sur leur toxicité. Néanmoins, dans ce cas, une analyse statistique multivariée (variables : diamètre nominal², diamètre hydrodynamique³ et enrobage) aurait été nécessaire et aurait pu révéler des effets plus fins non détectables sans analyse statistique. Une particule de taille micrométrique en supplément aurait également été intéressante pour compléter cette gamme. Un autre paramètre qui aurait pu être étudié pour expliquer la toxicité des NPs est leur solubilité, puisque les auteurs concluent après analyse de la littérature que ce facteur est déterminant pour la toxicité des NPs.

La discussion de l'article est intéressante et aborde de nombreux aspects tels que la nature des micro-organismes (biofilm ou bactérie isolée), les caractéristiques physico-chimiques des NPs (formation d'agglomérats notamment) ou encore les conditions d'exposition qui influencent la solubilité des NPs. Enfin, cet article met surtout en évidence la difficulté d'étudier le comportement et la toxicité des NPs dans l'environnement à des concentrations réalistes. Aujourd'hui, les recherches sont limitées par des problèmes techniques de détection, empêchant ainsi la compréhension des mécanismes d'action. Ici, selon les données disponibles (5), les concentrations d'Ag dans les eaux de surface seraient potentiellement de l'ordre des EC₅₀⁴ déterminées dans cet article et suggèrent donc qu'il existe un risque pour les bactéries de ces milieux.

Toxicité de nanoparticules d'oxyde de zinc envers *Daphnia magna* : effets de taille et de dissolution

Lopes S, Ribeiro F, Wojnarowicz J, Lojkowski W, Jurkschat K, Crossley A, Soares AMVM, Loureiro S. Zinc oxide nanoparticles toxicity to *Daphnia magna* : size-dependent effects and dissolution. *Environ Toxicol Chem* 2014;33:190-8.

Résumé

Cet article se focalise sur différents effets toxiques induits par le zinc (Zn) sous forme ionique ou sous forme de nanoparticules (NPs) d'oxyde de zinc (ZnO) sur la daphnie (*Daphnia magna*), en relation avec le diamètre des particules (30, 80 et > 200 nm) et leur solubilité. Ces NPs sont actuellement utilisées dans divers produits tels que les crèmes solaires, les dentifrices, les peintures ou encore en tant qu'additif alimentaire. Leur toxicité aiguë a été évaluée par la détermination de la LC₅₀¹ qui prend en compte

l'immobilisation des daphnies. Elle varie de 0,76 mg/L pour les ions à 1,32 mg/L pour les NPs de 80 nm. La capacité de nutrition des daphnies a été étudiée après 24 h d'exposition. Ce paramètre est réduit, en particulier pour les NPs de 30 nm. Après la fin de l'exposition, la nutrition n'est pas revenue à son niveau normal. Enfin, les auteurs ont évalué la toxicité chronique des NPs (21 jours d'exposition) via des indicateurs de reproduction. Ils ont ainsi mis en évidence une diminution de la descendance et de la longueur des femelles et ce, quel que soit le traitement. La conclusion de l'étude est que la détermination de la taille des NPs ainsi que de leur solubilité est primordiale pour évaluer les effets des NPs de ZnO sur la daphnie.

Commentaire

Cette étude comme la précédente indique que le lien entre diamètre, dissolution et toxicité n'est pas si évident à établir dans le cas des NPs de ZnO, même si ces paramètres semblent jouer un rôle important. Il est dommage que les auteurs ne fournissent pas de données plus précises dans le corps du texte concernant le diamètre nominal² des NPs et se contentent d'un « 80-100 nm » et d'un « >200 nm ». Dans ce cas, une particule de diamètre inférieur à 10 nm aurait également été un plus, puisque de nombreuses études montrent que les effets « nano » sont plus marqués pour les très petites NPs (4). Enfin, le choix des concentrations d'exposition qui diffèrent selon le traitement (ion, 30 nm, 80-100 nm, >200 nm) ne semble pas justifié et peu pertinent pour pouvoir faire des comparaisons entre ces différents traitements.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le contexte actuel du fort développement des nanotechnologies et donc de la dissémination de NPs dans l'environnement, il est urgent de fournir des réponses quant aux risques inhérents. L'obstacle principal réside aujourd'hui dans l'infinie variété des NPs. Il serait donc important d'être capable de classer ces NPs en fonction de leur toxicité pour accélérer cette évaluation. Actuellement, les études scientifiques s'intéressent donc à mettre en évidence des liens entre les différentes caractéristiques physico-chimiques des NPs et leur toxicité. Les articles sélectionnés dans cette note ont été choisis pour représenter différents types de NPs et couvrir divers organismes. L'étude portant sur les NPs de TiO₂ a mis en évidence un lien entre le diamètre des NPs et leur toxicité, lorsque ces dernières étaient illuminées. Les deux autres études sur les NPs d'Ag et de ZnO n'ont, quant à elles, pas pu faire ce lien en faisant apparaître une interconnexion complexe entre différents paramètres et concluent donc au besoin de poursuivre les études au cas par cas.

Il semble ainsi qu'un premier niveau de classification selon le degré de solubilité des NPs serait pertinent. Pour les NPs non solubles (TiO₂), un deuxième niveau de classement à étudier serait celui du diamètre (nominal ou hydrodynamique, reste à déterminer). Pour les NPs solubles, le rôle de la dissolution dans les phénomènes de toxicité est indéniable ; il faut maintenant déterminer de manière plus générale si l'effet de ces ions est le paramètre déterminant ou s'il existe un effet lié à la forme nanométrique (internalisation plus aisée dans les organismes par exemple). La question de l'influence de l'enrobage sur la toxicité reste pour l'instant assez floue. Deux autres constatations ressortent de l'analyse de la littérature. La première est la prédominance des études sur des organismes aquatiques, les organismes terrestres étant représentés de façon marginale. Il existe donc un manque d'informations flagrant sur ce sujet, à combler. Enfin, la deuxième constatation est que l'évaluation des risques est aujourd'hui limitée par l'approche technique qui ne permet pas d'étudier les nanomatériaux à des concentrations réalistes par rapport à leur dissémination estimé, alors qu'il a été mis en évidence que les fortes doses d'exposition pouvaient entraîner des biais (agglomération des NPs par exemple) et donc fausser les conclusions.

GENERAL CONCLUSION

With the rapid development of nanotechnology and the concomitant release of NPs in the environment, it is important to assess their ecotoxicity. The main obstacle is the wide variety of NPs. To overcome this issue and urge the conclusion, a classification of NPs according to their toxicity would be necessary. The articles presented here were chosen to represent soluble vs. insoluble NPs and different organisms. The paper on TiO₂ NPs has evidenced a direct link between NP diameter and their photo-toxicity. Inversely, the two other studies dealing with the impact of Ag and ZnO NPs have not been able to reach the same observations and conclude to a complex interconnexion between different parameters (size, shape, solubility...).

Thus a first ranking might be made between soluble and insoluble NPs. For insoluble NPs (TiO₂) a second criterion to study would be NP diameter (nominal or hydrodynamic). For soluble nanomaterials, the role of dissolution is undebatable, one needs to know if ions are the principal contributor for toxicity or if the nano form is also part of the scheme (eased internalization in organisms for instance). The influence of NP functionalization remains unclear.

Two other main facts are evidenced with this analysis. The first one is that most of the studies are performed on aquatic organisms; there is a huge need of studies on the terrestrial ecosystem. The second one is that so far risk assessment is limited by technical issues such as NP detection at realistic concentrations. We need to overcome this bottleneck to be able to progress on this question since high concentrations might lead to some bias (NP agglomeration, sedimentation, decrease bioavailability...)

Lexique

- (1) LC₅₀: LC signifie concentration mortelle (lethal concentration). C'est un indicateur de toxicologie répandu qui indique la concentration nécessaire pour entraîner la mortalité de 50 % des individus.
- (2) diamètre nominal : il représente le diamètre physique d'une nanoparticule isolée.
- (3) diamètre hydrodynamique : il définit le diamètre des nanoparticules, couvertes de leur première sphère d'hydratation, lorsqu'elles sont en suspension. Il traduit ainsi les phénomènes d'agglomération et de dispersion dans les milieux aqueux.
- (4) EC₅₀ : EC signifie concentration efficace. Cet autre indicateur, très répandu en toxicologie, représente la concentration nécessaire pour atteindre 50 % de l'effet maximal d'un produit.

Publications de référence

- (1) www.nanotechproject.org. *The project on emerging nanotechnologies*.
- (2) Teillant, A., *La note d'analyse : Pour un développement responsable des nanotechnologies*, D. durable, Editor. 2011. p. 12.
- (3) Anses, *Éléments issus des déclarations des substances à l'état nanoparticulaire : Rapport d'étude*. 2013.

Revue de la littérature

- (4) Auffan M, Rose J, Bottero JY, Lowry GV, Jolivet JP, Wiesner M. *Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective*. *Nat Nano*, 2009. 4(10):p. 634-641.
- (5) Gottschalk, F., Sun, TY., Nowack, B. *Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies*. *Environ. Pollut.* 2013;181: 287-300.

Autres publications identifiées

Ribas Ferreira JL, Lonné MN, Franc TA, *et al.* Co-exposure of the organic nanomaterial fullerene C60 with benzo[a]pyrene in *Danio rerio* (zebrafish) hepatocytes : Evidence of toxicological interactions. *Aquatic Toxicol.* 2014; 147: 76-83.

Cet article s'intéresse à l'effet de «cheval de Troie» qui peut apparaître en cas de co-contamination.

Ribeiro F, Gallego-Urrea JA, Jurkschat K, *et al.* Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Sci Total Environ* 2014;466-467:232-41

Cette étude s'intéresse à la toxicité de l'argent sur trois espèces aquatiques en parallèle.

Vitorge E, Szenknect S, Martins JM, *et al.* Comparison of three labeled silica nanoparticles used as tracers in transport experiments in porous media. Part II: Transport experiments and modeling. *Environ Pollut* 2014 ; 184 : 613-619

La synthèse de NPs marquées permettrait d'atteindre des limites de détection plus basses.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
 avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Quantum dots : détecteurs et/ou sources de contamination ?

Période : décembre 2013 à mars 2014

Yann Sivry | sivry@ipgp.fr

Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité – IPGP, UMR 7154, CNRS – 75205 Paris – France

Mots clés : bisphénol A, cadmium, contaminants, détecteurs, nanoparticules, quantum dots, toxicité

Les quantum dots (QDs¹) sont une classe particulière de nanoparticules. Il s'agit de nanocristaux de matériaux semi-conducteurs, dont la petite taille leur confère des propriétés électroniques intermédiaires entre les matériaux semi-conducteurs classiques (de taille macroscopique) et les molécules individuelles. Les QDs¹ ont ainsi des propriétés de photoluminescence lorsqu'ils sont excités (sous UV par exemple). Ces propriétés électroniques exceptionnelles sont étudiées en vue de leur utilisation dans les transistors, les cellules solaires, les LEDs ou encore en imagerie médicale. Parmi les applications les plus prometteuses, nous nous arrêterons ici sur l'utilisation potentielle des QDs¹ comme détecteurs en milieu aquatique de contaminants tels que les ions cadmium et le bisphénol A. Le cadmium est un contaminant connu pour être issu de multiples sources anthropiques (batteries, teintures et pigments, alliages, engrais et pesticides) mais aussi pour causer de graves pathologies lorsqu'il entre dans la chaîne alimentaire (anémie, hypertension, problèmes neurologiques et risques accrus de cancer (1, 2)).

Le bisphénol A (BPA²) est partout dans notre environnement, environ trois millions de tonnes de BPA² sont produites chaque année dans le monde (3) : il est surtout utilisé dans les résines époxyde qui tapissent l'intérieur de certaines boîtes de conserve ou de canettes, mais est aussi contenu dans un grand nombre de tickets de caisse (ce dernier emploi étant toutefois en régression), en tant que produit permettant une impression thermique sans encre. Le bisphénol A était même utilisé pour la fabrication des biberons, ce qui a été interdit en France le 23 juin 2010. Le 1^{er} janvier 2015, il sera interdit dans tous les contenants alimentaires ainsi que dans les dispositifs médicaux destinés aux bébés et femmes enceintes, car le BPA² est un perturbateur endocrinien.

Dans ce contexte, les effets toxiques du cadmium et du BPA² justifient le développement de moyens analytiques adaptés, permettant leur détection à très faible concentration, tels que ceux à base de QDs¹ proposés ici dans les études de Hu et coll. et Zhang et coll., respectivement.

Comme souvent avec les nanotechnologies, les applications particulièrement innovantes et prometteuses vont conduire inexorablement à leur dissémination dans le milieu naturel. Il apparaît donc essentiel d'étudier, en parallèle des applications potentielles des QDs¹, leur devenir dans l'environnement et leurs éventuels effets toxiques. Ce dernier point est l'objet de l'étude de Bickley et coll., qui ont tenté d'évaluer la toxicité de QDs¹ chez une espèce de poissons estuariens.

Déclenchement de la fluorescence de quantum dots induite par le déplacement de ligand pour une détection ultrasensible des ions cadmium.

Hu X, Zhu K, Guo Q, Liu Y, Ye M, Sun Q. Ligand displacement-induced fluorescence switch of quantum dots for ultrasensitive detection of cadmium ions. *Ana Chim Acta* 2014;812:191-8.

Résumé

L'étude de Hu et coll. porte sur la synthèse et le test de détecteurs d'ions cadmium (Cd²⁺) à base de quantum dots (QDs¹) de tellurure de cadmium (CdTe), enrobés de 1,10-phénantroline (Phen) comme ligand. Dans un premier temps, des QDs¹ de CdTe dispersibles dans l'eau et enrobés d'acide thioglycolique (TGA) sont synthétisés. Ces QDs¹, de diamètre 2,3 nm, sont fluorescents lorsqu'ils sont excités sous un faisceau de lumière UV ($\lambda=400$ nm), en émettant une lumière verte, visible à l'œil nu ($\lambda=551$ nm). Ces CdTe-QDs¹ sont ensuite « éteints » ou « quenchés³ » (voir quenching³) par l'ajout de phénantroline : autrement dit, la phénantroline ajoutée

en concentration croissante aux CdTe-QDs¹ se complexe à leur surface, ce qui a pour effet de diminuer proportionnellement leur photoluminescence, donc de les « éteindre ». Le rapport molaire Phen/QDs¹ obtenu par Hu et coll., permettant la meilleure extinction est de 12/1.

Les auteurs envisagent alors l'utilisation des CdTe-QDs¹ ainsi « quenchés² » par la phénantroline comme détecteurs d'ions cadmium en solution : en effet, ils démontrent que l'affinité de la phénantroline est plus importante pour les ions Cd²⁺ en solution que pour les atomes de Cd à la surface des QDs¹. En conséquence, la phénantroline complexe préférentiellement les Cd²⁺ en formant [Cd(Phen)₂(H₂O)₂]²⁺ et libère donc les CdTe, ce qui a pour effet de rallumer leur photoluminescence. En conséquence, Hu et coll. observent une photoluminescence qui croît avec la concentration en ions Cd²⁺ en solution. Cette relation est proportionnelle et deux zones de linéarité sont observées (0,02-100 nM et 100-600 nM), ce qui permet aux auteurs d'envisager l'utilisation de ces CdTe-QDs¹ pour mesurer Cd²⁺ dans l'eau potable.

La sélectivité et la performance analytique des détecteurs ainsi créés sont ensuite évaluées. Des mesures de fluorescence sont effectuées en présence de nombreux autres cations à $0,5 \mu\text{M}$ et en particulier en présence de Zn^{2+} à $10 \mu\text{M}$. Les auteurs concluent à la faible compétition entre Zn^{2+} et Cd^{2+} vis-à-vis de la complexation par la phénantroline, donc à la forte sélectivité des détecteurs pour les ions Cd^{2+} .

Commentaire

Dans cette étude Hu et coll. présentent des résultats à la fois innovants et encourageants en matière de développement de capteurs à faible concentration de cations métalliques en milieu aqueux. En particulier, le cas du cadmium ici étudié est d'importance majeure, car ses effets toxiques sont observés même à faible concentration, ce qui justifie le développement de moyens analytiques adaptés permettant sa détection à très faible concentration. En particulier, les normes européennes et américaines définissent des limites de potabilité à 45 nM et 9 nM de cadmium par litre, respectivement. Les détecteurs à base de quantum dots (QDs) de CdTe développés ici par les auteurs semblent adaptés, puisque la limite de détection est de $0,01 \text{ nM}$, soit 500 fois plus faible que celle atteinte par les études précédentes sur les QDs (4,5). En contrepartie, la linéarité de la réponse de ces détecteurs est limitée à un maximum de 600 nM ($66 \mu\text{g L}^{-1}$ ou ppb), ce qui laisse supposer qu'ils ne sont pas performants au-delà.

Le seul aspect peu convaincant de cette étude porte sur le test de sélectivité/compétitivité des détecteurs. Certes leur sensibilité est plus élevée pour les Cd^{2+} que pour tous les autres cations métalliques testés, à concentration égale. Bien que cette étude montre qu'à des concentrations de $0,5 \mu\text{M}$ le calcium et le magnésium ne réagissent pas, on peut néanmoins se demander ce qu'il en sera dans des matrices un peu plus chargées en ces cations majeurs (Ca^{2+} et Mg^{2+}). Sans aller jusqu'à des eaux naturelles, il faut noter que les normes de potabilités définissent en France une eau « moyennement dure » comme contenant entre $1,5$ et $2,5 \text{ mM}$ de Ca^{2+} , ce qui n'est pas rare pour l'eau du robinet et qui est néanmoins 3000 à 5000 fois plus que les concentrations testées ici.

Test immunologique à base de quantum dots ZnO dopés au Cd pour la mesure quantitative du bisphénol A.

Zhang J, Zhao S-Q, Zhang K, Zhou J Q, Cd-doped ZnO quantum dots-based immunoassay for the quantitative determination of bisphenol A., *Chemosphere* 2014;95:105-110.

Résumé

Dans cette étude, les auteurs développent un test immunologique de détection quantitative du bisphénol A (BPA²) basé sur l'extinction de photoluminescence de quantum dots (QDs) disséminés dans de l'eau de consommation. Dans un premier temps, ils synthétisent des QDs d'oxyde de zinc (ZnO) dopés

au cadmium (Cd), ce qui a pour effet d'améliorer les propriétés photoluminescentes de ces QDs (voir Zhang *et al.*, 2012 (6)). Ces QDs sont ensuite enrobés avec du poly(amino)amine (PAMAM), un polymère qui établit des liaisons covalentes sur les QDs via ses dendrons⁴. Cet enrobage a pour effet d'améliorer la dispersion dans l'eau des QDs, en limitant l'effet d'agrégation, cependant il diminue le pic de fluorescence ($\lambda=525 \text{ nm}$) des QDs excités sous UV.

Les auteurs « marquent » ensuite ces QDs ZnO, dopés au Cd et enrobés de PAMAM, avec des anticorps du BPA². L'efficacité de ce marquage est contrôlée par spectrométrie de masse : l'augmentation du rapport m/z (masse sur charge) de 2460 est attribuée à la liaison des anticorps du BPA² avec les QDs¹ ».

Enfin, Zhang et coll. réalisent le test immunologique à proprement parler (fluorescence-linked immunoassay, FLISA), en plaçant les QDs ainsi marqués sur une microplaque de 96 puits en présence de différentes concentrations de BPA², dans de l'eau de consommation humaine et de l'eau de rivière. Après incubation (1h, 37°C), un lecteur de microplaques (fluorescence en excitation/émission à 365/655 nm) est utilisé pour déterminer les IC₅₀⁵ et les LOD⁶. En d'autres termes, le degré d'inhibition de la photoluminescence des QDs en fonction de la concentration en BPA² est mesuré. La sélectivité du test est évaluée en mesurant la réactivité croisée d'autres composés de la famille du BPA². L'absence de réactivité croisée (à l'exception du 4,4-bis (4-hydroxyphenol) valeric acid, BVA) et la relation établie entre inhibition de photoluminescence et concentration en BPA² permet aux auteurs de valider l'emploi de leur QDs dans le cadre d'un test d'immuno-marquage direct efficace et de valider leur QDs comme un test efficace de quantification du BPA² dans des échantillons d'eau.

Commentaire

Le bisphénol A (BPA²) a été largement utilisé depuis plusieurs années dans de nombreux produits de consommation courante. Or, c'est un perturbateur endocrinien dont les effets affectent le développement du placenta, pouvant générer des naissances prématurées ou des avortements. En dépit des récentes interdictions d'utilisation (cf. introduction), son ubiquité dans notre environnement va perdurer de nombreuses années. Le BPA² est aujourd'hui détecté dans des échantillons naturels, eaux de rivière ou même eaux de consommation humaine. En ce sens, il est nécessaire de disposer de techniques analytiques adaptées pour le doser. Dans leur étude, Zhang et coll. proposent d'utiliser les propriétés de photoluminescence de QDs marqués avec des anticorps du BPA² pour mesurer les concentrations en BPA² dans l'eau. Plus spécifiquement, c'est la diminution de la fluorescence des QDs ainsi marqués, qui est mesurée lorsque la concentration en BPA² augmente. Bien que technologiquement novateur, ce test n'est ici validé que dans une faible gamme de concentrations allant de 20 à 330 ng mL^{-1} (soit 20 à 330 ppm) et une LOD⁶ de 13 ng mL^{-1} . Or, la PNEC⁷ du BPA² dans l'eau douce est de $1,6 \text{ ng mL}^{-1}$, soit 10 fois moins (aucune norme n'a été définie à ce jour pour le BPA²). En conséquence, les techniques dites « classiques » telles

que la spectrométrie de masse couplée aux chromatographies en phases gazeuses ou liquides, restent aujourd'hui plus performantes. Le test de détection et de quantification du BPA² développé ici reste cependant prometteur, car il est facile d'utilisation et notamment sur le terrain moyennant quelques évolutions.

Exposition alimentaire de poisson estuarien aux quantum dots de CdSe/ZnS : biodisponibilité, réponses au stress oxydant, reproduction et transfert maternel.

Blickley T M, Matson C W, Vreeland W N, Rittschof D, Di Giulio R T, McClellan-Green P D, Dietary CdSe/ZnS quantum dot exposure in estuarine fish: Bioavailability, oxidative stress responses, reproduction, and maternal transfer. *Aquatic Toxicology* 2014;148:27-39.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude des effets des QDs¹ sur un poisson estuarien, *Fundulus heteroclitus*. Pour cela, trois populations de ces poissons ont été nourries pendant 85 jours : soit avec 1 à 10 µg/jour de QDs¹ de structure cœur/coquille CdSe/ZnS encapsulés dans de la lécithine, soit avec 5,9 µg/jour de CdCl₂ + lécithine, soit avec de la lécithine seule. Les concentrations en cadmium ont ensuite été mesurées par ICP-MS dans le foie, l'intestin et les œufs. Chez les poissons nourris avec 10 µg/jour de QDs¹, du cadmium est mesuré dans les œufs, ainsi que dans le foie, ce qui signifie que les QDs¹ ou leurs produits de dégradation traversent les parois épithéliales de l'intestin pour venir s'accumuler dans le foie. En ce sens, les QDs¹ utilisés ici peuvent être considérés comme biodisponibles, bien que les techniques d'imagerie (microscopie électronique en transmission et confocale) utilisées se soient révélées non concluantes dans la détection des QDs¹. Cependant, les concentrations mesurées correspondent à moins de 0,01 % du cadmium total des QDs¹ qui serait retenu dans l'intestin ou le foie, tandis que cette proportion atteint 0,9 % et 0,5 %, respectivement, dans le cas d'un régime à base de CdCl₂.

Les auteurs évaluent ensuite un éventuel stress oxydant provoqué par les QDs¹ en mesurant les concentrations en marqueurs biochimiques hépatiques (glutathion et lipides peroxydés), mais aucun effet significatif n'est observé par rapport aux poissons nourris normalement. Similairement, l'expression des gènes mRNA impliqués dans le métabolisme des métaux et dans les voies du stress oxydant n'est pas significativement altérée. Blickley et coll. concluent donc à l'absence d'effet des QDs¹ ingérés sur la réponse au stress oxydant.

En revanche, les auteurs mettent en évidence un effet de l'ingestion de QDs¹ CdSe/ZnS sur la fécondité à long terme de ces poissons : d'une part les taux de vitellogénine (précurseur de protéines hépatiques « femelles ») chez les poissons mâles sont trois à cinq fois supérieurs avec un régime de QDs¹ ou de CdCl₂ qu'avec un régime dit normal, d'autre part du cadmium est mesuré dans les œufs des poissons ayant ingéré les QDs¹.

Commentaire

Dans cette étude, Blickley et coll. soulèvent la question de l'effet des quantum dots sur les organismes vivants. Les études portant sur leur toxicité *in vitro* ont montré des effets cytotoxiques, de génération de ROS⁸ ou encore d'altération de l'ADN (7, 8), mais peu d'études d'exposition *in vivo* à des nanoparticules telles que les QDs¹ ont à ce jour été réalisées. En revanche, les effets toxiques du cadmium ont été largement documentés, y compris chez les poissons (9).

La comparaison entre toxicité induite par le cadmium sous forme soluble (CdCl₂) et les QDs¹ de CdSe/ZnS revêt donc un intérêt tout particulier. Un résultat important de cette étude est la détection de Cd issu des QDs¹ dans les organes des poissons, ce qui révèle une biodisponibilité des QDs¹, même si elle est proportionnellement plus faible que pour le cadmium soluble. Les essais d'imagerie en microscopie réalisés sur les organes n'ayant pas révélé la présence de QDs¹, il est impossible pour les auteurs de préciser si le cadmium est toujours sous forme de QDs¹ de CdSe/ZnS ou s'il est issu d'une dissolution partielle de ces derniers dans le milieu intestinal.

Il est regrettable de ne pas aller plus loin dans la compréhension des mécanismes. Par exemple, une solubilité partielle des QDs¹ utilisées à 10 µg/jour expliquerait que l'accumulation de Cd soit 100 fois plus faible que pour du CdCl₂ utilisé à 5,9 µg/jour. A l'inverse, la non dissolution des QDs¹ révélerait que ceux-ci traversent les parois épithéliales et sont assimilés tels quels. Ainsi, l'étude approfondie du comportement physico-chimique des QDs¹, tel que leur solubilité dans un milieu modèle de l'intestin des poissons, apporterait des réponses rapides.

Enfin, la mise en évidence d'un potentiel effet des QDs¹ sur le genre des poissons et sur le taux de fécondité révèle peut-être que les QDs¹ constituent un nouveau genre de perturbateurs endocriniens. Des études complémentaires sont indispensables pour répondre à cette dernière question.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les quantum dots sont des nanocristaux semi-conducteurs, dont les propriétés de photoluminescence sont utilisées pour le développement de détecteurs de contaminants en milieu aquatique comme ici les ions cadmium et le bisphénol A².

Bien que des développements analytiques soient encore nécessaires pour améliorer la sélectivité, la linéarité du signal, la gamme de concentration concernée ou encore les limites de détection, les succès obtenus dans les études de Hu et coll. et Zhang et coll. menées sur des QDs¹ de CdTe et ZnO, respectivement, sont très encourageants et prometteurs. L'aboutissement de ces études permettrait de disposer d'outils de quantification de polluants *in situ*, rapides et relativement peu onéreux, en regard des techniques analytiques classiques. Une application ultime serait leur utilisation pour détecter et quantifier les contaminants dans les eaux de surface dont les matrices sont nettement plus complexes que les eaux de consommation étudiées ici.

La dissémination des QDs¹ dans le milieu naturel, subséquente à leur utilisation croissante, appelle une approche responsable qui consiste à étudier, en parallèle, leurs éventuels effets toxiques. L'étude de Blickley et coll. montre par exemple qu'en dépit d'une faible biodisponibilité, les effets des QDs¹ (structure cœur/coquille CdSe/ZnS) sur le genre des poissons et sur le taux de fécondité révèlent peut-être des propriétés de perturbateurs endocriniens, ce qui devra être plus amplement étudié.

GENERAL CONCLUSION

Quantum dots are semiconductor nanocrystals, of which photoluminescent properties are used in the presented studies to develop ionic cadmium and bisphenol A sensors. Analytical developments remain necessary to improve the selectivity, the signal linearity, the concentration range or even the limit of detection of such sensors. However, these two successful studies from Hu et al. et Zhang et al. dealing with CdTe and ZnO QDs¹ are really promising. The achievement of such studies would provide fast and inexpensive tools for in situ determination of contaminant concentrations. Their ultimate application would consist in their use for contaminant detection in surface waters, of which matrix are considerably more complex than the tap waters studied here.

The environmental spreading of QDs¹ subsequent to their increasing use calls for a responsible approach which consists in the parallel study of their potential toxic effects. For instance, the study from Blickley et al. shows that although displaying a little bioavailability, the studied QDs¹ (CdSe/ZnS core/shell structure) seem to impact the gender and the fecundity of fish, which suppose a potential endocrine disruption. This last point requires further investigation to be confirmed.

Lexique

- (1) QDs : Quantum dots, en français « boîte quantique ». Il s'agit d'une nanostructure de semi-conducteurs qui, par sa taille et ses caractéristiques, se comporte comme un puits de potentiel confinant les électrons (et les trous) dans une région d'une taille de l'ordre de la longueur d'onde des électrons (quelques dizaines de nm). Ce confinement confère à ces boîtes des propriétés proches de celles d'un atome, raison pour laquelle les QDs sont parfois qualifiés d'« atomes artificiels ».
- (2) Bisphénol A, BPA : molécule organique qui contient deux groupements fonctionnels phénol et fait partie des composés organiques aromatiques. Ses autres noms sont aussi 4,4'-(propan-2-ylidène)diphénol ou p, p'-isopropylidènebisphénol. Cette molécule est reconnue comme un perturbateur endocrinien.
- (3) Quenching, quencher : terme anglais repris en français qui signifie « désactivation, désactivateur ». Il s'agit d'une entité chimique capable de désactiver un état excité créé dans une entité moléculaire par transfert d'énergie, d'électron ou par un mécanisme chimique.
- (4) Dendrons : les polymères dendronisés ressemblent à des polymères linéaires, mais ils présentent des chaînes latérales volumineuses et ramifiées que l'on appelle dendrons.
- (5) IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Elle indique

quelle quantité d'une substance est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné (ou un élément d'un processus, par exemple une enzyme, un paramètre cellulaire, un récepteur cellulaire ou un microorganisme).

- (6) LOD : Limit Of Detection, limite de détection. C'est la plus faible quantité d'une substance qui peut être distinguée de l'absence de substance (valeur du blanc), avec un degré de confiance fixé (généralement 1% de faux positifs). La LOD est souvent définie comme 3 un signal correspondant à trois fois l'écart-type mesuré sur le blanc.
- (7) PNEC : Predicted No Effect Concentration, valeur définissant le seuil de concentration en dessous duquel aucun effet n'est observé. Il est utilisé en évaluation des risques environnementaux des substances chimiques.
- (8) ROS : Reactive Oxygen Species, espèce réactive de oxygène. Espèces chimiques oxygénées rendus chimiquement très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés.

Publications de référence

- (1) **Matsuda K, Kobayashi E, Okubo Y, et al.** Total cadmium intake and mortality among residents in the Jinzu River Basin, Japan. *Archives of Environ Health* 2003;**58**:218-222.
- (2) **Kasuya M.** Recent epidemiological studies on itai-itai disease as a chronic cadmium poisoning in Japan. *Wat Sci and Technol* 2000;**42**:147-154.
- (3) **Cravedi J-P, Zalko D, Savouret J-F, et al.** Le concept de perturbation endocrinienne et la santé humaine. *MS. Méd sci* 2007;**23**:198-204.
- (4) **Algarra M, Campos BB, Alonso B et al.** Thiolated DAB dendrimers and CdSe quantum dots nanocomposites for Cd(II) or Pb(II) sensing. *Talanta* 2012;**88**:403-407.
- (5) **Xu H, Miao R, Fang Z, et al.** Quantum dot-based "turn-on" fluorescent probe for detection of zinc and cadmium ions in aqueous media. *Anal Chim Acta* 2011;**687**:82-88.
- (6) **Zhang J, Zhao S-Q, Zhang K, et al.** A study of photoluminescence properties and performance improvement of Cd-doped ZnO quantum dots prepared by the sol-gel method. *Nanoscale Res Letters* 2012;**7**:1-7.
- (7) **Kirchner C, Liedl T, Kudera S, et al.** Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles. *Nano Letters* 2004;**5**:331-338.
- (8) **Green M, Howman E.** Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking. *Chem Commun* 2005:121-123.
- (9) **Dokmeci AH, Ongen A, Dagdeviren S.** Environmental toxicity of cadmium and health effect. *J Environ Protect and Ecol* 2009;**10**:84-93.

Revue de la littérature

- (10) **Lou YB, Zhao YX, Chen JX, et al.** Metal ions optical sensing by semiconductor quantum dots. *J Mater Chem C* 2014;**2**:595-613.
- (11) **Wu P, Zhao T, Wang SL, et al.** Semiconductor quantum dots-based metal ion probes. *Nanoscale* 2014;**6**:43-64.

- (12) **Yin T, Qin W.** Applications of nanomaterials in potentiometric sensors. *Trends in Anal Chem* 2013;**51**:79-86.
- (13) **Blanco-Canosa JB, Wu M, Susumu K, et al.** Recent progress in the bioconjugation of quantum dots. *Coord Chem Rev* 2014;**263**:101-137.

Autres publications identifiées

Khantaw T, Boonmee C, Tuntulani T, et al. Selective turn-on fluorescence sensor for Ag⁺ using cysteamine capped CdS quantum dots : Determination of free Ag⁺ in silver nanoparticles solution. *Talanta* 2013;**115**:849-56.

Etude traitant de l'utilisation des QDs pour mesurer les ions argent en solution.

Li J, Li X, Yang R, et al. A sensitive electrochemical chlorophenols sensor based on nanocomposite of ZnSe quantum dots and cetyltrimethylammonium bromide. *Anal Chim Acta* 2013;**804**:76-83.

Etude traitant de l'utilisation des QDs pour mesurer les chlorophénols.

Morelli E, Salvadori E, Bizzarri R, et al. Interaction of CdSe/ZnS quantum dots with the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* and the green alga *Niellage tertiolecta* : A biophysical approach. *Biophys Chem* 2013;**182**:4-10.

Etude visant à évaluer la toxicité des QDs vis-à-vis des diatomées marines et d'une algue verte.

Ng SM, Wong DSN, Phung JHC, et al. Integrated miniature fluorescent probe to leverage the sensing potential of ZnO quantum dots for the detection of copper (II) ions. *Talanta* 2013;**116**:514-519.

Etude visant à améliorer la sensibilité des QDs de ZnO afin de les utiliser comme détecteurs des ions cuivre II.

Vaishnavi E, Renganathan R. CdTe quantum dot as a fluorescence probe for vitamin B12 in dosage form. *Spectrochim Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectro* 2013;**115**:603-9.

Etude traitant de l'utilisation des QDs pour mesurer la concentration en vitamine B12.

Zhao Q, Rong X, Chen L, et al. Layer-by-layer self-assembly xylenol orange functionalized CdSe/CdS quantum dots as a turn-on fluorescence lead ion sensor. *Talanta* 2013;**114**:110-6.

Etude traitant de l'utilisation des QDs comme détecteurs des ions Pb²⁺.

Xu H, Miao R, Fang Z, et al. Quantum dot-based «turn-on» fluorescent probe for detection of zinc and cadmium ions in aqueous media. *Anal Chim Acta* 2011;**687**:82-8.

Etude traitant de l'utilisation des QDs comme détecteurs des ions zinc et cadmium en milieu aquatique.

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 BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Agents chimiques

Evaluer l'exposition des enfants aux pesticides, tout un défi !

Période : décembre 2013 à mars 2014

Sophie Crèvecoeur et Suzanne Rémy | s.crevecoeur@issep.be

Institut scientifique de service public (ISSeP) – Direction des risques chroniques, cellule environnement-santé – Liège – Belgique

Mots clés : aliments, biomarqueurs urinaires, enfants, exposition, pesticides, phénomène de dérive

Les pesticides sont utilisés dans l'agriculture, l'industrie et les maisons pour combattre ou détruire des insectes, des champignons et de la vermine nuisibles. Ils figurent parmi les substances les plus préoccupantes pour l'environnement et pour l'homme. Des études épidémiologiques récentes ont montré des associations entre une exposition précoce aux pesticides et la leucémie, certaines tumeurs, certaines morts fœtales, des malformations congénitales, le développement et le comportement de l'enfant (1,2). Les enfants constituent une population vulnérable méritant une attention particulière car ils présentent des caractéristiques spécifiques (3) :

- prise journalière de nourriture, d'eau et inhalation d'air plus importante par rapport à leur masse corporelle que les adultes ;
- comportement main-bouche augmentant l'exposition aux pesticides présents dans l'eau, le sol et les poussières.

Deux études récentes menées sur des jeunes enfants sont présentées. La première examine le lien entre le phénomène de dérive¹ et la présence de résidus de pesticides dans différentes matrices environnementales au sein d'écoles maternelles et primaires en Afrique du Sud. Ce phénomène de dérive¹ peut, en effet, être une source d'exposition importante aux pesticides (4,5). La seconde s'intéresse au lien entre l'alimentation de l'enfant (âgé entre deux et cinq ans) et l'exposition de ce dernier, documentée par la mesure de métabolites urinaires de pesticides.

Surveillance environnementale de résidus de pesticides issus de fermes localisées à proximité d'écoles primaires et maternelles à l'ouest de la ville du Cap en Afrique du Sud

Dalvie MA, Sosan MB, Africa A, Cairncross E, London L. *Environmental monitoring of pesticide residues from farms at a neighbouring primary and pre-school in the Western Cape in South Africa. Sci Total Environ* 2014;466-467:1078-84.

Résumé

Le but de cette étude est de documenter les concentrations résiduelles de pesticides dans l'air, les poussières et la pelouse d'écoles maternelles et primaires localisées à proximité de vignobles (à 30 m et 100 m, respectivement), en banlieue de la ville du Cap en Afrique du Sud. Elle vise également à établir une relation entre les concentrations de pesticides, la période de pulvérisation et la localisation géographique des fermes utilisatrices.

Les prélèvements ont été effectués avant et pendant la période de pulvérisation (de septembre à décembre 2010), en parallèle d'enregistrements des conditions météorologiques. Des échantillons d'air de poussières et d'herbe ont été prélevés aux alentours de deux écoles situées sur deux vignobles, localisées à 5 km de la ville du Cap.

Onze pesticides ont été détectés dans les échantillons. Les six pesticides suivants figuraient dans le planning de pulvérisation des vignobles : endosulfan, diméthomorph, penconazole, cyprodinil, boscalid et bromopropylate. Leur localisation et leur

période de détection étaient cohérentes avec leur utilisation agricole. La présence d'endosulfan dans les différents milieux investigués avant la période de pulvérisation suggère qu'il provient d'une autre application dans la région et/ou de sa persistance dans l'environnement. Les cinq autres pesticides détectés ne faisaient pas partie du planning de pulvérisation. Trois insecticides (chlorpyrifos, cyperméthrin et perméthrin) pourraient avoir été utilisés à des fins domestiques par les écoles ciblées ou dans des fermes à proximité. La présence de kresoxim-méthyl dans les échantillons serait également liée au phénomène de dérive¹. Le pyriproxifen est un insecticide utilisé dans le jardinage, on le retrouve également dans la composition de traitements antiparasitaires pour animaux de compagnie. Les concentrations environnementales de pesticides, à l'exception de la perméthrin et cyperméthrin, étaient inférieures à 0,1 µg/m³ dans l'air et 0,1 mg/kg dans les poussières et l'herbe. Les conséquences sanitaires de ces expositions environnementales n'ont pu être prédites en raison de l'absence de limites d'exposition pour les matrices ou milieux analysés.

Les résultats de l'étude mis en lien avec les données météorologiques (direction du vent et données pluviométriques) ont confirmé la dérive¹ des pesticides utilisés dans les vignobles vers les deux écoles.

Commentaire

Cette étude est intéressante, car elle documente l'exposition d'un environnement particulier de l'enfant, son école. Elle documente la présence de pesticides dans différentes matrices environnementales, identifie quels pesticides proviennent de l'industrie du vin et met en évidence le phénomène de dérive¹, malgré les limites de l'échantillonnage liées aux coûts importants de l'analyse des pesticides.

Néanmoins, tous les pesticides utilisés dans les fermes avoisinant les écoles étudiées n'ont pu être analysés ainsi que ceux utilisés au sein même des écoles. Pour étudier le phénomène de dérive¹ en provenance des vignobles, tous les pesticides spécifiques à ces cultures auraient dû être analysés en lien avec les données météorologiques et ce, sur une plus longue période car des mesures n'ont pu être prises pour toute la saison d'utilisation. Compte tenu du phénomène de dérive¹ sur des distances pouvant atteindre 750 m (6), il aurait été pertinent de connaître l'environnement des écoles sur un rayon équivalent. Ceci aurait peut-être permis d'identifier d'autres fermes ou cultures, et éventuellement d'expliquer la présence de certains pesticides près des écoles.

Aliments contributeurs à l'exposition de jeunes enfants aux pesticides utilisés couramment en utilisant le biomonitoring urinaire

Morgan M, Jones P. *Dietary predictors of young children's exposure to current-use pesticides using urinary biomonitoring. Food Chem Toxicol* 2013;62:131-41.

Résumé

L'objectif de cette étude est de documenter l'association entre la fréquence de consommation de certains aliments et l'exposition des enfants d'âge préscolaire aux pesticides utilisés couramment. Cette étude fait suite à la détection de résidus de trois pesticides dans des jus de fruits frais, légumes, céréales, pains, c'est-à-dire des aliments fréquemment consommés par les enfants. Ces pesticides sont rapidement métabolisés en différents composés et excrétés via les urines.

Des échantillons urinaires prélevés et rassemblés (maximum six) par enfant sur une période de 48 heures (échantillons analysés séparément pour les enfants dont une application au domicile a été réalisée moins de sept jours avant le prélèvement) ont permis de mesurer la présence de métabolites du chlorpyrifos (TCP²), de la perméthrin (3-PBA³) et le 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D⁴) chez 135 enfants âgés de 2 à 5 ans gardés à la maison, originaires des états de Caroline du Nord et de l'Ohio. Les parents ont complété durant la même période un questionnaire de fréquence alimentaire, lequel documente la fréquence hebdomadaire de consommation de 65 aliments durant l'année précédente.

Les résultats issus des biomarqueurs urinaires⁵ indiquent que la majorité des enfants ont été exposés aux TCP², 3-PBA³ et 2,4-D⁴, lesquels ont été respectivement détectés dans 99 %, 64 % et 92 % des échantillons d'urine. L'analyse des données a montré, d'une part, que la concentration moyenne de TCP² dans les urines était

significativement plus élevée chez les enfants consommant des pommes et des jus de fruits à une fréquence d'au moins trois fois par semaine. D'autre part, des concentrations significativement supérieures de 3-PBA³ ont été mesurées chez les enfants consommant du poulet et/ou de la dinde à une fréquence supérieure ou égale à trois fois par semaine. Par contre, aucun lien n'a été établi entre la fréquence de consommation d'aliments et les concentrations urinaires en 2,4-D⁴.

En conclusion, les trois pesticides évalués ont été mesurés dans l'urine des enfants au cours de la période de l'étude. Les niveaux d'exposition à la perméthrin et au 2,4-D⁴ étaient 893 et 36 fois plus faibles que les doses orales de référence établies par l'US-EPA de 50 µg/kg/j et 10 µg/kg/j, respectivement. Pour le chlorpyrifos, l'US-EPA ne propose pas de valeur de référence. Selon les auteurs, les pommes et les jus de fruits ou le poulet et la dinde seraient des aliments contributeurs au niveau urinaire de TCP² ou 3-PBA³, respectivement, chez les jeunes enfants. Aucune association n'a pu être faite en ce qui concerne le 2,4-D.

Commentaire

Cette publication analyse le lien entre les habitudes alimentaires et des biomarqueurs urinaires⁵ d'exposition aux pesticides chez les jeunes enfants, étude rarement effectuée chez les enfants d'âge préscolaire, car notamment difficile à faire accepter et lourd à mettre en œuvre.

Les associations observées entre l'exposition et l'alimentation des enfants représentent probablement une sous-estimation des liens réels puisque toute étude présente quelques limites. Les données de fréquence de consommation couvrent une longue période (une année) alors que les biomarqueurs urinaires représentent l'exposition récente.

D'autre part, la documentation du poids ou du volume des aliments consommés aurait pu permettre une meilleure caractérisation des sources d'exposition.

De plus, certains facteurs pouvant interférer dans l'exposition n'ont pas été pris en compte : la consommation de produits bio, d'eau du robinet, la profession des parents...

Enfin, les concentrations en pesticides dans les légumes n'ont pas été mesurées ou recherchées dans la littérature.

Ces données auraient permis de vérifier le lien entre les niveaux d'imprégnation et les pesticides présents dans les légumes, les métabolites retrouvés dans les urines et la fréquence de consommation des aliments.

Par ailleurs, les métabolites TCP² et 3-PBA³ ne sont pas spécifiques au chlorpyrifos et à la perméthrine, respectivement et sont aussi des biomarqueurs urinaires d'autres pesticides. Bien que ces pesticides soient généralement la source de l'excrétion de ces métabolites, la présence de ces derniers dans les urines des enfants pourrait donc être liée à d'autres pesticides. Dans certains cas, l'exposition résidentielle à certains pesticides étudiés n'est pas à exclure. Par exemple, certains échantillons démontrant des concentrations élevées de TCP² et de 2,4-D⁴ étaient associés à de telles utilisations. Aussi, elle pourrait également être liée à l'ingestion de terre contenant des pesticides. Cette voie

d'exposition n'est pas négligeable. En effet, actuellement, il est considéré qu'un enfant ingère entre 100 et 150 mg de terre par jour (7).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études documentent les sources d'exposition environnementale (article 1) et alimentaire (article 2) de jeunes enfants aux résidus de pesticides. Le premier article a confirmé l'effet de la dérive¹ des pesticides pulvérisés au droit de fermes sur l'exposition des enfants des écoles voisines. Le second a mis en évidence l'association entre la fréquence de consommation de certains aliments et le niveau d'exposition des enfants aux pesticides par l'utilisation de biomarqueurs urinaires. De nombreuses informations doivent être prises en compte dans l'examen des sources d'exposition aux pesticides.

Ces deux études présentent quelques limites qui apportent des incertitudes dans l'évaluation de l'exposition. D'une part, le premier article n'a pas inventorié les pesticides utilisés au sein même des écoles fréquentées par les enfants ni analysé tous les pesticides utilisés dans les fermes voisines. Pour évaluer le phénomène de dérive¹, l'analyse aurait dû porter sur tous les pesticides spécifiques aux vignobles. D'autre part, le second article a utilisé des données non comparables sur le plan temporel et la liste des pesticides dosés était non exhaustive.

Il ressort de cette note la difficulté de documenter les sources d'exposition aux pesticides de la façon la plus complète et spécifique possible. Cette complexité est notamment liée à la présence ubiquiste des pesticides dans l'environnement et au nombre élevé de molécules mises sur le marché.

Les intérêts apportés par ces deux études sont l'analyse de sources d'expositions de jeunes enfants aux pesticides via plusieurs matrices environnementales (article 1) et l'étude de biomarqueurs urinaires d'exposition chez les jeunes enfants (article 2).

GENERAL CONCLUSION

These studies are both focusing on environmental (study 1) and dietary (study 2) sources of children's exposure to pesticides. The first study confirmed the presence of pesticide drift from farms onto children's exposure from two neighbouring schools. The second one, thanks to urinary biomarkers, demonstrated a relationship between food frequency consumption diary and children exposure to pesticides. Lots of data must be taken into account to analyse sources of pesticide exposure.

A lack of information in the two studies brings uncertainties in the exposure assessment. On the one hand, the first study did not list the pesticides used for domestic purposes inside the schools. Moreover, all agents applied on neighbouring farms were not measured. To assess the drift, the study should have been focusing on all the specific pesticides applied on vineyards. On the other hand, the second study was mixing data from different monitoring periods and a non-exhaustive list of pesticides was analysed.

Papers discussed here are demonstrating the difficulty to document sources of exposure to pesticides in the most total and specific way. This complexity is related to widespread uses of pesticides and numerous molecules commercially available.

Lexique

- (1) Phénomène de dérive : transport par voie aérienne de gouttelettes ou de vapeurs de pesticides hors de la zone ciblée par le traitement, lors de la pulvérisation.
- (2) TCP : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, métabolite du chlorpyrifos qui est un insecticide fréquemment utilisé sur différentes cultures agricoles. Des résidus de ce pesticide ont été détectés dans de nombreuses sortes de fruits frais et légumes et produits dérivés trouvés en supermarché (jus de fruits, grains, viandes).
- (3) 3-BPA : 3-phenoxybenzoic acid, métabolite de la perméthrine qui est également un insecticide fréquemment utilisé en agriculture et dont des résidus ont déjà été retrouvé dans divers aliments. Ne pas confondre avec le bisphénol A appelé également BPA.
- (4) 2,4-D : 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, herbicide utilisé contre les dicotylédones dans les champs. Des résidus de ce pesticide ont été trouvés dans des produits achetés tels que céréales et pains.
- (5) Biomarqueur urinaire : molécule détectable dans les urines qui reflète l'exposition de l'organisme à un polluant.

Publications de référence

- (1) **Roberts James R.** Pesticide Exposure in Children. *Pediatrics* 2012;**130**:1757-63.
- (2) **Inserm** (Institut national de la santé et de la recherche médicale). Pesticides : Effets sur la santé – Expertise collective. 2013. 161p. Disponible sur <http://www.inserm.fr>. Consulté le 28 mai 2014.
- (4) **Airparif**. Evaluation des concentrations en pesticides dans l'air Francilien : campagne exploratoire. Airparif, juin 2007.
- (5) **Lu C, Fenske R, Simcox N, et al.** Pesticide exposure of children in an agricultural community : Evidence of household proximity to farmland and take home exposure pathways. *Environ Res Section A* 2000;**84**:290-302.
- (6) **Dalvie MA, Sosan MB, Africa A, et al.** Environmental monitoring of pesticide residues from farms at a neighbouring primary and pre-school in the Western Cape in South Africa. *Sci Total Environ* 2014;**466-467**:1078-84.
- (7) **Dor F, Denys S, Daniau C, et al.** Exposition des enfants par ingestion de sol et de poussières contaminés : quels choix pour les évaluations de risque ? *Actes des 2^{èmes} Rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués*, 20-21 octobre 2009, Paris (France).

Revue de la littérature

- (3) **Ding G, Bao Y.** Review : Revisiting pesticide exposure and children's health : Focus on China. *Sci Total Environ* 2014;**472**:289-95.

Autres publications identifiées

Jones K, Everard M. et Harding A-H. Investigation of gastrointestinal effects of organophosphate and carbamate pesticide residues on young children. *Int J Hyg Environ Health* 2014;**217**:392-8.

Cette étude analyse le lien entre des effets gastro-intestinaux et l'exposition à des résidus de pesticides (métabolites mesurés dans des échantillons d'urine et de fèces) chez de jeunes enfants. Ce lien n'a pas été mis en évidence au terme de l'étude. Les niveaux de métabolites de pesticides détectés chez les individus en bonne santé et chez ceux atteints de problèmes gastro-intestinaux n'étaient pas significativement différents.

Li C, Cheng Y, Tang Q, et al. The association between the prenatal exposure to organochlorine pesticides and thyroid hormone levels in newborns in Yancheng, China. *Environ Res* 2014;**129**:47-51. *Cette publication analyse le lien entre les niveaux de pesticides organochlorés mesurés dans le sérum maternel et ceux documentés dans le cordon ombilical. L'association entre l'exposition prénatale aux pesticides organochlorés et les hormones thyroïdiennes dans le sérum du cordon a également été évaluée. Peu d'études portent sur cette problématique. Les résultats de ce travail suggèrent que les pesticides organochlorés présents dans le sang maternel traversent la barrière placentaire et augmentent le taux d'hormones*

thyroïdiennes des nouveaux-nés.

Chevier C, Serrano T, et al. Environmental determinants of the urinary concentrations of herbicides during pregnancy : The PELAGIE mother-child cohort (France). *Env Int* 2014;**63**:11-8.

L'intérêt de cette étude est l'analyse de l'impact de l'exposition aux herbicides chloroacétanilide et triazine sur un nombre important (579) de femmes étant dans leur premier trimestre de grossesse. La présence de résidus de pesticides dans des habitats proches d'activités agricoles a été mise en évidence en combinant différentes données (analyse d'échantillons d'urine, proximité des cultures, données météorologiques, régime alimentaire, utilisation d'eau du robinet comme eau de boisson, usage d'herbicide dans la maison...).

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Effets du bisphénol A et du Di-(2-ethylhexyl) phtalate sur la formation des follicules ovariens dans le modèle souris

Période : décembre 2013 à mars 2014

Véronique Machelon | veronique.machelon@u-psud.fr

CNRS – UMR S 996 – Clamart 92140 – France

Mots clés : bisphénol A, folliculogénèse, ovaire, perturbateurs endocriniens

Les facteurs environnementaux sont suspectés de jouer un rôle non négligeable dans l'infertilité, qui concerne environ 10 % à 15 % des couples en âge de procréer (1). Le bisphénol A (BPA¹) et les phtalates², très utilisés comme plastifiants, sont largement présents dans l'environnement. Définis comme des perturbateurs endocriniens³ et, en tant que tels, capables d'interférer avec le fonctionnement du système hormonal contrôlant les fonctions de la reproduction, ils ont été impliqués dans des dysfonctionnements du système de la reproduction et à l'origine d'hypofertilité chez les animaux et dans l'espèce humaine. La détection de ces contaminants environnementaux dans le placenta et dans le lait montre qu'ils peuvent agir non seulement sur la mère mais aussi sur sa descendance. Ainsi, il apparaît particulièrement opportun d'étudier les effets d'une exposition au BPA¹ pendant la période périnatale, puisque c'est le moment où se mettent en place les stades précoces de la folliculogénèse ovarienne. Des études récentes, menées essentiellement sur des modèles animaux, montrent en effet 1) que la chute du taux d'estradiol⁴ au moment de la naissance est un facteur contribuant au déclenchement de la rupture du syncytium germinal (germ cell nest breakdown) conduisant à la formation du follicule primordial⁵, 2) qu'une exposition périnatale à des perturbateurs endocriniens oestrogénomimétiques⁴ altère les fonctions de la reproduction et induit une diminution de la fertilité.

Les deux études sélectionnées ont été réalisées chez la souris. Elles ont pour objectif d'étudier les effets du BPA¹ et des phtalates² sur les stades précoces de la folliculogénèse⁵ ovarienne, consécutivement à une exposition pendant la période périnatale, *in vitro* dans le premier cas, *in utero* dans le second cas. Les effets sur les stades ultérieurs de la folliculogénèse⁵ et sur la fertilité des souris de première génération ont été évalués pour tenter de relier les effets mis en évidence sur les stades précoces de la folliculogénèse⁵ et les effets sur les fonctions de la reproduction. De telles études sont difficiles à envisager chez la femme, pour laquelle les données sont essentiellement des données épidémiologiques, qui mettent en relation la mesure dans le sang et d'autres liquides physiologiques de composés définis comme des perturbateurs endocriniens³ et les critères de fertilité ou de fécondité (2).

L'exposition au Di-(2-ethylhexyl) phtalate et au bisphénol A modifie la formation du follicule primordial chez la souris *in vitro*

Zhang T, Li L, Qin, XS, Zhou Y, Zhang X-F, Wang L-Q, De Felici M, Chen H, Qin G-Q and Shen W. Di-(2-ethylhexyl) Phthalate and Bisphenol A impairs mouse primordial follicle assembly *in vitro*. *Environ Mol Mutagen* 2014;55:343-53

Résumé

L'objectif de cette étude chinoise est d'étudier, sur un stade précoce de la folliculogénèse ovarienne⁵, à savoir la formation du follicule primordial chez la souris, les effets de deux perturbateurs endocriniens³ largement répandus dans l'environnement, le BPA¹ et le diethylhexyl phthalate (DEHP²), tous deux utilisés comme plastifiants dans l'industrie des matières plastiques. Etayée par des études antérieures, montrant que l'exposition au BPA¹ et au DEHP² d'ovaires de souris prélevés au moment de la naissance affectait la maturation ovocytaire (3, 4), l'hypothèse de travail des auteurs était la suivante : un effet sur les stades précoces

de la folliculogénèse ovarienne⁵ pourrait avoir des répercussions sur les stades ultérieurs et sur la fertilité. C'est un processus qui intervient pendant la période périnatale, soit 22,5 jours post-coït chez la souris, à la faveur de la chute des taux d'hormones. Toute anomalie intervenant à ce stade peut avoir des répercussions sur la fertilité.

Dans cette étude, les auteurs ont mis des ovaires de souris nouveau-nées en présence de 10 ou 100 μM de BPA¹ et DEHP² *in vitro*.

Ils ont observé une nette augmentation du nombre de nids germinaux et une diminution des follicules, après exposition au DEHP² ou au BPA¹.

Ils ont également observé une augmentation du nombre d'ovocytes en apoptose⁶, caractérisée par l'augmentation de l'expression du gène pro-apoptotique *Bax*⁶ mais pas du gène anti-apoptotique *Bcl-2*⁶.

Concernant un autre gène, le *Lhx8*⁸, les auteurs ont montré en parallèle qu'il y avait un niveau élevé de sites méthylés⁸ dans les ovocytes exposés au BPA¹ et DEHP².

Associant une étude *in vivo* aux études *in vitro* qui viennent d'être décrites, les auteurs ont complété le travail par des expériences de transplantation des ovaires dans des capsules rénales de souris. Ces expériences ont permis d'étudier l'évolution des follicules à des stades ultérieurs et de montrer une inhibition partielle ou totale de la croissance folliculaire dans les ovaires exposés *in vitro* au BPA¹ ou au DEHP². De l'ensemble de leurs résultats, les auteurs retiennent essentiellement que le BPA¹ et le DEHP² altèrent la formation du follicule primordial⁵ de souris *in vitro* et modifient profondément la folliculogénèse des ovaires transplantés. Il est à noter que ces deux perturbateurs endocriniens sont susceptibles d'avoir des effets épigénétiques (méthylation du gène *Lhx8*⁸), ce qui suggère que ce type de mécanisme, potentiellement associé aux effets des perturbateurs endocriniens³, pourrait intervenir dans le contrôle de la folliculogénèse ovarienne.

Commentaire

Dans la mesure où le BPA¹ et le DEHP² ont des propriétés œstrogéniques⁴, on s'attend à ce que l'exposition à ces deux perturbateurs endocriniens inhibe la formation des follicules primordiaux⁵, à l'instar de l'œstradiol⁴. C'est en effet ce qu'observent les auteurs de cette étude. En revanche, ils observent également une augmentation du nombre d'ovocytes apoptotiques, phénomène classiquement associé à la formation du follicule primordial⁵. Peut-on pour autant lier ces deux observations qui semblent contradictoires ?

Ce lien est complexe. Des études précédentes (5, 6) avaient bien établi un lien direct entre la formation du follicule primordial⁵ et la survie des cellules germinales, en s'appuyant sur le fait que les souris n'exprimant pas le gène *Bax*⁶ ont un nombre plus élevé d'ovocytes et montrent un retard de la rupture du nid germinal⁵. En revanche, une autre étude montre que l'œstradiol⁴ et la progestérone⁹ inhibent la formation du follicule primordial⁵, sans affecter la survie des ovocytes (7).

Les auteurs tentent d'expliquer leurs résultats en argumentant que les gènes dont ils ont analysé l'expression sont à la fois impliqués dans la survie des ovocytes et la folliculogénèse ovarienne⁵. La modification de leur expression par le BPA¹ et le DEHP² est donc susceptible d'influer à la fois sur la folliculogénèse et le nombre d'ovocytes en apoptose⁶, sans qu'il y ait pour autant un lien de cause à effet. Ce raisonnement paraît en effet cohérent, bien que le nombre de gènes analysés reste assez restreint. Les auteurs suggèrent aussi que les altérations observées dans les stades ultérieurs de la folliculogénèse⁵ dans les ovaires traités et transplantés seraient une conséquence de la modification de gènes ciblés par le BPA¹ et le DEHP² à l'instar des quelques gènes qu'ils ont analysés. Cela reste en effet à prouver. S'appuyant sur le fait que le BPA¹ et le DEHP² sont susceptibles de modifier la méthylation du gène *Lhx8*⁸, les auteurs suggèrent aussi que le contrôle de la folliculogénèse⁵ ovarienne peut faire intervenir des mécanismes épigénétiques⁸ ciblés par les polluants de l'environnement. Là aussi, une étude étendue à un nombre plus élevé de gènes s'impose.

L'exposition au bisphénol A *in utero* empêche la rupture du syncytium de cellules germinales et diminue la fécondité chez la souris, avec des effets s'accroissant avec l'âge.

Wang W, Hafner KS, Flaws JA. In utero bisphenol A exposure disrupts germ cell nest breakdown and reduces fertility with age in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;276(2):157-64

Résumé

Dans ce travail réalisé par une équipe américaine, les auteurs ont bâti leur protocole expérimental en réalisant dans un lot de quarante souris des expositions au BPA¹, à doses croissantes allant de 0,5 µg/kg/jour à 50 µg/kg/jour. Ces expositions ont commencé au 11^e jour de gestation jusqu'à la naissance, période qui couvre le début de la formation des follicules primordiaux⁵ (ce processus s'achève six jours après la naissance chez la souris et il est fortement dépendant des modifications hormonales, en particulier la chute des taux d'œstradiol⁴, survenant à la naissance).

Les auteurs ont ensuite analysé les conséquences de cette exposition sur les tout premiers stades de la folliculogénèse ovarienne⁵ qui conduisent à la formation des follicules primordiaux⁵, qui constituent la réserve ovarienne⁵. Ils ont tenté de corrélérer ces effets avec l'observation d'altérations et/ou du vieillissement précoce des fonctions de la reproduction sur des souris de trois, six et neuf mois, normalement en âge de se reproduire.

Les effets sur la folliculogénèse ovarienne⁵ ont été analysés par des études histologiques de coupes d'ovaires et l'étude des profils de transcriptomes⁷ réalisés par PCR¹⁰, sur les souris de première génération (F1), quatre jours après la naissance.

Le cycle a été analysé quotidiennement pendant 30 jours après le sevrage. Les femelles de trois à dix mois ont ensuite été soumises à des tests de reproduction avec des males non traités.

Les résultats montrent clairement que l'exposition *in utero* au BPA¹ fait que le nombre de follicules primordiaux⁵ est diminué, ce qui suggère que la rupture des nids germinaux est inhibée, au moins en partie.

Parallèlement à ces observations histologiques, l'expression dans les ovaires prélevés cinq jours après la naissance, d'un certain nombre de gènes liés à l'apoptose⁶ a été mesurée par PCR¹⁰. Les résultats obtenus montrent que l'exposition *in utero* au BPA¹ modifie l'expression de différents facteurs pro-apoptotiques et anti-apoptotiques⁶, en fonction des doses d'exposition.

- à la dose la plus faible de 0,5 µg/kg/jour, on remarque surtout une diminution du facteur pro-apoptotique *Bax*⁶ ;
- à la dose moyenne de 20 µg/kg/jour, ce sont les facteurs pro-apoptotiques *Bax*⁶ et *Bak1*⁶ qui sont diminués, en association avec une augmentation du facteur anti-apoptotique *Bcl-2/16* ;
- à la dose la plus élevée de 50 µg/kg/jour il y a une diminution du facteur pro-apoptotique *Bak16* et une augmentation des facteurs anti-apoptotiques *Bcl2/16*⁶ et *Bcl2*⁶.

Toutefois, quelle que soit la dose, on observe toujours une modification de la balance en faveur des facteurs anti-

apoptotiques⁶ qui va dans le sens d'une diminution de la mort programmée et se traduit donc par une diminution de l'entrée en apoptose⁶ des cellules.

Concernant l'impact sur la fertilité, les effets du BPA¹, ont été classés en trois groupes suivant le moment où ils sont observés, à l'ovulation, pendant la période de gestation et à la fin de la gestation. Concernant le cycle, l'exposition au BPA¹ avance l'âge du premier estrus¹¹, raccourcit le temps où les souris restent en œstrus¹³, et augmente le temps du metestrus¹¹ et du diestrus¹¹. Pour une exposition à de faibles doses de BPA¹ on observe une altération des fonctions de reproduction et un pourcentage plus élevé de souriceaux mort-nés dans les descendance, ces altérations augmentant avec l'âge.

Commentaire

Cette étude s'appuie sur un protocole expérimental rigoureux, et elle est étayée par une analyse histologique et moléculaire minutieuse et approfondie. Comme pour la première étude, les résultats révèlent un effet sur un certain nombre de gènes connus pour leur effet pro ou anti-apoptotique. Ici les auteurs montrent que les gènes modifiés diffèrent selon les doses d'exposition, mais toujours dans le sens d'une diminution de la mort programmée (6) des cellules.

Ce processus intervient consécutivement à certaines modifications hormonales au moment de la naissance, notamment la chute du taux d'œstradiol⁴ (8). *A contrario*, la modification de la balance entre facteurs pro- et anti-apoptotiques⁶ dans le sens d'une diminution de la mort programmée⁶ pourrait retarder la rupture du nid germinale et la formation du follicule primaire⁵.

Un autre point important à relever concerne les effets retard du BPA¹. Les auteurs de cette étude montrent clairement que les effets d'une exposition pendant la phase de gestation peuvent se prolonger pendant la période post-natale. Par ailleurs, les effets observés sur les stades précoces de la folliculogénèse⁵ pourraient expliquer les effets sur les stades ultérieurs de la folliculogénèse et les fonctions de la reproduction, effets qui semblent augmenter avec l'âge. On peut supposer que la diminution de la réserve ovarienne⁵ représentée par le pool de follicules primordiaux⁵ est une cause de stérilité qui s'aggrave avec l'âge.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Obtenus à partir de protocoles expérimentaux un peu différents, une exposition des ovaires *in vitro* dans le premier cas, *in utero* dans le second cas, les résultats issus des deux études réalisées chez la souris, convergent pour montrer que l'exposition périnatale (période où la production endogène d'œstrogènes ovariens est très réduite) à des perturbateurs endocriniens³ comme le BPA¹ ou les phtalates² inhibe la rupture des nids germinaux, à l'origine de la formation des follicules primordiaux, aux stades précoces de la folliculogénèse⁵, avec pour conséquence une diminution de la réserve ovarienne⁵. Ces effets sont associés à une modification de la balance entre facteurs pro et anti-apoptotiques⁶ dans les cellules ovariennes et les ovocytes.

La question se pose alors de savoir si ces effets sont directement extrapolables à l'espèce humaine. Un article publié récemment par une équipe française montre les limites du modèle souris et révèle que seul 1/3 des réponses aux perturbateurs endocriniens³ présentent des similitudes entre l'espèce humaine et la souris (9). Un autre article publié par une équipe américaine montre, à partir de données cliniques recueillies dans une cohorte de plus de cinq cents couples jeunes avec l'intention de procréer, que les concentrations en BPA¹ et en phtalates² dosées dans les urines des femmes ne sont pas corrélées au temps qui s'écoule entre leur intention de procréer et le moment où elles sont enceintes, alors que les quantités de phtalates² dans les urines des hommes sont associées à une diminution sensible de la fertilité masculine (2). L'ensemble de ces données suggère que l'on poursuive les études cliniques chez la femme, et qu'on les complète dans la mesure du possible par des études *in situ*, pour tenter de confirmer les résultats obtenus chez les rongeurs et déterminer avec précision les mécanismes moléculaires des effets du BPA¹ et des phtalates² sur les fonctions de la reproduction chez la femme et les risques induits par l'exposition à ces deux facteurs largement présents dans l'environnement.

GENERAL CONCLUSION

Using two different experimental approaches, in vitro exposure in the first case and in utero exposure in the second case, these two publications reveal that maternal exposure during the perinatal period, a critical developmental window when the production of endogeneous oestrogens is minimal, to endocrine disruptors such as BPA¹ and phthalates², alters germ cell nest breakdown⁴, a process required for establishment of the finite primordial pool⁵, that impairs mouse primordial follicle assembly and may cause infertility. These effects are associated to alteration of the balance between pro- and anti-apoptotic factors in ovarian cells and oocytes. The question is to what extent can we extrapolate to humans results in rodents? A recent study published by a French team (9) has revealed that the responses to endocrine disruptors are similar in human and rodent for only one third, raising concerns about the extrapolation of data obtained in rodents to human health risk assessment. Further, an American team has recently shown that clinical data collected in a cohort of more than 500 couples reveal that urinary BPA¹ and phthalate² concentrations in women and couple fertility measured by time to pregnancy are not correlated (2). In contrast, male phthalate² exposure was associated with reduced fertility. All these data suggest that further studies are still needed to evaluate more precisely the molecular effects of BPA¹ and phthalates on reproductive functions in women, either using animal models or via clinical studies.

Lexique

- (1) BPA : bisphénol A, molécule utilisée comme plastifiant, présente dans les emballages alimentaires et les canettes.
- (2) Phtalates et DEHP : produits chimiques dérivés de l'acide phtalique et utilisés comme plastifiants ; DEHP : diethylhexyl phthalate .
- (3) 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.
- (4) Oestradiol/œstrogène/ œstrogénique/œstrogénomimétique: hormone sexuelle qui dérive du métabolisme du cholestérol et essentiellement produite chez la femme par les cellules ovariennes. Les œstrogènes comprennent l'œstradiol et certains dérivés comme l'œstriol et l'œstrone moins actif que l'œstradiol. Une substance œstrogénomimétique mime l'effet de ces hormones.
- (5) Folliculogénèse ovarienne : croissance et maturation du follicule et de l'ovocyte conduisant à l'ovulation. Au début de sa maturation, après la rupture du nid germinal formé d'un syncytium de cellules germinales qui deviendront des ovocytes, l'ovocyte s'entoure d'une couche de cellules aplaties. C'est le follicule primordial, qui mesure 0,05 mm de diamètre. Ces stades précoces, qui surviennent avant la naissance dans l'espèce humaine, conduisent à la formation des follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne.
- (6) Apoptose/facteurs pro- et anti-apoptotiques/mort programmée/gènes associés : l'apoptose est un processus de mort cellulaire programmée par lequel les cellules, en réponse à un stimulus, déclenchent leur autodestruction selon un programme génétique préétabli. Un certain nombre de gènes ont été identifiés comme des gènes contrôlant ce processus. Parmi ceux-ci les gènes *Bax*, *BAK1* sont des facteurs pro-apoptotiques induisant la mort cellulaire tandis que les gènes *Bcl2* et *Bcl2/1* sont anti-apoptotiques et favorisent la survie cellulaire.
- (7) ARN_m, transcriptome : acide ribonucléique messager, support temporaire de l'information génétique contenue dans l'ADN et nécessaire à la fabrication des protéines par la cellule. Le transcriptome est l'ensemble des ARN issus de la transcription du génome. Il permet de caractériser le profil en ARN d'un tissu ou d'une cellule et de faire des analyses comparatives.
- (8) Epigénétique et sites méthylés : on entend par épigénétique, les modifications non codées par les séquences d'ADN susceptibles de modifier l'expression des gènes en fonction de l'environnement du gène. Ainsi des réactions enzymatiques comme la méthylation de séquences régulatrices des gènes (sites CpG Cytosine-Guanine) peuvent rendre un gène silencieux et l'empêcher de s'exprimer. C'est le cas du gène *Lhx8* (LIM homeobox 8).
- (9) Progestérone : hormone stéroïdienne principalement sécrétée par les cellules du corps jaune ovarien et impliquée dans le cycle sexuel.
- (10) PCR : de « Polymerase chain reaction ». Réaction de polymérisation en chaîne permettant d'amplifier une séquence définie d'acide désoxyribonucléique (ADN).
- (11) Cycle sexuel, œstrus, metestrus, diestrus : chez la souris, on distingue au niveau du vagin des phases cycliques pré-ovulatoires (pré-œstrus, absence de bouchon vaginal) et œstrus (proche de l'ovulation et de la libération des ovocytes) et post-ovulatoires (metœstrus et diœstrus, qui est une phase de repos sexuel).

Publications de référence

- (1) **ACOG Committee Opinion No 575.** Exposure to toxic environmental agents ? *Fertil Steril* 2013;**100** (4):931-4
- (2) **Louis GMB, Sundaram R, Sweeney A, et al.** Urinary bisphenol A, phthalates, and couple fecundity : the longitudinal investigation of fertility and the environment (life) study. *Fert Steril* 2014;**101**:1359-66
- (3) **Zhang HQ, Zhang XF, Zhang LJ, et al.** Fetal exposure to

bisphenol A affects the primordial follicle formation by inhibiting the meiotic progression of oocytes. *Mol Biol Reprod* 2012;**39**:5651-57

- (4) **Zhang XF, Zhang LJ, Li L, et al.** Diethylhexyl phtalate exposure impairs follicular development and affects oocyte maturation in the mouse. *Environ Mol Mutagen* 2013;**54** (5):354-61
- (5) **Perez GI, Robles R, Knudson CM, et al.** Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax-deficiency. *Nat Genet* 1999;**21**:200-3
- (6) **Greenfeld CR, Pepling ME, Babus JK, et al.** BAX regulates follicular endowment in mice. *Reproduction* 2007;**133**:865-76
- (7) **Chen Y, Jefferson WN, Newbold RR, et al.** Estradiol, progesterone and genistein inhibit oocyte nest breakdown and primordial follicle assembly in the neonatal mouse ovary *in vitro* and *in vivo*. *Endocrinology* 2007;**148**(8):3580-90
- (8) **Naulé L, Picot M, Martine M, et al.** Neuroendocrine and behavioral effects of maternal exposure to oral bisphenol A in female mice. *Journal of Endocrinology* 2014;**220** (3):375-88
- (9) **Habert R, Muczynski V, Tiphany G, et al.** Concerns with the widespread use of rodent models for human risk assee of endocrine disruptors. *Reproduction* 2014;**147** (4):R119-29

pas de différences significatives avec le reste de la population.

Liu T, Li N, Zhu J et al. Effects of di-(2-ethylhexyl) phtalate on the hypothalamus-pituitary-ovarian axis in adult female rats. *Reprod Toxicol* 2014;**46C**:141-47

Cette étude chinoise a été réalisée sur la rate et concerne l'exposition au DEHP et ses effets au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

n'avoir aucun conflit d'intérêts ;

avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Revue de la littérature

Richards JS and Pangas SA. The ovary: basic biology and clinical implications. *J Clin Invest* 2010;**20** (3): 963-72

ACOG Committee Opinion No 575. Exposure to toxic environmental agents ? *Fertil Steril* 2013;**100** (4): 931-34

Autres publications identifiées

Naderi M, Wong MY, Gholami F. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquat Toxicol* 2014;**148C**:195-203

Cette étude réalisée sur le poisson zèbre montre que le bisphénol-S, substitut du bisphénol-A altère de façon sensible chez le mâle et la femelle, la production hormonale et le développement.

Naulé L, Picot M, Martine M, et al. Neuroendocrine and behavioral effects of maternal exposure to oral bisphenol A in female mice. *Journal of Endocrinology* 2014;**220** (3):375-88

Cette étude française réalisée sur le modèle souris montre qu'une exposition au BPA (faibles et fortes doses) pendant la période périnatale ne modifie pas sensiblement le comportement sexuel des souris (pas de signe de masculinisation ou de déféminisation).

Arbuckle TE, Davis K, Marro L, et al. Phthalate and bisphenol A exposure among pregnant women in Canada - Results from the MIREC study. *Environ Int* 2014;**68C**:55-65

Cette étude concerne une cohorte de deux mille femmes canadiennes dont on a mesuré le taux de BPA et de onze métabolites des phthalates dans les urines pendant le premier trimestre de gestation pour évaluer les risques d'exposition dans une fenêtre d'exposition particulièrement sensible. Elle ne révèle

Le bisphénol A peut-il être remplacé sans risque par des analogues structuraux ?

Période : décembre 2013 à mars 2014

Marie-Anne Robin | marie-anne.robin@inserm.fr

INSERM – UMR-991 – Rennes – France

Mots clés : Analogues structuraux, Bisphénol A, Bisphénol S, perturbateurs endocriniens, substitution

Le bisphénol A (BPA) est utilisé dans de nombreuses applications industrielles qu'il s'agisse de plastiques en polycarbonate et de résines époxy utilisés dans de nombreux contenants alimentaires ou de papier thermique pour les tickets de caisse ou reçus de cartes bancaires. Il est d'ores et déjà interdit dans la fabrication des biberons depuis 2010 et doit l'être pour tout contenant alimentaire en 2015. Devant la rapidité de ces décisions, les industriels se sont tournés vers d'autres bisphénols, bien que n'ayant pas de recul sur leur potentiel toxique. C'est ainsi, qu'actuellement, tickets de caisse (1) et biberons (2) contiennent du bisphénol S (BPS) qui est autorisé conformément au règlement (UE) N° 10/2011 de la Commission européenne du 14 janvier 2011. Il n'y a pas d'obligation de déclaration et il n'existe pas à l'heure actuelle de liste des produits contenant du BPS ou d'autres analogues. La population n'est pas donc pas à l'abri de se retrouver exposée à d'autres composés perturbateurs endocriniens dont les effets sont moins bien connus et étudiés que ceux du BPA. Le premier article sélectionné dans cette note fait une synthèse des effets endocriniens des principaux analogues structuraux du BPA par des méthodes *in silico* et *in vitro*. Ses résultats suggèrent que le BPS pourrait présenter une moindre activité hormonale de type estrogénique et anti-androgénique que le BPA ou d'autres analogues. Le second article est basé sur une étude *in vivo* au cours de laquelle des poissons zèbres ont été exposés au BPS du stade embryonnaire au stade adulte. Ses conclusions indiquent des altérations du système endocrinien. Ainsi, le BPS paraît présenter des propriétés estrogéniques proches de celles du BPA chez le poisson zèbre, et d'autres études devraient être entreprises pour déterminer si c'est également le cas dans d'autres espèces animales.

Les analogues structuraux du bisphénol A représentent-ils des alternatives sûres ?

Rosenmai AK, Dybdahl M, Pedersen M, Alice van Vugt-Lussenburg BM, Wedeby EB, Taxvig C, Vinggaard AM. Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives? *Toxicol Sci* 2011; **139**:35-47

Résumé

De nombreuses études expérimentales et épidémiologiques suggèrent que le BPA est susceptible de provoquer des effets néfastes, même en très faible quantité. Les analogues structuraux¹ du BPA constituent une alternative de substitution mais, en raison même de cette analogie de structure, il est possible que ces composés présentent les mêmes propriétés potentiellement toxiques que le BPA. L'objectif de cette étude était de comparer le profil toxicologique de plusieurs analogues, le bisphénol B (BPB), le bisphénol E (BPE), le bisphénol F (BPF), le BPS et le 4-cumylphénol (HPP), à ceux du BPA, par des méthodes *in silico* et *in vitro*. La conclusion est que tous ces composés produisent des effets similaires à ceux du BPA sur l'activité des récepteurs aux estrogènes² et aux androgènes³, et la plupart, à des concentrations du même ordre que celles du BPA. Ils ont affecté de façon générale la stéroïdogénèse⁴, en provoquant une diminution des taux d'hormones androgéniques et une augmentation de ceux des hormones estrogéniques et des progestagènes⁵. Des effets différentiels sur la synthèse de corticostéroïdes⁶ ont été observés, suggérant dans ce cas un

mécanisme composé-dépendant. Parmi ces analogues, seul le BPS a présenté des activités estrogéniques et anti-androgènes moindres que le BPA, avec cependant une plus forte activité progestéromimétique. Enfin, certains analogues pourraient entraîner des altérations de l'ADN ou un stress oxydant ainsi que des effets sur le métabolisme et une sensibilisation cutanée. En conclusion, ces analogues structuraux interfèrent également avec le système endocrinien et la plus grande prudence doit être de mise dans le choix des produits de substitution du BPA.

Commentaire

Des analogues structuraux du BPA comme le BPS, le BPB ou le BPF sont déjà utilisés, puisqu'ils ont été retrouvés dans des boîtes de conserves, des cannettes de boissons ou encore dans des tickets de caisses (1, 3, 4). Des études ont été conduites récemment aux Etats-Unis et en Chine pour déterminer les quantités de BPA ou de ses analogues dans près de trois cents denrées alimentaires. Le BPA est toujours le plus représenté, suivi du BPF et des autres analogues (5, 6). De plus, le BPS et le BPB ont été détectés dans des échantillons d'urine ou le sang de la population générale aux Etats-Unis et en Asie (7). Il est donc réellement urgent de déterminer si ces analogues représentent une alternative réellement plus sûre que le BPA. Il existe une certaine originalité dans ce travail du fait d'une double approche, *in silico* et *in vitro*. La première s'appuie sur des prédictions fondées sur un panel de

modélisations de type QSAR⁷, la seconde sur l'évaluation de la production d'hormones stéroïdes *in vitro* et l'activité de plusieurs récepteurs nucléaires qui peuvent témoigner d'un effet sur des voies de signalisation intervenant dans le métabolisme, le stress oxydant ou des phénomènes génotoxiques.

Dans l'ensemble, il existe une bonne correspondance entre ces deux approches et les résultats montrent que les cinq analogues testés provoquent des effets souvent similaires à ceux du BPA, en particulier en ce qui concerne les activités estrogéniques et anti-androgéniques. Le BPS est le seul analogue qui n'influence pas la synthèse d'estrone⁸ et d'estradiol⁹. Même si les concentrations d'analogues induisant la plupart des effets endocriniens sont proches de celle du BPA, il faut noter qu'elles sont de l'ordre du micromolaire. Seuls les effets sur les récepteurs aux estrogènes surviennent à des concentrations plus faibles (0,08 μM pour le BPA) et, là encore, le BPS serait le composé le moins puissant en agissant à la concentration de 1,17 μM . Cette étude compare donc de façon approfondie les effets endocriniens des analogues structuraux majeurs du BPA, avec des résultats peu encourageants en ce qui concerne leur innocuité et avec, pour limite, l'absence de données expérimentales *in vivo*.

L'exposition du poisson zèbre (*Danio rerio*) au bisphénol S au cours de son développement altère le potentiel de reproduction et l'équilibre hormonal de l'adulte.

Naderi M, Wong MY, Gholami F. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquat Toxicol* 2014; 148:195-203.

Résumé

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant autour du BPS comme substitut potentiel BPA. Cependant, en raison du caractère nouveau de cette substance, on manque de recul et sa capacité à perturber le système endocrinien a été très peu étudiée *in vivo*. Dans l'étude faisant l'objet de cette note, les auteurs ont exposé des embryons de poisson-zèbre (*Danio rerio*) à diverses concentrations de BPS (0, 0,1, 1, 10 et 100 $\mu\text{g/l}$) et poursuivi cette exposition pendant soixante-quinze jours. Ensuite, mâles et femelles ont été accouplés et les conséquences sur le développement des poissons, la reproduction, les taux de vitellogénine¹⁰ plasmatique et le niveau des hormones sexuelles et thyroïdiennes ont été étudiées.

Après soixante-quinze jours d'exposition, un sex-ratio¹¹ en faveur des femelles et une diminution du taux de survie à la plus forte concentration ont été observés. Les résultats montrent également que la longueur du corps et le poids des poissons ont diminué de façon significative chez les mâles exposés à la concentration de 100 $\mu\text{g/l}$ de BPS. L'indice gonado-somatique¹² était significativement réduit chez les poissons des deux sexes aux concentrations supérieures ou égales à 10 $\mu\text{g/l}$, alors que l'index hépato-somatique¹³ était augmenté. Aux concentrations supérieures ou égales à 1 $\mu\text{g/l}$ de BPS, les niveaux plasmatiques

de 17 β -estradiol étaient significativement augmentés à la fois chez les mâles et les femelles. La testostérone¹⁴ plasmatique était diminuée chez les mâles exposés à 10 et 100 $\mu\text{g/l}$ de BPS. La vitellogénine¹⁰ plasmatique, quant à elle, était augmentée à ces mêmes concentrations dans les deux sexes. Concernant les hormones thyroïdiennes, les taux plasmatiques de thyroxine et de triiodothyronine étaient sensiblement diminués aux concentrations les plus élevées (10 et 100 $\mu\text{g/l}$ chez les mâles et 100 $\mu\text{g/l}$ chez les femelles). La production de sperme, le nombre d'œufs et la fréquence d'éclosion étaient également diminués dans les groupes ayant reçu 10 et 100 $\mu\text{g/l}$ de BPS. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que l'exposition du poisson zèbre au BPS perturbe son système endocrinien, au même titre que le BPA.

Commentaire

Ce deuxième article décrit les modifications de caractères morphologiques, hormonaux et relatifs à la reproduction observées chez des poissons exposés à différentes doses de BPS. Il faut noter que parmi ces différentes doses, seules les plus faibles (0,1 et 1 ng/l) sont pertinentes en regard de la contamination des eaux de rivières par les bisphénols. Une étude récente a en effet mesuré des concentrations de BPS allant de 0,3 à 19 ng/l dans la baie de Hangzhou en Chine (8). Dans cette même étude, les concentrations maximales de BPA et de BPAF étaient respectivement de 75 et 245 ng/l (8). Étant donné l'utilisation assez récente des analogues du BPA, il y a encore peu de travaux mesurant leurs taux dans les eaux de rivières et ces taux sont relativement faibles. Cependant, si leur utilisation se généralise, on pourrait s'attendre à ce que la contamination qu'ils entraînent soit semblable à celle du BPA, et une étude de 2014 a montré des concentrations de BPA dans des eaux non traitées en France pouvant aller jusqu'à 1,43 $\mu\text{g/l}$ (9). La plupart des effets observés dans cet article le sont aux concentrations de 10 et 100 $\mu\text{g/l}$, mais les taux plasmatiques de 17 β -estradiol augmentent chez les mâles dès 1 $\mu\text{g/l}$. Une autre étude avait également montré des effets endocriniens après vingt-et-un jours d'exposition, à savoir une diminution de la production d'œufs et de l'indice gonado-somatique¹² chez les poissons femelles à des concentrations supérieures ou égales à 0,5 $\mu\text{g/l}$ de BPS, ainsi qu'une augmentation des concentrations plasmatiques de 17 β -estradiol dans les deux sexes (10). En conclusion, l'étude commentée dans cette note confirme que l'exposition de poissons zèbres à des concentrations de BPS compatibles avec une exposition environnementale peut conduire à des altérations hormonales et une baisse des capacités reproductives.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux études présentées dans cette note sont complémentaires, l'une testant plusieurs analogues du BPA par des méthodes alternatives aux essais sur l'animal (*in silico* et *in vitro*) et la seconde portant sur une expérimentation *in vivo* sur le poisson zèbre avec un analogue particulier, le BPS. La première étude indique que BPS apparaît comme le moins estrogénique des composés testés. La seconde montre que le BPS présente des propriétés de perturbateur endocrinien pour la faune aquatique et ce, à une exposition pertinente en regard de la contamination des eaux par les bisphénols. Il est très difficile d'extrapoler ces résultats à l'Homme, d'autant plus que la plupart des études réalisées à ce jour sur le BPS portent sur la détection de ce contaminant dans les eaux, les aliments, les contenants ou encore dans la population, et non sur ses propriétés hormonales. Il faut souligner que, du fait même de leur analogie de structure et donc de leur potentiel perturbateur endocrinien, les dérivés du BPA ne sont peut être pas les composés à utiliser en priorité. En 2012, l'Anses (11) a recensé soixante-treize substituts du BPA en fonction de ses différents usages : résines époxy, polycarbonate et papiers thermo sensibles. Il faudra en effet certainement plusieurs substituts pour remplacer le BPA et la note de l'Anses fournit de nombreuses pistes.

GENERAL CONCLUSION

Both studies presented in this note are complementary, the first one testing several analogues of BPA by alternative methods (in silico and in vitro) and the second one dealing with an in vivo experiment on zebrafish with a specific analogue, BPS. The first study indicates that BPS appears to be the least estrogenic compound tested. The second shows that BPS exhibits endocrine disrupting properties towards aquatic life and this, at relevant concentrations, taking into account the water contamination by bisphenols. It is very difficult to extrapolate these results to Humans, especially as most studies to date on BPS deal with the detection of the contaminant in water, food, containers or in the population, but not with its hormonal properties. It should be noted that by virtue of their structural similarity and thus of their endocrine disruption potential, BPA derivatives may not be the compounds to use in priority. In 2012, ANSES identified 73 substitutes to BPA according to its different uses: epoxy resins, polycarbonate and heat sensitive paper. Several alternatives will certainly be necessary to replace BPA and the ANSES note provides many leads.

Lexique

- (1) Analogue structural : molécule qui ne diffère d'une autre que par le remplacement d'un atome ou d'un groupe d'atomes par un autre, et qui présente des propriétés physicochimiques et biologiques voisines.
- (2) Estrogènes : également appelées hormones estrogéniques ou hormones femelles ; hormones stéroïdiennes produites à partir des androgènes, impliquées dans le développement des caractères secondaires féminins et dans le contrôle du cycle menstruel.
- (3) Androgènes : également appelés hormones androgéniques ou hormones mâles ; hormones stéroïdiennes qui stimulent et contrôlent l'apparition et le maintien des caractères masculins.
- (4) Stéroïdogénèse : synthèse des hormones stéroïdiennes, c'est-à-dire qui ont pour origine le cholestérol.
- (5) Progestagènes : hormones stéroïdiennes principalement impliquées dans le cycle menstruel et la grossesse.
- (6) Corticostéroïdes : également appelés glucocorticoïdes ; hormones stéroïdiennes ayant des propriétés anti-inflammatoires et une action sur le métabolisme protidique et glucidique.
- (7) QSAR : " Quantitative Structure-Activity Relationship " Le principe des méthodes QSAR consiste à mettre en place une relation mathématique à l'aide de méthodes d'analyse de données, reliant des propriétés moléculaires microscopiques appelées descripteurs, à un effet expérimental (activité biologique, toxicité, affinité pour un récepteur), pour une série de composés chimiques similaires.
- (8) Estrone : estrogène naturel sécrété par les ovaires.
- (9) Estradiol : estrogène naturel sécrété par les ovaires, environ 10 fois plus efficace que l'estrone et 80 fois plus efficace que l'estriol dans ses effets estrogéniques.
- (10) Vitellogénine : la vitellogénine est un précurseur des protéines constituant le jaune d'œuf. Son expression chez les poissons mâles peut être utilisée comme un marqueur d'exposition aux perturbateurs endocriniens estrogéniques.
- (11) Sex-ratio : rapport entre le nombre de naissances d'individus de sexe masculin et de sexe féminin.
- (12) Indice gonado-somatique : cet indice est défini comme le rapport du poids des gonades au poids corporel. Il constitue un outil de mesure de la maturité sexuelle des animaux en relation avec le développement de l'ovaire et le développement des testicules.
- (13) Indice hépato-somatique : cet indice est défini comme le rapport du poids du foie au poids corporel. Il donne une indication sur l'état des réserves d'énergie du poisson.
- (14) Testostérone : principale hormone androgénique sécrétée par les testicules et jouant un rôle clé dans le fonctionnement sexuel chez l'homme.

Publications de référence

- (1) Liao C, Liu F, Kannan K. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol A residues. *Environ Sci Technol* 2012; **46**:6515-22.
- (2) Grignard E, Lapenna S, Bremer S. Weak estrogenic transcriptional activities of Bisphenol A and Bisphenol S. *Toxicol In Vitro* 2012; **26**:727-31.
- (3) Cunha SC, Cunha C, Ferreira AR, *et al.* Determination of bisphenol A and bisphenol B in canned seafood combining QuEChERS extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2012; **404**:2453-63.
- (4) Viñas P, Campillo N, Martínez-Castillo N, *et al.* Comparison of two derivatization-based methods for solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometric determination of bisphenol A, bisphenol S and biphenol migrated from food cans. *Anal Bioanal Chem* 2010; **397**:115-25.
- (5) Liao C, Kannan K. A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2014; **31**:319-29.
- (6) Liao C, Kannan K. Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *J Agric Food Chem* 2013; **61**:4655-62.
- (7) Liao C, Liu F, Alomirah H, *et al.* Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. *Environ Sci Technol* 2012; **46**:6860-6.
- (8) Yang Y, Lu L, Zhang J, *et al.* Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2014; **1328**:26-34.
- (9) Colin A1, Bach C, Rosin C, *et al.* Is drinking water a major route of human exposure to alkylphenol and bisphenol contaminants in France? *Arch Environ Contam Toxicol* 2014; **66**:86-99.
- (10) Ji K, Hong S, Kho Y, *et al.* Effects of bisphenol S exposure on endocrine functions and reproduction of zebrafish. *Environ Sci Technol* 2013; **47**:8793-800.
- (11) Note de l'Anses du 8 juin 2012 relative aux résultats de l'appel à contributions à la suite de la publication des rapports relatifs aux effets sanitaires et aux usages du bisphénol A (BPA) (septembre 2011) et au recensement des alternatives et/ou substituts au BPA.

Reuves de la littérature

Rapport d'expertise collective de l'Anses. Substances reprotoxiques et perturbateurs endocriniens. Composés de la famille des bisphénols : bisphénols M, S, B, AP, AF, F et BADGE. Mars 2013.

Autres publications identifiées

Mathew M, Sreedhanya S, Manoj P, *et al.* Exploring the Interaction of Bisphenol-S with Serum Albumins: A Better or Worse Alternative for Bisphenol A? *J Phys Chem B* 2014; **118**:3832-43
Cette étude s'est intéressée aux interactions du BPS avec les albumines sériques. Les auteurs montrent par différentes techniques que le BPS se lie de façon irréversible à l'albumine humaine et suggèrent que cela pourrait avoir des conséquences sur notre santé.

Lu L, Yang Y, Zhang J, *et al.* Determination of seven bisphenol analogues in reed and Callitrichaceae by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014; **953-954**:80-5.

Dans cet article, les auteurs développent une technique de mesure des analogues du BPA dans des plantes par chromatographie liquide ultra performante couplée à de la spectrométrie de masse en tandem. Avec cette méthode, la limite de détection est de 2-150 ng/kg d'extrait de plantes herbacées aquatiques, en fonction de l'analogue recherché.

Song S, Song M, Zeng L, *et al.* Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China. *Environ Pollut* 2014; **186**:14-9.

Cette publication montre qu'en Chine la contamination croissante par les bisphénols est un problème important. Les auteurs ont recherché la présence de 13 dérivés du BPA dans 52 échantillons provenant de boues d'épuration. La plupart de ces analogues ont été retrouvés dans ces boues et certains pour la première fois. L'article attire l'attention sur les effets potentiellement plus importants des mélanges de bisphénols auxquels la population est exposée.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts;
 avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

États des niveaux de concentration en dioxines et furanes dans le lait maternel

Période : décembre 2013 à mars 2014

Claude Emond | PKSH@biosmc.com

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

Mots clés : agent orange, biosurveillance, BPC, Canada, dioxine, furanes, lait maternel, PCDD, PCDF, POPs, 2,3,7,8-TCDD, Vietnam

Les dioxines (PCDDs¹) et les furanes (PCDFs²) constituent deux groupes de composés chimiquement apparentés, classés polluants organiques persistants (POP^s³) par la Convention de Stockholm signée en 2001 et entrée en vigueur le 17 mai 2004, mais avec des mises à jour régulières par les pays membres (1). Les dioxines sont des sous-produits indésirables de processus de fabrication notamment du blanchiment au chlore de la pâte à papier, de la fabrication de certains herbicides ou encore lors de la combustion dans des incinérateurs de déchets. Présents dans l'environnement et compte tenu de leur forte lipophilicité, ces composés auraient tendance à se bioaccumuler dans la chaîne alimentaire, principalement dans les tissus adipeux. Plus de 90 % de l'exposition de la population passe par l'alimentation et particulièrement par les denrées telles que la viande, les produits laitiers, les poissons et les fruits de mer (2). Le 2,3,7,8-TCDD⁴ est le congénère le plus étudié des dioxines, et l'une des substances les plus toxiques testées chez les animaux de laboratoire. L'objectif de cette note est d'évaluer les niveaux d'exposition à ces deux types de contaminants persistants à travers leur dosage dans le lait maternel.

Dans le premier article, les auteurs ont mesuré des concentrations de PCDD/Fs⁵ dans le lait maternel prélevé sur vingt-sept femmes vivant à proximité de la base de Da Nang au Vietnam, l'une des bases des militaires américains de Ranch Hand (3). Entre 1962 et 1971, l'armée américaine a pulvérisé près de 72 millions de litres de défoliants (agent orange) contaminés au 2,3,7,8-TCDD⁴ (4), le plus toxique composé parmi les congénères PCDDs¹. Selon une estimation, entre 2,1 et 4 millions de Vietnamiens ont été directement exposés à l'agent orange et reçoivent encore aujourd'hui des soins médicaux (5). Des mesures de sols à Da Nang, au début des années 90, faisaient état de concentration atteignant 62,7 ng/kg de sol à 10 cm sous la surface (6). Le second article fait état des teneurs en PCDDs¹ et en PCDFs² dans le lait maternel mesurées chez 300 femmes entre 1992 et 2005. Ces données sont issues d'un programme de surveillance canadien créé en 1967. Ces données serviront aussi de point de comparaison avec l'exposition résiduelle due en partie à l'agent orange identifié dans le premier article.

Ces deux publications permettent de faire un état des lieux de la problématique des PCDDs/Fs⁴, mais aussi de l'exposition aux BPCs⁶. Le suivi des concentrations représente une importance majeure sur le plan sanitaire pour la population des pays qui y sont exposés. Pour faire une comparaison de ces niveaux de concentration avec ceux que l'on retrouve en Europe, une comparaison est faite dans la discussion générale avec le cas du lait maternel dans le comté de Tarragona en Espagne (7).

Détermination de PCDD/Fs dans le lait maternel de femmes vivant aux alentours de Da Nang (Vietnam), région à haut risque d'exposition due à l'Agent Orange et l'estimation de l'absorption quotidienne de l'enfant.

Hue NT, Nam VD, Thuong NV, Huyen, Phuong, NTH, Hung NX, Tuan NH. Determination of PCDD/Fs in breast milk of women living in the vicinities of Da Nang Agent Orange hot spot (Vietnam) and estimation of the infant's daily intake. *Sci Total Environ* 2014. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.054>)

Résumé

Les auteurs de cet article avaient pour objectif de mesurer la teneur du lait maternel en contaminants de PCDD/Fs⁵ et de calculer la quantité de ces contaminants transférés de la mère à l'enfant au cours de l'allaitement, dans une population du

Vietnam. Dix-sept PCDDs/Fs⁴ ont été mesurés chez vingt-sept femmes vivant à proximité de la base de Da Nang au Vietnam, une région fortement contaminée par l'agent orange. Les femmes sélectionnées étaient primipares (1^{ère} grossesse), non fumeuses, avaient entre vingt-et-un et quarante-deux ans et ont demeuré au moins cinq ans dans l'un des quatre arrondissements à proximité de la base. Des prélèvements de 50 à 100 ml de lait maternel ont été réalisés au cours des seize premières semaines d'allaitement. La détermination de la concentration en PCDDs¹ et PCDFs² a été déterminée selon la méthode 1613B de l'US EPA avec un dosage par HRGC/HRMS⁷. Pour chaque échantillon, la teneur en WHO₂₀₀₅-TEQ⁸ équivalente a été déterminée.

Sur les quatre arrondissements, les concentrations variaient de 8,1 à 26 ng/kg de lipide exprimé en total WHO₂₀₀₅-TEQ dans le lait maternel. Le site d'An Khe au sud de la base de Da Nang étant le plus contaminé. Les auteurs observent que les concentrations

mesurées dans ces arrondissements sont plus élevées que chez les contrôles issus de la province d'Ha Nam située au nord du Vietnam avec 4,3 ng/kg de lipide exprimé en total WHO₂₀₀₅-TEQ⁸. La fraction PCDDs⁵ contribue entre 63 et 80 % du total des contaminants mesurés. Les PCDDs⁵ largement représentés sont 1,2,3,6,7,8-HxCDD⁹, le 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD¹⁰ et l'OCDD¹¹. Ce dernier, l'OCDD¹¹, à lui seul contribue entre 40 à 50% du total PCDD/Fs⁵ mesuré. La dose journalière absorbée calculée chez l'enfant à partir du lait maternel contaminé serait comprise entre 48 et 156 pg/kg de p.c./j en équivalence de WHO₂₀₀₅-TEQ⁸. Cette valeur estimée est supérieure à la dose journalière tolérable (TDI) établie par l'Organisation mondiale de la santé (WHO) qui est de 4,0 pg /kg de p.c./jour exprimé en WHO₂₀₀₅-TEQ⁸.

Les auteurs concluent que la dose journalière ingérée chez les enfants qui vivent à proximité de la base de Da Nang se compare aux plus fortes concentrations mesurées en Wallonie en Belgique ou dans la République tchèque avec 120 et 152 pg/kg de p.c./jour exprimé en WHO₂₀₀₅-TEQ⁸ respectivement. Ces résultats montrent d'une part, que les habitants de cette zone présentent un risque d'exposition élevé en PCDDs⁵ et PCDFs⁴ et d'autre part, que ce risque a un impact direct sur leurs descendants également exposés. Les auteurs émettent l'hypothèse d'une relation entre le pourcentage de consommation de nourriture contaminé par l'agent orange et la concentration des PCDDs⁵ et PCDFs² dans le lait maternel.

Commentaire

Ce travail évalue la concentration, à un temps donné, pour évaluer le niveau de contamination du lait maternel qui résulte de l'exposition à l'agent orange durant la guerre du Vietnam. Il permet d'établir un état des lieux sur un des sites les plus contaminés du Vietnam. Les auteurs ont mesuré des PCDD/Fs⁵ les plus représentatifs et régulièrement mesurés dans des études de suivi de contamination. La méthode de dosage est une méthode standardisée par dilution isotopique dont la performance est comparable à celles évoquées dans d'autres publications sur le même sujet. Le faible échantillonnage de chacun des arrondissements et la variabilité du temps de résidence représentent un point faible de ce travail, car de tels paramètres sont susceptibles d'influencer les quantités mesurées.

Une autre faiblesse est qu'il n'y a pas de vraie population témoin dans l'article, car les mesures sont comparées à une cohorte historique. De plus, les auteurs ont utilisé un questionnaire lors de leurs investigations, mais l'article ne comporte que très peu de retours de celui-ci. Ainsi, par exemple, cela limite les apports vis-à-vis des voies d'exposition. Enfin, l'étude est focalisée sur un site, mais on manque de recul sur d'autres sites similaires dans ce pays ou ailleurs. Il y a donc une certaine limite dans la mise en perspective des résultats.

Les auteurs ont souligné le risque d'exposition notable des nouveau-nés habitant dans cette zone. La comparaison entre les doses journalières tolérables en PCDDs⁵ et PCDFs² de la base de Da Nang au Vietnam et les autres pays (Belgique et République tchèque) semble un peu précipitée et inexplicite, étant donné

que les sources de contamination entre les différents pays cités ne sont pas équivalentes.

Les dioxines polychlorées, les furanes (PCDD/Fs) et les biphényles polychlorés (BPC) mesurés dans le lait maternel au Canada entre 1992 et 2005 dans une perspective de suivi temporel.

Ryan JJ, Rawn DF. Polychlorinated dioxins, furans (PCDD/Fs), and polychlorinated biphenyls (PCBs) and their trends in Canadian human milk from 1992 to 2005. *Chemosphere* 2014;102:76-86.

Résumé

L'objectif de cet article est de comparer les profils temporels de concentration de PCDD/Fs⁵ et de BPCs dans le lait maternel pour la population générale du Canada non-urexposée. Plus de trois cents échantillons de lait maternel de femmes ont été récoltés entre 1992 et 2005, à raison de 125 ml de lait maternel collecté auprès de chaque maman, entre les trois et quatre premières semaines après l'accouchement. De ces échantillons, 17 PCDD/Fs⁵ et 12 BPCs⁶ furent déterminés et la WHO₂₀₀₅-TEQ calculée. Le contrôle d'extraction des contaminants fait au carbone¹³ montre qu'il varie entre 60 % et 100 %. La limite de quantification de la méthode est d'environ 1 ng/kg lipide dans le lait. La variation inter-laboratoire varie entre 10 et 20 %.

Comme l'article de Ryan et Rawn se situe sur plusieurs années, faite par la même équipe, les auteurs ont complété leur série par des données de la même période ou antérieures ayant été mesurées dans les mêmes conditions. Les auteurs font différentes comparaisons notamment sur la concentration des différents congénères de PCDD/Fs⁵ et de BPCs⁶, la variation temporelle du profil des contaminants entre eux et des comparaisons entre provinces ou régions. Ils attribuent la variation régionale au fait que l'alimentation, qui peut être différente d'une région à l'autre, contribue à plus de 90 % de l'apport de ces contaminants.

Les auteurs ont aussi comparé les données entre le Canada et les États-Unis, notamment le Texas avec des données publiées. Les auteurs considèrent que les données sont à toutes fins comparables entre elles. Les auteurs soulignent une diminution importante entre 1992 et 2005 passant de 14 à 7 ng/kg de lipide dans le lait pour les PCDDs/Fs⁵ et de 4 à 2 ng/kg de lipide dans le lait maternel pour le BPCs⁶ exprimé en WHO₂₀₀₅-TEQ. Cependant, ils notent aussi que la teneur en 2,3,7,8-TCDD⁴ reste stable depuis 2002. Les auteurs concluent que leurs mesures en BPC WHO₂₀₀₅-TEQ sont comparables aux teneurs retrouvées dans des populations issues d'autres parties du monde non-surexposées.

Commentaire

L'intérêt de cet article est très certainement le nombre important de données. Comme les auteurs ont mesuré les données de manière comparable sur plusieurs années (de 1967 à 2010), la comparaison des variations temporelles et la variation des profils d'exposition est possible et pertinente. Les auteurs décrivent les méthodes d'extraction et de dosage par dilution isotopique. Les

quelques améliorations apportées ont permis d'augmenter la sensibilité des méthodes de dosage. Les mesures d'exposition dans le lait maternel, avec l'acquisition des nouvelles données de ces 17 PCDDs⁵ congénères et de 27 BPCs⁶ congénères sous forme de moyenne, médiane et moyenne arithmétique, permettent d'apprécier les changements temporels des congénères individuels pour ces contaminants persistants. Il s'agit donc d'un article bien documenté avec des mesures de biosurveillance comparées sur plusieurs décennies.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les dioxines sont des composés chimiques ubiquitaires. A cause de cette ubiquité, les milieux de la recherche et les gouvernements font de la biosurveillance afin de documenter les niveaux d'exposition des populations à travers le monde. Certaines populations sont plus affectées que d'autres, dû à des accidents ou des rejets secondaires. La littérature scientifique contient des cas très spécifiques de forte contamination, comme ceux du Vietnam ou de Seveso. Ainsi, la population du Vietnam a beaucoup souffert et souffre toujours du ravage qu'a fait l'épandage de l'agent orange contaminé au 2,3,7,8-TCDD⁴ sur son territoire. Plusieurs sites militaires avec des habitations au pourtour en recèlent toujours des quantités importantes. L'utilisation du lait maternel comme indicateur d'exposition a l'avantage de ne pas être invasive. Le lait agit comme indicateur de dose interne pour des composés excrétés par cette voie notamment les PCDDs/Fs² et les BPCs⁶.

Dans cette note, l'auteur a volontairement comparé les concentrations de PCDDs/Fs² total du Vietnam et du Canada, exprimées en équivalence toxique selon les critères de l'Organisation mondiale de la santé établis en 2005 (WHO₂₀₀₅-TEQ)⁸. Étant conscient que les sources d'exposition sont différentes, cette comparaison permet d'objectiver les conditions actuelles de contamination de ces femmes par le lait maternel. Ainsi, cette note permet d'indiquer que le lait maternel de femmes au Vietnam présente, encore aujourd'hui, des concentrations allant de 1,2 à 3,5 fois supérieures pour les quatre sites identifiés pour les prélèvements comparés à ceux de la population canadienne. Cependant cette comparaison a des limites évidentes, à savoir que nous ne pouvons affirmer que l'agent orange est la seule source de contamination en dioxine mesurée dans le lait maternel aux quatre sites de Da Nang. Par contre, cette comparaison permet d'informer sur les niveaux d'exposition auxquels ces populations sont exposées.

Au final, en prenant les valeurs maximales en TEQ⁹ mesurées et calculées, on retrouve jusqu'à environ 7 fois la concentration exprimée ng/kg de lipide WHO₂₀₀₅-TEQ⁸ de celle trouvée dans la population canadienne. On peut donc conclure que la contamination du lait maternel laissée, du moins en partie, par l'héritage de l'agent orange semble toujours très présente dans ce pays. Comme conclut Hue *et al.* dans le 1^{er} article analysé, les habitudes nutritionnelles des mères qui allaitent peuvent avoir des conséquences sur la santé des enfants.

Pour faire une comparaison avec ce que l'on retrouve en Europe, la concentration dans le lait maternel a été comparée au comté de Tarragona en Espagne qui se trouve à proximité d'un incinérateur. Ainsi, les concentrations totales dans le lait maternel variaient de 1,1 à 12,3 ng/kg de lipide WHO₂₀₀₅-TEQ PCDD/Fs⁵, tandis que les niveaux totaux de BPC⁶ variaient de 0,7 à 5,3 ng/kg de lipide WHO₂₀₀₅-TEQ PCB⁶.

GENERAL CONCLUSION

Dioxins are ubiquitous environmental contaminants. Because of this ubiquity, research communities and governments are monitoring and documenting population exposures levels worldwide. Some populations are more affected by dioxin exposure than others because of accidents or various releases. The scientific literature contains very specific cases of heavy contamination, such as in Vietnam or in Seveso, Italy. For instance, Vietnamese populations are still suffering the effects from the spread of Agent Orange, with TCDD⁴ contamination in several regions of its lands. Many military sites that have houses surrounding them still contain a large amount of the contaminant.

Biomonitoring of breast milk as an indicator of the internal body burden is advantageous because this method is not invasive and it can determine the compounds excreted by this route such as PCBs) and PCDDs/Fs).

In this note, the author voluntarily compared the concentrations of PCDD/Fs⁵ in Vietnam and Canada, expressed as World Health Organization toxicity equivalence (WHO₂₀₀₅-TEQ⁸). Although the sources of exposure are different, this comparison allows objectifying the current conditions of contamination of these women through their breast milk. The comparison between Vietnam and Canada indicates that the breast milk of women in Vietnam still contain high concentrations, ranging from 1.2 to 3.5 times higher for the four sites identified and sampled in this study. However, this comparison has obvious limitations, namely that we cannot say that Agent Orange is the only source of dioxin contamination, measured in the breast milk, to four sites in Da Nang. Nevertheless, this comparison provides information on exposure levels to which these populations are exposed.

At the end of the study, using the maximum toxicity equivalence (TEQ) measured and calculated, the ratios were up to seven times the concentration in ng/kg of lipid WHO₂₀₀₅-TEQ⁸ found in the breast milk of women in Canada. We can, therefore, conclude that the contamination of breast milk left by the legacy of Agent Orange in Vietnam is still predominately present. As a conclusion in the first paper analyzed, Hue et al. (2014) wrote that the dietary habits of mothers who are breastfeeding can significantly affect the adverse health outcomes of their children, and this is a real concern.

These breast milk concentration levels were compared to those found in Europe, specifically Tarragona County in Spain, which is near an incinerator. The total concentrations in the breast milk of women in Spain ranged from 1.1 to 12.3 ng/kg of lipid WHO₂₀₀₅-TEQ⁸ PCDD/Fs, and the total BPC6 levels ranged from 0.7 to 5.3 ng/kg of lipid WHO₂₀₀₅-TEQ⁸.

Lexique

- (1) PCDDs : polychlorodibenzo-p-dioxines
- (2) PCDFs : polychlorodibenzo-furanes
- (3) POPs : Persistent organic pollutants (composés organiques persistants)
- (4) 2,3,7,8-TCDD : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxine qui est un PCDD particulier
- (5) PCDD/Fs : Polychlorodibenzo-p-dioxines et Furanes
- (6) BPCs : Biphényle polychlorés
- (7) HRGC/HRMS : chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse haute résolution
- (8) WHO₂₀₀₅-TEQ : facteur d'équivalence toxique de l'évaluation de l'Organisation mondiale de la santé fait en 2005
- (9) 1,2,3,6,7,8-HxCDD : 1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxine
- (10) 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD : 1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzo-p-dioxine
- (11) OCDD : Octachlorodibenzodioxine
- (12) WHO : World Health Organization (Organisation mondiale de la santé)

Publications de référence

- (1) **Convention de Stockholm ; site Internet de cet organisme** <http://chm.pops.int/Home/tabid/2121/mctl/ViewDetails/EventModID/1126/EventID/468/xmid/6922/Default.aspx> (site consulté le 7 juin 2014)
- (2) **WHO/ OMS**, Dioxins and their effects on human health, Fact sheet N°225, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/#> May 2010, (consulté le 7 juin 2014)
- (3) **Dwernychuk LW**. Dioxin hot spots in Vietnam. *Chemosphere* 2005;**60**:998-9
- (4) **Dwernychuk LW, Cau HD, Hatfield CT, et al.** Dioxin reservoirs in southern Viet Nam-a legacy of Agent Orange. *Chemosphere* 2002;**47**:117-37.
- (5) **Martin MF**. Vietnamese victims of Agent Orange and Us-Vietnam Relations. Washington: CRS Report for Congree 2009:1-35.
- (6) **Quynh HT, Dung BT, Thuy LBT, et al.** First results on the transfer of 2,3,7,8-TCDD in nature and its persistence in human body in south Viet Nam. In: Cau HD, Dai LC, Minh DQ, et al., eds. 10-80 Committee. Hanoi Medical School 1994:81-91.
- (7) **Schuhmacher, M, Kiviranta, H, Ruokojarvi, P, et al.**, Levels of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in breast milk of women living in the vicinity of a hazardous waste incinerator: assessment of the temporal trend. *Chemosphere* 2013;**93**:1533-1540.

Revue de la littérature

Committee to Review the Health Effects in Vietnam. Veterans of Exposure to Herbicides. Veterans and Agent Orange. NBK195090 [bookaccession] 2014.

Young AL, Giesy JP, Jones PD, et al. Environmental fate and bioavailability of Agent Orange and its associated dioxin during the Vietnam War. *Environ Sci Pollut Res Int* 2004;**11**:359-70.

Autres publications identifiées

Wohlfahrt-Veje C, Audouze K, Brunak S, et al. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, furans, and biphenyls (PCDDs/PCDFs and PCBs) in breast milk and early childhood growth and IGF1. *Reproduction* 2014;**147**:391-9

Il s'agit d'une étude où les auteurs ont analysé le lien entre des composés de type dioxine (dioxine-like) et des aspects en lien avec les perturbateurs en endocriniens dont la croissance. Selon les auteurs les enfants avec un faible poids seraient corrélés avec la présence de composé de type dioxine. Cet article n'a pas été retenu, car l'objectif de cette note était de comparer les concentrations entre deux conditions d'exposition et non de comparer la présence de dioxine a un effet sur la santé.

Zhou SN, Siddique S, Lavoie L, et al. Hexachloronorborene-based flame retardants in humans: Levels in maternal serum and milk. *Environ Int* 2014;**66C**:11-7.

L'étude s'intéresse à des retardateurs atypiques, des retardateurs de flamme à base d'hexachloronorborene dans le sérum et dans le lait maternel. Cet article ne s'intéresse pas aux dioxines, comparaison centrale de cette note. Cet article n'a donc pas été retenu.

Agent MA, Hoffman K, Goldman BD, et al. Brominated flame retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2014;**28** : 48-57.

Les auteurs de cette publication se sont intéressés à la présence de retardateurs de flamme de type BDE-28, -47, -99, -100, et le -153 présents dans plus de 70% des échantillons. Ils ont ensuite cherché à faire le lien entre la présence de ces composés dans le lait maternel et la présence de troubles cognitifs. L'article n'a pas été retenu parce qu'il n'y avait pas de mesure de dioxine de fait pour comparer aux autres mesures prises dans le cadre de cette note.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Impact des co-expositions sur les effets toxiques de l'arsenic

Période : décembre 2013 à mars 2014

Radhouane Chakroun et Faycal Faïdi | 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 : arsenic, benzo(a)pyrène, cadmium, effets, exposition simultanée, fluor

L'arsenic est un élément chimique d'origine naturelle, présent de manière ubiquitaire dans notre environnement. Il peut provenir aussi bien de la contamination naturelle de la nappe phréatique souterraine que des activités industrielles. La toxicité de l'arsenic est assez bien documentée. Bien que faiblement mutagène, cet élément est connu comme étant un polluant cancérigène. Il peut en effet être à l'origine de divers cancers chez l'Homme (peau, poumons et vessie) (1). L'exposition à l'arsenic est souvent associée à d'autres éléments inorganiques, organométalliques ou organiques. Cette exposition concomitante nécessite, pour les évaluateurs, une meilleure connaissance des interactions et des effets réciproques potentiels entre ces différents contaminants. Cette note décrit trois études qui ont exploré les effets de l'exposition simultanée à l'arsenic et certains éléments minéraux (cadmium et fluor) ainsi que les effets liés à l'exposition concomitante de l'élément avec un composé de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques : le benzo(a)pyrène.

L'exposition simultanée au trioxyde d'arsenic potentialise la génotoxicité du benzo(a)pyrène par augmentation du stress oxydatif au niveau de cellules humaines d'adénocarcinome pulmonaire

Chen C, Jiang X, Ren Y, Zhang Z. Arsenic trioxide co-exposure potentiates benzo(a)pyrene genotoxicity by enhancing the oxidative stress in human lung adenocarcinoma Cell. *Biol Trace Elem Res* 2013; 156:338-349.

Résumé

Le trioxyde d'arsenic (As_2O_3) et le benzo(a)pyrène (BaP) sont des produits cancérigènes avérés. Les études existantes sont cependant controversées quant aux effets de synergie ou d'antagonisme entre les deux composés. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets réciproques du As_2O_3 et du BaP sur une lignée de cellules humaines d'adénocarcinome pulmonaire (A 549). Les cellules étaient traitées avec As_2O_3 et/ou BaP à trois niveaux de concentrations (respectivement 1, 5 et 10 μM et 5, 10 et 20 μM). Les auteurs rapportent une diminution significative de la viabilité cellulaire et de la formation de colonies en présence des deux composés par rapport à celle trouvée en présence de l'un ou l'autre des deux composés, indiquant un effet cytotoxique potentialisé par la co-exposition, aussi bien à court qu'à long terme sur les cellules A549. Le test des micronoyaux³ et des comètes⁴ ont également révélé une potentialisation de l'effet génotoxique. L'étude des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS^5) suggère que ces potentialisations des effets cytotoxiques et génotoxiques et, par conséquent, de l'effet cancérigène seraient essentiellement dues à l'augmentation de la concentration

cellulaire en ROS^5 , ainsi qu'à la diminution de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD^6) et de la concentration en glutathion (GSH^7).

Commentaire

Plusieurs études ont montré que l'arsénite de sodium ($AsNaO_2^8$) potentialise l'instabilité génomique induite par les composés cancérigènes avérés dont le BaP. L'effet de l'exposition à l'autre forme inorganique de l'arsenic trivalent, As_2O_3 , a été peu étudié. Une étude a même révélé que cette forme de l'arsenic avait des propriétés anti-cancérigènes à des concentrations variant entre 0,5 et 5 μM (2). De même, des résultats contradictoires ont été rapportés sur les effets de l'exposition simultanée à As_2O_3 et au BaP. Le mécanisme d'interaction entre les deux composés demeure non élucidé.

Cette étude de Chen *et al.* a mis en évidence une potentialisation des effets cytotoxique et génotoxique du BaP induite par le As_2O_3 (aux concentrations de 5 et 10 μM) et suggère que cette potentialisation se ferait via l'augmentation des ROS^5 , la réduction de la concentration intracellulaire en GSH^7 et la baisse de l'activité de la SOD^6 . Cependant, la synergie des effets rapportée par les auteurs reste à démontrer par l'étude de la relation dose-réponse, en employant plusieurs concentrations, afin de permettre une analyse statistique correcte.

On note également, que la détermination des concentrations en ROS^5 a été réalisée en utilisant la sonde fluorescente DCFH-DA⁹. Ce test n'est pas spécifique à des formes particulières de composés oxygénés, mais il rend compte du stress oxydatif d'une manière générale (3). Des techniques comme la résonance

paramagnétique électronique permettraient de mieux élucider le mécanisme de stress oxydatif potentiellement induit par les polluants.

Probable implication de l'arsenic dans la toxicité osseuse induite par le fluor à travers la voie de signalisation PTH/PKA/AP1

Zeng QB, Xu YY, Yu X, Yang J, Hong F, Zhang AH. Arsenic may be involved in fluoride-induced bone toxicity through PTH/PKA/AP1 signaling pathway. *Environ Toxicol Pharmacol* 2014; 37:228-233.

Résumé

Cette étude cas-témoin avait pour objectif d'étudier l'influence de l'exposition à l'arsenic (As¹⁰) sur la toxicité osseuse du fluor (F¹¹). L'étude a concerné deux groupes de sujets résidant dans une zone exposée au fluor et à l'arsenic. Le premier groupe est constitué de cent-trente personnes présentant des concentrations urinaires en As et/ou F supérieures aux valeurs limites de l'ACGIH¹², considérés comme valeurs de référence. Ce groupe est lui-même subdivisé en deux sous groupes d'individus, faiblement exposés (concentrations inférieures à deux fois les valeurs limites), et fortement exposés (concentrations supérieures à deux fois les valeurs limites). Le second groupe était constitué de soixante-trois personnes présentant un bilan normal. L'expression des gènes de l'hormone parathyroïdienne (PTH¹³), de la protéine kinase A (PKA¹⁴) et du facteur de transcription AP1¹⁵ a été étudiée chez les différents groupes d'individus. Les résultats de l'étude ont montré que le fluor augmentait le niveau d'expression de ces trois gènes, alors que l'arsenic n'affectait que l'expression de AP1¹⁵, qui joue un rôle important dans le développement osseux. L'expression de l'ARN_m du gène *c-fos*¹⁶ faisant partie de la famille AP1¹⁵, indirectement impliquée dans la toxicité osseuse du fluor, a été trouvée affectée par la co-exposition à l'arsenic.

Commentaire

Cette étude présente l'avantage de mettre en évidence l'implication de la voie signalétique PTH/PKA/AP1 dans la toxicité osseuse du fluor. Le minéral peut en effet stimuler la sécrétion de PTH¹³. Il en résulte une activation de la PKA¹⁴ qui va, à son tour, activer la production de AP1¹⁵, qui joue un rôle important dans la prolifération des cellules osseuses. Les résultats suggèrent que la co-exposition à l'arsenic pourrait affecter cette toxicité à travers l'augmentation de l'expression des gènes du facteur de transcription AP1, indirectement impliqué dans cette toxicité. Cependant, les groupes de sujets contrôles/exposés ont été constitués par rapport à la concentration urinaire en fluor et en arsenic en référence aux indices biologiques d'exposition en milieu professionnel de l'ACGIH. Or, bien que les indices établis par l'ACGIH soient parmi les plus « sévères », ils sont destinés à la protection des travailleurs qui appartiennent à la tranche d'âge de la population active (alors que près de 38 % de la population étudiée a moins de trente-cinq ans ou plus de soixante-cinq ans) et qui disposent de moyens de protection. Les valeurs destinées

à la protection de la population générale sont beaucoup plus basses. Egalement, le nombre de personnes constituant le groupe témoin est relativement faible. Un groupe témoin plus important (au moins cent-vingt personnes) aurait permis une meilleure interprétation statistique des résultats.

Evaluation des interactions entre les effets des métaux chez des mammifères par une approche combinée métallomique et métabolomique : Application aux souris *Mus musculus* co-exposées au cadmium et à l'arsenic.

García-Sevillano MA, García-Barrera T, Navarro-Roldán F, Montero-Lobato Z, Gómez-Ariza JL. A combination of metallomics and metabolomics studies to evaluate the effects of metal interactions in mammals. Application to *Mus musculus* mice under arsenic/cadmium exposure. *J Proteomics* 2014; pii: S1874-3919(14)00060-8. doi: 10.1016/j.jprot.2014.02.011.

Résumé

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les interactions entre les effets liés à l'exposition simultanée de souris de laboratoire au cadmium et à l'arsenic. Afin de mieux comprendre ces effets, des études métallomique¹⁷ et métabolomique combinées, complétées par un examen histopathologique¹⁸ ont été appliquées à un échantillon de 64 souris, réparties en quatre groupes de même taille: un groupe témoin, un groupe exposé à l'arsenic, un groupe exposé au cadmium et un groupe exposé aux deux éléments. Chaque groupe était divisé en deux sous-groupes, dont le premier sacrifié au sixième jour d'exposition et le deuxième après douze jours.

L'étude métallomique¹⁷, réalisée par des techniques dérivées de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP/MS¹⁹), a montré une baisse de la concentration des deux éléments dans le sang des souris co-exposées par rapport aux souris mono-exposées. Par contre, au niveau des reins, les concentrations les plus élevées en As ont été obtenues pour les souris co-exposées, alors que l'accumulation la plus importante de Cd au niveau de l'extrait cytosolique des reins a été obtenue pour les souris traitées uniquement au Cd. Ces résultats, combinés à l'augmentation de la concentration en espèces arséniques de faibles poids moléculaires au niveau du foie après six jours d'exposition simultanée aux deux éléments, suggèrent que le processus de métabolisation de l'As en dérivés méthylés au niveau du foie serait intensifié par la présence de Cd.

Autre observation, l'effet sur les sélénoprotéines P. Le stockage et le transport du sélénium dans l'organisme sont assurés par des protéines appelées sélénoprotéines P (SeP²⁰). Le sélénium est connu essentiellement pour ses activités potentielles d'antioxydant plasmatique et « d'antidote » en cas d'empoisonnement par des métaux lourds (4-6). L'exposition au cadmium seul a engendré une interaction avec le sélénium donnant lieu à une baisse des SeP et par conséquent, de la quantité de sélénium distribué dans l'organisme. Cette diminution plasmatique de la concentration en SeP a été compensée en présence de l'As.

L'étude métabolomique réalisée par des techniques dérivées de la chromatographie en phase gazeuse couplées à la spectrométrie de masse (GC/MS²¹) a montré que le cadmium, en présence d'arsenic, a engendré une dégradation des phospholipides et une augmentation des acides gras et, par conséquent, une dégradation des membranes cellulaires. Ces résultats ont été confirmés par l'étude histopathologique qui a mis en évidence une hépatotoxicité plus sévère chez la population co-exposée que celle observée chez les groupes de souris mono-exposées.

Commentaire

Cette étude a mis en évidence l'importance d'approches combinées, associant les études métallomique et métabolomique aux examens cliniques, biochimiques et histopathologiques pour évaluer les effets et les interactions liés, respectivement, à l'exposition individuelle et/ou simultanée au cadmium et à l'arsenic au niveau des reins, du foie et du système sanguin des souris étudiées.

Cette démarche a également permis de mieux comprendre le comportement métabolique de certains composés jouant un rôle important au niveau des organes et d'expliquer les effets antagonistes ou de potentialisation liés à la co-exposition à ces métaux.

Dans cette étude, une dose unique a été administrée aux souris. Il aurait été intéressant de tester plusieurs doses des deux métaux afin d'explorer les effets sub-chroniques et/ou chroniques aux faibles doses et les relations dose/réponse dans le cas des expositions combinées en comparaison avec les expositions individuelles. Par ailleurs, une étude statistique des résultats aurait permis de mieux les interpréter et d'obtenir une information plus pertinente sur les effets combinés des deux éléments.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les résultats des trois articles analysés mettent en évidence des interactions entre les effets de l'arsenic et ceux d'autres composés minéraux ou organiques. Ces interactions concernent aussi bien les effets cytotoxiques et génotoxiques que la toxicité tissulaire. Ils mettent en exergue la nécessité de développer les études sur les multi-expositions pour une meilleure connaissance des mécanismes d'action et les interactions potentielles, permettant une évaluation rationnelle des risques liés à l'exposition concomitante à deux ou plusieurs polluants chimiques.

GENERAL CONCLUSION

The research results of the three analyzed papers, commented in this review, highlighted interactions between the toxic effects of arsenic and those of other inorganic or organic pollutants. Co-exposure affected cytotoxicity, genotoxicity and tissue toxicity. These studies highlight the great attention that should be devoted to combined exposure studies to identify potential interactions and mode of action, allowing a more effective risk assessment linked to co-exposure to two or more chemical pollutants.

Lexique

- (1) As₂O₃ : trioxyde d'arsenic, la plus toxique des formes oxydées de l'arsenic
- (2) BaP : benzo(a)pyrène, composé cancérigène de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques présent dans les combustibles fossiles et peut se former lors de la combustion incomplète. On le trouve dans diverses fumées : tabac, échappement des machines à moteurs thermiques,...
- (3) Test des micronoyaux : essai permettant d'évaluer l'intensité des dommages chromosomiques générés par des agents génotoxiques
- (4) Test des comètes : essai permettant de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique et indirectement lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN tel que l'apoptose
- (5) ROS : Reactive Oxygen Species ou dérivés réactifs de l'oxygène : espèces chimiques oxygénées telles que les radicaux libres, les ions oxygénés et les peroxydes dont l'élévation de la concentration témoigne du stress oxydant
- (6) SOD : Superoxyde Dismutase : enzyme de la famille des métalloprotéines jouant un rôle important dans la défense contre les radicaux libres
- (7) GSH : Glutathion : peptide intervenant dans un certain nombre de réaction de détoxification et d'élimination d'espèces réactives de l'oxygène
- (8) AsNaO₂ : Arsénite de sodium : substance active de produits phytosanitaires connue pour ses effets toxiques, notamment l'effet cancérigène
- (9) DCFH-DA : 2',7'-dichlorofluorescein diacetate, sonde fluorescente communément utilisée pour l'évaluation du stress oxydatif
- (10) As : arsenic : c'est l'un des éléments les plus largement répandus dans la croûte terrestre. L'homme peut être exposé à ce toxique à travers la nourriture, l'eau et l'air. L'exposition peut aussi se faire lors d'un contact de la peau avec un sol ou une eau contaminée
- (11) F : fluor : élément minéral largement utilisé dans les industries chimiques dans les synthèses organiques et

minérales : matières plastiques, PTFE, agents tensioactifs, acide fluorhydrique, etc. La population générale peut être exposée au fluor et aux dérivés fluorés essentiellement par les eaux de boissons contaminés naturellement ou par ajout (USA, Chine). L'exposition chronique aux dérivés fluorés peut être à l'origine d'une fluorose osseuse (masse osseuse accrue) dont la forme sévère peut se traduire par une calcification des ligaments et une immobilité.

- (12) ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists : association de droit privé créée en 1936 pour pallier à l'insuffisance des dispositions prises à l'époque par les pouvoirs publics pour la protection des travailleurs de l'industrie chimique. Elle établit des valeurs limites de concentrations de polluants dans l'air des lieux de travail et des indicateurs biologiques d'exposition correspondants
- (13) PTH : Parathyroid Hormone ou hormone parathyroïdienne : hormone qui joue un rôle-clé dans la régulation du métabolisme phospho-calcique.
- (14) PKA : Protéine Kinase A : enzyme de phosphorylation de protéines dont les facteurs de transcription stimulant ainsi l'expression des gènes
- (15) AP1 : Activator Protein 1 ou facteur de transcription AP1 : protéine impliquée dans la prolifération et la survie cellulaire et qui régule l'expression des gènes en réponse à divers stimuli. Elle joue un rôle important dans le développement osseux.
- (16) c-Fos : protéine de la famille des AP1 qui figure parmi les premiers facteurs de transcription synthétisés lors de la division cellulaire
- (17) Etude métallomique : étude de la distribution des métaux dans les compartiments cellulaires
- (18) Etude histopathologique : Examen microscopique des lésions tissulaires et organiques
- (19) ICP/MS : Inductive coupled plasma-mass spectrometry ou spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif : technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse
- (20) SeP : Sélénoprotéine P : protéine de transport contribuant à la détoxification et l'élimination des éléments minéraux.
- (21) GC/MS : gaz chromatography-mass spectrometry ou spectrométrie de masse couplée à la chromatographie gazeuse : technique permettant la séparation et l'identification des composés en mélange et leur quantification avec une grande sensibilité analytique

Publications de référence

- (1) **Kitchin KT.** Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;**172**:249-61.
- (2) **Cui X, Kobayashi Y, Akashi M, Okayasu R.** Metabolism and the paradoxical effects of arsenic: carcinogenesis and anticancer. *Curr Med Chem* 2008;**15**:2293-304.

- (3) **Rota C, Fann YC, Mason RP.** Phenoxy free radical formation during the oxidation of the fluorescent dye 2',7'-dichlorofluorescein by horseradish peroxidase. Possible consequences for oxidative stress measurements. *J Biol Chem* 1999;**274**: 28161-8.
- (4) **Arteel GE, Mostert V, Oubrahim H.** Protection by selenoprotein P in human plasma against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration. *Biol Chem* 1998;**379**:1201-1205.
- (5) **Fujii M, Saijoh K, Kobayashi T.** Analysis of bovine selenoprotein P-like protein gene and availability of metal responsive element (MRE) located in its promoter. *Gene* 1997;**199**:211-217.
- (6) **Steinbrenner H, Alili L, Bilgic E.** Involvement of selenoprotein P in protection of human astrocytes from oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 2006;**40**:1513-1523.

Autres publications identifiées

Estrada-Capetillo BL, Ortiz-Pérez MD, Salgado-Bustamante M, et al. Arsenic and fluoride co-exposure affects the expression of apoptotic and inflammatory genes and proteins in mononuclear cells from children. *Mutat Res* 2014;**761**:27-34. doi: 10.1016/j.mrgentox.2014.01.006. Epub 2014 Jan 21.

Cette étude a exploré les effets de l'exposition simultanée à l'arsenic et au fluor sur l'expression génétique liée aux processus apoptotique et inflammatoire chez 72 enfants âgés de 6 à 12 ans chroniquement exposés aux deux éléments. Les auteurs rapportent qu'aux fortes concentrations de fluor et d'arsenic, une altération du profil d'expression de la chaîne α du récepteur de l'interleukine 2 (CD25) et du récepteur CD40 aussi bien au niveau génétique que protéique traduisant une probable baisse de la réponse immunitaire chez les enfants exposés à ces éléments.

Ovesen JL, Fan Y, Chen J et al. Long-term exposure to low-concentrations of Cr(VI) induce DNA damage and disrupt the transcriptional response to benzo[a]pyrene. *Toxicology* 2014;**316**:14-24.

Dans ce travail, les auteurs ont montré que l'exposition chronique à de faibles concentrations de chrome hexavalent (0,1/0,5 μ M) engendrait une augmentation de l'altération de l'ADN et de l'apoptose, ainsi que la diminution du pouvoir cologénique des cellules d'hépatome de souris induites par l'exposition au benzo(a) pyrène. Les auteurs rapportent également un accroissement de l'expression de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN.

Ojha A, Srivastava N. In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res* 2014;**761**:10-7.

Les pesticides organophosphorés sont largement utilisés, aussi bien en milieu agricole qu'en milieu urbain. Pour plus d'efficacité, ces produits sont le plus souvent utilisés en mélange. Cette étude a mis en évidence une augmentation significative des cassures de brins d'ADN et des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) au niveau des lymphocytes du sang périphérique des rats Wistar étudiés en présence de Chlorpyrifos, methyl parathion et malathion individuellement ou en mélange. Cette augmentation de ROS

était plus importante dans le cas du mélange par rapport à l'effet individuel de chaque pesticide.

Pomierny B1, Starek A, Krzyżanowska W et al. Potential neurotoxic effect of ethylene glycol ethers mixtures. *Pharmacol Rep* 2013;**65**:1415-21.

Plusieurs études se sont intéressées aux effets neurotoxiques engendrés par l'exposition au 2-éthoxyéthanol et au 2-méthoxyéthanol. Cette étude est particulièrement intéressante parce qu'elle met en évidence l'effet combiné de ces deux éthers de glycol sur la réduction de la capacité totale anti-oxydante, sur l'augmentation de la peroxydation lipidique et l'augmentation de l'activité de la caspase-3 au niveau du cortex frontal et de l'hippocampe chez les rats wistar.

Fournier K, Glorennec P, Bonvallet N. An exposure-based framework for grouping pollutants for a cumulative risk assessment approach: Case study of indoor semi-volatile organic compounds. *Environ Res* 2014;**130**: 20-8.

Cet article décrit une méthodologie permettant d'évaluer d'une manière plus précise les risques liés à l'exposition simultanée à plusieurs polluants chimiques. Cette méthodologie en 3 étapes est basée sur l'identification des polluants, l'identification des effets et des mécanismes d'actions de ces polluants et enfin, le groupage des polluants par rapport à ces effets et aux modes d'action identifiés. Contrairement à la méthode classique, cette démarche permet de dériver une valeur toxicologique de référence d'un ensemble de polluants. La méthode a été mise en application en utilisant des valeurs réelles de concentrations de polluants semi-volatils mesurées dans l'air intérieur de logements français.

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 BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Agents biologiques

La leptospirose : zoonose d'importation, nouveaux réservoirs, et challenge du diagnostic

Période : décembre 2013 à mars 2014

Marie Thérèse Labro* et Jean-Marie Bryskier** | marie-therese.labro@inserm.fr

*Inserm – Pôle expertise collective. Hôpital Paul Brousse – Villejuif – France

**Université Paris Est-Créteil Val-de-Marne – DMV – Trappes – France

Mots clés : chat, leptospire, leptospirose, zoonose

La leptospirose, la deuxième zoonose la plus répandue dans le monde, devient un problème émergent en santé publique (1), avec plus de 1,7 million de cas sévères par an et une mortalité d'environ 8-10 %. Elle est causée par des bactéries appartenant au genre *Leptospira*, classées phénotypiquement en plus de vingt-neuf sérogroupes¹ et trois cents sérovars², et génétiquement en vingt espèces (2) dont neuf pathogènes. C'est une maladie vraisemblablement sous-estimée en Europe et en France (3,4). Le diagnostic clinique peut être difficile en raison du caractère protéiforme de la maladie (5,6), même dans les régions à forte endémie où le personnel médical est sensibilisé, ainsi que le souligne la première publication analysée. Le diagnostic repose sur la sérologie (test d'agglutination -MAT³) et l'identification des leptospires par PCR⁴ (7). Le diagnostic différentiel avec d'autres infections (zoonotiques ou non) est une étape importante. La seconde publication présente l'élaboration d'un modèle d'arbre décisionnel, proposé en Australie pour aider les médecins généralistes à identifier certaines zoonoses, dont la leptospirose. La connaissance de facteurs de risque d'exposition est un élément déterminant du diagnostic. En zone tempérée, les risques de transmission concernent essentiellement l'exposition à des eaux souillées par de l'urine de rat, reconnus comme les réservoirs principaux de leptospires, ce qui fait de la leptospirose une maladie professionnelle (égoutiers) ou d'activités aquatiques (baignades, kayaks, etc.) (4,8). Les inondations sont également reconnues comme facteurs de risque (9). Les voyages en zone d'endémie restent une cause peu fréquente, probablement sous-diagnostiquée (10-13). Le risque de transmission à partir du bétail est bien connu dans certains pays d'élevage (14). Les animaux de compagnie peuvent aussi être infectés donc héberger et transmettre des leptospires à l'homme. Le rôle des chats comme réservoir potentiel a été suspecté (15-17). Cette hypothèse est renforcée dans la dernière publication analysée.

Un cas exotique de leptospirose importée dans une région d'endémie

Goarant C, Colot J, Faelchlin E, Ponchet M, Soupé-Gilbert ME, Descloux E, Gourinat AC. An exotic case of leptospirosis imported into an endemic area. *Travel Med Infect Dis.* 2013 Dec 27. pii: S1477-8939(13)00219-6.

Résumé

Les auteurs présentent un cas de leptospirose liée au voyage, dans un pays où celle-ci est endémique et bien connue des médecins. Le tableau clinique initial (forte fièvre, lombalgies, nausées et vomissements) chez une jeune fille vivant à Nouméa et revenant de vacances à Bali, était peu spécifique. A son admission à l'Hôpital central, les examens complémentaires restaient peu évocateurs (CRP⁵ augmentée, hématurie⁶ sans leucocyturie⁷, tests négatifs pour le paludisme, la dengue et le chikungunya). Trente heures après son admission, une aggravation s'est produite (cytolyse hépatique⁸, cytopénie⁹), et malgré l'administration de ceftriaxone¹⁰, gentamicine¹⁰ et métronidazole¹⁰, un choc septique avec oligurie¹¹ a conduit à son admission dans l'unité de soins

intensifs. La PCR⁴ en temps réel à partir du sang a confirmé une leptospirose et le traitement antibiotique a été changé pour l'amoxicilline.

La souche infectante a été identifiée comme *Leptospira weilii*. Seules *Leptospira interrogans* et *L. borgpetersenii* sont présentes en Nouvelle-Calédonie. L'identification dans le sang de la patiente de *L. weilii* suggère une contamination acquise à l'étranger. Un entretien avec la patiente a révélé une promenade dans les rizières et un tour de rafting à Bali. La patiente a récupéré progressivement et est sortie après sept jours d'hospitalisation. L'antibiothérapie et le traitement hémodynamique¹² ont probablement évité l'évolution vers des complications plus graves. Le lien entre la présentation clinique particulière et la souche en cause n'est pas confirmé, mais des nausées, vomissements et dorsalgies ont été signalés dans 22 % à 39 % des cas de *L. weilii* en Australie.

Commentaire

En Nouvelle-Calédonie, la leptospirose a une incidence annuelle

élevée (20-80/100 000 habitants) et les médecins ont une bonne connaissance de cette maladie, à distribution plutôt rurale. Le diagnostic tardif dans le cas présenté, souligne la nécessité d'accroître la sensibilisation des médecins généralistes à la leptospirose et aux facteurs de risque d'exposition (notamment les voyages), même dans les pays à forte endémie et possédant une bonne connaissance médicale de la maladie. Cette recommandation est d'autant plus critique dans les pays où l'incidence est considérée comme faible, notamment en France métropolitaine, (incidence moyenne estimée pour l'année 2012 de 0,56/100 000), avec une grande disparité régionale (18), la Franche-Comté présentant l'incidence la plus élevée (2,23 /100 000).

Diagnostic et gestion des zoonoses- Un outil pour le médecin généraliste

Gunaratnam P, Massey PD, Eastwood K, Durrhein D, Graves S, Cootte D, Fisher L. Diagnosis and management of zoonoses - A tool for general practice. *Aust Fam. Physician*. 2014 Mar; 43:124-8.

Résumé

En Australie, les zoonoses à déclaration obligatoire comprennent la brucellose, la leptospirose et la fièvre Q. En 2010, il y a eu 323 cas de fièvre Q rapportés, 131 de leptospirose et 21 de brucellose. Le « Hunter New England Health (HNEH) » (une organisation de santé australienne) et un groupe de médecins généralistes ont entrepris l'élaboration d'un algorithme pour aider à diagnostiquer ces maladies et apporter rapidement un traitement efficace. Ceci a nécessité quatre étapes : une étude de la littérature pour comprendre les facteurs de risque, la présentation clinique, les complications, le diagnostic et les protocoles de traitement ; des entrevues semi-structurées auprès de cinq médecins généralistes en milieu rural; une consultation de biologistes et d'infectiologues pour les diagnostics différentiels des présentations non spécifiques et les coûts de laboratoire ; enfin, le projet a été utilisé pour obtenir le feedback des médecins généralistes et infectiologues sur son application et les améliorations possibles. Tous les cliniciens impliqués dans le projet ont convenu qu'un tel outil est utile, et doit être concis et disponible en format électronique et papier. Des liens vers des informations supplémentaires ont été inclus, y compris les lignes directrices de l'utilisation des antibiotiques, des fiches d'information, ainsi que les coordonnées des services de santé publique.

Commentaire

Il s'agit d'une approche visant à aider les généralistes, peu informés sur certaines zoonoses. Cet outil n'est pas conçu comme une ressource exhaustive, mais plutôt pour attirer l'attention sur les éléments les plus importants de diagnostic et de traitement. Ce cas particulier (l'Australie), avec ses zoonoses propres, pourrait être étendu à d'autres pays, dont la France (métropole et DOM-TOM), où le contexte et les pathologies, zoonotiques ou non, sont différents. Des modèles prédictifs ont

été également proposés pour distinguer leptospirose et dengue (19), car épidémies concomitantes et co-infections ne sont pas rares et peuvent compliquer le diagnostic (20). L'article précédent illustre l'intérêt d'une telle démarche pour favoriser la prise de décision thérapeutique dans les cas où le tableau clinique reste peu évocateur.

Enquête sérologique et PCR urinaire de la leptospirose chez les chats en bonne santé et chez les chats atteints d'insuffisance rénale

Rodriguez J, Blais MC, Lapointe C, Arsenault J, Carioto L, Harel J. Serologic and Urinary PCR Survey of Leptospirosis in Healthy Cats and in Cats with Kidney Disease. *J Vet Intern Med*. 2014 Jan 13. doi: 10.1111/jvim.12287.

Résumé

Le but de cette étude canadienne était de comparer la séropositivité et l'élimination urinaire de leptospires chez des chats sains (S) et des chats atteints de maladie rénale aiguë ou chronique (R), et de déterminer les facteurs de risque.

L'étude a porté sur 240 chats (125 S et 115 R) appartenant à 194 ménages. La sérologie a été effectuée par le test MAT³ avec *L. interrogans* sérotypes Pomona, Canicola, Hardjo, Icterohaemorrhagiae et Bratislava, et *L. kirshneri* sérovar Grippotyphosa. Les facteurs de risque potentiels recueillis au moyen d'un questionnaire ont été analysés par régression logistique et modélisés.

Les chats R sont significativement plus séropositifs (14,9 %) que les chats S (7,2 %). Les titres les plus élevés sont retrouvés pour les sérotypes Pomona (16 cas), Bratislava (8), et Grippotyphosa (1). Les titres, souvent extrêmement élevés, pourraient témoigner d'une infection récente ou active, ou d'une réinfection, mais le suivi sérologique n'a pu être effectué. L'élimination urinaire testée par PCR⁴ n'est pas significativement différente pour les chats R (5,3 %) et les chats S (1,6 %). Le mode de vie (chasse), la présence d'un autre chat dans le ménage, les mois de Juin-Août représentent des facteurs de risque significatifs. L'âge ne semble pas être un facteur de confusion.

Commentaire

Plusieurs études ont estimé chez le chat la séroprévalence de la leptospirose entre 4,8 % et 35 % (22), en fonction de la situation géographique et des méthodes de diagnostic, mais il existe peu d'information sur la leptospirose féline et sa signification clinique. Une relation statistique entre l'existence de polyurie³ et polydipsie⁴, et la séropositivité pour *Leptospira* a été démontrée (22). Les résultats de Rodriguez suggèrent que la leptospirose pourrait être une cause sous-diagnostiquée de maladie rénale chez les chats, et que le rôle des chats dans la transmission de cette zoonose pourrait être sous-estimé. Selon une étude du Center for Disease Control menée entre 1964 et 1975 aux Etats-Unis, les chats seraient à l'origine de 0,5 % des cas de contaminations humaines (23).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Du fait de son polymorphisme clinique, d'un défaut de système de surveillance et d'un manque de tests de diagnostic rapides et simples à réaliser, la leptospirose reste une maladie négligée, en particulier dans les pays où la perception du risque est faible (24-27). En France, ce n'est plus une maladie à déclaration obligatoire depuis 1987. La littérature récente montre que les tableaux cliniques peu évocateurs peuvent retarder le diagnostic, avec un risque non négligeable de conséquences sévères pour les patients. Une information des médecins sur les aspects cliniques de cette zoonose et une surveillance épidémiologique renforcée pourraient être justifiées, quand on connaît la gravité potentielle de la maladie et la simplicité du traitement antibiotique. Cette surveillance pourrait être renforcée dans certaines conditions climatiques: en effet la survenue de fortes pluies ou d'inondations est reconnue comme facteur favorisant son émergence non seulement dans les zones tropicales (1, 28-30) mais également en Europe (9,31). La création d'un laboratoire de référence vétérinaire, partenaire du Centre national de référence humain de l'Institut Pasteur, déjà recommandé par l'Anses (32), devrait permettre une veille et un suivi éco-épidémiologique de cette zoonose, au niveau notamment des animaux domestiques. Le récent rapport du « Global Leptospirosis Environmental Action Network » (GLEAN) (33), un consortium international, multidisciplinaire et multisectoriel créé en 2010 pour amplifier les connaissances sur cette maladie, envisage la vaccination des animaux comme option pour le contrôle de la leptospirose humaine, si les sérotypes prédominants retrouvés dans les cas humains sont peu nombreux et liés aux espèces domestiques. Le rôle des chats porteurs sains comme source de contamination et la pathogénicité de leptospires pour les chats sont sous-estimés. De même, le rôle des tiques (34) dans la transmission de la maladie au bétail, aux animaux de compagnie, voire à l'homme devrait être approfondi et, de toute évidence, la protection des chats et chiens recommandée. La recherche d'un vaccin pour les chats de compagnie pourrait devenir prochainement une option de recherche.

GENERAL CONCLUSION

Due to its clinical polymorphism, a defective monitoring system and a lack of tests easy to perform, leptospirosis remains a neglected disease, especially in countries where the perception of risk is low. In France, it is not a notifiable disease since 1987. Information of physicians on the clinical aspects of this zoonosis and enhanced epidemiological surveillance may be justified under certain climatic conditions since the occurrence of heavy rains or flooding is recognized as a factor promoting its emergence, not only in the tropical countries but also in Europe.

The creation of a veterinary reference laboratory, partner of the National Centre Reference of the Pasteur institute, should allow monitoring of this zoonosis.

The recent report of the "Global Leptospirosis Environmental Action Network" (GLEAN), an international, multidisciplinary consortium created in 2010 to develop knowledge about the disease, considers animal vaccination as an option for the control of human leptospirosis if serotypes predominant found in human cases are few, and related to domestic species.

The role of healthy cats as a source of contamination and the pathogenicity of leptospires for cats are underestimated. Similarly, the role of ticks in the transmission of the disease to livestock, pets and even humans, should be investigated and, obviously, the protection of cats and dogs recommended. The search for a vaccine for cats could soon become a research option.

Lexique

- (1) Sérotype : groupe de bactéries appartenant à divers sérotypes, mais possédant en commun un facteur caractéristique du sérotype
- (2) Sérovar (ou sérotype) : caractéristique antigénique permettant d'identifier une bactérie par des tests sérologiques
- (3) MAT : le test de microagglutination est la technique de référence pour le titrage des anticorps sériques et la détermination du sérotype de la souche infectante
- (4) PCR : pour « polymerase chain reaction ». Amplification en chaîne par polymérase ou réaction en chaîne par polymérase : détection de l'ADN du genre *Leptospira* par amplification génique
- (5) CRP (*C-reactive protein*) : la protéine C réactive est une protéine dont le taux sanguin augmente en cas d'inflammation
- (6) Hématurie : présence de sang dans les urines
- (7) Leucocyturie : présence de leucocytes (globules blancs) dans les urines.
- (8) Cytolyse hépatique : destruction progressive des cellules du foie

- (9) Cytopénie : déficit quantitatif d'une ou plusieurs lignées de cellules sanguines (polynucléaires, lymphocytes, globules rouges, plaquettes)
- (10) Ceftriaxone, gentamicine métronidazole : antibiotiques
- (9) Oligurie : diminution du volume des urines
- (10) Traitement hémodynamique : traitement ayant pour but la correction des désordres circulatoires ayant des répercussions globales et locales sur le système cardio-vasculaire
- (11) Polyurie : symptôme (ou maladie) caractérisée par des urines abondantes
- (12) Polydipsie : symptôme caractérisée par une soif excessive avec augmentation de l'absorption de liquide

Publications de référence

- (1) **Schneider MC, Jancloes M, Buss DF, et al.** Leptospirosis: a silent epidemic disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2013 Dec 16;10:7229-34.
- (2) **Smythe L, Adler B, Hartskeerl RA, et al; International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomy of Leptospiraceae.** Classification of *Leptospira* genomospecies 1, 3, 4 and 5 as *Leptospira alstonii* sp. nov., *Leptospira vanthielii* sp. nov., *Leptospira terpstrae* sp. nov. and *Leptospira yanagawae* sp. nov., respectively. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013 May; 63(Pt 5):1859-62
- (3) **European Centre for Disease Prevention and Control.** Annual Epidemiological Report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2013.
- (4) **Dupouey J, Faucher B, Edouard S, et al.** Human leptospirosis: An emerging risk in Europe? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2014 Mar; 37(2):77-83.
- (5) **K M, R K, D V L, G R, K R.** Hypokalemic quadriparesis: an unusual manifestation of leptospirosis. *J Clin Diagn Res*. 2014 Jan;8:172-3
- (6) **Kozielewicz D, Karwowska K, Halota W.** [Leptospirosis--disease with many faces]. *Pol Merkur Lekarski*. 2013 Nov;35:279-82
- (7) **Picardeau M.** Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med Mal Infect*. 2013 Jan;43:1-9.
- (8) **Wasiński B, Dutkiewicz J.** Leptospirosis--current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann Agric Environ Med*. 2013;20:239-44
- (9) **WHO** Climate change and human health risks and responses 2003 A.J. McMichael, D.H. Campbell-Lendrum, C.F. Corvalán, K.L. Ebi, A.K. Githeko, J.D. Scheraga, A. Woodward (Eds). Available online: <http://www.who.int/globalchange/publications/climchange.pdf>
- (10) **van de Werve C, Perignon A, Jauréguiberry S, et al** Travel-related leptospirosis: a series of 15 imported cases. *J Travel Med*. 2013 Jul-Aug;20:228-31. doi: 10.1111/jtm.12035.
- (11) **Hall C, Lambourne J.** The challenges of diagnosing leptospirosis. *J Travel Med*. 2014 Mar;21(2):139-40. doi: 10.1111/jtm.12095_1.
- (12) **Burchard G.** [Fever in returning travelers]. *Internist (Berl)*. 2014 Mar;55:274-80. doi: 10.1007/s00108-013-3366-9.
- (13) **Calvo-Cano A, Aldasoro E, Ramirez M, et al** Two cases of laboratory-confirmed leptospirosis in travellers returning to Spain from Thailand, September 2013. *Euro Surveill* 2014;19:pii20675.
- (14) **Dreyfus A, Benschop J, Collins-Emerson J, et al** Sero-prevalence and risk factors for leptospirosis in abattoir workers in New Zealand. *Int J Environ Res Public Health* 2014;11:1756-75.
- (15) **André-Fontaine G.** Canine leptospirosis – Do we have a problem? *Vet Microbiol*. 2006; 117: 19–24.
- (16) **CChan KW, Hsu YH, Hu WL, et al** Serological and PCR detection of feline leptospira in southern Taiwan. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014;14:118-23.
- (17) **Hartmann K, Egberink H, Pennisi MG, et al** *Leptospira* species infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg*. 2013 Jul;15:576-81
- (18) <http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/015-00004r-004/ra2012cnrleptosshortv.pdf>
- (19) **Varma MD, Vengalil S, Vallabhajosyula S, et al.** Leptospirosis and dengue fever: a predictive model for early differentiation based on clinical and biochemical parameters. *Trop Doct* 2013;44:100-2
- (20) **Lau CL, DePasquale JM.** Leptospirosis, diagnostic challenges, American Samoa. *Emerg Infect Dis*. 2012; 18:2079-81.
- (21) **Markovich JE, Ross L, McCobb E.** The prevalence of leptospiral antibodies in free roaming cats in Worcester County, Massachusetts. *J Vet Intern Med*. 2012 May-Jun;26:688-9.
- (22) **Luciani O.** Réceptivité et sensibilité du chat aux leptospires. Thèse Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes; 2004 http://kentika.onirisanantes.fr/GEIDFile/na_04_144.pdf?Archive=193026891120&File=na_04_144_pdf
- (23) **Kaufmann AF.** Epidemiologic trends of leptospirosis in the United States, 1965 1974. In R.C. Johnson [ed.]. The biology of parasitic spirochetes. Academic Press, New York, 1976, p. 177-189.
- (24) **Windpessl M, Prammer W, Nömeier R, et al.** Leptospirosis and renal failure: a case series. *Wien Klin Wochenschr*. 2014 Feb 5
- (25) **Estavoyer JM, Chirouze C, Faucher JF, et al.** Leptospirosis in Franche-Comté (France): clinical, biological, and therapeutic data. *Med Mal Infect*. 2013;43:379-85.
- (26) **Socolovschi C, Angelakis E, Renvoisé A et al.** Strikes, flooding, rats, and leptospirosis in Marseille, France. *Int J Infect Dis*. 2011 Oct;15:e710-5.
- (27) **Assez N, Mauriau-court P, Cuny J, et al.** Ictère fébrile. . . et si c'était une leptospirose. A propos d'un cas de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae dans le Nord de la France *Ann Fr Anesth Reanim*. 2013;32:439-43.
- (28) **Agampodi SB, Dahanayaka NJ, Bandaranayaka AK, et al** Regional differences of leptospirosis in Sri Lanka: observations from a flood-associated outbreak in 2011. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e2626.

- (29) Wang YL, Qin JH, Zhang CC, *et al.* An outbreak of leptospirosis in lezhi county, china in 2010 may possibly be linked to rainfall. *Biomed Environ Sci* 2014;**27**:56-9
- (30) Mendoza MT, Roxas EA, Ginete JK, *et al.* Clinical profile of patients diagnosed with leptospirosis after a typhoon: a multicenter study. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2013;**44**:1021-35.
- (31) Dufour B, Moutou F, Hattenberger AM, *et al.* Changements globaux : impact, gestion, approche du risque et mesures de santé – le cas de l'Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2008, **27**, 529-540
- (32) <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/SANT-Ra-Rechauffementclimatique.pdf>
- (33) <http://www.glean-lepto.org>
- (34) Wójcik-Fatla A, Zajc V, Cisak E, *et al.* Leptospirosis as a tick-borne disease? Detection of *Leptospira* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2012;**19**:656-9

Revue de la littérature

- Site Institut Pasteur <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/>
- Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. World Health Organization 2003
http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf
- Seguro AC, Andrade L. Pathophysiology of leptospirosis. *Shock*. 2013 May;**39** Suppl 1:17-23.
- Picardeau M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med Mal Infect.* 2013 Jan;**43**:1-9.
- Himsworth CG, Parsons KL, Jardine C, *et al.* Rats, cities, people, and pathogens: a systematic review and narrative synthesis of literature regarding the ecology of rat-associated zoonoses in urban centers. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013 Jun;**13**:349-59.
- Guerra MA. Leptospirosis: public health perspectives. *Biologicals.* 2013 Sep; **41**: 295-7.
- Picardeau M, Bertherat E, Jancloes M, Skouloudis AN, Durski K, Hartskeerl RA. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014 Jan;**78**:1-8
- Dupouey J, Faucher B, Edouard S, *et al.* Human leptospirosis: An emerging risk in Europe? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013 Dec 17. pii: S0147-9571(13)00096-9.
- Chirathaworn C, Kongpan S. Immune responses to *Leptospira* infection: roles as biomarkers for disease severity. *Braz J Infect Dis.* 2014 Jan-Feb;**18**:77-81
- Budihal SV, Perwez K. Leptospirosis diagnosis: competency of various laboratory tests. *J Clin Diagn Res.* 2014 Jan;**8**:199-202.
- Goris MG, Hartskeerl RA. Leptospirosis serodiagnosis by the microscopic agglutination test. *Curr Protoc Microbiol.* 2014 **32**:12E.5.1-12E.5.18

Autres publications identifiées

Bertherat E, Mueller MJ, Shako JC, *et al.* Discovery of a leptospirosis cluster amidst a pneumonic plague outbreak in a miners' camp in the democratic republic of the Congo. *Int J Environ Res Public Health.* 2014 Feb 7;**11**:1824-33

La leptospirose et la peste peuvent causer de sévères manifestations pulmonaires. En décembre 2004, un épisode de pneumonie sévère est survenu dans un camp de mineurs au Congo, touchant cent trente personnes dont cinquante-sept sont morts. Parmi les cinquante-quatre patients testés pour la leptospirose, vingt-neuf étaient séropositifs, et deux patients présentaient les deux maladies.

Biggs HM, Hertz JT, Munishi OM, *et al.* Estimating leptospirosis incidence using hospital-based surveillance and a population-based health care utilization survey in Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013 Dec 5;**7**:e2589.

Il existe peu de données de prévalence de la leptospirose en Afrique. D'après les cas hospitalisés, ce rapport estime l'incidence dans deux régions de Tanzanie entre 75 et 102/100 000, ce qui est vraisemblablement sous-estimé et n'est pas généralisable à l'ensemble de la Tanzanie ou de l'Afrique.

Conroy AL, Gélvez M, Hawkes M, *et al.* Host biomarkers distinguish dengue from leptospirosis in Colombia: a case-control study. *BMC Infect Dis.* 2014;**14**:35.

Présentation de 9 biomarqueurs permettant de distinguer la leptospirose de la dengue, 2 maladies qui ont des tableaux cliniques similaires et une distribution géographique qui se chevauche

Garvey P, Connell J, O'Flanagan D, *et al.* Leptospirosis in Ireland: annual incidence and exposures associated with infection. *Epidemiol Infect.* 2014;**142**:847-55.

Présentation de l'incidence en Irlande sur la période 1995-2009 (0,56/1000 000 en 2009 - une des plus fortes de l'Europe ; mortalité environ 2%). Les sources d'expositions sont principalement le contact avec le bétail et les sports aquatiques.

Caimano MJ, Sivasankaran SK, Allard A, *et al.* A Model System for Studying the Transcriptomic and Physiological Changes Associated with Mammalian Host-Adaptation by *Leptospira interrogans* Serovar Copenhageni. *PLoS Pathog.* 2014;**10**:e1004004.

Les auteurs mettent en évidence les aspects physiologiques de l'adaptation des leptospires à leur hôte. Ils ont également identifié onze nouveaux transcrits non codants, qui sont de potentiels petits ARN régulateurs. Le modèle utilisé permet d'étudier les changements transcriptionnels et antigéniques associés à l'adaptation aux mammifères hôtes, la sélection de cibles pour la mutagenèse, et d'identifier des facteurs de virulence non connus.

Gancheva G, Karcheva M. Icterohaemorrhagic leptospirosis in patients with history of alcohol abuse - report of two cases. *Turk J Gastroenterol.* 2013;**24**:549-55

La toxicité liée à l'alcool et l'hépatite alcoolique peuvent parfois produire des syndromes cliniques similaires à la leptospirose et causer des difficultés diagnostiques et thérapeutiques

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent:

- n'avoir aucun conflit d'intérêts;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Evaluation des mycotoxines et leurs métabolites dans les fluides biologiques comme biomarqueurs d'exposition

Période : décembre 2013 à mars 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. Ecole nationale supérieure agronomique de Toulouse – Auzeville-Tolosane – France

Mots clés : biomarqueur, évaluation du risque, exposition, lait, mycotoxine, urine

Les mycotoxines¹ sont des métabolites² secondaires, produits par les moisissures envahissant les végétaux avant ou après récolte (1,2). Elles peuvent aussi se retrouver dans les poussières et être inhalées (3-8). L'homme et les animaux sont quotidiennement exposés à des mélanges de mycotoxines, lors de la consommation des produits contaminés, ainsi que lors d'exposition professionnelle par inhalation. Les mycotoxines les plus préoccupantes sont les aflatoxines (AF), l'ochratoxine A (OTA), les fumonisines (FB), les trichothécènes, la zéaralénone (ZEA). Elles sont responsables d'hépatotoxicité, néphrotoxicité, immunotoxicité, reprotoxicité et cancers (1). Dans le cadre d'études épidémiologiques ou de la mise en place de systèmes d'intervention pour limiter les risques, l'évaluation de l'exposition à ces substances est primordiale. En général, lors d'apparition d'effets chroniques suspectés provenir de contaminants alimentaires comme les mycotoxines, il n'est pas possible d'avoir des données quant à la présence des mycotoxines dans les aliments qui auraient pu être consommés plusieurs jours, voire plusieurs mois plus tôt. L'exposition est estimée à partir d'analyses de mycotoxines dans divers aliments, croisées avec les réponses à des questionnaires sur les habitudes alimentaires. Le fait de pouvoir estimer avec précision l'imprégnation de l'organisme par la mesure des biomarqueurs³ dans l'urine (9-12) est un atout précieux, notamment pour définir les doses journalières tolérables (DJT⁴). Les études *in vivo* ont montré une bonne corrélation entre la quantité de désoxynivaléol (DON), OTA, ZEA, FB et AFB₁ administrés à des porcelets et le taux de biomarqueurs spécifiques, excrétés 24h après l'administration (9). Les biomarqueurs³ analysés dans l'urine sont les métabolites² d'excrétion des mycotoxines : l'AFM₁ reflétant l'exposition à l'AF, la ZEA et ses métabolites (α -zéaraléol (α -ZOL), β zéaraléol (β -ZOL), le glu-ZEA (dérivé conjugué de la ZEA à l'acide glucuronique), le DON et son métabolite dé-époxy (DOM-1), l'OTA et la FB. Dans la première publication, la mesure des biomarqueurs³ urinaires de plusieurs mycotoxines a permis l'estimation de l'exposition en tenant compte de la toxicocinétique⁵ chez le porc. La deuxième publication, en plus de déterminer les biomarqueurs urinaires, analyse en parallèle le taux de mycotoxines dans une portion de la nourriture ingérée la veille du prélèvement.

Evaluation de l'exposition à plusieurs mycotoxines dans le sud de l'Italie par la mesure de divers biomarqueurs urinaires.

Solfrizzo M, Gambacorta L, Angelo V. Assessment of Multi-Mycotoxin exposure in Southern Italy by urinary multi-biomarker determination. *Toxins* 2014; 6: 523-538

Résumé

Le but de cette étude est d'estimer de manière indirecte l'exposition des individus aux mycotoxines¹, par la mesure de biomarqueurs³ urinaires. Seule une partie des mycotoxines ingérées (ou inhalées) pénètre dans l'organisme, puis celles-ci sont éliminées, telles quelles, ou sous forme de métabolites².

Les biomarqueurs analysés dans les urines de cinquante-deux volontaires ont été l'ochratoxine A (OTA), l'aflatoxine M₁ (AFM₁) qui est un métabolite de l'aflatoxine B₁ (AFB₁), la fumonisine B₁ (FB₁), le désoxynivaléol (DON) et son métabolite le dé-époxy-désoxynivaléol (DOM-1), la zéaralénone (ZEA) et ses deux

métabolites l' α zéaraléol (α -ZOL) et la β -zéaraléol (β -ZOL). Cinquante-deux personnes (vingt-six hommes et vingt-six femmes, âgés de trois à quatre-vingt-cinq ans) réparties dans dix municipalités de l'Italie du Sud ont donné leur urine du matin. Les urines ont été hydrolysées avec de la β -gluronidase⁶ et de la sulfatase⁷ afin d'obtenir les composés sous forme libre car, en général, les composés sont excrétés conjugués soit à l'acide glucuronique, soit au sulfate. Les urines sont ensuite purifiées sur des colonnes d'immunoaffinité⁸ multi anticorps. L'analyse a été réalisée par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse très sensible.

La ZEA et ses métabolites, ainsi que l'OTA ont été retrouvés dans tous les prélèvements. Le DON et la FB₁ ont été retrouvés dans 96% et 56% des échantillons respectivement. L'AFM₁ n'est détectée que dans 6% des échantillons. L'estimation de la consommation journalière (PDI⁹) a été calculée de la manière suivante $PDI = C \times v/W \times 100/E$ où C correspond à la concentration urinaire du biomarqueur ($\mu\text{g/l}$); v à la moyenne du volume urinaire de 24h

(1,5 l), W au poids moyen d'un homme (60 kg), Eau taux d'excrétion moyen sur 24h de la mycotoxine, calculé à partir des données chez le porc. Sur cette base, la consommation journalière était inférieure ou égale à la dose journalière tolérable (DJT⁴).

Pour le DON, la FB₁ et la ZEA, prise en moyenne sur la population. Toutefois, 40 % des individus avaient une consommation dépassant la DJT du DON ;

Ce dépassement atteint 94 % pour le cas de l'OTA. La valeur moyenne de consommation de l'OTA est huit fois supérieure à la DJT et pouvait l'excéder de cent-quarante-sept fois.

Dans le cas de l'AFB₁ la valeur moyenne de consommation de l'AFB₁ est largement supérieure à la consommation théorique d'AF sur la base de l'analyse du régime alimentaire européen.

Commentaire

Cette publication est intéressante car elle permet d'évaluer simultanément plusieurs biomarqueurs de cinq familles de mycotoxines, sans extraction, par une technique chromatographique extrêmement sensible. Les résultats mettent en avant la possibilité d'évaluer l'exposition aux mycotoxines et pointent sur une multi-contamination quasi systématique des sujets.

Il est intéressant de noter que l'exposition à l'OTA est plus importante que celle escomptée. Ceci peut être dû à plusieurs phénomènes, importants à éclaircir.

Soit le taux d'excrétion urinaire chez le porc, qui a servi pour calculer les doses ingérées, est très différent de celui chez l'humain ce qui entraîne une erreur.

Soit tous les aliments et boissons susceptibles de contenir de l'OTA n'ont pas été pris en compte.

Cela peut également provenir aussi d'une inadéquation des méthodes d'analyses de l'OTA dans les aliments. L'analyse de cette toxine par des méthodes d'extraction en milieu alcalin suivi de purification sur colonnes d'immunoaffinité, est à l'origine d'une sous-estimation (13-17).

Une autre raison est que l'OTA, une fois dans le sang, se fixe à 99 % sur les protéines plasmatiques, allongeant ainsi sa persistance dans l'organisme (18).

D'autre part la majorité de l'OTA est éliminée dans les urines sous forme de métabolites conjugués au glutathion (19).

Comme les calculs théoriques d'exposition ont pris en compte le taux de passage dans l'organisme chez le porc, il aurait été intéressant de confirmer les résultats en mettant en parallèle, le taux de contamination dans les aliments ingérés le jour précédent l'ingestion. L'estimation de l'exposition serait sans doute aussi plus fiable si l'analyse était réalisée sur les urines de 24h plutôt qu'un prélèvement exclusif le matin. En effet la métabolisation et la vitesse d'élimination des mycotoxines sont très différentes d'une substance à l'autre. D'autre part, l'AFM₁ n'est peut-être pas le meilleur biomarqueur d'exposition à l'AFB₁ car c'est un métabolite qui est préférentiellement éliminé dans le lait.

Exposition aux mycotoxines en zone rurale du nord du Nigeria : étude pilote utilisant plusieurs biomarqueurs urinaires

Ezequiel CN, Warth B, Ogara IM, Abia WA, Ezequiel VC, Atehnkeng J, Sulyok M, Turer PC, Tayo GO, Krska R, Bandyopadhyay R. Mycotoxin exposure in rural residents in northern Nigeria : A pilot study using multi-urinary biomarkers. *Environmental International* 2014; **66**: 138-145.

Résumé

Le but de cette étude est de valider la mesure de biomarqueurs³ urinaires de mycotoxines, comme biomarqueurs d'exposition. Cent-vingt individus (dix-neuf enfants, vingt adolescents, quatre-vingt-un adultes), résidant en zone rurale du nord du Nigeria, ont donné leur urine du matin. Parmi les participants il y avait huit femmes allaitantes, et un nourrisson nourri au sein. Certains individus appartenaient à la même famille. Simultanément 25 g des plats consommés la veille par les familles ont été collectés, afin d'analyser directement les mycotoxines. Les biomarqueurs analysés couvrent 5 familles de mycotoxines : L'AFM₁ (métabolite de l'AFB₁), l'OTA, la FB₁ et FB₂, le DON et ses métabolites (DOM-1, glucurono-DON), la ZEA et ses métabolites (α -ZOL, β -ZOL, glucurono-ZEA), la toxine T₂ et HT₂.

Au moins un biomarqueur a été détecté dans 50,8 % des échantillons d'urine. Il n'y a pas de différence statistique entre les classes d'âge. Dans 75 % des cas positifs, une seule famille de mycotoxine est observée. Dans les 25 % de cas restants, jusqu'à quatre mycotoxines différentes ont été détectées. D'une manière générale, les trois mycotoxines les plus fréquemment présentes dans l'urine sont l'OTA, l'AFM₁ et la FB₁. Le DON, la FB₂ et la ZEA n'ont été détectés que dans les échantillons dans lesquels la glu-DON, la FB₁ et la glu-ZEA avaient été respectivement détectées. Dans l'urine des enfants, uniquement l'AFM₁, l'OTA, la FB₁ et la glu-DON ont été détectées.

Pour six des huit mycotoxines trouvées dans les urines des participants, au moins une d'entre elle était présente dans la nourriture consommée le jour précédent le prélèvement. Les corrélations ne sont toutefois pas parfaites :

- Bien que l'OTA soit la mycotoxine la plus fréquemment retrouvée dans les urines, elle n'a été détectée que dans un échantillon sur trente-neuf de nourriture. Ceci peut être dû, soit au fait que les aliments contaminés n'ont pas été prélevés, soit à la longue demi-vie de l'OTA dans l'organisme, qui fait qu'il peut être présent suite à une ingestion plus ancienne (18, 20).

- La corrélation entre la présence d'AFM₁ dans les urines et l'AFB₁ dans la nourriture, de même que pour la FB₁ est modérée.

Pour vingt-quatre adultes ayant un taux d'OTA détectable dans les urines, l'estimation de la consommation moyenne journalière d'OTA est de 0,01 μ g/kg pc/jour (valeur maximale de 0,03), proche de la DJT⁴ préconisée par l'autorité européenne des aliments (EFSA), et nettement supérieure à la dose virtuellement sûre, calculée pour prévenir le risque de cancer de 0,004 μ g/kg pc/j. De la même manière, la consommation moyenne journalière de FB est de 35 μ g/kg pc/j, ce qui est bien supérieur (environ dix-sept fois) à la DJT⁴ (21). Il en est de même pour la ZEA dont la

consommation estimée sur la base de l'excrétion urinaire est de 11,8 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{j}$ soit environ six fois plus que la DJT⁴. Les enfants nourris partiellement au sein ne sont pas épargnés puisqu'une quantité importante de FB1 a été mesurée dans l'urine (3,8 $\mu\text{g}/\text{L}$). L'enfant concerné, en plus d'ingérer le lait maternel, consommait du maïs contaminé à raison de 218 $\mu\text{gFB1}/\text{kg}$.

Commentaire

Cette étude montre l'intérêt de l'analyse de multi-biomarqueurs de mycotoxines dans les urines. Un lien partiel a pu être établi entre la présence de mycotoxines dans les urines des individus et la contamination des aliments ingérés le jour précédent le recueil d'urine. Les populations rurales exposées plus fréquemment aux mycotoxines présentent aussi plus de mycotoxines dans leurs urines. Il est intéressant de noter que l'exposition à l'OTA est plus importante que ne laissent supposer les estimations faites sur la base des études alimentaires, et des analyses directes dans l'aliment.

De même, la corrélation entre les biomarqueurs de FB ou celui d'aflatoxine devra être affinée. La mesure de FB dans les urines s'avère être un mauvais biomarqueur d'exposition à cette toxine. Il aurait sans doute été intéressant de relier ceci à un biomarqueur plus spécifique des FB à savoir la mesure du rapport sphinganine/sphingosine¹⁰, qui est perturbé lors de l'exposition aux FB (22).

Une différence significative entre deux régions, dans lesquelles les populations sont différemment exposées aux mycotoxines est observée, renforçant la possibilité d'estimer une exposition par l'évaluation de ces biomarqueurs urinaires. Pour affiner et valider ces biomarqueurs, il faudrait réaliser une étude à plus grande échelle, tant du point de vue du nombre et du type d'aliments analysés que de celui de la quantité et la fréquence du recueil des urines.

La confirmation de la multi-exposition aux mycotoxines soulève le problème de l'évaluation et de la gestion du risque, qui doit tenir compte d'une éventuelle interaction d'effets de ces toxines.

CONCLUSION GÉNÉRALE

De nouvelles techniques d'analyse en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse permettent la détection de biomarqueurs de plusieurs mycotoxines simultanément dans les urines. Que ce soit en Italie ou au Nigeria, l'analyse de biomarqueurs urinaires a permis d'estimer l'exposition journalière des individus. Dans les deux cas, il est apparu que l'exposition à certaines mycotoxines (OTA/AF/ZEA) était plus importante que ce qui était prévisible par les données de contamination des aliments. Par contre, la prudence s'impose lorsqu'il s'agit de comparer les deux études. La technique d'analyse utilisée en Italie est plus sensible que celle utilisée au Nigeria, ce qui peut entraîner un biais à la lecture des résultats et laisser penser que l'exposition en Italie est plus importante.

La répartition des mycotoxines étant hétérogène et les sources de contamination étant multiples, il apparaît clairement que la détection de biomarqueurs urinaires est une alternative intéressante à l'analyse des aliments. Elle reflète aussi mieux l'exposition individuelle. La mesure des biomarqueurs est un outil précieux dans les études épidémiologiques, et pour le suivi de mise en place de mesure corrective, comme cela s'est déjà avéré intéressant dans les pays africains (23,24). Ces biomarqueurs sont aussi excrétés dans le lait. Leur évaluation dans le lait maternel permet d'évaluer l'exposition des nouveau-nés.

GENERAL CONCLUSION

New analytical method of chromatography with spectrometry allows detection of urinary biomarkers of multi-mycotoxins. In Italy as well as in Nigeria, thanks urinary biomarkers analysis, assessment of daily exposure to mycotoxins has been evaluated. In both cases, exposure to some mycotoxins (OTA/AF/ZEA) was higher than expected using analytical data in crops. The two papers should not be compared without caution, since analytical method used in Italy is more sensitive compared to that of Nigeria leading to wrong conclusion as higher exposure in Italy.

As mycotoxin repartition is heterogeneous, and as multiple contaminations sources are concerned, it clearly appears that urinary biomarker is an interesting alternative to measure exposure to mycotoxins. This reflects more the individual exposure. Biomarker analysis is a valuable tool in epidemiological studies, and for prevention. These biomarkers are also excreted in milk. Thus, the evaluation of these biomarkers in maternal milk will help to assess new-borns exposure.

Lexique

- (1) Mycotoxine : métabolites secondaires produits par les moisissures. Le terme de mycotoxine est utilisé pour décrire des métabolites présentant une action toxique à faible dose sur les animaux.
- (2) Métabolite : composé stable issu de la transformation biochimique de la substance lors du métabolisme cellulaire
- (3) Biomarqueur : les biomarqueurs sont des outils puissants permettant d'élucider l'étiologie et le mécanisme biologique intervenant tout le long de la chaîne partant de l'exposition externe jusqu'à la manifestation de la maladie. Il existe plusieurs types de biomarqueurs : (i) d'exposition (ii) d'effet
- (4) DJT dose journalière tolérable : la DJT est l'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée quotidiennement pendant toute la vie sans risque appréciable pour la santé du consommateur compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milli (micro ou nano) gramme de substances/kg de poids corporel.
- (5) Toxicocinétique : décrit le devenir des substances toxiques dans un organisme vivant au cours du temps. Ce devenir est déterminé par divers processus : absorption, distribution, métabolisme et élimination.
- (6) β -glucuronidase : enzyme permettant de couper la liaison entre la mycotoxine et le groupement acide glucuronique.
- (7) Sulfatase : enzyme permettant de couper la liaison entre la mycotoxine et le groupement sulfate.
- (8) Chromatographie d'immunoaffinité : technique de purification dans laquelle un anticorps reconnaissant spécifiquement une mycotoxine est lié à une matrice.
- (9) PDI (*probable daily intake of mycotoxin* ($\mu\text{g}/\text{kg bw}$)) : consommation journalière probable de mycotoxines en $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids corporel.
- (10) Sphinganine/Sphingosine : ce sont des sphingolipides jouant un rôle prépondérant dans la synthèse de la céramide et des membranes cellulaires. La fumonisine inhibe la biosynthèse de céramide à partir de la sphinganine, qui est transformée en sphingosine, qui s'accumule dans le sang et est éliminée par les urines.

Publications de référence

- (1) Pfohl-Leszkowicz A. Mycotoxines dans l'aliment : effet sur la santé humaine dans 'mycologie médicale' Christian Rippert (ed), Tec & Doc, Lavoisier, 2013 ; pp 160-214.
- (2) Kuiper-Goodman T. Approches to the risk analysis of mycotoxins in the food supply. *Food Nutr. Agric* 1999; **23**:10-14.
- (3) Richard JL, Plattner RD, May J *et al.* The occurrence of ochratoxin A in dust collected from a problem household, *Mycopathologia*, 1999; **146**: 99-103,
- (4) Wang Y., T. Chai, G. Lu *et al.*, Simultaneous detection of airborne Aflatoxin, Ochratoxin and Zearalenone in a poultry

- house by immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography *Environmental Research*, 2008; **107**: 139-144,
- (5) Skaug MA, Eduard W, Størmer FC, Ochratoxin A in airborne dust and fungal conidia. *Mycopathologia*, 2001;**151**: 93-98,
 - (6) Di Paolo N, Guarnieri A, Garosi G, *et al.* Inhaled mycotoxins lead to acute renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*,1994;**9**:116-20.
 - (7) Hooper DG, V. E. Bolton VE, F. T. Guilford FT *et al.* Mycotoxin detection in human samples from patients exposed to environmental molds. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009;**10**:1465-75.
 - (8) Oluwafemi F, Odebiyi T, Kolap A. Occupational aflatoxin exposure among feed mill workers in Nigeria. *World Mycotoxins J.* 2012; **4**:385-389.
 - (9) Gambacorta L, Solfrizzo M, Visconti A, *et al.* Validation study on urinary biomarkers of exposure for aflatoxin B₁, ochratoxin A, fumonisin B₁, deoxynivalenol and zearalenone in piglet. *World mycotoxin J.* , 2013;**6**:299-308
 - (10) Turner PC, van der Westhuizen L, Da Costa N. Biomarkers of exposure: mucotoxins-aflatoxin, deoxynivalenol and fumonisins. In Knudsen LE, Merlo DF, editors. *Biomarkers and human biomonitoring*. Royal Society of Chemistry Cambridge, UK/ Royal society of Chemistry ; 2011. <http://dx.doi.org/10.1039/9781849733540-00050>.
 - (11) Turner PC, Flannery B, Ali M, Pestka J. The role of biomarkers in evaluating human health concerns from fungal contaminants in food. *Nutr Res Rev* 2012;**25**:162-179.
 - (12) Warth B, Sulyok M, Krska R. LC-MS/MS-based multibiomarker approaches of human exposure to mycotoxins. *Anal. Bioanal. Chem* 2013;**405**:5687-5695
 - (13) Pfohl-Leszkowicz A, Molinié A, Castegnaro M. Presence of ochratoxin a, citrinin and fumonisin b₁ in breakfast cereals collected in french market. Comparison of OTA analysis using or not immunoaffinity clean-up before HPLC. *The revista Mexicana de Micologia* 2004;**19**:7-15
 - (14) Molinié A, Castegnaro M, Faucet-Marquis V, *et al.* Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in ochratoxin A, citrinin and fumonisin B₁. Development of a new method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food Chemistry* 2006;**92**: 391-400
 - (15) Castegnaro M, Tozlovanu M, Wild C *et al.* Advantages and drawbacks of immunoaffinity columns in analysis of mycotoxins in food. *Molecular Nutrition Food Research*, 2006;**50**:480-481
 - (16) Polisenka I, Pfohl-Leszkowicz A, Hadjeba-Medjdoub K *et al.* Occurrence of Ochratoxin A and citrinin in Czech cereals- Comparison of HPLC and ELISA methods for Ochratoxin A detection. *Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2010;**27**:1545-57
 - (17) Tozlovanu M, Pfohl-Leszkowicz A. Ochratoxin A in roasted coffee purchased in French supermarket-Transfer in coffee beverage/ Comparison of several methods of analysis. *Toxin* 2010;**2**:1928-42
 - (18) Castegnaro M, Canadas D, Vrabcheva T *et al.* Balkan endemic

- nephropathy: role of ochratoxin A through biomarkers. *Molecular Nutrition Food Research* 2006;**50**:519-29
- (19) **Tozlovanu M, Canadas D, Pfohl-Leszkowicz A et al.** Glutathione conjugates of ochratoxin A as biomarkers of exposure. *Arh Hig Rada Toksikol* 2012;**63**:417-27
- (20) **Pfohl-Leszkowicz A, Vrabcheva T., Petkova-Bocharova T et al.** Analysis of ochratoxin a in serum, urine and food consumed by inhabitants from an area with balkan endemic nephropathy: a one month follow up study. Dans: Njapau H, Trujillio S, Van Egmond HP, Park DL editors. Mycotoxins and phycotoxins. Proceeding of the XIth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, May 17-21, 2004, Bethesda, Maryland, USA; Wageningen Academic Publishers pp 217-224
- (21) **Kuiper-Goodman T, Hilts C, Billiard, SM et al.** Health risk assessment of ochratoxin A for all age-sex strata in a market economy. *Food Additives and Contaminants* 2010;**27**:212-40
- (22) **Qiu M, Liu X.** Determination of sphinganine, sphingosine and Sa/So ratio in urine of humans exposed to dietary fumonisin B1. *Food Additives and Contaminants* 2001;**18**:263-9
- (23) **Shephard GS, Burger HM, Gambacorta L et al.** Mycological analysis and multimycotoxins in maize from rural subsistence farmers in the former Transkei, South Africa. *J Agric. Food Chem* 2013;**61**:8232-8240.
- (24) **Shephard GS, Burger HM, Gambacorta L et al.** Multiple mycotoxin exposure determined by urinary biomarkers in rural subsistence farmers in the former Transkei, South Africa. *Food Chem Toxicol* 2013;**62**:217-25

Autres publications identifiées

Iha M-H, Barbosa CB, Heck AR, et al. Aflatoxin M₁ and ochratoxin A in human milk in Ribeirao Preto-SP, Brazil. *Food Control* 2014;**40**:310-3.

Le but de cette étude était d'évaluer la présence dans le lait humain de deux biomarqueurs d'exposition à deux mycotoxines (AFB₁ et OTA), l'AFM₁ reflétant l'exposition à l'aflatoxine B₁. Une centaine de laits maternels ont été analysés, après purification sur colonne d'immunoaffinité et séparation par chromatographie haute performance (HPLC) à détection fluorimétrique. 66 % des échantillons contenaient de l'ochratoxine A à des concentrations allant de 1 à 21 ng/L. Seulement 2 % contenait de l'AFM₁. Le suivi de la contamination du lait en mycotoxines est un sujet important dans la mesure où les nourrissons sont encore plus sensibles que les adultes aux effets toxiques.

Atasever M, Yildirim Y, Atasever M, et al. Assessment of aflatoxin M₁ in maternal breast milk in Eastern Turkey. *Food Chem Toxicol* 2014;**66**:147-9.

Le but de cette étude était d'établir s'il existe une corrélation entre la consommation, par la mère, de fromage moisi et la présence d'aflatoxine M₁ dans le lait maternel. Le lait de soixante-treize femmes a été analysé. La graisse a été éliminée par centrifugation. L'AFM₁ a été évaluée par test ELISA (immunoessai). Un questionnaire concernant les habitudes alimentaires et

notamment leur consommation de fromage moisi a été rempli par les individus. 24,6 % des laits contenaient de l'AFM₁ à un taux s'échelonnant de 1,3 à 6 ng/L. Aucune corrélation n'a pu être établie avec la consommation de fromage. La présence d'AFM₁ dans le lait maternel était plutôt liée à l'ingestion de céréales et de lait de vache par la mère.

Bilandzic N, Bozic D, Dokic M et al. Assessment of aflatoxin M₁ contamination in the milk of four dairy species in Croatia. *Food control* 2014;**43**:18-21.

L'analyse de l'AFM₁ a été évaluée dans différents types de laits (vache, chèvre, brebis, ânesse) prélevés dans des fermes de Croatie. L'AFM₁ a été analysé par tes ELISA sur le lait écrémé. Le lait de vache provenant de l'est de la Croatie était plus contaminé que celui prélevé du d'autres régions du pays. Certains échantillons de lait de vache contenaient des concentrations dépassant la limite maximale de résidus autorisée (50 ng/L). Le lait d'autres espèces animales contiennent aussi de l'AFM₁ à un moindre degré. Un lien entre l'utilisation de maïs contaminé pour nourrir les animaux et la présence d'AFM₁ dans le lait a pu être établi, et met en exergue l'importance de la qualité de l'aliment et du stockage de celui-ci

Bilandzic N, Bozic D, Dokic M et al. Seasonal effect on aflatoxin M₁ contamination in raw ad UHT milk from Croatia. *Food Control* 2014;**40**:260-4.

Afin d'établir si la contamination en AFM₁ variait au cours des saisons, 3 736 échantillons de lait ont été prélevés dans des fermes de la région et de la Croatie de février à juillet. Simultanément 706 échantillons de lait UHT ont été analysés par technique ELISA. Aussi bien dans le lait frais que dans le lait UHT, le taux d'AFM₁ est significativement plus important en hiver qu'en été. Le taux décroît graduellement dès lors que les animaux sont nourris avec de l'herbe fraîche. La limite maximale de résidus est dépassé dans 45,9 % des laits frais ; et dans 36,2 % des laits pasteurisés. Cet article pointe l'importance du suivi des contaminations, du contrôle de la nourriture et du stockage des aliments.

Carraro A, De Giacomo A, Giannossi ML, et al. Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M₁ from contaminated milk and effects on milk quality. *Applied Clay Science* 2014 ; **88-89**:92-9

Des kaolins et des bentonites ont été utilisés dans le but réduire le taux d'AFM₁. Simultanément l'impact de ces adsorbants sur la valeur nutritionnelle (taux de protéines, de lactose, graisse) du lait a également été analysé. Les bentonites permettent une meilleure élimination des aflatoxines conduisant à une réduction de la concentration en AFM₁ à un taux inférieur à la limite maximale de résidus tout en conservant la valeur nutritionnelle.

Rubert J, Leon N, Saez C et al. Evaluation of mycotoxins and their metabolites in human breast milk using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Analytical chimica acta* 2014 doi: dx.doi.org/10.1016/j.aca.2014.02.009

Une nouvelle méthode d'analyse simple, rapide et peu chère (QuEChERS) a été mise au point et validée pour l'évaluation de biomarqueur de mycotoxines excrétées dans le lait. Les analyses sont faites directement sur la matrice sans extraction. La méthode a été appliquée sur trente-cinq laits maternels pour leur teneur en ZEA, nivalénol (NIV), Eniatin (ENA), neosolaniol (NEO). Plusieurs mycotoxines sont détectées.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Modèle expérimental invertébré et bioluminescence : de nouvelles voies pour accroître l'efficacité de l'expérimentation animale

Période : décembre 2013 à mars 2014

Steffi Rocchi et Gabriel Reboux | gabriel.reboux@univ-fcomte.fr

Université de Franche-Comté – UMR/CNRS 6249 Chrono-Environnement – Besançon – France

Mots clés : **biofilm, bioluminescence (BLI), *Candida albicans*, composé organique volatil fongique (COV), directive 2010-1963/UE, drosophile, expérimentation animale, ex vivo, luciférase, in vivo**

Selon le rapport de la commission européenne, 12,1 millions d'animaux ont été sacrifiés en 2005, dans le cadre de la recherche scientifique en Europe (1). Ces expérimentations suscitent des oppositions. Les manifestations revendiquant l'arrêt de toutes les expérimentations animales se sont radicalisées et les opérations de sabotage contre les laboratoires se sont accrues ces dernières années. Cependant le recours à l'expérimentation animale semble incontournable pour faire progresser les recherches médicale, pharmaceutique et vétérinaire. De là, le dilemme : renoncer aux connaissances pouvant être acquises par l'expérimentation animale ou la maintenir en limitant au maximum la souffrance des animaux.

La directive 2010/63/UE du parlement européen (2) impose une amélioration du traitement des animaux de laboratoire. Cette directive s'appuie sur la démarche des trois « R » (3) : Remplacer les animaux vivants par d'autres techniques d'analyse, Réduire le nombre d'animaux et Raffiner leur utilisation. Toutes ces mesures, de plus en plus contraignantes, mèneront probablement à la diminution drastique des expérimentations animales. Pour ces raisons, les chercheurs mettent au point des alternatives qui pourraient avoir des avantages éthiques, économiques, statistiques et expérimentaux. Les deux publications sélectionnées portent sur deux approches novatrices : utilisation de modèles invertébrés (plusieurs milliers de drosophiles, hors du champ de la réglementation sur la souffrance animale) et suivi des infections par mesure de la bioluminescence (BLI) de levures génétiquement modifiées chez quelques rats, évitant ainsi l'euthanasie de nombreux animaux, tout en améliorant la qualité expérimentale (suivi de l'infection en gardant les animaux en vie).

Des composés organiques volatils fongiques² isolés après l'ouragan Katrina entraînent des déficiences de développement et l'apoptose³ chez *Drosophila melanogaster*

Inamdar AA, Bennett JW. Volatile organic compounds from fungi isolated after hurricane Katrina induce developmental defects and apoptosis in a *Drosophila melanogaster* model. *Env Toxicol* 05.12.13 DOI: 10.1002/tox.21933.

Résumé

Cette étude porte sur la toxicité des composés organiques volatils fongiques (COVf)² émis par quatre moisissures, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma* et *Penicillium*, isolées dans des maisons inondées de la Nouvelle Orléans, après l'ouragan Katrina. L'équipe signataire de ce travail, avait déjà montré l'effet neurotoxique de certains COVf² (4,5). Dans ce travail, elle a utilisé la mouche du vinaigre (*Drosophila melanogaster*), pour évaluer l'influence directe des COVf² émis à partir de cultures de moisissures, sur le développement et l'apoptose³ cellulaire. Les auteurs ont utilisé au total 1 680 individus (600 pour la première expérience, 1 080 pour la deuxième).

Des souches sauvages de drosophiles et des mutants hétérozygotes pour deux gènes impliqués dans l'apoptose³ (*reaper*⁴ et *dronc*⁵) ont été exposés aux moisissures. Les auteurs ont mis en place des dispositifs simples (boîtes de Pétri en sandwich) pour évaluer le développement et la mortalité des différents stades des drosophiles (larves, pupes, adultes). Après dix jours d'exposition à *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Penicillium*, 6 à 11 % des drosophiles mutantes sont mortes, contre 14 à 22 % chez les souches sauvages. Les mutants, plus résistants aux COVf² émis, passent plus rapidement des stades larves à pupes et pupes à adultes. Les auteurs ont mis en évidence, dans cette publication, un effet des COVf² sur le développement et la mort des drosophiles, lors d'une exposition directe à des moisissures en culture et le rôle que joueraient les COVf² dans la voie de signalisation cellulaire qui amène à l'apoptose³.

Commentaire

Dans cette étude originale, les auteurs ont utilisé un modèle d'exposition simple (la drosophile comme modèle animal et des boîtes de Pétri doubles). Ce travail a permis de démontrer

que, suite à l'exposition aux COV^{f2}, les délais de développement observés et la mort des insectes dépendaient de gènes impliqués dans l'apoptose³. Le modèle de la drosophile pour l'analyse *in vivo* semble cumuler les avantages : pour un faible coût, il donne rapidement de nombreux descendants, facilement modulable génétiquement. A notre connaissance, certaines équipes ont utilisé le modèle rongeur pour l'analyse de l'effet des COV (6). En revanche, l'utilisation de 1 680 individus serait difficilement envisageable sur dix jours avec un modèle vertébré, ce qui nécessiterait un dispositif de cages encombrant et des expérimentateurs diplômés.

L'utilisation de la drosophile est de plus en plus courante dans les thématiques fongiques : en effet, ce modèle, dont les voies de signalisation de l'immunité innée montrent des similitudes avec celles des mammifères (7) est, entre autres, utilisé pour étudier l'effet des micro-organismes (8,9). En revanche, cette utilisation pour mesurer l'effet des COV^{f2} est innovante. Elle apporte un plus par rapport aux études qui peuvent être menées sur les populations humaines, lors desquelles la mise en évidence d'un effet des COV^{f2} serait difficile, compte tenu des difficultés de leur dosage dans l'environnement (10). De plus, avec une approche génétique (souches hétérozygotes mutantes pour deux des gènes impliqués dans l'apoptose³), les auteurs mettent en évidence non seulement l'effet direct des COV^{f2}, mais surtout la voie par laquelle ils agissent (apoptose³). L'équipe apporte donc ici une avancée dans la compréhension du mode d'action des COV^{f2}. On peut néanmoins s'interroger sur les limites des comparaisons possibles entre la drosophile et l'homme. Mais cette même équipe a réalisé auparavant des essais comparables d'exposition de cellules souches embryonnaires humaines à un COV^{f2} (1-octen-3-ol) et a montré un effet toxique comparable (11).

Vers une surveillance non invasive des interactions hôte-pathogène pendant la formation de biofilm par *Candida albicans* en utilisant la bioluminescence¹ *in vivo*

Vande Velde G, Kuchariková S, Schrevels S, Himmelreich U, Van Dijck P. Towards non-invasive monitoring of pathogen–host interactions during *Candida albicans* biofilm formation using *in vivo* bioluminescence. *Cellular Microbiology* 2014;16:115-30.

Résumé

Dans ce travail, les auteurs se sont intéressés à la formation de biofilms de *Candida albicans* *in vitro* et *in vivo* en utilisant la BLI¹ comme méthode de mesure. Pour leurs différents tests (*in vitro* et *in vivo*), les auteurs ont utilisé des *C. albicans* (*gLUC⁶*) synthétisant une luciférase⁷ extracellulaire (12) pour mesurer la BLI¹. Pour suivre la formation de biofilms, deux autres souches ont été utilisées, l'une exprimant le gène *gLUC⁶* uniquement lors de la transition levure-hyphes⁸ (CEC971-HWPgLUC), et l'autre (CEC988-ACTgLUC) l'exprimant quelque soit la forme des *Candida*.

Les auteurs ont réalisé différentes mises au point avant leurs tests *in vivo* pour optimiser le signal de BLI¹. Différents types de cathéters ont été testés. Des images obtenues par résonance

magnétique (IRM) ont été enregistrées pour visualiser les régions d'intérêt et la position tridimensionnelle exacte des cathéters sous-cutanés, implantés chez des rongeurs. Les animaux ont ultérieurement été euthanasiés pour quantifier *ex vivo*⁹ la biomasse de *Candida* contenue dans les cathéters.

Les résultats ont montré que la BLI¹ permettait de suivre *in vivo* la transition levure-hyphes lors de la formation de biofilms. Un signal de BLI¹ plus faible chez les mutants knockout¹⁰ (*bcr1¹¹*) n'exprimant plus un gène ayant un rôle dans la formation de biofilm, a montré que la BLI était également adaptée pour évaluer *in vivo* l'adhésion des *Candida* à leur substrat.

Commentaire

Les recherches sur la formation de biofilms par *C. albicans* sont primordiales pour la compréhension et le traitement des candidoses. Un des challenges dans ce domaine est de disposer d'un modèle prenant en compte les facteurs d'hôte¹², applicables à différents sites d'infections, tout ceci en temps réel. L'utilisation de la bioluminescence¹ apparaît ainsi, à travers le travail présenté, adaptée pour répondre à ces exigences.

De plus, cette étude, très complète en termes de tests et de précautions pour éliminer les signaux de BLI¹ parasites (oxydation du substrat, choix des cathéters...), ne semble pas montrer de limites quant à l'utilisation de la BLI¹ dans ce contexte de formation de biofilm *in vivo*. Les signaux de BLI¹ obtenus étaient toujours en accord avec ce qui peut être observé *ex vivo*⁹, lors de l'ensemencement des liquides de rinçage des cathéters. La plupart des modèles utilisés *in vivo*, qui ne permettent d'ailleurs pas de suivi individuel dans le temps, ne se résument souvent au final qu'à un point de mesure réalisé *ex vivo*⁹ par individu. C'est là le point fort de la technique de bioluminescence¹ : les mesures peuvent se faire réellement *in vivo*. L'utilisation de la BLI¹ réduit donc drastiquement l'euthanasie des animaux. On peut même imaginer pour les maladies disposant d'un traitement, une expérimentation complète trouvant son terme à la guérison de l'animal.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Du fait des nombreuses et récentes limitations éthiques, financières et pratiques, les nouvelles expérimentations animales comme celles présentées ici paraissent efficaces pour étudier l'effet des champignons microscopiques *in vivo*.

Les tests sur les drosophiles semblent prometteurs puisqu'ils sont simples d'utilisation et qu'ils offrent une grande variété de mutants. Ils sont d'ailleurs utilisés pour étudier une grande variété de maladies humaines (13-16). Les insectes ne sont pas encore concernés par la réglementation européenne 2010/63/UE sur l'expérimentation animale qui ne prend en compte que les vertébrés et les céphalopodes. D'autre part, la drosophile n'est pas encore reconnue comme un animal capable de ressentir la souffrance. Son utilisation suscite donc moins d'émotion que celle des mammifères, notamment des singes et des animaux de compagnie. La bioluminescence, de par son caractère non invasif, est elle aussi une méthode alternative pour répondre aux exigences éthiques concernant l'expérimentation animale. Nous pouvons aussi espérer que ces nouvelles méthodes en maintenant l'animal en vie, permettront d'avoir des modèles plus proches de la réalité, y compris en suivant l'animal au long court.

GENERAL CONCLUSION

Because of recent ethical, financial and practical limitations in animal experimentation, new studies such as those presented in this note appear to be efficient for studying the fungal effects in vivo. Tests on Drosophila seem promising because they are simple to use and they offer a wide variety of mutants. They are already used to study different human diseases (13-16). Insect's use is not yet regulated by the European directive 2010/63/EU which takes into account vertebrates and cephalopods. Drosophila is not yet recognized as an animal capable of feeling pain. Thus its use creates less emotion than mammals, including monkeys and pets.

The noninvasive nature of bioluminescence could be an alternative method to meet the ethics requirements in animal experimentation. We also hope that these new methods in live animals will give more realistic models, including possibility of monitoring the animal over time.

Lexique

- (1) Bioluminescence (BLI) : la bioluminescence est basée sur la détection de photons produits lors de l'oxydation enzymatique d'un substrat par la luciférase.
- (2) Composé organique volatil fongique (COVf) : les composés organiques volatiles fongiques (ou COVf) regroupent une

multitude de substances produites par les moisissures. Ils sont toujours composés de l'élément carbone et d'autres éléments tels que l'hydrogène, les halogènes, l'oxygène, le soufre. Leur volatilité leur confère l'aptitude de se propager plus ou moins loin de leur lieu d'émission. Les COVf sont considérés comme ayant un potentiel inflammatoire.

- (3) Apoptose cellulaire : processus de mort cellulaire programmée en réponse à des facteurs d'exposition.
- (4) *Reaper* : le gène *reaper* agit en faveur de la mort cellulaire programmée
- (5) *Dronc* : le gène *dronc* permet la production de la caspase (protéase à cystéine) *dronc* qui elle-même active la procaspase *drice*, impliquée dans l'apoptose.
- (6) *gLUC* : le gène *gLUC* synthétise une luciférase chez le copépode *Gaussia princeps*. Une version synthétique du gène est ajoutée au gène *PGA59* de *C. albicans*, codant pour une protéine indispensable à l'intégrité de la paroi cellulaire.
- (7) Luciférase : la luciférase est l'enzyme impliquée dans l'oxydation du substrat (une coelentérazine dans la publication présentée). Différentes luciférases sont disponibles pour les analyses d'imagerie en bioluminescence.
- (8) levure-hyphes : la transition levure/hyphes (blastospore/pseudomycelium) chez *Candida albicans* est une étape clé qui permet la croissance de la forme filamenteuse à travers l'épithélium dans les tissus.
- (9) *Ex vivo* : le terme *ex vivo* est utilisé pour parler de mesures effectuées hors de l'organisme dont elles proviennent, en opposition à *in vivo*.
- (10) Mutants knockout : mutants dont un gène est totalement inactivé (ici le gène *BRI*).
- (11) *BCR1* : le gène *BCR1* code pour un facteur de transcription connu pour être nécessaire pour le développement de biofilms dans *C. albicans*. Ce gène a donc un rôle central dans l'adhérence.
- (12) facteurs d'hôte : caractéristiques de l'hôte à résister à une agression extérieure (affaiblissement des systèmes de défense immunitaire par exemple).

Publications de référence

- (1) Rapport de la Commission au Conseil et au Parlement européens - Cinquième rapport sur les statistiques concernant le nombre d'animaux utilisés à des fins expérimentales et à d'autres fins scientifiques dans les États membres de l'Union européenne {SEC(2007)1455} /* COM/2007/0675 final *, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2007:0675:FIN:FR:HTML>
- (2) **Directive 2010/63/UE du parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010** relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Journal officiel de l'Union européenne L276/33 20.10.2010. 47pp.
- (3) **Robinson V.** Finding alternatives: an overview of the 3 Rs and the use of animals in research. *School Sciences Review* 2005;**87**:1-4.

- (4) **Inamdar AA, Zaman T, Morath SU, et al.** *Drosophila melanogaster* as a model to characterize fungal volatile organic compounds. *Environ Toxicol* 2012 DOI: 10.1002/tox.21825.
- (5) **Inamdar AA, Moore JC, Cohen RI, et al.** A model to evaluate the cytotoxicity of the fungal volatile organic compound 1-octen-3-ol in human embryonic stem cells. *Mycopathologia* 2012;173:13-20.
- (6) **Bönisch U, Böhme A, Kohajda T, et al.** Volatile Organic Compounds Enhance Allergic Airway Inflammation in an Experimental Mouse Model Ulrike. *Plos one* 2012 DOI:10.1371/journal.pone.0039817
- (7) **Panayidou S, Ioannidou E, Apidianakis Y.** Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in *Drosophila*: Disease modeling, lessons, and shortcomings. *Virulence* 2014;5:253-69.
- (8) **Zanette RA, Kontoyiannis DP.** Paradoxical effect to caspofungin in *Candida* species does not confer survival advantage in a *Drosophila* model of candidiasis. *Virulence* 2013;4:497-8.
- (9) **Zanette RA, Santurio JM, Loreto ES, et al.** Toll-deficient *Drosophila* is susceptible to *Pythium insidiosum* infection. *Microbiol Immunol* 2013;57:732-5.
- (10) **Reboux G, Bellanger AP, Dalphin JC.** Contre : les composés organiques volatils fongiques ont un effet sur la santé. *Revue Française d'allergologie* 2011;51:350-3.
- (11) **Inamdar AA, Moore JC, Cohen RI, Bennett JW** A model to evaluate the cytotoxicity of the fungal volatile organic compound 1-octen-3-ol in human embryonic stem cells. *Mycopathologia*. 2012 ;173:13-20
- (12) **Enjalbert B, Rachini A, Vedyappan G, et al.** A multifunctional, synthetic *Gaussia princeps* luciferase reporter for live imaging of *Candida albicans* infections. *Infect Immun* 2009;77:4847-58.
- (13) **Trinh I, Boulianne G,** Modeling Obesity and Its Associated Disorders in *Drosophila*. *Physiology (Bethesda)*, 2013;28:117-124.
- (14) **Na J, Musselman LP, Pendse J, Baranski TJ, et al.** A *Drosophila* Model of High Sugar Diet-Induced Cardiomyopathy. *PLoS Genet* 2013; doi:10.1371/journal.pgen.1003175
- (15) **Piazza N, Wessells RJ,** *Drosophila* Models of Cardiac Disease. *Prog Mol Biol Transl* 2011 DOI:10.1016/B978-0-12-384878-9.00005-4.
- (16) **Pandey UB, Nichols CD,** Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. *Pharmacol Rev* 2011; 63:411-436

dci.2014.01.020 .

Arvanitis M, Glavis-Bloom J, Mylonakis E. Invertebrate models of fungal infection. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832:1378-83.

Autres publications identifiées

Inamdar AA, Bennett JW. A common fungal volatile organic compound induces a nitric oxide mediated inflammatory response in *Drosophila melanogaster*. *Sci Rep* 2014 DOI:10.1038/srep03833

Etude l'exposition des drosophiles à un COV (1-octen-3-ol) couramment retrouvé lors de contamination de logement et la réponse inflammatoire des hématocytes qui peut être entraînée.

Gomez-Lopez A, Forastiero A, Cendejas-Bueo E et al. An invertebrate model to evaluate virulence in *Aspergillus fumigatus*: The role of azole resistance. *Med Mycol* 2014; 52 :311-9. *Utilise un modèle invertébré (insecte Galleria mellonella) pour étudier la virulence d'Aspergillus fumigatus ayant des mutations sur le gène CYP51A (multi-résistance aux azolés).*

Foley K, Fazio G, Jensen AB, et al. The distribution of *Aspergillus* spp. opportunistic parasites in hives and their pathogenicity to honey bees, *Vet. Microbiol.* 2014;169;203:210

Etude la pathogénicité et la virulence des Aspergillus sur les abeilles à différents stades de développement ainsi que la contamination des ruches et des sols environnants.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

n'avoir aucun conflit d'intérêts;

avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Revue de la littérature

Darne C, Lu Y, Sevic-Muraca EM. Small animal fluorescence and bioluminescence tomography: a review of approaches, algorithms and technology update, *Phys Med Biol* 2014;59:R1-R64.

Gratacap RL, Wheeler RT. Utilization of zebrafish for intravital study of eukaryotic pathogen-host interactions. *Dev Comp Immunol* 2014, in press, <http://dx.doi.org/10.1016/j>

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Qualité des milieux

Prévention du risque d'exposition en milieux aquatiques : biosurveillance par les plantes, microalgues et bactéries

Période : décembre 2013 à mars 2014

David Delmail | david.delmail@univ-rennes1.fr

Université de Rennes 1 – UMR CNRS 6226 Institut des sciences chimiques de Rennes – Rennes – France

Mots clés : biomarqueur, bioaccumulation, bioessais, biosurveillance, contaminants, environnements aquatiques, exposition environnementale, macrophytes, phytoremédiation

Les relations étroites entre populations humaines et zones aquatiques imposent de préserver l'intégrité de ces environnements pour des raisons de santé publique. Comme le définit la DCE¹ (1), le « bon état » écologique des eaux devra être atteint en 2015 : absence de détérioration, suppression des rejets de substances dangereuses prioritaires. En écotoxicologie, ce « bon état » se définit surtout à partir d'indicateurs de la qualité biologique des hydrosystèmes. Cette bioindication met en jeu des organismes sensibles et/ou accumulateurs d'un contaminant, tels que le sont certains macrophytes², microalgues et bactéries, dont l'état renseigne sur la qualité écologique en détectant rapidement des pollutions. Lorsqu'elle s'avère nécessaire, la remédiation de sites contaminés par l'utilisation d'organismes vivants est une stratégie respectueuse de l'environnement et bon marché.

Les articles présentés illustrent la nécessité de suivre les xénobiotiques³ relargués dans les eaux en élaborant de nouveaux outils. Le premier article utilise certains macrophytes² autochtones d'Europe pour détecter et extraire l'uranium issu de l'érosion des gisements miniers. Le second propose une méthode de bioessais pour évaluer l'impact d'effluents d'industriels pharmaceutiques sur des microalgues et bactéries d'eaux douce et marine.

Accumulation de l'uranium par les plantes aquatiques en conditions de terrain : des perspectives de phytoremédiation.

Favas PJC, Pratas J, Varun M, D'Souza R, Paul MS. Accumulation of uranium by aquatic plants in field conditions: Prospects for phytoremediation. *Sci Total Environ* 2014;470-471:993-1002.

Résumé

Les auteurs ont évalué le potentiel de bioaccumulation et de biosurveillance de l'uranium (U) issu de l'érosion des gisements miniers, chez 28 macrophytes² indigènes de rivières portugaises. Trois environnements se distinguent parmi les deux cents relevés dont l'un influencé par l'eutrophisation et l'autre par les métaux miniers.

Les résultats montrent que les hydrophytes⁴ ont une capacité de stockage en U plus importante que les héliophytes⁵ et les macrophytes flottants. Le potentiel de phytostabilisation de l'U est prometteur chez la renoncule peltée à feuilles de sanicle⁶ avec un facteur de bioconcentration (FBC⁷) de 16 000. De par leur capacité phytoextractrice⁸, les hydrophytes⁴ sont intéressantes pour la recherche industrielle. En effet, la mousse des fontaines accumule jusqu'à 4 979 mg U/kg MS⁹. De même, des callitriches¹⁰ stockent jusqu'à 1 963 mg U/kg MS⁹. De même, deux héliophytes⁵, le roseau à massette et le myosotis rampant, possèdent un potentiel intéressant (respectivement jusqu'à 380 et 188 mg U/kg MS⁹). En outre, la mousse présente une performance accrue

dans l'accumulation des métaux (dont cadmium, cuivre, plomb, zinc (2,3)) et les callitriches¹⁰ sont abondantes en rivière, avec une grande biomasse. Leur association apparaît essentielle pour optimiser la phytoremédiation des rivières exposées à l'érosion de gisements miniers.

D'autre part, la tolérance de certains macrophytes² aux fortes teneurs en U peut être utilisée pour contrôler la présence de ce métal dans l'eau. Deux hydrophytes⁴ (la callitriche¹⁰ des étangs, la mousse des fontaines) et un macrophyte flottant (la petite lentille d'eau) qui présentent une corrélation positive hautement significative avec les teneurs en U de l'eau, pourraient être requis dans la biosurveillance des eaux avec le développement d'indices biologiques adaptés aux contaminations jusqu'à 1 217 µg U/L. A noter, que le roseau à massette et le jonc épars possèdent un fort pouvoir de séquestration racinaire de l'U permettant la stabilisation de cet élément dans les sédiments.

Commentaire

Jusqu'à présent les macrophytes² bioaccumulateurs d'U d'intérêt étaient surtout des espèces exotiques, choisies pour leur croissance, leur biomasse et leur efficacité à accumuler ce métal sur une longue exposition (4). Toutefois, pour limiter les risques d'invasion, l'introduction de plantes exotiques est à éviter (recommandation de la DCE¹), d'où une préférence pour les espèces indigènes (1).

Cette étude est limitée dans son potentiel d'exploitation industrielle car, pour définir l'efficacité de la phytoextraction⁸, trois facteurs doivent être considérés : le FBC⁷, le FT¹¹ et le CE¹². Seul le premier paramètre a été calculé ici. En outre, dans l'étude, la durée d'exposition des spécimens n'a pu être déterminée. Il aurait été judicieux de multiplier *ex situ* des souches et de réintroduire les clones puis d'intégrer la notion de durée d'exposition (5). Cette variable temporelle permettrait de pondérer les indices de bioindication développés.

Le point fort de cet article est l'utilisation de plusieurs végétaux indigènes en adéquation avec les normes environnementales pour suivre les contaminations en U. Ce travail constitue une référence pour la conduite d'études ultérieures sur l'élaboration d'outils utilisables par les gestionnaires locaux, ainsi que sur l'impact de l'U accumulé par certaines de ces plantes dans la chaîne alimentaire.

Estimation de la toxicité des eaux usées d'origine pharmaceutique au moyen de l'algue *Scenedesmus obliquus* et de la bactérie *Vibrio fischeri*

Yu X, Zuo J, Tang X, Li R, Li Z, Zhang F. Toxicity evaluation of pharmaceutical wastewaters using the alga *Scenedesmus obliquus* and the bacterium *Vibrio fischeri*. *J Haz Mat* 2014;266:68-74.

Résumé

Ce travail porte sur l'étude d'effluents pharmaceutiques en Chine par l'utilisation de deux bioessais aquatiques (inhibition de la bioluminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* et de la croissance de la microalgue *Scenedesmus obliquus*). Yu et coll. soulignent, qu'en dépit du traitement des eaux avant rejet (influent), certaines eaux usées (effluents) des seize stations étudiées peuvent toujours contenir des substances pharmaceutiques (SP¹³) (ex. antibiotiques). L'étude de cinq paramètres physico-chimiques montre que certaines limites imposées dans les rejets ne sont pas respectées : les seuils maximaux de DCO¹⁴, de PT⁵ et d'ammoniac (NH₃) des effluents sont respectivement dépassés dans 87,5 %, 43,75 % et 12,5 % des stations.

Les auteurs montrent une toxicité des influents plus prononcée chez les organismes étudiés que celles des effluents. Leurs UT₅₀¹⁶ sont corrélées positivement avec le cumul des teneurs en DCO¹⁴ (influent + effluent). Une corrélation apparaît également entre l'UT₅₀¹⁶ de *V. fischeri* et la concentration en DCO¹⁴ des effluents. Bien que *S. obliquus* soit plus sensible à la toxicité des eaux, le test *V. fischeri* permet de détecter un plus grand nombre d'échantillons comme étant toxiques. Un nouveau type d'approche utilisant *V. fischeri* comme biomarqueur des eaux usées d'industrie pharmaceutique pourrait être ainsi mis en place.

Commentaire

Le traitement des effluents industriels est un enjeu majeur. C'est pourquoi, la Commission européenne propose de suivre le devenir dans l'eau de trois SP¹³ (6) : 17- α -éthynylestradiol, 17- β -estradiol et

diclofénac. Des innovations sont développées régulièrement par l'industrie pour traiter ces rejets et répondre à des normes en évolution. Afin de les compléter, cette publication met à jour des techniques de biosurveillance intéressantes.

Le bioessai réalisé sur les effluents à partir de *V. fischeri* présente le seuil de détection le plus prometteur. Ce protocole allie rapidité du test (quinze minutes d'exposition) et efficacité d'analyse (quantification de la bioluminescence, exempt de numération cellulaire). La DCO¹⁴ étant essentielle dans les normes de rejets (ex. réglementation des ICPE¹⁷ en France) (7), cette méthodologie basée sur *V. fischeri* pourrait être exploitée pour des rejets industriels d'autres natures. Ce microorganisme aux affinités marines et présent naturellement au sud de l'Europe, est potentiellement exploitable pour des rejets en eaux saumâtres et salées, sans avoir à éliminer le sel des échantillons d'eau par des procédés dénaturants (8). Ici, la limite du test *V. fischeri* est qu'il n'est pas spécifique des SP¹³. L'étude n'a assuré le suivi chimique que de cinq paramètres génériques des effluents, bien qu'il soit nécessaire de suivre spécifiquement des SP¹³. De plus, les teneurs en NH₃, très réduites par le traitement des eaux usées, peuvent ainsi être confondues avec une toxicité supposée due uniquement aux SP¹³.

Autre bémol à émettre concernant le calcul des corrélations : même si plusieurs localités ont été étudiées, il est essentiel d'augmenter le nombre de prélèvements par station (seulement deux ici) afin d'obtenir une bonne répétabilité.

Enfin, il faut noter que depuis 2007 *V. fischeri* est renommé *Aliivibrio fischeri* (9) bien que la norme en vigueur ISO 11348-3:2007 sur l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de cette bactérie utilise toujours le genre *Vibrio*.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études ont pour objectif commun la mise en évidence de contaminations aquatiques afin d'évaluer l'exposition aux xénobiotiques³. La première associe la détection d'U au moyen d'un cortège de macrophytes² indigènes avec que la possibilité d'extraire ce métal, pour envisager une remédiation de l'environnement. Dans la seconde, c'est l'utilisation de bactérie et microalgue cosmopolites qui est recommandée, pour mettre en évidence l'impact d'effluents industriels par l'intermédiaire d'un protocole de biomarqueur basé sur l'UT₅₀¹⁵.

Ces publications sont d'excellentes références pour des études ultérieures sur la mise au point d'outils de biosurveillance. La multiplication du nombre de mesures dans ces études reste nécessaire pour donner plus de pertinence aux indices biologiques permettant d'évaluer les perturbations, et leur permettre ainsi une applicabilité à grande échelle.

GENERAL CONCLUSION

The aim of these studies is to highlight aquatic contaminations to evaluate exposition to xenobiotics. The first one associates the U detection using native macrophyte communities and the possibility to extract this metal to remediate the environment. In the second one, the use of cosmopolite bacterium and microalga is recommended to evidence the industrial-effluent impact through UT5015-based biomarker protocol. These articles are good bases for further studies focused on the development of biomonitoring tools. The multiplication of measures in all studies remains necessary to provide relevancy to biological indices assessing disturbances, and to allow large scale applications.

Lexique

- (1) DCE : Directive cadre sur l'eau européenne.
- (2) Macrophyte : terme général désignant majoritairement tous les végétaux aquatiques.
- (3) Xénobiotique : substance étrangère à un organisme vivant.
- (4) Hydrophyte : plante vivant immergée dans l'eau toute ou partie de l'année.
- (5) Hélophyte : plante enracinée sous l'eau dont les tiges, fleurs et feuilles sont aériennes.
- (6) Renoncule peltée à feuilles de sanicle : macrophyte de la famille des Ranunculaceae. Cette plante est herbacée, flottante à submergée, oligotrophe et affectionne les eaux courantes et mortes. La particularité de cette sous-espèce de renoncule peltée est qu'elle présente des feuilles découpées comme celles du sanicle d'Europe.
- (7) FBC : facteur de bioaccumulation. Rapport de la concentration d'un élément trace métallique dans les tissus d'un végétal sur la concentration extractible de l'élément dans l'environnement immédiat et utilisé pour l'expression quantitative de la phytoaccumulation.
- (8) Phytoextraction : méthode de phytoremédiation faisant appel à des végétaux absorbant et concentrant dans certains organes les polluants de leur environnement.
- (9) MS masse de matière végétale sèche.
- (10) Callitriche : macrophyte de la famille des Plantaginaceae. Les plantes appartenant à ce genre sont herbacées, annuelles, submergées ou exondées, elles affectionnent les eaux courantes et mortes, et sont pionnières dans la colonisation des environnements aquatiques.
- (11) FT : facteur de translocation. Rapport des teneurs d'un élément trace métallique selon différents organes d'une plante afin de déterminer la répartition préférentielle du métal dans la plante.
- (12) CE : coefficient d'extraction. Rapport de la concentration d'un élément trace métallique dans les tissus d'un végétal sur la concentration totale de l'élément dans l'environnement

immédiat.

- (13) SP : substances pharmaceutiques.
- (14) DCO : demande chimique en oxygène. Consommation en O₂ requise pour oxyder la totalité des substances organiques et minérales de l'eau.
- (15) PT : phosphore total de l'eau regroupant le phosphore particulaire (biologique et minéral) et le phosphore dissous.
- (16) UT₅₀ : unité de toxicité médiane calculée par la formule 100/CE₅₀. La concentration efficace médiane (CE₅₀) est la teneur en effluent (exprimée en % de volume d'effluent) entraînant 50 % de l'effet maximal sur un organisme après un temps d'exposition (dans le cas présent, 50 % d'inhibition de la bioluminescence bactérienne ou de la croissance algale).
- (17) ICPE : Installations classées pour la protection de l'environnement. Installations et usines susceptibles de générer des risques ou des dangers et soumises à une législation et une réglementation particulières.

Publications de référence

- (1) **Parlement européen, Conseil de l'Union européenne.** Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities. 2000.
- (2) **Bleuel C, Wesenberg D, Sutter K, et al.** The use of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a bioindicator for heavy metals. 3. Cd²⁺ accumulation capacities and biochemical stress response of two *Fontinalis* species. *Sci Total Environ* 2005;**345**:13-21.
- (4) **Srivastava S, Bhainsa KC, D'Souza SF.** Investigation of uranium accumulation on potential and biochemical responses of an aquatic weed *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Bioresour Technol* 2010;**101**:2573-9.
- (5) **Delmail D, Labrousse P, Hourdin P, et al.** Micropropagation of *Myriophyllum alterniflorum* (Haloragaceae) for stream rehabilitation: first *in vitro* culture and reintroduction assays of a heavy-metal hyperaccumulator immersed macrophyte. *Int J Phytoremed* 2013;**15**:647-62.
- (7) **Michel L, Blanc P.** Arrêté du 26 août 2013 modifiant l'arrêté du 25 juillet 1997 relatif aux prescriptions générales applicables aux installations classées pour la protection de l'environnement soumises à déclaration sous la rubrique n° 2910. Journal Officiel de la République Française. 2013.
- (8) **Milosevic M, Staal KJJ, Bargeman G, et al.** Fractionation of aqueous sodium salts by liquid-liquid extraction in aqueous two phase systems. *Sep Purif Technol* 2014;**125**:208-15.
- (9) **Urbanczyk H, Ast JC, Higgins MJ, et al.** Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *Int J Syst Evol* 2007;**57**:2823-9.

Revue de la littérature

- (3) **Gecgeva G, Yurukova L.** Water pollutant monitoring with aquatic bryophytes: A review. *Environ Chem Lett* 2014;**12**(1):49-61.
- (6) **Zenker A, Cicero MR, Prestinaci F, et al.** Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *J Environ Manage* 2014;**133**:378-87.

Autres publications identifiées

Harguinteguy CA, Cirelli AF, Pignata ML. Heavy metal accumulation in leaves of aquatic plant *Stuckenia filiformis* and its relationship with sediment and water in the Suquia river (Argentina). *Microchem J* 2014;**114**:111-8.

Cet article souligne les capacités bioaccumulatrices en éléments traces métalliques du potamogeton filiforme. L'intérêt de cette recherche est d'avoir considéré le double potentiel dépolluant de cette plante : dans les eaux de surface et dans les sédiments où elle est ancrée.

Robin J, Wezel A, Bornette G, et al. Biodiversity in eutrophicated shallow lakes: Determination of tipping points and tools for monitoring. *Hydrobiologia* 2014;**723**:63-75.

La teneur en pigments chlorophylliens de certains lacs peut ici être un marqueur associé à la turbidité de l'eau résultant de l'eutrophication et donner une information précise sur l'évolution de la diversité du phytoplancton et de la microfaune.

Steffen K, Leuschner C, Müller U, et al. Relationships between macrophyte vegetation and physical and chemical conditions in northwest German running waters. *Aquat Bot* 2014;**113**:46-55.

En marge des autres études focalisées sur les xénobiotiques, ce travail démontre l'intérêt d'utiliser des communautés de macrophytes pour surveiller l'impact humain sur la morphologie fluviale et la distribution des cours d'eau.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Identification des sources de contamination des sols et évaluation des risques sanitaires liés aux métaux en Chine

Période : décembre 2013 à mars 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 : évaluation des risques, exposition, identification des sources, métaux lourds, sol

Depuis plus de trente ans, la Chine connaît un véritable essor concernant son urbanisation. En effet, en 2011, 48 % de la population chinoise vivait dans les villes, contre 18 % en 1980. Dans le même temps, cette montée de l'urbanisation s'est accompagnée d'une forte augmentation de l'industrialisation. La Chine utilise massivement le pétrole et le charbon, deux fois plus que les Etats-Unis en 2010. Depuis 2005, la Chine est le premier producteur mondial de déchets, et devient en 2010 la deuxième puissance économique mondiale, derrière les Etats-Unis et devant le Japon. Cet accroissement économique, urbain et industriel rapide engendre des conséquences notables sur la contamination de l'environnement et la santé des habitants. La Chine est devenue le premier pollueur mondial. Les scientifiques chinois commencent alors à s'interroger sur les effets sanitaires de ce développement sur la population chinoise. Ainsi, de plus en plus d'études d'évaluation de risques sont réalisées dans ce pays, où les chercheurs tentent d'identifier la contribution des différentes sources de contamination sur la qualité de l'environnement. Leur objectif est de pouvoir mettre en place des méthodes de suivi, de gestion et de contrôle de la pollution et des politiques de prévention, afin de réduire les conséquences environnementales et sanitaires de la croissance.

Les deux articles présentés s'attachent à mettre en œuvre une évaluation du risque sanitaire associé à l'exposition d'enfants et d'adultes aux métaux, à partir des concentrations mesurées dans les sols et de différentes données environnementales.

Identification des sources de métaux dans les sols urbains du quartier industriel chimique Tanggu à Tianjin en Chine et évaluation des risques sanitaires

Zhao L, Xu Y, Hou H, Shangguan Y, Li F. Source identification and health risk assessment of metals in urban soils around the Tanggu chemical industrial district, Tianjin, China *Sci Total Environ* 2014;**468-469**:654-62.

Résumé

Le district de Tanggu, dans la province de Tianjin située dans le nord de la Chine, est une zone très fortement industrialisée, qui compte 1,5 millions d'habitants. Cette étude a pour objectifs (i) d'évaluer les concentrations et la distribution spatiale d'arsenic (As) et de métaux (Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb et Zn) dans les sols urbains, (ii) d'explorer l'influence des propriétés du sol sur la distribution des métaux, (iii) d'identifier leurs principales sources de contamination à l'aide d'analyses statistiques multivariées (ACP¹ et ARD²) et, (iv) d'évaluer les risques non cancérogènes associés à l'exposition à ces métaux, en utilisant la méthode de l'US-EPA³ (1) chez les enfants et adultes du secteur de Tanggu.

Ainsi, soixante-dix échantillons composites⁴ de sols ont été prélevés sur l'horizon 0-5 cm, pour une zone de 400 km²

suivant huit transects⁵. Les concentrations totales en métaux et certaines propriétés physico-chimiques (pH, teneur en MO⁶, CEC⁷, granulométrie) ont été déterminées. Les concentrations en Cd, Cu, Hg, Pb et Zn des sols sur les huit transects⁵ sont respectivement supérieures de 1,8 [2] - 1,4 [1,6] - 6,6 [5,1] - 1,7 [2,1] et 2 [1,9] fois au fond géochimique de la Chine (2) [et de Tianjin] mais restent inférieures aux normes de qualité des sols en Chine (3). En revanche, les concentrations en Cr et Ni des sols sont quasi identiques à celles du fond géochimique naturel de la Chine (2). Les résultats obtenus par analyse de distribution spatiale et ACP¹ indiquent que Cu, Pb et Zn proviendraient d'une même source de contamination, associée à une zone de trafic intense autour du port, près de l'estuaire et de ses activités industrielles. L'origine du Hg serait attribuée aux activités chimiques et de combustion du charbon, tandis que le Cd serait issu des boues d'épuration des eaux usées ainsi que par les activités industrielles. Enfin, l'As, qui présente une distribution très dispersée, serait la résultante de la contamination provenant des usines de fabrication de produits chimiques.

L'ARD² montre que seules les teneurs en MO⁶, en azote total et en matières fines des sols sont corrélées positivement avec Cu, Cr, Ni, Pb et Zn. Il n'existe aucun lien avec le pH et la CEC⁷ des sols. L'évaluation des risques non cancérogènes indique un risque élevé

chez les enfants et les adultes se trouvant dans les zones nord-ouest et sud-est de Tanggu, proches de la ZI⁸.

Commentaire

La démarche mise en œuvre repose sur des analyses de distribution spatiale et des analyses multi-variées simples (ACP¹ et ARD²) avant d'intégrer les résultats obtenus dans une démarche d'évaluation de risques.

La zone étudiée de 400 km² n'a fait l'objet que de 70 échantillons composites réalisés sur des sols industriels, résidentiels, de quartiers commerciaux, parcs, terrains, ce qui semble être peu représentatif et non homogène pour la description d'une surface aussi étendue. Il est alors regrettable qu'il n'y ait pas plus d'échantillons pour optimiser les résultats des analyses statistiques, effectuées sur un secteur à forte densité de population. De plus, même si la topographie a été évoquée, les activités polluantes n'ont pas été repérées sur les cartes et l'influence des vents dominants du secteur n'a pas été prise en compte pour l'identification des sources de pollution.

Les analyses des propriétés physico-chimiques des sols auraient pu être plus détaillées et inclure notamment des paramètres comme les teneurs en carbonate, P, K, Mg, Ca et Na des sols ainsi que le rapport C/N⁹. Ainsi, une classification aurait pu être établie, et des relations plus intéressantes auraient alors pu être mises en évidence entre les teneurs en métaux, les propriétés physico-chimiques des sols et la présence de sources anthropiques¹⁰ de contamination du secteur.

En ce qui concerne l'évaluation des risques non cancérogènes, seules les concentrations totales en métaux présents dans les sols ont été utilisées comme données d'entrées spécifiques de la zone étudiée. Aucune autre donnée propre au secteur n'a été prise en compte comme les concentrations en métaux dans l'air, l'eau potable, les poussières, les denrées alimentaires produites sur le secteur ou les habitudes de vie et le niveau socio-économique de la population. Les résultats de cette analyse de risques sont donc limités et les conclusions obtenues mériteraient d'être approfondies grâce à de nouvelles données de terrain.

Cependant, malgré ses limites (nombre restreint d'échantillons et faible nombre de paramètres pris en considération), cette étude présente des résultats préliminaires quant aux sources métalliques de contamination et aux risques sanitaires associés, qui devraient être confirmés par des études complémentaires.

Risques pour la santé liés à l'exposition des enfants à l'As, au Se, au Pb et à d'autres métaux lourds près de la plus grande usine de cokéfaction en Chine

Cao S, Duan X, Zhao X, Ma J, Dong T, Huang N, Sun C, He B, Wei F. Health risks from the exposure of children to As, Se, Pb and other heavy metals near the largest coking plant in China. *Sci Total Environ* 2014;472:1001-9.

Résumé

La province de Shanxi, située au nord-est de la Chine, demeure une des plus importantes, en ce qui concerne la production et l'utilisation industrielle du charbon. Au sud de Shanxi se trouve une unique cokerie. Les auteurs ont étudié l'impact de cette cokerie sur la contamination en métaux de l'environnement et sur la santé d'enfants résidant à proximité.

Ainsi, soixante-douze enfants âgés de sept à douze ans, issus de la seule école maternelle située à côté de la cokerie, ont participé à cette étude. Les objectifs étaient (i) de quantifier les concentrations de douze métaux dans l'eau potable, les aliments produits localement, l'air, les sols et les poussières, (ii) d'estimer les niveaux d'imprégnation aux métaux des enfants, (iii) d'identifier la part de chaque source d'exposition par rapport à l'imprégnation des enfants et enfin, (iv) d'évaluer les risques sanitaires cancérogènes et non cancérogènes, liés à chacun des compartiments environnementaux, pour chaque métal chez les enfants.

Pour ce faire, treize prélèvements d'eau potable ont été effectués chez quelques familles et deux dans l'école. Treize échantillons de sols sur l'horizon 0-20 cm ont été réalisés dans des zones résidentielles habitées et abandonnées, ainsi que dans des champs cultivés. Les poussières ont été collectées au bord de la route et dans les salles de classes et les escaliers de l'école. De plus, dix-sept variétés de légumes frais ont été analysées ainsi que neuf échantillons de blé (aliment de base dans le secteur), tous produits dans le secteur. Les concentrations en métaux des PM_{2,5}¹¹ ont été mesurées à l'intérieur et à l'extérieur de l'école. Enfin, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur les soixante-douze enfants, et un questionnaire sur les habitudes de vie a été renseigné par chaque famille.

Les résultats sont les suivants :

Concernant les sols et les poussières, les concentrations en métaux sont identiques à celles retrouvées habituellement autour de Shanxi.

Les teneurs en métaux dans l'eau potable sont inférieures aux normes de qualité appliquées en Chine.

Pour les légumes et le blé produits sur le secteur, les concentrations en As, Cr, Se et Zn dépassent les valeurs limites définies par les normes chinoises.

Pour les PM_{2,5}, seules les concentrations en Cu, Cr et Zn sont élevées mais restent inférieures à celles mesurées dans d'autres ZI chinoises.

Cu, Cr et Zn sont les éléments les plus abondants dans le sang des enfants. La moyenne de leur plombémie est de 52,5 µg/L et est inférieure à celle des enfants chinois âgés de cinq à six ans (80,7 µg/L) (4).

Les auteurs ont ensuite calculé, sur la base des données obtenues pour chaque compartiment de l'environnement et à partir des questionnaires, les doses quotidiennes d'exposition aux métaux apportées aux enfants en utilisant la méthode de l'US-EPA³ (1). Selon les résultats obtenus, l'ingestion alimentaire joue un rôle prépondérant dans l'apport des doses moyennes journalières en métaux en particulier pour Cu (99,13 %), Ni (99,01 %) et Mn (99,86 %). Les apports de Cr, Ni, As et Se dans les aliments de

base représenteraient la majorité de la dose journalière totale, ce qui implique que ces éléments chimiques pourraient présenter un risque plus élevé pour les enfants de la région, par la voie de l'ingestion. Ainsi, concernant la voie de l'ingestion, les risques non cancérigènes seraient liés à l'exposition à As, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb, Sb et les risques cancérigènes à la présence de Cr et Ni. Pour la voie de l'inhalation, les risques cancérigènes seraient induits par une exposition en As, Cr et Mn et les risques non cancérigènes par As. Les risques cancérigènes et non cancérigènes issus de la voie cutanée s'avèreraient être négligeables.

Commentaire

Nous pouvons nous interroger sur la représentativité du faible nombre d'échantillons prélevés dans l'ensemble des compartiments environnements et du nombre d'enfants participant à l'enquête vis-à-vis de la zone étudiée dans cette étude dont la superficie n'est pas définie.

Les prélèvements de sols ont été réalisés sur un horizon 0-20 cm, au lieu de l'horizon 0-5 cm qui aurait été plus approprié pour caractériser les éléments pouvant être en contact avec les mains des enfants, et participer à l'ingestion ou au contact. Les échantillons ont été prélevés sur des sols hétérogènes, allant de sols résidentiels à des sols cultivés, qui ne présentent pas les mêmes modes d'utilisation et donc les mêmes caractéristiques. Les prélèvements dans les différents compartiments de l'environnement sont également en petit nombre, notamment en ce qui concerne les sols et l'eau potable. Cependant, plusieurs compartiments sont pris en compte, notamment pour les calculs d'évaluation de risque, ce qui confère à cette étude un intérêt particulier étant donné que les analyses de multi-expositions sont lourdes et difficiles à réaliser.

Les informations concernant les méthodes analytiques font référence à des publications en langue chinoise ou non disponibles, ce qui rend impossible la consultation de ces éléments et de ce fait la comparaison avec d'autres résultats, notamment les concentrations en métaux dans les sols.

En ce qui concerne la classe d'âges des enfants, celle-ci est très large et inclut des enfants ayant des comportements très différents vis-à-vis du contact main-bouche, ce qui ne fait pas des soixante-douze enfants un groupe homogène d'étude.

Cette étude mériterait des compléments d'informations, notamment sur la zone d'étude, et il faudrait augmenter le nombre d'échantillons afin de pouvoir corrélérer plus facilement les résultats concernant l'imprégnation des enfants d'une classe d'âge plus restreinte. A noter qu'il existe des erreurs concernant les unités des résultats sanguins présentés dans les tableaux.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La Chine est un pays en plein développement urbain et économique, qui, par l'utilisation abondante d'énergies fossiles, entraîne une dégradation de l'environnement, qui induit des conséquences sur la santé de sa population. Les évaluations des risques sanitaires pour les populations vivant à proximité de sites contaminés doivent, pour être les plus représentatives, valides et précises, intégrer un grand nombre de données de terrain, ce qui les rend difficile à mettre en œuvre.

Ces deux publications tentent de réaliser une évaluation du risque sanitaire à partir de données recueillies sur leurs secteurs d'étude et d'identifier les sources de la pollution. Néanmoins, le nombre de prélèvements effectués ne semble pas toujours suffisant et les techniques de prélèvements et d'analyses ne sont pas standardisées, ce qui ne permet pas d'en comparer, ni d'analyser pleinement les résultats acquis. Néanmoins les démarches sont intéressantes et devraient être développées en utilisant des techniques déjà validées et publiées dans ce domaine. Il conviendrait également de diversifier les analyses physico-chimiques afin d'identifier plus facilement les sources de pollution. Ceci permettrait alors d'atteindre les objectifs souhaités, à savoir la mise en place de politiques de gestion et de prévention des risques pour tenter d'enrayer les conséquences sanitaires et environnementales liées au développement très rapide du pays.

GENERAL CONCLUSION

China is a country in urban and economic development, which, by the extensive use of fossil fuels leads to a degradation of the environment, which has consequences on the health of its population. The health risk assessments of populations living near contaminated sites need to be the most representative, valid and accurate, integrate a large number of field data which makes it difficult to implement.

Both publications are trying to achieve a health risk assessments using data collected on their study areas and identify sources of pollution. However, the number of samples taken does not always seem sufficient and sampling techniques and analysis are not standardized, which does not allow to compare, or to fully analyze the results obtained. Nevertheless, the approaches are interesting and should be developed using techniques already validated and published in this area. It should also be diversified physicochemical analyzes to more easily identify the sources of pollution. This would then achieve the desired objectives, namely the establishment of management policies and risk prevention to try to stop the health and environmental consequences associated with very rapid development.

Lexique

- (1) ACP : analyse en composantes principales
- (2) ARD : analyse relationnelle des données (ou ACR : Analyse Canonique de Redondance)
- (3) US-EPA *Exposure factors handbook* : l'exposition factors handbook fournit un résumé des données statistiques disponibles sur les différents facteurs utilisés pour évaluer l'exposition humaine. Ce manuel s'adresse aux évaluateurs d'exposition à l'intérieur de l'Agence ainsi qu'à l'extérieur, qui ont besoin d'obtenir des données sur les facteurs standard pour calculer l'exposition humaine aux produits chimiques toxiques. Ces facteurs comprennent : la consommation d'eau potable, l'ingestion de sol, les taux d'inhalation, les facteurs dermiques y compris la zone de la peau et les facteurs d'adhérence du sol, la consommation de fruits et légumes, poissons, viandes, produits laitiers, les aliments autoproduits, la consommation de lait maternel, les facteurs liés à l'activité humaine, les produits de consommation utilisés et les caractéristiques résidentielles.
- (4) Composite : ensemble d'échantillons unitaires prélevés sur une certaine superficie et qui sont ensuite soigneusement mélangés pour n'en constituer qu'un seul.
- (5) Transect : ensemble de relevés réalisés le long d'un tracé linéaire

- (6) MO : Matière organique. Les matières organiques du sol assurent de nombreuses fonctions agronomiques et environnementales. Elles jouent un rôle de tampon vis-à-vis des autres milieux (biosphère, eaux, sous-sol) et participent au cycle des gaz à effet de serre. Elles améliorent la fertilité, l'aération, la réserve en eau et la biodiversité du sol. Elles limitent la compaction et l'érosion hydrique et favorisent le piégeage des métaux toxiques ou des micropolluants organiques.
- (7) CEC : capacité d'échange cationique : mesure chimique permettant d'approcher la capacité du sol à fixer de façon réversible les cations échangeables (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺,...).
- (8) ZI : zone Industrielle
- (9) C/N : le rapport Carbone/Azote est un indicateur du fonctionnement du sol et de son activité biologique. Elevé (>12), il est le signe d'une dégradation trop lente de la MO. Faible (<8), il met en évidence une activité trop importante du sol.
- (10) Anthropique : relatif à l'activité humaine. Qualifie tout élément provoqué directement ou indirectement par l'action de l'homme
- (11) PM_{2,5} : particules en suspension (notées « PM » en anglais pour « Particulate Matter ») dont le diamètre est inférieur à 2,5 micromètres, appelées « particules fines »

Publications de référence

- (1) US-EPA. *Exposure factors handbook*. Washington DC: Office of research and development, national center for environmental assessment; 1997
- (2) CEMS. *Background values of elements in soils of China* (in Chinese). Chinese environmental monitoring station. Beijing: *China Environmental Press*; 1990.
- (3) CEPA. *Environmental quality standard for soils* (GB 15618-1995) (in Chinese). *Chinese Environmental Protection Administration*; 1995
- (4) He K, Wang S, Zhang JL. Blood lead levels of children and its trend in China. *Sci Total Environ* 2009;**407**:3986-93.

Revue de la littérature

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

Werkenthin M, Kluge B, Wessolek G. Metals in European roadside soils and soil solution - A review *Environ Pollut*. 2014;**189C**:98-110

Autres publications identifiées

Mitchell RG, Spliethoff HM, Ribaud LN, et al. Lead (Pb) and other metals in New York City community garden soils: factors influencing contaminant distributions. *Environ Pollut*. 2014;**187**:162-9

Les auteurs ont réalisé des analyses de métaux lourds sur 564 échantillons de cinquante-quatre sols urbains de la ville de New York. Les résultats indiquent un dépassement des valeurs recommandées pour 70 % des jardins avec des teneurs importantes concernant Pb et Ba.

Rodrigues SM, Cruz N, Coelho C, et al. Risk assessment for Cd, Cu, Pb and Zn in urban soils: chemical availability as the central concept. *Environ Pollut.* 2013;**183**:234-42.

Cette étude montre que la bioaccessibilité orale des métaux dans les sols urbains est plus élevée que dans les échantillons provenant de zones rurales, industrielles et minières. Cette augmentation est probablement liée à l'origine de la présence des métaux.

Li Z, Feng X, Bi X, et al. Probing the distribution and contamination levels of 10 trace metal/metalloids in soils near a Pb/Zn smelter in Middle China. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014;**21**:4149-62.

Les auteurs ont étudié la distribution horizontale et verticale de 10 métaux dans les sols situés à proximité d'une grande usine métallurgique de plomb et de zinc. Les résultats indiquent que les concentrations métalliques des sols diminuent avec l'éloignement de la fonderie et la profondeur du sol.

Shi GL, Lou LQ, Zhang S, et al. Arsenic, copper, and zinc contamination in soil and wheat during coal mining, with assessment of health risks for the inhabitants of Huaibei, China. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2013;**20**:8435-45.

Des études concernant une contamination en As, Cu et Zn de sols agricoles et des cultures de blé ont été réalisées sur deux zones distinctes dans la région de Huaibei en Chine. Les résultats montrent une différence notable entre les deux zones. Une analyse de risque a montré qu'il pourrait exister des risques pour la santé des populations qui consommeraient le blé produit localement.

Zhou L, Yang B, Xue N, et al. Ecological risks and potential sources of heavy metals in agricultural soils from Huanghuai Plain, China. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014;**21**:1360-9.

224 échantillons de sols agricoles de la plaine Huanghuai en Chine ont été étudiés concernant leurs concentrations en métaux lourds qui restent voisines du fond géochimique naturel de la région. Néanmoins, trois groupes distincts de métaux ont pu être mis en évidence selon leur distribution. Une estimation des risques écologiques basée sur la contamination de ces sols a pu être effectuée.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

Propagation dans l'environnement des microorganismes et autres particules organiques issus des élevages intensifs et conséquences pour la santé des riverains.

Période : décembre 2013 à mars 2014

Anne Oppliger | Anne.Oppliger@hospv.d.ch

IST – Epalinges-Lausanne – Suisse

Mots clés : bioaérosols, bactéries aéroportées, contamination de l'air, dissémination bactérienne aéroportée, élevages intensifs, poussière organique, SARM

Les élevages d'animaux de rente hébergent de plus en plus de bêtes. Cette situation génère une accumulation de poussière organique, constituée de particules inertes et de microorganismes, issus de la nourriture, de la litière, des matières fécales, des pellicules de la peau, des poils, etc. L'activité des animaux et l'activité professionnelle favorisent une remise en suspension de cette poussière, qui peut se propager à l'extérieur. Ces émissions de particules organiques dans l'environnement soulèvent des inquiétudes pour la santé des riverains. Ces craintes sont légitimes, puisque les problèmes respiratoires, allergiques ou toxiques sont bien connus chez les travailleurs agricoles exposés à de fortes doses de poussières organiques. Un autre risque sanitaire lié aux élevages intensifs d'animaux est la dissémination de bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'environnement avec, pour éventuelle conséquence, une transmission de ces souches aux personnes résidant à proximité. Cette problématique est bien connue dans les élevages de porcs fréquemment colonisés par des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline), qui sont transmis aux éleveurs. Les deux études analysées ci-dessous ont investigué cette problématique de dissémination des particules organiques dans l'environnement et les conséquences sur la santé des riverains.

La première a étudié le lien entre le fait de résider à proximité de fermes d'élevage d'animaux et la prévalence de maladies respiratoires. La deuxième a étudié le risque de colonisation nasale par des SARM dans une population de vétérans vivant à proximité d'élevages intensifs de porcs.

Pollution de l'air autour des élevages intensifs : liens avec l'asthme, la rhinite allergique et les BPCO chez les habitants vivant à proximité.

Smit LAM, Hooiveld M, van der Sman-de Beer F, Opstal-van winden AWJ, Beekhuizen J, Wouters IM, Yzermans CJ, Heederik D. Air pollution from livestock farms, and asthma, allergic rhinitis and COPD among neighbouring residents. *Occ Environ Med* 2014;71:134-140.

Résumé

Cette étude, réalisée en Hollande, a pour objectifs : a) d'investiguer l'association entre des indicateurs de pollution particulaire issue de fermes d'élevage et des maladies respiratoires (asthme, rhinite allergique et broncho-pneumopathie chronique obstructive = BPCO¹) parmi les habitants du voisinage de ces fermes, et b) d'évaluer l'association entre le niveau d'endotoxines² retrouvées au domicile de ces habitants et le niveau d'exposition à des fermes situées dans un rayon d'un kilomètre. Pour toutes les fermes, l'émission de PM₁₀³ (g/année) a été modélisée, en tenant compte de plusieurs facteurs comme le nombre et le types d'animaux, ainsi que le type d'élevage. La population étudiée provient de la

patientèle de vingt-sept cabinets de médecine. Les dossiers de 92 548 patients de soixante-dix ans ou moins ont été utilisés. Plus de la moitié et 95 % des participants vivent respectivement dans un rayon de 500 m et de 1 000 m d'au moins un élevage d'animaux, surtout des bovins et des porcins. Les effets confondants tels le tabagisme, les caractéristiques du domicile, le niveau d'éducation, la profession et le fait d'avoir vécu son enfance dans une ferme ont été investigués par le biais d'un questionnaire envoyé à une sous-population d'adultes. La collecte d'endotoxines² dans les maisons des participants a été faite au moyen de collecteurs électrostatiques de poussière (lingettes), déposés dans le salon durant deux semaines à une hauteur d'au moins 1,5 m. Le contenu en endotoxines¹ de cette poussière sédimentée a ensuite été mesuré dans 493 prélèvements.

Les auteurs ont trouvé que les patients vivant très près des fermes (50-280 m) ont une probabilité moindre de souffrir de rhinite allergique et de BPCO¹ que les patients vivant à plus de 640 m des fermes. Et cet effet protecteur est encore plus fort pour ceux résidant à moins de 50m des fermes (environ deux fois moins de probabilité de souffrir des trois maladies respiratoires que les résidents situés à > 640m des fermes). Le nombre de

fermes dans un rayon de 500 m est aussi associé négativement avec l'asthme et la BPCO¹. En revanche, la présence de ferme d'élevage de visons à moins de 500 m est associée avec une augmentation d'asthme et de rhinite allergique chez les résidents. Les questionnaires remplis par les 815 patients montrent en outre, que ceux résidant à moins de 500 m d'une ferme sont significativement plus jeunes, ont un niveau d'éducation plus élevé, ont plus souvent grandi dans une ferme et possèdent plus souvent un ou plusieurs animaux de compagnie. En tenant compte de ces facteurs confondants, les indicateurs de pollution émise par les fermes restent associés à une prévalence plus faible de maladies respiratoires chez les habitants du voisinage de ces fermes. Concernant le niveau d'endotoxines² retrouvées dans les maisons situées dans un rayon de 500 m d'une ferme, il n'est associé ni au niveau d'émission de PM₁₀³ des fermes, ni à la distance de la ferme la plus proche, ni au nombre de fermes, ni à la présence d'animaux spécifiques. En revanche, les participants plus jeunes, ceux vivant dans des maisons avec des moisissures intérieures visibles, ceux vivant dans une ferme et ceux possédant un ou plusieurs animaux de compagnie ont 1,3 à 1,7 fois plus d'endotoxines² par m² dans leur salon.

Commentaire

Cette étude de grande envergure tient compte des principaux facteurs confondants pouvant influencer les résultats obtenus. Ces résultats sont très importants et plutôt rassurants, puisqu'ils montrent, que les personnes vivant dans le voisinage direct d'élevages d'animaux ont moins de probabilités de développer un asthme, une rhinite allergique ou une BPCO¹ que les personnes vivant à plus grande distance de ces élevages. Les auteurs restent toutefois prudents dans leurs conclusions, en précisant que leurs résultats devraient être confirmés par une analyse plus fine des dossiers médicaux des participants, et qu'il se peut aussi que les personnes habitant près des fermes et qui souffraient de maladies respiratoires aient déménagé en zone urbaine. Cependant, cet effet protecteur des « polluants » provenant d'élevages d'animaux contre l'asthme et les allergies avait déjà été mis en évidence dans plusieurs études (1-3), et est expliqué en partie par la théorie hygiéniste. Cette théorie admet qu'une exposition précoce ou soutenue à des microorganismes environnementaux favorise la maturation du système immunitaire et diminue ainsi les réactions allergiques. Toutefois, des études montrant des résultats inverses, c'est à dire une augmentation des problèmes respiratoires chez les personnes vivant à proximité d'élevages d'animaux existent aussi (4, 5). L'association positive entre la présence d'élevage de visons avec l'asthme et la rhinite allergique des résidents reste inexpliquée. Il se peut que ces animaux émettent des particules avec un plus fort potentiel allergène que les autres animaux présents dans cette étude (porcs, poulets, bovins, chèvres et moutons). Le résultat concernant les effets sur la BPCO¹ reste, lui aussi, inexpliqué, car un effet protecteur des particules n'est pas plausible pour ce genre de pathologie. La nécessité de prendre en compte toutes les expositions individuelles (professionnelle

et domestique) des personnes et tous les facteurs confondants, y compris les facteurs génétiques, est primordiale pour identifier clairement les facteurs déterminants associés à l'apparition de ces maladies respiratoires.

La proximité de résidence à des élevages intensifs hébergeant de grandes quantités de porcs est associée à une augmentation du risque, chez les vétérans, d'être colonisé par des SARM lors de l'admission à l'hôpital dans une région rurale de l'état d'Iowa.

Carrel M, Schweizer ML, Vaughan Sarrazin M, Smith TC, Perencevich EN. Residential proximity to large numbers of swine in feeding operation is associated with increased risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at time of hospital admission in rural Iowa veterans. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 2014;35:190-192.

Résumé

Cette étude, réalisée dans l'Iowa aux USA, explore le lien entre le portage nasal de SARM chez des vétérans et la proximité de leur résidence à des élevages de porcs. Les données collectées sont issues de dossiers médicaux d'un hôpital de région rurale. Cet hôpital procède à un dépistage systématique de SARM au niveau nasal chez tous les vétérans lors de leur admission. La proximité et le niveau d'exposition des vétérans aux élevages de porcs ont été déterminés en fonction de la présence ou non d'élevages dans un rayon de 1 610 m (1 mile) autour de leur habitation ainsi que du nombre d'animaux présents. Les expositions sont considérées comme faibles s'il y a moins de mille unités d'animaux⁴, alors qu'elles sont considérées comme fortes s'il y a plus de mille unités d'animaux⁴ dans le rayon.

Les résultats montrent que 6,8 % (soit 119) des 1 746 admissions de vétérans admis (impliquant 1 036 vétérans distincts, certains ayant été admis plusieurs fois) sont porteurs de SARM. Il est apparu que la colonisation nasale par des SARM n'est pas différente entre les vétérans exposés à des élevages comparés à ceux qui ne sont pas exposés à des élevages. En revanche, parmi les vétérans exposés, le risque d'être porteur de SARM est environ deux fois plus élevé chez ceux fortement exposés comparé à ceux faiblement exposés. Une association entre l'âge et la colonisation est aussi observée. En tenant compte de l'âge et des admissions multiples, la probabilité d'être colonisé par des SARM chez les vétérans fortement exposés est trois fois plus élevée que chez les vétérans peu ou pas exposés.

Commentaire

Cette étude se base sur une grande population, mais comme souligné par les auteurs, les résultats ne tiennent pas compte de facteurs confondants importants (niveau socio-économique, séjours dans des établissements de soins, ménage commun avec des personnes travaillant dans des établissements de soins ou ayant des contacts étroits avec des porcs, contact personnel occasionnel avec des porcs ou des éleveurs de porcs) qui peuvent

avoir un rôle important dans le portage de SARM. De plus, les auteurs signalent aussi, qu'étant donné que les SARM isolés chez ces vétérans n'ont pas été génotypés, il n'est pas possible d'être certain que ces souches proviennent des porcs. Il aurait été intéressant de comparer les données des vétérans habitant dans un rayon plus restreint que 1 610 m d'un élevage, afin de mieux cerner l'effet de proximité directe de ces élevages. Les auteurs ne documentent pas les résultats des admissions multiples. La persistance ou non de la colonisation par des SARM, au cours du temps, chez ces vétérans aurait été un paramètre intéressant à connaître.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces travaux montrent que les personnes résidant à proximité d'élevages d'animaux ne développent pas plus de maladies respiratoires que les personnes résidant à plus de 1 km de ces élevages. Au contraire, la prévalence d'asthme, de rhinite allergique et de BPCO est plus faible chez les personnes vivant à moins de 500 m d'une ferme. Ainsi, comme déjà suggéré auparavant, l'exposition à de faibles doses de poussières organiques semble avoir un effet protecteur contre certains problèmes allergiques alors que l'exposition à de fortes doses est vivement déconseillée en raison de son impact sur la santé respiratoire. Le risque lié à la transmission de l'animal à l'homme de bactéries résistantes aux antibiotiques existe certainement dans les élevages utilisant beaucoup d'antibiotiques, mais ce risque doit être mieux caractérisé en tenant compte de tous les facteurs confondants et en cernant mieux le périmètre d'influence des élevages.

GENERAL CONCLUSION

These studies show that the people living close to livestock farms do not develop more respiratory diseases than those living at more than 1 km. On the contrary, it appears that living within 500 m from a farm contribute to the reduction of asthma, allergic rhinitis and BPCO. This confirms that exposure to low levels of organic dust seems to have a protective effect against certain allergic problems while exposure to high levels of organic dust is known to cause adverse respiratory health effects. The risk of transmission, from the animal to the man, of resistant bacteria exists certainly with large animal houses where a lot of antibiotics are used, but this risk must be better characterized by taking into account all the confounding factors.

Lexique

- (1) BPCO : maladie pulmonaire provoquée par une altération progressive des voies respiratoires due à l'inhalation de substances nocives. Dans la plupart des cas, c'est la fumée

de tabac qui est en cause. La BPCO est incurable, mais la progression de la maladie peut toutefois être freinée par des mesures appropriées.

- (2) 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 et 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)
- (3) PM₁₀ : désigne les poussières fines en suspension dans l'air d'un diamètre aérodynamique inférieur à 10 micromètres. La poussière fine est un mélange physico-chimique complexe, constitué de polluants d'origine naturelle ou anthropique (suie, matières géologiques, poussières d'abrasion, matières biologiques, etc). (Office fédéral de la santé publique, Suisse). Inhalée de manière chronique, et à forte dose, elle peut affecter les voies respiratoires et le système cardiovasculaire.
- (4) Unité d'animal : l'unité d'animal est une mesure de référence développée par le département des ressources naturelles d'Iowa. Elle correspond à l'unité de gros bétail (UGB) utilisée en France qui permet d'agréger le bétail de différentes espèces et de différents âges en utilisant des coefficients spécifiques établis initialement sur la base des besoins nutritionnels ou alimentaires de chaque type d'animal. Une vache laitière correspond à 1 unité d'animal alors qu'un porc de plus de 27 kilos correspond à 0,4 unité d'animal.

Publications de référence

- (1) Elliott L, Yeatts K, Loomis D. Ecological associations between asthma prevalence and potential exposure to farming. *Europ Resp* 2004;24:938-941.
- (2) MacNeill SJ, Sozanska B, Danielewicz H *et al.* Asthma and allergies: is the farming environment (still) protective in Poland? The GABRIEL Advanced Studies. *Allergy* 2013;68:771-779.
- (3) Eduard W, Douwes J, Omenaas E, Heederik D. Do farming exposures cause or prevent asthma? Results from a study of adult Norwegian farmers. *Thorax* 2004;59:381-386
- (4) Mirabelli MC, Wing S, Marshall SW, Wilcosky TC. Asthma symptoms among adolescents who attend public schools that are located near confined swine feeding operations. *Pediatrics* 2006;118:E66-E75
- (5) Radon K, Schulze A, Ehrenstein V, van Strien RT, Praml G, Nowak D. Environmental exposure to confined animal feeding operations and respiratory health of neighboring residents. *Epidemiology* 2007;18:300-8.

Autres publications identifiées

Awad YM, Kim S-C, Abd El-Azeem SAM *et al.* Veterinary antibiotics

avoir un rôle important dans le portage de SARM. De plus, les auteurs signalent aussi, qu'étant donné que les SARM isolés chez ces vétérans n'ont pas été génotypés, il n'est pas possible d'être certain que ces souches proviennent des porcs. Il aurait été intéressant de comparer les données des vétérans habitant dans un rayon plus restreint que 1 610 m d'un élevage, afin de mieux cerner l'effet de proximité directe de ces élevages. Les auteurs ne documentent pas les résultats des admissions multiples. La persistance ou non de la colonisation par des SARM, au cours du temps, chez ces vétérans aurait été un paramètre intéressant à connaître.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces travaux montrent que les personnes résidant à proximité d'élevages d'animaux ne développent pas plus de maladies respiratoires que les personnes résidant à plus de 1 km de ces élevages. Au contraire, la prévalence d'asthme, de rhinite allergique et de BPCO est plus faible chez les personnes vivant à moins de 500 m d'une ferme. Ainsi, comme déjà suggéré auparavant, l'exposition à de faibles doses de poussières organiques semble avoir un effet protecteur contre certains problèmes allergiques alors que l'exposition à de fortes doses est vivement déconseillée en raison de son impact sur la santé respiratoire. Le risque lié à la transmission de l'animal à l'homme de bactéries résistantes aux antibiotiques existe certainement dans les élevages utilisant beaucoup d'antibiotiques, mais ce risque doit être mieux caractérisé en tenant compte de tous les facteurs confondants et en cernant mieux le périmètre d'influence des élevages.

GENERAL CONCLUSION

These studies show that the people living close to livestock farms do not develop more respiratory diseases than those living at more than 1 km. On the contrary, it appears that living within 500 m from a farm contribute to the reduction of asthma, allergic rhinitis and BPCO. This confirms that exposure to low levels of organic dust seems to have a protective effect against certain allergic problems while exposure to high levels of organic dust is known to cause adverse respiratory health effects. The risk of transmission, from the animal to the man, of resistant bacteria exists certainly with large animal houses where a lot of antibiotics are used, but this risk must be better characterized by taking into account all the confounding factors.

Lexique

- (1) BPCO : maladie pulmonaire provoquée par une altération progressive des voies respiratoires due à l'inhalation de substances nocives. Dans la plupart des cas, c'est la fumée

de tabac qui est en cause. La BPCO est incurable, mais la progression de la maladie peut toutefois être freinée par des mesures appropriées.

- (2) 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 et 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)
- (3) PM₁₀ : désigne les poussières fines en suspension dans l'air d'un diamètre aérodynamique inférieur à 10 micromètres. La poussière fine est un mélange physico-chimique complexe, constitué de polluants d'origine naturelle ou anthropique (suie, matières géologiques, poussières d'abrasion, matières biologiques, etc). (Office fédéral de la santé publique, Suisse). Inhalée de manière chronique, et à forte dose, elle peut affecter les voies respiratoires et le système cardiovasculaire.
- (4) Unité d'animal : l'unité d'animal est une mesure de référence développée par le département des ressources naturelles d'Iowa. Elle correspond à l'unité de gros bétail (UGB) utilisée en France qui permet d'agréger le bétail de différentes espèces et de différents âges en utilisant des coefficients spécifiques établis initialement sur la base des besoins nutritionnels ou alimentaires de chaque type d'animal. Une vache laitière correspond à 1 unité d'animal alors qu'un porc de plus de 27 kilos correspond à 0,4 unité d'animal.

Publications de référence

- (1) Elliott L, Yeatts K, Loomis D. Ecological associations between asthma prevalence and potential exposure to farming. *Europ Resp* 2004;24:938-941.
- (2) MacNeill SJ, Sozanska B, Danielewicz H *et al.* Asthma and allergies: is the farming environment (still) protective in Poland? The GABRIEL Advanced Studies. *Allergy* 2013;68:771-779.
- (3) Eduard W, Douwes J, Omenaas E, Heederik D. Do farming exposures cause or prevent asthma? Results from a study of adult Norwegian farmers. *Thorax* 2004;59:381-386
- (4) Mirabelli MC, Wing S, Marshall SW, Wilcosky TC. Asthma symptoms among adolescents who attend public schools that are located near confined swine feeding operations. *Pediatrics* 2006;118:E66-E75
- (5) Radon K, Schulze A, Ehrenstein V, van Strien RT, Praml G, Nowak D. Environmental exposure to confined animal feeding operations and respiratory health of neighboring residents. *Epidemiology* 2007;18:300-8.

Autres publications identifiées

Awad YM, Kim S-C, Abd El-Azeem SAM *et al.* Veterinary antibiotics

contamination in water, sediment, and soil near a swine manure composting facility. *Environ Earth Sci* 2014;**71**:1433-1440

Cette étude réalisée en Corée a mesuré différentes catégories d'antibiotiques dans l'eau de surface, les sédiments et le sol à proximité d'élevages de porcs. Un effet saisonnier est observé avec de plus fortes concentrations retrouvées en hiver qu'en été. Les résultats, bien que peu nombreux, sont intéressants car ils montrent une forte contamination de l'environnement par les tétracyclines couramment utilisées dans les élevages porcins.

Yang Q, Ren S, Niu T et al. Distribution of antibiotic-resistant bacteria in chicken manure and manure-fertilized vegetables. *Environ Sci Pollut Res* 2014;**21**:1231-1241

Cette étude chinoise a recherché, par la méthode de culture, les bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques dans la litière de quatre élevages de poulets ainsi que dans une série de légumes ayant poussé dans des serres utilisant la litière de poulet comme engrais. Ces bactéries ont ensuite été identifiées par pyroséquençage. Les résultats sont très intéressants mais ne permettent pas de dire si l'antibiorésistance mesurée dans les légumes provient de la litière de poulet ou d'une résistance acquise naturellement dans l'environnement.

Garcia M, Fernandez-Barredo S, Perez-Gracia MT. Detection of hepatitis E virus (HEV) through the different stages of pig manure composting plants. *Microb Biotechnol* 2014;**7**:26-31

Cette étude espagnole, réalisée dans des élevages de porcs a pour but d'évaluer la présence de virus de l'hépatite E dans 594 échantillons de lisier de porcs à différentes étapes de maturation de compostage. Les particules virales ont été retrouvées dans les premières étapes du compostage mais pas dans les échantillons du produit final. Ceci montre que le compostage du lisier élimine les virus de l'hépatite E.

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 BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Pathologies

Cyanotoxine environnementale : implication dans des cas de sclérose latérale amyotrophique en France et mécanismes moléculaires impliqués dans les tauopathies.

Période : décembre 2013 à avril 2014

Agnès Petit-Paitel | paitel@ipmc.cnrs.fr

CNRS – Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire - UMR7275 – Valbonne – FRANCE

Mots clés : BMAA, cyanobactéries, Guam, démence, neurodégénérescence, parkinson, protéine Tau, sclérose amyotrophique latérale, toxines environnementales

L'hypothèse de la neurotoxicité' du β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA) a été évoquée pour la première fois, à l'occasion de l'étude des cas endémiques sur l'île de Guam d'une maladie neurodégénérative appelée Syndrome de Guam ou complexe sclérose latérale amyotrophique (SLA)-Parkinson-Démence. Néanmoins, du fait de la présence ubiquitaire des cyanobactéries qui produisent le BMAA à travers le monde, le problème du BMAA ne se limiterait pas aux îles du Pacifique, ni à un seul type de maladie neurodégénérative (11). En effet, il a été retrouvé des taux élevés de BMAA dans des tissus cérébraux de patients nord-américains morts de la maladie d'Alzheimer et de maladie de Parkinson, ce qui suggère un possible rôle étiologique du BMAA dans plusieurs maladies neurodégénératives dans le monde entier (12). La SLA est une pathologie neurodégénérative liée à l'atteinte des motoneurons centraux et périphériques. Il s'agit d'une pathologie rare, dont la progression est généralement rapide et l'issue toujours fatale. Afin d'étudier l'incidence de cette maladie, des registres de population ont progressivement été établis en Europe et aux Etats-Unis. Toutefois, peu de données sont disponibles en France, et les variations géographiques départementales de l'incidence de la SLA n'ont pas encore été étudiées. Le premier article sélectionné dans cette note identifie un foyer de cas de SLA dans la population vivant autour de l'étang de Thau, dans l'Hérault, et suggère une possible contamination alimentaire au BMAA *via* la consommation de moules et huîtres contaminées. Bien que le BMAA soit considéré comme un neurotoxique probable, il existe encore à ce jour peu d'explications mécanistiques et les preuves expérimentales manquent (10,13,14). Le deuxième article sélectionné apporte des données intéressantes au sujet des mécanismes moléculaires susceptibles d'être impliqués dans la neurotoxicité' du BMAA.

Exposition alimentaire au BMAA dans un agrégat spatio-temporel de sclérose latérale amyotrophique dans le sud de la France.

Masseret E, Banack S, Boumédiène F, Abadie E, Briant L, Pernet F, Juntas-Morales R, Pageot N, Metcalf J, Cox P, Camu W, The French Network on ALS Clusters Detection and Investigation. Dietary BMAA exposure in an amyotrophic lateral sclerosis cluster from Southern France. *PLoS ONE* 2013;8:e83406.

Résumé

Le but de cette étude était d'identifier des regroupements de cas de SLA dans l'Hérault, département côtier du sud de la France, et de déterminer l'existence d'une source alimentaire possible de BMAA.

De janvier 1994 à décembre 2009, 381 personnes vivant dans le département de l'Hérault ont été diagnostiquées, selon les critères internationaux, comme atteints de SLA avérée ou probable (soit

2,53 cas pour 100 000 habitants par année). L'analyse spatiale des cas de SLA dans le département a révélé l'existence de quatre foyers ayant une incidence significativement plus élevée de SLA que dans la population de référence. Deux des foyers concernent des villes situées autour de l'étang de Thau, alors que les deux autres sont dans les terres. L'analyse spatio-temporelle faite dans un second temps a permis de mettre en évidence un agrégat² composé de vingt-six villes côtières, bordant presque toutes l'étang de Thau. Pendant la période étudiée, soixante-huit cas de SLA ont été diagnostiqués dans la population vivant dans cette zone, contre 33,7 cas dans la population contrôle (5,1 cas pour 100 000 habitants par année). L'existence de ces agrégats de cas de SLA peut être due au hasard, à des facteurs génétiques, à des facteurs environnementaux ou à leur combinaison. Aucun lien familial n'ayant été mis en évidence parmi les cas de SLA étudiés, l'hypothèse génétique peut être écartée. Compte tenu de la localisation des groupes de cas de SLA autour de l'étang

de Thau, zone dédiée à la consommation et la production d'huîtres et de moules, les auteurs y ont analysé la composition du picophytoplancton³ et recherché le BMAA. Par cytométrie en flux⁴, ils ont détecté la présence de picoeucaryotes⁵ dans tous les échantillons d'eau prélevés à intervalles réguliers, entre mars 2009 et février 2010, et la présence de picocyanobactéries⁶ dans les échantillons prélevés pendant la saison chaude. La neurotoxine BMAA, ainsi qu'un isomère neurotoxique⁷, le DAB⁷, ont ensuite été quantifiés dans des moules et huîtres collectées dans l'étang de Thau, entre 1995 et 2008. Le BMAA a été détecté dans tous les échantillons et a atteint son pic de concentration dans les huîtres collectées pendant l'été, période de prolifération massive des cyanobactéries ; par contre la concentration de DAB n'a pas subi variation saisonnière.

En conclusion, les auteurs ont mis en évidence une incidence plus élevée de cas de SLA dans la zone géographique située autour de l'étang de Thau en France. Ils ont détecté la présence de picocyanobactéries⁶ dans les eaux de l'étang pendant la saison estivale et ont révélé la présence de concentrations détectables de BMAA et de DAB dans les moules et huîtres produites dans cet étang. Les auteurs émettent donc l'hypothèse d'une possible contamination alimentaire au BMAA des habitants de la région bordant l'étang de Thau qui pourrait expliquer l'incidence augmentée de SLA. Il s'agit là d'un nouvel argument en faveur d'un lien potentiel entre BMAA et SLA sporadique.

Commentaire

A l'exception des agrégats² de cas de SLA décrits dans les îles du Pacifique, l'incidence de la SLA est faible et assez homogène à travers le monde (deux cas pour 100 000 habitants par année) (1). Cependant, peu de données existent sur les variations géographiques de la SLA dans les différentes régions françaises. Une étude de ce genre a été menée récemment dans le Limousin et la presse régionale a également rapporté une incidence élevée de la SLA dans des villages de l'Isère et de Savoie (2). Dans la présente étude, les auteurs identifient un agrégat de cas de SLA autour de l'étang de Thau, dans le département de l'Hérault, et suggèrent un lien éventuel avec la consommation alimentaire de mollusques contenant la cyanotoxine BMAA. Toutefois, ce lien de causalité n'est pas démontré. Aucune étude concernant les habitudes alimentaires et le mode de vie des patients n'est disponible. De plus, beaucoup d'autres facteurs exogènes tels que l'exposition à des pesticides, des métaux lourds ou des solvants sont susceptibles d'influencer la survenue de la maladie (3). L'approche présentée dans cette étude pourrait cependant constituer une méthodologie favorable à l'identification de facteurs environnementaux associés à la survenue de la maladie. De plus, cette étude permet de mettre en évidence la présence de concentrations augmentées des neurotoxines BMAA et DAB dans les huîtres de l'étang de Thau dans la période estivale, ce qui pourrait permettre de mettre en place des mesures d'informations, visant à limiter la consommation de ces produits durant l'été selon le principe de précaution.

La tauopathie liée à la démence parkinsonienne de Guam implique la protéine phosphatase 2A.

Arif M, Kazim SF, Grunke-Iqbal Inge, Garruto RM, Iqbal K. Tau pathology involves protein phosphatase 2A in Parkinsonism-dementia of Guam. *Proc Natl Acad Sci* 2014;111: 1144-9.

Résumé

De nombreuses études ont cherché à identifier des facteurs de risque pour le complexe SLA-Parkinson-Démence) de l'île de Guam. L'exposition à la neurotoxine BMAA en serait un. Ce complexe est caractérisé par la présence dans le cerveau de lésions appelées « dégénérescences neurofibrillaires⁸ » composées de protéine Tau⁹ dont l'hyperphosphorylation¹⁰ serait responsable de la neurodégénérescence. Si la toxicité du BMAA sur des cellules en culture et *in vivo*, sur des motoneurons, a été démontrée, aucun mécanisme moléculaire reliant le BMAA à l'hyperphosphorylation¹⁰ de la protéine Tau⁹ n'a encore été découvert. Le but de cette étude était d'identifier les mécanismes par lesquels la neurotoxine BMAA pourrait entraîner la phosphorylation anormale de la protéine Tau⁹.

Les auteurs ont d'abord montré la diminution de l'activité de la phosphatase¹¹ PP2A, enzyme qui régule la phosphorylation de la protéine Tau, dans des cerveaux de patients atteints de PD de l'île de Guam. Cette diminution d'activité serait causée par l'augmentation de la phosphorylation sur la tyrosine 307 (Tyr307) du site catalytique de la PP2A (PP2Ac). Sur des cultures primaires de neurones, les auteurs montrent que le BMAA (1mM) provoque la diminution de l'activité de la PP2A, augmente l'hyperphosphorylation de la protéine Tau, et augmente la mort neuronale. Les mêmes résultats sont obtenus sur des tranches de cerveaux de rat. Le prétraitement par un inhibiteur des Src kinases¹², qui phosphorylent PP2Ac sur la Tyr307 et inhibent son activité, empêche cette phosphorylation. Les auteurs montrent que le BMAA active plusieurs kinases de la protéine Tau, régulées par la PP2A, ce qui suggère une action directe et indirecte du BMAA sur la phosphorylation de Tau, *via* la PP2A.

L'effet du BMAA est ensuite testé *in vivo*, par injection intracérébroventriculaire¹³, sur des rats nouveau-nés. Dans ce modèle, le BMAA induit également l'augmentation, transitoire cette fois, de la phosphorylation de la Tyr307 de PP2Ac, accompagnée de la baisse de l'activité de PP2A et de l'hyperphosphorylation échelonnée de Tau. De plus, les auteurs montrent que l'activation chimique de PP2A ou la surexpression de PP2Ac dans les cultures primaires de neurones empêche l'hyperphosphorylation de Tau induite par le BMAA, bien que, *in vitro*, le BMAA ne semble pas moduler directement l'activité de la PP2A bovine purifiée. Enfin, sur des cultures primaires de neurones, les auteurs montrent que le BMAA provoque la dissociation de PP2Ac du récepteur métabotrope au glutamate mGluR5¹⁴, effet bloqué par le co-traitement avec un antagoniste du mGluR5. En conclusion, le BMAA induirait l'activation du récepteur métabotrope au glutamate mGluR5 ce qui provoquerait la dissociation de PP2Ac du mGluR5 ayant pour conséquences l'inhibition de PP2A par la phosphorylation de son résidu Tyr307 et l'hyperphosphorylation de la protéine Tau.

Commentaire

Il existe à ce jour peu d'études permettant de comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la mort neuronale provoquée par l'exposition au BMAA. Les auteurs présentent ici des résultats intéressants permettant de répondre en partie à cette question. Ils montrent en effet que le BMAA inhiberait la phosphatase¹¹ PP2A provoquant ainsi l'hyperphosphorylation de la protéine Tau. Cette hyperphosphorylation de Tau serait à l'origine des neurodégénérescences neurofibrillaires retrouvées dans les cerveaux des patients souffrant du syndrome de Guam. Comme le signalent les auteurs, l'incidence du complexe SLA-Parkinson-Démence a fortement décliné chez les guanaméens depuis qu'ils ne consomment plus d'animaux ayant bioconcentré¹⁵ le BMAA. Des polymorphismes du gène de Tau pourraient expliquer une susceptibilité accrue de certaines familles où persistent des cas de maladies neurodégénératives (5, 6). Dans l'article analysé, aucune donnée relative aux polymorphismes du gène de Tau dans les cerveaux de patients étudiés n'est apportée. De plus, il est regrettable qu'aucune dose-réponse n'ait été effectuée dans cette étude et, bien que les auteurs justifient le choix de la concentration très élevée de BMAA utilisée (1 mM) par les taux mesurés dans les cerveaux des malades guanaméens, les résultats sont difficilement conciliables avec les résultats de la littérature. En effet, des concentrations très faibles de BMAA (10-30 μ M) peuvent suffire à provoquer un dysfonctionnement des motoneurons par un mécanisme d'excitotoxicité¹⁶ et les symptômes cliniques *in vivo*, en particulier avec des périodes d'exposition prolongée de plusieurs semaines à quelques mois, par opposition aux quelques heures d'exposition utilisées dans cet article (7,8). Des études récentes ont montré que le BMAA est incorporé dans les protéines néosynthétisées à la place d'un autre acide aminé. Ceci constituerait un réservoir neurotoxique endogène permettant la libération progressive et continue de très faibles concentrations de BMAA au cours des années (9). Le BMAA incorporé dans les protéines pourrait également causer le mauvais repliement de protéines et favoriserait l'apparition de diverses maladies neurodégénératives caractérisées par des agrégats protéiques neurotoxiques telles que la SLA, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou les démences à corps de Lewy (10).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux articles commentés traitent de deux aspects différents de la problématique du rôle de la cyanotoxine environnementale BMAA dans la survenue de maladies neurodégénératives. Le premier est une étude permettant l'identification d'un foyer de cas de SLA autour de l'étang de Thau qui pourrait, bien que le lien de causalité n'ait pas été démontré, être lié à la consommation de mollusques contaminés par le BMAA. La seconde étude présentée s'intéresse aux mécanismes moléculaires impliqués dans l'apparition des dégénérescences neurofibrillaires, lésions neuronales retrouvées dans les cerveaux des patients parkinsoniens ou atteints d'Alzheimer. Cette étude explique comment le BMAA provoquerait l'apparition de telles lésions qui sont à l'origine de la mort neuronale et de l'apparition de la démence, renforçant là l'importance que pourraient avoir les facteurs environnementaux dans la survenue de ces maladies neurodégénératives.

GENERAL CONCLUSION

The articles studied two different aspects of the problem of the role of environmental cyanotoxin called BMAA in the onset of neurodegenerative diseases. The first article leads to the identification of a cluster of ALS cases around the Thau lagoon in France. This could, although causality has not been demonstrated in the article, be linked to the consumption of shellfish contaminated with BMAA. The second study presented focuses on the molecular mechanisms involved in the development of neurofibrillary tangles, which are neuronal lesions found in the brains of "parkinsonism-dementia", conventional Parkinson's disease and also Alzheimer's disease. This study explains how the BMAA could cause or contribute to the appearance of such lesions that are causing neuronal death and the onset of dementia, strengthening indirectly the importance of environmental factors may have in occurrence of these neurodegenerative diseases.

Lexique

- (1) Neurotoxicité : toxicité au niveau des neurones.
- (2) Agrégat spatio-temporel : regroupement dans le temps et l'espace de cas de maladies, de symptômes ou d'événements de santé au sein d'une population localisée.
- (3) Picophytoplancton : organismes du plancton mesurant entre 0,2 et 2 μ m.
- (4) Cytométrie en flux : technique permettant de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, en les comptant et en les caractérisant.

- (5) Picoeucaryotes : organismes du plancton possédant un noyau et mesurant entre 0,2 et 2 μm .
- (6) Picocyanobactéries : organismes sans noyau du plancton de taille inférieure à 2 μm également appelés algues bleues-vertes.
- (7) DAB : acide γ -diaminobutyrique, isomère du BMAA.
- (8) Dégénérescences neurofibrillaires : lésions intraneuronales causées par le détachement des microtubules des protéines Tau qui s'associent en paire de filaments hélicoïdaux et forment des neurofibrilles.
- (9) Protéine Tau : protéine intervenant dans l'assemblage des microtubules qui forment le cytosquelette des axones.
- (10) Hyperphosphorylation : phénomène qui survient lorsque tous les sites de phosphorylation présents sur une molécule sont saturés.
- (11) Phosphatase : enzyme qui déphosphoryle.
- (12) Src kinases : famille regroupant neuf enzymes cytoplasmiques capables de phosphoryler d'autres protéines sur leurs résidus tyrosine.
- (13) Injection intracérébroventriculaire : injection d'une substance à l'intérieur des ventricules cérébraux, généralement les ventricules latéraux.
- (14) Récepteur métabotrope mGluR5 : récepteur du glutamate couplé aux protéines G dont l'activation active la phospholipase C. Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur et les perturbations de sa transmission sont impliquées dans de nombreuses maladies neurogénéralives.
- (15) Bioconcentration : phénomène engendrant pour une substance donnée des concentrations dans les êtres vivants supérieures aux concentrations présentes dans le milieu.
- (16) Excitotoxicité : phénomène pathologique de neurotoxicité due à l'hyperactivation neuronale causée par des neurotransmetteurs exciteurs comme le glutamate.

Publications de référence

- (1) **Al-Chalabi A, Hardiman O.** The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat Rev Neurol* 2013;**9**:617-28.
- (2) **Boumediene F, Druet-Cabanac M, Marin B, et al.** Contribution of geolocalisation to neuroepidemiological studies: incidence of ALS and environmental factors in Limousin, France. *J Neurol Sci* 2011;**309**:115-22.
- (3) **Gil J, Funalot B, Torny F, et al.** [Exogenous risk factors in sporadic ALS: a review of the literature]. *Rev Neurol (Paris)* 2007;**163**:1021-30.
- (4) **Arif M, Kazim SF, Grundke-Iqbal I, et al.** Tau pathology involves protein phosphatase 2A in Parkinsonism-dementia of Guam. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;**111**:1144-9.
- (5) **Garruto RM, Yanagihara R, Gajdusek DC.** Disappearance of high-incidence amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia on Guam. *Neurology* 1985;**35**:193-8.
- (6) **Poorkaj P, Tsuang D, Wijsman E, et al.** TAU as a susceptibility

gene for amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex of Guam. *Arch Neurol* 2001;**58**:1871-8.

- (7) **Rao SD, Banack SA, Cox PA, et al.** BMAA selectively injures motor neurons via AMPA/kainate receptor activation. *Exp Neurol* 2006;**201**:244-52.
- (8) **Rush T, Liu X, Lobner D.** Synergistic toxicity of the environmental neurotoxins methylmercury and beta-N-methylamino-L-alanine. *Neuroreport* 2012;**23**:216-9.
- (9) **Murch SJ, Cox PA, Banack SA.** A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;**101**:12228-31.
- (10) **Dunlop RA, Cox PA, Banack SA, et al.** The Non-Protein Amino Acid BMAA Is Misincorporated into Human Proteins in Place of L-Serine Causing Protein Misfolding and Aggregation. *PLoS One* 2013;**8**:e75376.
- (11) **Bradley WG, Cox PA.** Beyond Guam: cyanobacteria, BMAA and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler* 2009;**10** Suppl 2:5-6.
- (12) **Holtcamp W.** The emerging science of BMAA: do cyanobacteria contribute to neurodegenerative disease? *Environ Health Perspect* 2012;**120**:A110-6.
- (13) **Buenz EJ, Howe CL.** Beta-methylamino-alanine (BMAA) injures hippocampal neurons in vivo. *Neurotoxicology* 2007;**28**:702-4.
- (14) **de Munck E, Munoz-Saez E, Miguel BG, et al.** beta-N-methylamino-L-alanine causes neurological and pathological phenotypes mimicking Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): the first step towards an experimental model for sporadic ALS. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013;**36**:243-55.

Autres publications identifiées

Jiang L, Eriksson J, Lage S, et al. Diatoms: a novel source for the neurotoxin BMAA in aquatic environments *PLoS One* 2014;**9**:e84578.

Cette publication intéressante montre pour la première fois la production de BMAA par les diatomées, algues brunes eucaryotes très abondantes dans le phytoplancton des eaux douces et marines. Ces diatomées sont consommées par différentes espèces du zooplancton, vers, anémones et mollusques, eux-mêmes consommés par de plus gros prédateurs, jusqu'à l'homme. Les diatomées pourraient donc constituer une autre source majeure de neurotoxine BMAA susceptible de contaminer l'homme par biocentration.

Karlsson O, Jiang L, Andersson M, et al. Protein association of the neurotoxin and non-protein amino acid BMAA (beta-N-methylamino-L-alanine) in the liver and brain following neonatal administration in rats. *Toxicol Lett* 2014;**226**:1-5.

Ce papier a pour but d'étudier la distribution du BMAA sous ses formes libre ou liée aux protéines dans des rats nouveau-nés après une injection sous-cutanée unique de BMAA radiomarké. Les résultats démontrent de manière intéressante que le BMAA est capable de passer rapidement dans certaines zones du cerveau et

de se lier aux protéines dans certains organes. Néanmoins, le fait que le BMAA semble être rapidement et totalement éliminé par l'organisme des rats est en contradiction avec les données de la littérature et la méthodologie choisie est critiquable.

Al-Sammak MA, Hoagland KD, Snow DD, et al. Methods for simultaneous detection of the cyanotoxins BMAA, DABA, and anatoxin-a in environmental samples. *Toxicon* 2013;**76**:316-25.

Ce papier décrit une méthode permettant l'extraction et la détection simultanée de 3 cyanotoxines différentes, dont le BMAA et le DAB, à partir d'un même échantillon d'eau. Cette technique permet une sensibilité meilleure que les techniques de détection couramment utilisées jusque là.

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 BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 24 • Juillet 2014
Notes d'actualité scientifique

Risques sanitaires et Société

De la « gouvernance d'anticipation » à la régulation des nanotechnologies.

Période : 1^{er} décembre 2013 à 31 mars 2014

Stéphanie Lacour | stephanie.lacour@cnrs.fr

CNRS – Centre d'études pour la coopération juridique internationale (CECOJI) – Ivry-sur-Seine – France

Mots clés : **anticipation, débats, droit, gouvernance, nanotechnologies, normes, régulation**

La gouvernance d'anticipation désigne un ensemble d'activités destinées à doter une large audience sociale d'outils intellectuels utiles pour contribuer à la gestion des technologies émergentes. Parmi ces outils, les normes¹ qui viennent encadrer le développement des nanotechnologies ne sont pas toutes juridiques. C'est le point commun des deux contributions étudiées dans cette note que de prendre acte de ce fait, et donner à réfléchir sur les différentes voies qui pourraient permettre d'infléchir positivement la régulation² de ce champ. Les pistes que leurs auteurs suggèrent relèvent toutefois de positionnements différents, le premier article donnant une vision macroscopique de la régulation des nanotechnologies là où le second traite de l'inflexion à donner à leur gouvernance quotidienne.

Nanotechnologie : rhétorique, risques et régulation.

Hodge G.A., Maynard A.D. and Bowman D.M. Nanotechnology : Rhetoric, risk and regulation, *Science and Public Policy* 2014, Vol. 41 :1-14

Résumé

Selon les auteurs de cet article, le développement des nanotechnologies s'effectue, depuis ses origines, sous l'influence croisée de trois registres d'argumentation complexes.

L'objet « nanotechnologie » est d'abord un « raccourci paradoxal » utilisé par les autorités publiques, pour synthétiser des objectifs potentiellement conflictuels entre valeurs politiques concurrentes : progrès scientifique et croissance économique, mais aussi protection des libertés individuelles, des consommateurs ou encore de l'environnement, notamment. Cet objet est appréhendé, sous son angle scientifique et technologique, comme le symbole de nouveaux horizons pour les connaissances et les usages des technologies.

Enfin, en matière de régulation, la richesse intrinsèque du label « nanotechnologies » conforte et interroge la pertinence des lieux et modes de production des normes qui se déploient pour l'encadrer.

La coexistence de ces trois registres suscite des interrogations quant à la légitimité, la transparence et l'efficacité de la conception et de l'usage des nanotechnologies et de leur régulation. De nombreux défis demeurent, que les auteurs listent au nombre de sept, pour une meilleure régulation des nanotechnologies. Certains sont techniques comme la nécessité d'améliorer l'état des connaissances sur les dangers, l'exposition ou la métrologie des nanomatériaux. D'autres concernent les meilleures voies de régulation envisageables, afin d'instituer des niveaux importants de participation, de transparence et de confiance chez tous les acteurs du monde des nanotechnologies, des scientifiques aux industriels en passant, inévitablement, par des publics plus ou

moins mobilisés. En cela, les nanotechnologies sont à l'avant-garde des nouvelles générations de technologies émergentes, et les processus de régulation qui sont débattus aujourd'hui auront une influence décisive sur l'avenir.

Commentaire

En examinant la question de la régulation des nanotechnologies *via* les registres d'argumentation qui ont accompagné leur développement depuis plusieurs décennies, l'article éclaire la complexité des jeux d'acteurs qui les sous-tendent. Les auteurs nous permettent de mieux cerner, dans le vaste ensemble que constituent les nanotechnologies :

- ce qui relève des spécificités inhérentes aux disciplines scientifiques (physique, chimie, mais aussi biologie, sciences de l'environnement, etc.) et domaines technologiques (électronique, pharmaceutique, etc.) concernés, et en particulier de leur grande hétérogénéité,
- et ce qui relève de problématiques sociales – communication, risques incertains, participation des publics aux décisions sur les futurs possibles et souhaitables.

On peut toutefois regretter que les auteurs, pourtant de nationalités et disciplines académiques différentes, adoptent pour leur propos un point de vue trop généralisant. Ce faisant, ils ne donnent sans doute pas l'importance qu'elles méritent aux différences culturelles et institutionnelles qui existent entre les différents lieux où leur problématique se décline, jusque dans l'organisation des travaux scientifiques. Ainsi, on ne développe pas les mêmes recherches dans tous les pays, fussent-ils développés. Certains Etats, par exemple, ont fait le choix, comme l'illustrent les rapports de la working party on nanotechnology de l'OCDE en la matière, de ne financer que certains secteurs des nanotechnologies, dans lesquels ils disposaient, en amont, de relais industriels préexistants.

Dans le même esprit, les travaux de S. Jasanoff (1) sur la coproduction de la recherche scientifique et de son environnement social et normatif sont, certes, rapidement cités par les auteurs, mais les leçons qu'ils en tirent sont limitées et la question des interactions entre les différentes formes de normes (normes techniques, scientifiques, juridiques, éthiques) incluses dans la notion de régulation n'est pas véritablement abordée. Selon S. Jasanoff, la place donnée à la parole des experts scientifiques au sein des organes décisionnels, en matière de politiques publiques comme de contentieux judiciaires, n'est pas la même dans tous les Etats, ni même celle des normes éthiques ou des normes de protection de la sécurité des opérateurs de recherche au sein de toutes les organisations de recherche dans le monde. Les modalités qu'adopteront les acteurs pour reconnaître et ordonner les sept défis que les auteurs mettent très justement en avant sont pourtant très étroitement dépendantes de ces variations institutionnelles et épistémiques (2, 3). Par ailleurs, le choix de ce positionnement très général ne leur permet pas - alors même qu'ils insistent à plusieurs reprises sur la nécessité de doter tous les acteurs des moyens concrets de participer aux décisions politiques qui sont nécessaires au développement responsable des nanotechnologies - d'entrer dans le détail des voies procédurales envisageables pour ce faire (4).

Comprendre la « gouvernance d'anticipation ».

Guston D.H. Understanding 'anticipatory governance' *Social Studies of Science* 2014, Vol. 44:218-242.

Résumé

La gouvernance d'anticipation désigne un ensemble d'activités destinées à doter une large audience sociale d'outils intellectuels utiles pour contribuer à la gestion des technologies émergentes. Elle s'appuie sur des exercices de prospective, de participation et de mise en commun des ressources venant des sciences humaines et sociales et des sciences de la nature⁴ ainsi que sur la production collective de ces travaux.

Elle promeut et soutient, ainsi, les réflexions menées par l'ensemble des acteurs – scientifiques, ingénieurs, autorités publiques, citoyens – sur leur rôle dans le développement technologique.

L'article de David Guston donne une illustration argumentée de ces pratiques et procédures en relatant l'histoire de la *National Nanotechnology Initiative* américaine, à laquelle il prend activement part, dirigeant l'un des deux centres pour la nanotechnologie en société (CNS) que la NSF a financés dès 2005. Ce faisant, l'auteur répond directement aux critiques qui ont été exprimées au sujet de la gouvernance d'anticipation. Il entend démontrer l'efficacité de ces procédures, mise en place par exemple au sein du CNS dont il avait la responsabilité, dans le domaine des nanotechnologies au regard des effets que la participation de nouveaux publics a eu sur l'investissement de chercheurs et décideurs publics dans la réflexion sur la portée normative de leurs entreprises.

Commentaire

Pour justifier l'intérêt de sa démarche scientifique, D. Guston prend appui sur trois arguments des critiques qui lui ont été adressées.

Prenant pour objet le mot-valise « nanotechnologies », la gouvernance d'anticipation aurait ainsi paradoxalement contribué à l'institutionnalisation de ces dernières (5),

Cette démarche s'appuie sur des procédures précoces de participation du public qui serviraient le propos de leur acceptabilité sociale (6),

Elle s'approprie l'*hubris*³ de ces technosciences au profit d'une technicisation de la démocratie (7).

L'auteur répond à ces critiques dans un exercice consistant à démontrer tout à la fois la grande robustesse des procédures qu'il promeut et leur modestie intrinsèque.

La gouvernance d'anticipation est, dit-il, une pratique contextualisée, tributaire des incertitudes et des doutes propres non seulement aux connaissances scientifiques, mais encore à la réalité de nos fonctionnements démocratiques et aux interactions politiques. Les procédures sur lesquelles elle est basée ciblent, de manière pertinente, l'espace laissé vacant entre un déterminisme scientifique qui nous condamnerait à nous adapter à des évolutions techno-scientifiques inéluctables, et l'efficacité chimérique d'appels à une précaution qui stériliserait la recherche elle-même. Ce faisant, elle re-politise progressivement les multiples leviers qui actionnent discrètement le développement technoscientifique. Si le propos de l'auteur convainc à l'échelle locale (celle d'un laboratoire ou d'une université, par exemple), on peine, toutefois, à la lecture de l'article, à imaginer l'articulation des procédures expérimentales qu'il suggère avec l'ensemble des défis qui demeurent ouverts en matière de régulation des nanotechnologies.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les positionnements explorés se complètent pour donner à voir une analyse convaincante des forces à l'œuvre dans la gouvernance et la régulation des nanotechnologies.

On doit toutefois garder à l'esprit, en parcourant le chemin tracé par leurs auteurs dans l'encadrement normatif des nanotechnologies, entre les avenues de la régulation et les ruelles de la gouvernance d'anticipation, la logique profondément anglo-saxonne qui guide leurs pas. Une telle logique, inspirée des *Science and Technology Studies* (STS)⁵, est revigorante pour les acteurs français du développement des nanotechnologies. En effet, elle fournit des pistes de réflexion souvent sous-évaluées sur notre territoire, quand il s'agit d'explorer l'articulation des procédures dialogiques avec les politiques scientifiques et technologiques, la place des normes techniques et éthiques, fonctions de la propriété industrielle, etc.

Elle ne donne toutefois pas à la norme juridique la place qui est la sienne dans notre système de régulation des sciences et technologies émergentes. En effet, les voies de l'alliance entre l'Etat ou les autorités publiques et le binôme « sciences et technologies » sont parfois aussi celles de la Loi, au sens constitutionnel du terme, et c'est alors dans les arcanes de cette dernière qu'il faut rechercher les valeurs – transparence démocratique, précaution, justice sociale, notamment – que les auteurs de ces deux articles placent au cœur de leurs préoccupations (8).

GENERAL CONCLUSION

The two positions complement each other to see a compelling analysis of the forces at work in the governance and regulation of nanotechnologies. However, one must keep in mind, taking the path traced by their authors in the regulatory framework for nanotechnologies, between avenues of regulation and alleys of governance anticipation, the deeply Anglo-Saxon logic which guide their steps. Such a logic, inspired by Science and Technology Studies (STS)⁵, is in many ways refreshing for the development of nanotechnology's French actors, because it provides food for thought often undervalued here – how to join public engagement with science and technology policy, place of technical and ethical standards, Intellectual properties functions, etc. It does not, however, give to the legal standard the place it deserves in our regulatory science and emerging technologies system. The ways of the alliance between the State or public authorities and the « science and technology » item are sometimes also those of the Law, in its constitutional sense, and it is then in the intricacies of the latter that we must look for the values of transparency, democratic debates, technical relevance, etc. that the authors of these two articles placed at the heart of their concerns.

Lexique

- (1) Normatif : de l'ordre des normes, ces dernières étant constitutives de modèles de comportements indiquant une conduite appropriée. Ainsi conçue, la norme a une fonction à la fois évaluative et prescriptive.
- (2) Régulation : équilibrage d'un ensemble mouvant d'initiatives naturellement désordonnées par des interventions normalisatrices ; action de régler un phénomène évolutif. Le droit concourt, avec les autres réseaux normatifs, à la régulation de la vie sociale.
- (3) *Hubris* : chez les Grecs, tout ce qui, dans la conduite de l'homme, est considéré par les dieux comme démesure, orgueil, et devant appeler leur vengeance.
- (4) Sciences de la nature : l'expression est employée dans le sens qui lui est donné par certains auteurs, principalement anglo-saxons, les « Natural Sciences » ayant pour objet le monde naturel, par opposition aux sciences humaines et sociales, qui, elles, portent sur les réalités humaines.
- (5) *Science and Technology Studies* : programme de recherche en sciences humaines et sociales qui s'est développé, principalement aux Etats-Unis, depuis les années 60-70. Les STS étudient la manière dont les facteurs sociaux, politiques ou culturels interviennent dans les recherches scientifiques ou les innovations technologiques et, comment, en retour, ces dernières modifient la société.

Publications de référence

- (1) **Jasanoff S.** (2005) *Designs on Nature : Science and Democracy in Europe and the United States.* Princeton, NJ : Princeton University Press.
- (2) **Wynne B.** (2002) Risk and Environment as Legitimatory Discourses of Technology, *Current Sociology* **50**;459-77.
- (3) **Jasanoff S.** (2007) Making Order : Law and Science in Action, in E. Hackett, O. Amsterdamska, M. Lynch, J. Wajcman (eds.), *Handbook of Science and Technology Studies*, 3rd ed., Cambridge, MIT Press : 761-786.
- (4) **Nowotny H.** (2007) How many policy room are there ? Evidence-based and other kinds of science policies. *Science, Technology & Human Values* **32**:479-90.
- (5) **Fuller S.** (2009) Review of the handbook of science and technologie studies. *Isis* 2009;**100**:207-9.
- (6) **Delgado A, Kjølberg KL, Wickson F.** (2011) Public engagement coming of age : From théory to practice in STS encounters with nanotechnology. *Public Understanding of Science* **20**:826-45.
- (7) **Nordmann A.** (2010) A forensics of wishing: Technology assessment in the age of technoscience. *Poiesis & Praxis* **7**:5-15.
- (8) **Jasanoff S.** (2014) A mirror for science, *Public Understanding of Science* 2014;**23**:21-6.

Revues de la littérature

Stilgoe J, Lock S. J, Wilsdon J. (2014), *Public Underst Sci* 2014;**23**:4-15.

Pallett H, Chilvers J. Organizations in the making : Learning and intervening at the science-policy interface. *Prog Hum Geogr* 2014; doi: 10.1177/0309132513518831.

Autres publications identifiées

Ely A, Van Zwanenberg P, Stirling A. Broadening out and opening up technology assessment : Approaches to enhance international development, co-ordination and democratization. *Res Policy* 2014;**43**:505-18.

La publication offre une bonne synthèse de la notion de « technology assessment » et des évolutions qu'elle a subies au cours du temps avant de donner des pistes d'ouverture pour son amélioration. Elle demeure néanmoins assez théorique et généraliste.

Arnaldi S., Tyshenko M. G. Nanotech traveling abroad : The international dimension of Nanotechnology as a changing concept. *Technol Soc* 2014;**37**:1-3.

*L'article est une introduction au numéro spécial que la revue *Technology in Society* consacre à la question des nanotechnologies dans une perspective comparée entre plusieurs Etats (Mexique, Brésil, Canada, Italie). Dans la perspective des deux articles commentés ici, il donne un éclairage supplémentaire au regard*

de la notion même de nanotechnologies et des interprétations variables qui lui sont données selon les pays.

Justo-Hanani R, Dayan T. The role of the state in regulatory policy for nanomaterials risk : Analysing the expansion of state-centric rulemaking in EU and US chemicals policies. *Res Policy* 2014;**43**:169-78.

L'article explore le pouvoir des Etats dans la régulation des risques liés aux nanotechnologies et l'impact de ces régulations sur le développement scientifique et technique. Il souligne l'importance du rôle des Etats, même dans une perspective de régulation internationale, à rebours des positionnements exprimés par une part importante des auteurs, qui étudient généralement la régulation sous l'angle d'une perte d'influence des autorités nationales.

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

François PAQUET : IRSN - Direction de la stratégie et du développement du partenariat

Didier TORNY : Inra - RiTME

Nathalie VELLY : InVS - Département santé environnement

Relecteurs

Martine AGGERBECK : Inserm UMR-S 1124

Ali AYADI : Vice-président de l'université de Sfax. Chef de service de parasitologie-mycologie. CHU.Habib Bourguiba de Sfax
Directeur du laboratoire de recherche de biologie moléculaire parasitaire et fongique. Faculté de médecine de Sfax.

Bernard BARTENLIAN : Institut d'électronique fondamentale. Université Paris-Sud 11.

Alfred BERNARD : Université catholique de Louvain. Belgique.

Eric BOUE-GRABOT : Equipe régulation moléculaire des récepteurs synaptiques. Université de Bordeaux.

Beat BRUESCHWEILER : Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires. Berne et Zurich, Suisse.

Francisco CABELLO HURTADO : Equipe MOB - UMR Ecobio - OSU Rennes - Université de Rennes.

Corinne COTINOT : Directeur de recherche, UMR Biologie du développement et reproduction, Inra, Jouy en Josas

Christophe D'ENFERT : Unité biologie et pathogénicité fongiques. Institut Pasteur.

Alain DESTEE : Service de neurologie et pathologie du mouvement. CHU de Lille.

Jean-François FAUCHER : PH - Service des maladies infectieuses et tropicales CHRU Besançon /UMR 216 Mère et enfant face aux infections tropicales.

Barbara GOUGET : Anses, Direction des laboratoires.

Chanthadary INTHAVONG : Chef d'unité adjoint pesticides et biotoxines marines, Anses.

Angeli KODJO : Professeur de microbiologie - Directeur du laboratoire des Leptospires. VetAgro Sup.

Yves MARNEFFE : Responsable de la cellule écotoxicologie à la direction des risques chroniques de l'ISSeP (Institut scientifique de service public) à Liège. Belgique.

Nicole MARTY : Laboratoire de bactériologie-hygiène CHU de Toulouse.

Christian MOUGIN. Christian Mougin, directeur de recherche, UR 251 Pessac, Inra.

Gina MUCKLE : Professeure titulaire, École de psychologie, Université Laval et Centre de recherche du CHU de Québec.

Samuel ONIL : Direction de la santé environnementale et de la toxicologie (DSET). Institut national de santé publique du Québec.

Anne-Simone PARENT : MD, PhD. Université de Liège-Fonds national de la recherche scientifique, Belgique.

Luc PUSSEMIER : SFC - Sécurité sanitaire des aliments. Louvain-la-Neuve. Belgique.

Malak SAFI : Institut d'électronique fondamentale. Université Paris-Sud 11.

Coordination - Anses

Directeur de publication : Marc MORTUREUX

Comité de rédaction : Régine ROBICHON, Louis LAURENT, Gérard LASFARGUES

Responsable de l'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.

