

## Edito

Chers lecteurs,  
Nous avons interrompu l'écriture de notre nouvelle depuis maintenant quelques années ; nous avons décidé de relancer ce vecteur de communication destiné à un public large et multiculturel. Cette feuille permet de communiquer les grands projets dans lesquels nous nous investissons qu'ils soient de Recherche, de Développement, d'Appui aux politiques publiques ou encore d'Ingénierie pédagogique. Dans la limite de leur non confidentialité, nous mettons à disposition du plus grand nombre les informations qui concernent nos dernières innovations, valorisations ou orientations. Nous considérons également cette lettre comme un support d'échanges d'information, non seulement de nous vers la communauté, mais aussi de vous lecteurs vers notre laboratoire ; cette lettre doit servir de prétexte pour initier ou poursuivre des échanges avec le LABERCA. Je vous invite donc à nous faire part de vos commentaires, ils seront l'occasion d'échanges entre nous. Bonne lecture à toutes et à tous. Avec mes plus amicales salutations.

Prof Bruno LE BIZEC

## L'exposition de l'Homme aux contaminants

### Nouveaux projets d'envergure nationale dédiés à la caractérisation de l'exposition alimentaire et de l'imprégnation

Déjà engagée en 2010-2011 aux côtés de l'ANSES dans l'Étude Française Alimentation Totale (EAT2) visant à caractériser l'exposition alimentaire du consommateur Français adulte vis-à-vis d'un spectre large de dangers chimiques, notre Unité a été retenue pour produire des données d'exposition dans le cadre d'une seconde étude nationale ciblant plus spécifiquement l'alimentation infantile. Les dioxines, les retardateurs de flamme bromés, les polychlorobiphényles (PCB), les contaminants perfluorés, les phytoestrogènes ou encore les hormones stéroïdes, seront ainsi caractérisés dans plusieurs centaines de denrées alimentaires. Cette photographie originale fournira pour la première fois en France des données d'exposition pour cette population réputée sensible vis-à-vis des dangers chimiques contaminant nos aliments. L'Unité sera en outre impliquée dans un programme de biomonitoring coordonné par l'Institut National de veille sanitaire (INVS). Il visera à caractériser l'imprégnation (dose interne) de la population Française au regard des principaux dangers chimiques. L'une des étapes de ce programme consistera à déterminer les niveaux sériques en dioxines et en polychlorobiphényles chez plusieurs centaines d'individus au sein de la cohorte française ELFE (Étude Longitudinale de l'Enfance).



bruno.lebizec@oniris-nantes.fr



## L'activité SARAF

- **IPARAF 2012**   
En 2012, le programme intensif Erasmus IPARAF (financement EU-DG EDUC) s'est déroulé pour la 2<sup>ème</sup> année consécutive au LABERCA avec 21 étudiants (Master/doctorat) originaires des 10 universités européennes partenaires.
- **SARAF Malaisie**   
Bruno Le Bizec et Fabrice Monteau ont mené à bien une session de formation SARAF en Malaisie (financement EU-DG TRADE) couvrant les aspects du contrôle des résidus de stéroïdes et de stilbènes dans les denrées.
- **SARAF BTSF**   
En 2011, SARAF a remporté l'AO de l'EU-DG SANCO pour l'organisation de 2 formations dans le cadre du programme BTSF. La 1<sup>ère</sup> édition aura lieu du 1<sup>er</sup> au 12 octobre 2012 avec 20 participants de pays tiers.

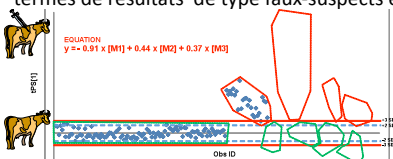
## Métabolomique et anabolisants

### La fin d'un projet régional

Le développement d'approches métabolomiques basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution est au sein de l'Unité un domaine soutenu par des moyens conséquents et plusieurs projets de recherche au niveau régional, national et européen. Engagés depuis 2007, ces travaux donnent aujourd'hui des résultats concrets démontrant l'utilité de cette approche novatrice pour la mise en évidence de biomarqueurs signant une exposition à un ou plusieurs xénobiotiques.

Le projet CRIPTAGO II (2010-2012) financé par les régions Bretagne et Pays de la Loire, coordonné par le LABERCA, a été élaboré comme une suite logique au projet inter-régional CRIPTAGO (2008-2009), ce dernier ayant permis d'évaluer la faisabilité de nouvelles approches de type 'omiques comme stratégies innovantes de dépistage de l'administration de  $\beta$ -agonistes chez les veaux. Fort des résultats prometteurs obtenus quant à la faisabilité de ces approches, CRIPTAGO II, avait pour objectif principal, en se basant sur les signatures biologiques discriminantes d'ores et déjà révélées notamment au niveau du métabolome entre animaux témoins et animaux traités, d'identifier des biomarqueurs signant l'administration de clenbutérol et de les mettre en œuvre dans une stratégie ciblée et quantitative de dépistage.

Deux ans plus tard, le pari est gagné puisque plusieurs biomarqueurs pertinents ont pu être identifiés. Un modèle statistique combinant ces biomarqueurs a été élaboré et validé, il présente un pouvoir prédictif répondant aux exigences réglementaires en la matière, notamment en termes de résultats de type faux-suspects et faux conformes.



gaud.pinel@oniris-nantes.fr

## L'hormone de croissance

### Premières stratégies de contrôle au plan Européen

L'hormone de croissance (somatotropine) est une hormone protéique naturellement sécrétée par l'hypophyse et dont les effets biologiques ont principalement trait à la croissance des tissus (musculaires, osseux), mais dont les propriétés ont été également démontrées sur la mamelle et le tissu adipeux. Depuis la fin des années 80, des formes recombinantes de cette hormone sont produites par génie génétique, et ce pour différentes espèces, afin d'augmenter les performances de production des cheptels laitiers, mais également d'accroître les rendements de production chez les porcins, certains ruminants ou encore en aquaculture. Le recours à ces hormones est interdit en Europe, essentiellement pour des raisons de bien-être animal, néanmoins l'utilisation illégale de telles préparations est fortement suspectée. Dans ce contexte, le LABERCA a depuis une dizaine d'années consacré des forces afin de relever le défi de la détection de l'administration de GH chez les animaux de production. Différents projets (2 thèses CIFRE avec le Laboratoire des Courses Hippiques, 1 thèse mention EU avec le groupe NESTLE et un projet FP7 Marie Curie IAPP) ont permis de développer et mettre en œuvre des stratégies performantes d'extraction/purification de l'hormone présente à l'état de traces (fmol) après administration dans les matrices biologiques d'intérêt (lait, sérum) associées à des techniques d'identification par spectrométrie de masse. En outre, une stratégie de dépistage rapide basée sur la mise en évidence par ELISA des anticorps produits par l'animal consécutivement à une administration d'hormone recombinante a été développée et validée. Seules stratégies disponibles à ce jour en Europe pour contrôler l'usage des hormones recombinantes en élevage, ces méthodes ont été accréditées par le COFRAC depuis 2009, et sont mises en œuvre dans le cadre des plans expérimentaux de la DGAL.



gaud.pinel@oniris-nantes.fr

## Retardateurs de flamme bromés

### Après l'étude des composés parents, l'étude des métabolites

Les retardateurs de flamme bromés sont des agents ignifuges utilisés dans de nombreux produits manufacturés. Les plus courants sont les polybromodiphényléther (PBDE), le tétrabromobisphénol A (TBBPA) et l'hexabromocyclododécane (HBCD). Ces composés, considérés comme des polluants organiques persistants (POPs), sont retrouvés dans l'environnement et chez l'Homme, et sont suspectés, ainsi que leurs métabolites, d'être des perturbateurs endocriniens. Une thèse de doctorat (Melle Charlotte Marteau), co-encadrée par le LABERCA et l'Unité Toxalim de l'INRA de Toulouse et en collaboration avec le CHU Paule de Viguier de Toulouse, s'est attachée à étudier le métabolisme *in vitro* du TBBPA et des PBDE puis à rechercher les composés parents et leurs métabolites chez l'Homme dans différents types de prélèvements (lait et sérum maternel, sang du cordon ombilical). Les métabolites identifiés sont des conjugués pour le TBBPA, et des dérivés hydroxylés, dihydrodiol et conjugués pour les PBDE. L'exposition du fœtus et du nouveau-né à ces composés a été démontrée, de même que le passage des résidus dans le lait maternel (TBBPA, HBCD) et/ou au travers de la barrière placentaire (TBBPA et PBDE), ainsi que la présence de métabolites potentiellement actifs sur des cibles cellulaires. Un métabolite hydroxylé de la série des octa-BDE serait un biomarqueur efficace d'exposition qui méritera des investigations supplémentaires.

[jean-philippe.antignac@oniris-nantes.fr](mailto:jean-philippe.antignac@oniris-nantes.fr)

## Perturbateurs endocriniens dans l'eau

### La métabolomique au service des procédés de traitement

La contamination des eaux par les contaminants chimiques est assez largement documentée. Dans le cas d'une élimination totale ou partielle des polluants par les procédés de traitement, la caractérisation des sous-produits susceptibles d'être générés par les traitements est également primordiale. Un projet de post-doctorat (M. Gaël Gervais et M. Marc Bourgin) conduit en collaboration avec la société Véolia Environnement s'est intéressé à l'impact d'une chloration ou ozonation vis-à-vis de perturbateurs endocriniens modèles dont l'estrone-sulfate et le bisphénol A. La mise en évidence et l'identification des sous-produits de traitement a été réalisée selon une approche de phénotypage chimique différentiel non ciblée, suivant le principe des études métabolomiques, par couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse haute résolution (LC-HRMS). L'étude de la chloration du bisphénol A et de l'ozonation de l'estrone-sulfate a ainsi montré une dégradation avancée des molécules cibles et la formation respective de 21 et 11 sous-produits de traitement dont la structure a pu être identifiée et dont la plupart n'avaient jamais été mis en évidence.

[emmanuelle.bichon@oniris-nantes.fr](mailto:emmanuelle.bichon@oniris-nantes.fr)

## Migrants d'emballages alimentaires

### Les nouveaux polluants émergents

Dans le secteur des conditionnements alimentaires, les plastiques occupent une position dominante. Ces derniers sont en effet légers, résistants, pratiques et peu onéreux. Pourtant, certains composants de ces matériaux peuvent migrer vers les aliments à leur contact, sous l'influence de facteurs tels que compositions ou température. Parmi eux, les bisphénols (dont le bisphénol-A) utilisés pour la fabrication de polycarbonate (biberons) et de résine époxy (intérieur de boîtes métalliques), mais également certains diesters de phtalates utilisés pour assouplir nombre de contenants, sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens et font l'objet d'une attention scientifique, réglementaire et médiatique croissantes. Afin de répondre aux besoins des agences d'évaluation du risque, le LABERCA a développé des méthodes de quantification de ces substances dans les aliments. Les méthodologies ainsi développées ont par exemple été exploitées dans le cadre de l'Étude de l'Alimentation Totale (EAT2) de la population française pilotée par l'ANSES – voir *encart au recto*. Le LABERCA a également développé des méthodes d'analyse des métabolites de ces substances dans les fluides biologiques. L'Unité travaille ainsi via plusieurs projets à caractériser l'imprégnation de sous-populations particulières à ces contaminants émergents pour à terme étudier les éventuelles associations entre ces niveaux internes et certains paramètres cliniques.

[ronan.cariou@oniris-nantes.fr](mailto:ronan.cariou@oniris-nantes.fr)

## Les hormones stéroïdes chez l'Homme

### A la fois perturbateurs et perturbés endocriniens

La mesure précise et fiable des principales hormones stéroïdes apparaît aujourd'hui au centre de nombreuses questions de recherche dans le champ environnement-santé. Une précédente thèse d'université (Frédérique Courant) a eu ainsi pour objet la caractérisation de l'exposition alimentaire de certaines populations aux stéroïdes naturels, qui peut représenter un risque si elle intervient lors de fenêtres critiques du développement (*in utero*, premier âge, prépuberté). Les profils de ces stéroïdes endogènes dans les fluides biologiques sont d'un intérêt majeur dans le cadre d'études s'intéressant à la perturbation endocrinienne, ces hormones étant alors des paramètres potentiellement affectés par certains perturbateurs endocriniens et *in fine* exploitables comme marqueurs de cette perturbation. L'étude de l'action anti-androgénique de certains phtalates sur la stéroïdogénèse entraînant une chute de la production de testostérone chez l'Homme (partenariat IRSET), ou encore de l'impact d'une exposition aux HAP de la femme enceinte sur les niveaux d'estrogènes naturels chez le fœtus (partenariat Université d'Aberdeen) sont deux exemples de projets en cours sur ce thème.

[frederique.courant@oniris-nantes.fr](mailto:frederique.courant@oniris-nantes.fr)

## Dernières Publications

- Anizan S, Bichon E, Monteau F, Cesbron N, Antignac JP, Le Bizec B. Gas chromatography coupled to mass spectrometry based metabolomic to screen anabolic practice in cattle. *J Mass Spectrom* 2012;47:131-140.
- Desdoits C, Albert O, Le Bizec B, Lesné L, Cravedi JP, Zalko D, Courant F, Guillé F, Dejuca-Rainsford N, Jégou B. Di (2-ethylhexyl) phtalate and mono-(ethylhexyl) phtalate are anti-androgenic in the adult human testis. *Human reproduction* 2012;27(5):1451-1459.
- Bichon E, Béasse A, Prévost S, Christien S, Courant F, Monteau F, Le Bizec B. Improvement of estradiol esters monitoring in bovine hair by dansylation and LC-MS/MS analysis in MRM and precursor ion scan modes. *RCM* 2012, 26, 819-827.
- Marteau C, Chevolleau S, Jouanin I, Perdu E, De Sousa G, Rahmani R, Antignac JP, Le Bizec B, Zalko D, Debrauwer L. Development of a LC-APPI-HRMS analytical strategy for the simultaneous analysis of PBDEs, OH-PBDEs and other PBDE metabolites. Application to BDE-47 metabolism in human hepatocytes. *RCM* 2012;26:599-610.
- Kadar H, Veyrand B, Barbarossa A, Legrand A, Boquien CY, Durand S, Monteau F, Le Bizec B, Antignac JP. Development of an analytical strategy based on liquid chromatography - high resolution mass spectrometry for measuring perfluorinated compounds in human breast milk: preliminary data regarding perinatal exposure in France. *Chemosphere* 2011;85:473-480.
- Dervilly-Pinel G, Weigel S, Lommen A, Chereau S, Rambaud L, Essers M, Antignac J-P, Nielsen M, Le Bizec B. Assessment of two complementary LC-HRMS metabolomics strategies for the screening of anabolic steroid treatment in calves. *ACA* 2011;700:144-154.
- Rochereau-Roulet S, Gaudin I, Chéreau S, Prévost S, André-Fontaine G, Pinel G, Le Bizec B. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating antibodies raised against growth hormone as a consequence of rbST treatment in bovine. *ACA* 2011; 700:189-193.
- Gervais G, Bichon E, Antignac JP, Ingrand V, Leroy G, Barrिताud L, Chachigin M, Roche P, Castillo L and Le Bizec B. Identification of treatment by-products of ethinylestradiol after drinking water chlorination through an untargeted approach based on mass spectrometric fingerprinting comparison. *Chemosphere* 2011;83:1553-1559.
- Kim MJ, Marchand P, Henegar C, Antignac JP, Alili R, Poitou C, Bouillot JL, Basdevant A, Le Bizec B, Barouki R and Clément K. Fate and complex pathogenic effects of dioxins and polychlorobiphenyls in obese subjects before and after drastic weight loss. *Environ Health Persp* 2011;119:377-383.