

## Proposition de sujet pour un stage de Master (6 mois)

### Recherche de marqueurs d'effets d'une exposition à un mélange des polychlorobiphényles (PCBs) par une approche métabolomique de type GC-HRMS

#### Unité d'accueil :

Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA),

École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique (ONIRIS).

Le Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA) est une Unité Mixte de Recherche de l'École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique (Oniris), dépendant du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Placé sous la tutelle de la Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche (DGER) et de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, département AlimH). Il est par ailleurs le **Laboratoire National de Référence** (LNR) de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) en ce qui concerne l'analyse des dioxines, des polychlorobiphényles, des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des promoteurs de croissance interdits (dont les hormones stéroïde) en élevage. Du point de vue scientifique, le domaine d'activité général du laboratoire est celui de la **sécurité de l'aliment**, et plus précisément celui de l'étude des résidus et contaminants chimiques présents au sein de la chaîne alimentaire, dans une démarche globale d'appréciation du risque depuis l'agrofourmiture jusqu'à l'homme et sa descendance. Le LABERCA s'attache en effet à générer des données et des connaissances relatives aux sources, transfert et métabolisme des composés étudiés, afin de caractériser à la fois l'exposition (occurrence dans les denrées) et l'imprégnation (occurrence dans les fluides et tissu biologiques) des consommateurs vis-à-vis de ces polluants chimiques. Du point de vue analytique, les deux principaux domaines de compétence et de reconnaissance du LABERCA sont d'une part le **traitement des échantillons biologiques complexes** en vue de l'isolement des substances étudiées présentes au sein de ces matrices à l'état de trace, et d'autre part la mesure fine de ces composés par diverses techniques et **couplages** basés sur la **spectrométrie de masse**. La reconnaissance de ce savoir-faire du LABERCA dans le domaine de l'analyse de polluants chimiques par des méthodes spécifiques de confirmation est aujourd'hui attestée par les nombreux projets de recherche auxquels celui-ci participe au plan national (DGAI, Anses, INRA) et international (4<sup>ème</sup> à 7<sup>ème</sup> PCRD). Le parc instrumental du laboratoire compte parmi les plus remarquables en Europe dans le domaine de la spectrométrie de masse. Celui-ci regroupe ainsi des couplages de type GC-MS (simple quadripôle x2), GC-MS/MS (triple quadripôle x4), LC-MS/MS (triple quadripôle x3), GC-HRMS (secteur électromagnétique x3, Q-Orbitrap™ x1), GC-C-IRMS (x2), GC x GC-HRMS (TOF x1), LC-HRMS (Q-IMS-TOF x1, Orbitrap™ x1, Q-Orbitrap™ x1, Exactive™ x1). L'ensemble des activités du laboratoire est conduit sous un système de management de la qualité associant une accréditation selon le référentiel ISO 17025 et une certification (portée flexible de niveau 3) selon le référentiel ISO 9001:2015 pour la conception, conduite et valorisation de projets de recherche.

#### Contexte scientifique :

Le LABERCA œuvre depuis sa création dans le domaine de la sécurité chimique des aliments. Il s'intéresse par conséquent aux principales familles de résidus et contaminants depuis leur source, jusqu'à leur devenir le long de la chaîne alimentaire, et leur imprégnation par l'homme et sa descendance. Dans ce contexte général, afin de mettre en évidence l'effet de l'exposition d'un animal à un résidu ou à un contaminant chimique, dans l'idée de révéler des **biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets**, le LABERCA s'est attaché à développer de nouvelles approches analytiques, dites « indirectes », en ce qu'elles ne recherchent pas le composé d'intérêt ou ses métabolites directs, mais les modifications de profil biologique induites par une exposition chimique. Deux stratégies se distinguent alors, d'une part celles dites « ciblées » qui s'intéressent aux modifications de profils d'une fraction connue du métabolisme, d'autre part, celles dites « globales » conduites sans a priori sur l'ensemble des métabolites accessibles à l'analyse dans un échantillon donné et qui réfèrent notamment aux approches « omiques » parmi lesquelles la **métabolomique**. Initiées au cours de la décennie

précédente, ces approches réalisées à l'interface des domaines de la chimie analytique de pointe et du retraitement avancé des données par techniques statistiques multivariées, ont connu au sein de l'Unité un réel essor en termes de développements et d'applications. Les preuves de concept attendues sont désormais au rendez-vous et permettent de considérer la recherche des effets d'une exposition à un contaminant/résidu comme une alternative efficace et complémentaire aux stratégies ciblées telles qu'historiquement conduites.

La génération d'empreintes métaboliques globales et non ciblées informatives implique des stratégies analytiques basées sur la spectrométrie de masse haute résolution, via notamment des couplages complémentaires de type LC-HRMS et GC-HRMS. L'application de ces différentes stratégies aux questions de recherche du LABERCA a permis la mise en évidence de profils discriminants entre animaux exposés versus non exposés et la mise en lumière de biomarqueurs d'effet associés.

### Description du sujet :

**Contexte :** L'exposition de l'Homme aux contaminants de type Polluants Organiques Persistants (POPs), y compris les PCBs, constitue un véritable problème de santé publique, puisque leur implication dans le développement et l'évolution de nombreuses maladies chroniques, telles que cancers, maladies cardiovasculaires, métaboliques et dysendocrinies est fortement suspectée, notamment par leurs effets favorisant le stress oxydatif chronique, l'inflammation et les perturbations endocriniennes. Les POPs sont liposolubles, ils s'accumulent dans l'environnement et se retrouvent par ce biais dans la chaîne alimentaire, notamment *via* leur accumulation dans la viande des animaux d'élevage.

**Problématique :** Même si les méthodes de détection des PCBs ont considérablement évolué ces dernières années et que le contrôle de leur présence dans les denrées d'origine animale est parfaitement maîtrisé, la compréhension des mécanismes à l'origine de leurs effets biologiques, en particulier quand ils sont présents à l'état de trace et en mélange, est assez peu renseignée. Plus spécialement, il existe un intérêt croissant à comprendre les risques toxicologiques dérivés des mélangés de polluants, car leurs effets peuvent être synergiques, augmentant les risques pour la santé.

**Objectif et hypothèse :** L'objectif principal de ce projet de Master 2 est de contribuer à l'étude mécanistique des effets des PCBs à travers une étude d'expérimentation animale chez le porc, et dont les résultats seront extrapolés à ses effets sur l'organisme humain. Cet objectif fait partie du projet européen **HAZARDomics (EU - Horizon 2020 | MSCA-IF-EF-ST)**.

### Matériel et méthodes :

L'objet du stage est de réaliser l'étude métabolomique des sérums collectés dans le cadre des expérimentations animales. Les sérums de porcs exposés à des PCBs seront utilisés. Il s'agira de mettre en œuvre des techniques de préparation d'échantillons et de prise d'empreinte par GC-HRMS (Q-Orbitrap™). Les données acquises seront ensuite retraitées par des outils dédiés de traitement statistique multivarié.

**Résultats et perspectives attendus :** La finalité du projet est d'appréhender les mécanismes associés aux effets mélange et faible doses suspectés des PCBs. Ces animaux constituent un modèle pour l'étude et la mise en évidence de biomarqueurs d'effet, transposables à l'Homme. Ensuite, l'analyse et la comparaison des effets biologiques secondaires à l'exposition expérimentale de porcs pourraient permettre de fournir des données supplémentaires et recommandations au gestionnaire du risque au regard des teneurs maximales réglementaires dans l'alimentation animale et humaine.

Description des objectifs du stage :

- 1- Réaliser une revue de la bibliographie sur la métabolomique et les contaminants chimiques, spécialement les PCBs.
- 2- Réaliser les prises d'empreintes d'un jeu d'échantillons de sérums, issus d'une expérimentation animale modèle et contrôlée, par GC-HRMS.
- 3- Retraitement et analyse des données.
- 4- Interprétation des données.
- 5- Rédaction du rapport de stage et préparation de la soutenance.

#### Contacts :

- Gaud Dervilly – **Responsable Scientifique Adj.** - [gaud.dervilly@oniris-nantes.fr](mailto:gaud.dervilly@oniris-nantes.fr)
- Maykel Hernández-Mesa – **Chercheur Post-doctorant** - [maykel.hernandez-mesa@oniris-nantes.fr](mailto:maykel.hernandez-mesa@oniris-nantes.fr)

UMR INRA 1329 LABERCA - Site de la Chantrerie - Route de Gachet - CS 50707 - 44307 - Nantes Cedex 3 –  
France  
Tel LABERCA : 02 40 68 78 80– Website : [www.laberca.org](http://www.laberca.org)