

# Développement d'outils toxicogénomiques pour détecter et suivre l'exposition aux pesticides le long d'un continuum de production alimentaire, du champ à l'assiette.

Allocation post-doctorale de 24 mois sur projet CPER « Symbiose »  
Rémunération 2350€/mois

## Mots clés :

pesticides, toxicogénomique, biomarqueurs, composés volatils, gene expression, chimie analytique, spectro de masse

## Lieu d'exercice des missions

Laboratoire Microorganisme Génome et Environnement  
UMR LMGE 6023  
Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II

Laboratoire Microcontaminants, Arômes et Sciences Séparatives

## Candidature à envoyer à :

**Philippe Bouchard**, Maître de conférences  
Philippe.Bouchard@univ-bpclermont.fr  
Tel : 33 4 73 40 74 72

**Erwan Engel**, Directeur de recherche  
Erwan.Engel@clermont.inra.fr  
Tel : 33 4 73 62 45 89

## Contexte et projet

L'alimentation représente la voie d'exposition majeure des consommateurs aux résidus de pesticides. Limiter leur ingestion est un défi sanitaire important. A défaut de pouvoir maîtriser leur présence dans l'environnement, un des leviers les plus efficaces pour préserver la santé humaine, consiste à écarter plus systématiquement les produits contaminés des chaînes de consommation. Pour cela il faut disposer d'outils pour un contrôle de ces substances tout au long de la chaîne de production du champ à l'assiette. L'approche analytique actuellement mise en œuvre par les agences de sécurité sanitaire et par les agences de surveillance de l'environnement est fondée sur l'utilisation de méthodes extrêmement performantes mais lourdes et coûteuses. Si ces méthodes permettent de réaliser des photographies ponctuelles et locales des niveaux de contamination, elles s'avèrent inadaptées à un contrôle de routine dont on sait qu'il permettrait à la fois une réduction très significative des risques associés à la présence de contaminants dans les aliments et une meilleure compréhension de leur transfert. Le développement de méthodologies analytiques alternatives basées sur les technologies omiques permet d'envisager une approche biomarqueurs de l'exposition aux pesticides. Il ne s'agit plus de quantifier des résidus mais de mesurer une exposition des différents maillons de la chaîne « du champ à l'assiette » aux contaminants. A partir de banques de réponses métaboliques obtenues dans des conditions contrôlées cas / témoin de contamination, il est possible de détecter des signatures métaboliques révélatrices de l'exposition. Les techniques analytiques qui sont alors employées permettent de réduire considérablement les coûts et de couvrir un plus grand nombre d'organismes ou d'étapes techniques dans un continuum de production du champ à l'assiette.

Le post-doctorat permettra de mettre en place ce continuum représenté par des espèces modèles ou sentinelles. Elles couvrent de nombreux taxons du vivant permettant d'alimenter une banque de biomarqueurs. Ce projet est articulé entre une approche analytique et une approche post génomique plus exploratoire. La première, non ciblée, consiste à rechercher parmi les composés volatils produits par le métabolisme des taxons étudiés, des constituants marqueurs de l'exposition. La seconde, ciblée, repose sur les protéines TSPO (TranSlocator PrOtein, répandues dans tout le règne vivant) dont l'expression pourrait être modifiée par l'exposition aux pesticides de type pyréthroïde.

## **Approche non ciblée: recherche de composés volatils marqueurs de l'exposition aux pesticides**

Dans la dynamique des recherches montrant l'intérêt de l'analyse des composés volatils de l'air expiré pour un diagnostic rapide et non invasif de cas de cancers chez l'homme, des travaux récents montrent que la caractérisation des métabolites volatils de tissus animaux permettrait de révéler leur exposition à des contaminants toxiques d'origine environnementale. La preuve de concept a été faite dans le cadre d'un projet européen (Sigma-Chain) et d'un projet ANR (SOMEAT). Une expérimentation animale consistant à nourrir des poulets avec une alimentation saine ou supplémentée en différents contaminants organiques (Dioxines, PCB, HAP, PBDE) a ainsi montré l'intérêt des composés volatils du métabolome hépatique pour tracer l'exposition aux micropolluants environnementaux métabolisés rapidement par l'organisme de l'animal. L'apport informatif et la complémentarité des différentes fractions du métabolome (composés volatils, lipidome, autres composés non volatils) et du transcriptome sont actuellement à l'étude.

Dans le cadre de ce post-doctorat, une approche similaire sera testée afin d'identifier des composés volatils marqueurs de l'exposition aux pesticides du champ à l'assiette, c'est-à-dire dans les écosystèmes microbiens du sol (par exemple la bactérie *Pseudomonas*), dans les organismes sentinelles de l'environnement (les ciliés *Paramecium* ou *Tetrahymena*, l'insecte auxiliaire abeille) et finalement dans des tissus animaux destinés à l'alimentation humaine (poulet, poisson (zebrafish), mammifères (rat)).

La complémentarité et la cohérence des informations apportées par ces marqueurs volatils seront confrontées à des marqueurs ciblés probables traceurs de l'exposition aux pyréthroïdes.

## **Approche ciblée : protéines TSPO, biomarqueurs d'exposition aux insecticides pyréthroïdes**

Une approche d'écotoxicogénomique (Programme Ec2coCNRS 2010-12), mêlant technologie génomique haut débit et toxicologie, a permis de sonder les réponses transcriptomiques (variation de l'expression des gènes) à des concentrations proches de la NOEC (Non Observed Effect Concentration) pour plusieurs pesticides sur un organisme sentinelle de l'environnement, le cilié *Paramecium*.

Le projet consistera à explorer la piste des récepteurs TSPO (TranSlocator PrOtein) dont l'expression chez *Paramecium* est très significativement augmentée à la NOEC de l'insecticide deltaméthrine. L'approche toxicogénomique montre donc que ces récepteurs seraient des marqueurs d'exposition à la deltaméthrine. Les protéines TSPO existent dans tous les taxons du vivant. Elles sont en effet impliquées dans les processus de signalisation cellulaire (apoptose) ou encore dans les voies de synthèse des hormones. Chez les procaryotes, ces protéines sont impliquées dans la réponse au stress oxydatif et leur surexpression favorise la virulence (ex chez *Pseudomonas*).

L'hypothèse de travail de ce post-doctorat est que l'expression modifiée des protéines de type TSPO peut être la conséquence d'une exposition aux insecticides de type pyréthroïde et ce à des doses très faibles. Il s'agira donc d'étudier la relation entre pyréthroïde, protéines TSPO et toxicité dans l'objectif de déterminer un nouveau biomarqueur d'effet ou d'exposition à la fois sur des microorganismes de l'environnement, l'animal et les plantes jusqu'aux microorganismes symbiontes des animaux (microbiote intestinal).

## **Un projet de post doctorat pluridisciplinaire dans un cadre d'écotoxicogénomique**

L'ensemble du projet permet d'apporter des données dans le cadre d'un système continu représenté par les espèces ou taxons cibles des pesticides choisis comme représentatifs d'une chaîne alimentaire ou d'une chaîne de procédés. Il permet de répondre à un manque de connaissances et de données sur la traçabilité des résidus lors de phases de fabrication des aliments, du champ à l'assiette et sur l'existence de biomarqueurs à tous les niveaux d'organisation biologique. Il est à la fois méthodologique, exhaustif (banques de signatures métaboliques inter espèces pour un xénobiotique donné) et exploratoire (TSPO).

Il s'appuie sur de larges compétences analytiques (équipe MASS de l'unité QuaPA INRA) associées à un réseau d'expertise en toxicologie (Toxalim, ANSES...) et en écotoxicologie microbienne (LMGE / CNRS UBP, réseau Ecotoxicomic). La collaboration mise en œuvre et pérennisée autour de ce post-doctorat bénéficiera au futur candidat.

## **Profil recherché, connaissance et compétence**

Nous recherchons des compétences en gestion de projet pluridisciplinaire. Les approches développées se feront sur plusieurs sites scientifiques géographiquement distants. Elles appartiennent à des champs thématiques *de facto* éloignés mais désormais complémentaires et intégrés : physico-chimie analytique, métabolomique, microbiologie, biologie moléculaire. Organisation, esprit de synthèse et qualités relationnelles seront indispensables.

Nous cherchons un(e) candidat(e) avec une double compétence entre chimie et biologie. Toutefois, la collaboration thématique entre les laboratoires peut être l'occasion d'accueillir et former un candidat biologiste ou microbiologiste en métabolomique et inversement.

*Continuum biologique* : Les cultures et élevages d'organismes sont disponibles à l'INRA et au LMGE. Le candidat devra extraire les tissus, fluides et fractions biochimiques.

*Métabolomique / Analytique* : le post-doctorant aura accès aux moyens matériels uniques de l'équipe dans le domaine des sciences séparatives : 5 GC-MS/Quad/MS, 1 GC-FID/ECD/NPD, 1 GC×GC-MS/TOF/MS, 1 GC-GC-MS/O, et un système unique et breveté de GC-Olfactométrie à 8 voies (GC-MS/8O) ainsi que de nombreux systèmes dédiés à la préparation d'échantillons (ASE, Evaporateur centrifuge sous vide partiel, GPC, SPE, SPME, Espace de Tête Dynamique).

Le pilotage de ce plateau est sous la responsabilité de techniciens et d'ingénieurs dédiés, le candidat sera donc largement formé et accompagné.

*Post-génomique* : L'arbre phylogénétique des récepteurs TSPO devra être complété par recherche d'homologie en utilisant des outils bioinformatiques adaptés. PCR avec couples d'amorces dégénérées pour caractérisation moléculaire TSPO. Le suivi d'expression génétique en condition de stress insecticide se fera essentiellement par qPCR à partir d'approches de biologie moléculaire maîtrisées au LMGE.

## **Processus de recrutement :**

Les candidats intéressés par le projet devront envoyer un CV détaillé complet et rédiger une lettre de motivation. Une ou plusieurs lettres d'accompagnement de personnes référentes sont demandées. Nous acceptons les propositions de CV numériques, dynamiques issus de réseaux sociaux professionnels et/ou scientifiques.

## *Conditions*

- avoir soutenu sa thèse dans un laboratoire hors région Auvergne; le candidat peut avoir effectué sa thèse en cotutelle avec un laboratoire régional si l'apport du laboratoire externe est prépondérant,
- ne pas être en poste dans le laboratoire d'accueil avant validation de la candidature par les services de la Région.

Début du post-doc : mai ou sept 2016

Date limite de dépôt des candidatures : 1 mars 2016

Auditions et sélection des candidats : mars / avril 2016