

## Décryptage

# UN NOUVEL OUTIL POUR L'ANALYSE DES POLYEXPOSITIONS CHIMIQUES PROFESSIONNELLES : LA MÉTABOLOMIQUE NON CIBLÉE

Les métabolites sont les molécules produites par le métabolisme. Il peut s'agir de composés produits naturellement par l'organisme ou de contaminants externes plus ou moins transformés. La métabolomique est un outil relativement récent d'exploration des milieux biologiques (notamment le sang et l'urine), consacré à l'étude de l'ensemble des métabolites qui y sont présents. Issue d'autres domaines, cette technique fait son entrée dans le monde de la santé au travail. Cette approche globale est appropriée dans le cadre de recherches sur les polyexpositions professionnelles et de leurs potentiels effets sur la santé. Cet article présente la démarche d'une analyse métabolomique, ses avantages et ses limites, ainsi que ses applications potentielles en santé au travail.

**A NEW TOOL FOR ANALYSING MULTIPLE OCCUPATIONAL CHEMICAL EXPOSURES: UNTARGETED METABOLOMICS** – *Metabolites are molecules formed during metabolism. They can be compounds produced naturally by the organism or environmental pollutants that have been more or less transformed. Metabolomics is a relatively recent tool for exploring biological environments (in particular blood and urine), used to study all of the metabolites present. Derived from other fields, this technique has made its way into the world of occupational health. This global approach is suitable for research on multiple occupational exposures and their potential health effects. This article presents the metabolomics analysis approach, its advantages and limits, as well as its potential applications in occupational health.*

BANINIA  
HABCHI,  
AURÉLIE  
REMY  
INRS,  
département  
Toxicologie et  
biométrie

### Problématique liée aux polyexpositions chimiques

La prévention des risques chimiques reste un défi majeur en santé au travail. En milieu professionnel, de nombreux travailleurs sont exposés simultanément à plusieurs substances chimiques. Pour autant, l'évaluation des niveaux d'exposition à ces substances, dont découle en partie la prévention/gestion des risques professionnels, repose aujourd'hui principalement sur l'utilisation de méthodes analytiques quantitatives ciblées (Cf. Encadré), peu adaptées à cette polyexposition chimique. En effet, l'analyse de plusieurs centaines de substances nécessite le développement d'un grand nombre de méthodes ciblées, ce qui est difficile et coûteux à mettre en

place. Également, pour certaines expositions, peu d'informations sont disponibles sur les substances à étudier ; il est ainsi difficile de connaître *a priori* toutes les substances à rechercher. Cependant, cette polyexposition chimique est un élément essentiel à prendre en compte dans l'évaluation et la prévention des risques chimiques des travailleurs, sachant que la toxicité d'une substance, mélangée à d'autres produits chimiques (en « cocktails »), peut différer de celle de cette substance seule. Par exemple, Delfosse *et al.* [1] ont montré que certains perturbateurs endocriniens peuvent, dans certains cas, présenter un effet potentiellement toxique à des doses largement plus faibles s'ils sont mélangés. Par conséquent, le développement de méthodes



ENCADRÉ

DÉFINITIONS

• **Métabolomique** : analyse qualitative et quantitative ou semi-quantitative la plus exhaustive possible, et non sélective, de tous les métabolites détectables dans un système biologique donné = détermination la plus complète possible du métabolome.

• **Métabolome** : ensemble des métabolites endo- et exo- gènes présents dans un milieu biologique (fluides biologiques, cellules, tissus,...).

• **Métabolites** : substances intermédiaires ou produits issus du processus métabolique, présents dans un milieu biologique.

Les métabolites sont caractérisés par une très grande hétérogénéité (physico-chimique, structurale, de concentration) et 80 % des métabolites ont une masse inférieure à 600 unités de masse atomique.

• **Métabolites endogènes** : regroupent les métabolites qui sont synthétisés par l'organisme (ex., des acides aminés, acides carboxyliques, alcools, antioxydants, nucléotides, polyols, vitamines ou encore hormones chez les mammifères).

• **Métabolites exogènes** : représentent les métabolites non synthétisés

directement par l'organisme, comme les composés générés par le métabolisme de dégradation des composés provenant des polluants environnementaux, de la nourriture ou des médicaments, et toute molécule étrangère à un organisme.

• **Approche ciblée (*target analysis*)** : analyse quantitative précise et sensible d'un métabolite ou d'un groupe de métabolites prédéfini.

• **Approche non ciblée (*metabolic fingerprinting*)** : analyse globale sans *a priori* des échantillons biologiques permettant leur classification selon des classes prédéfinies.

Elle cherche ainsi à comparer des profils métabolomiques qui sont modifiés en réponse à une pathologie ou à une exposition à un toxique, sans préoccupation majeure pour la caractérisation ou la quantification absolue des métabolites. C'est une approche chimiométrique, qui fait appel à des analyses statistiques multivariées pour la construction de modèles prédictifs.

• **Chimiométrie** : ensemble de méthodes mathématiques et statistiques utilisées pour le traitement des données chimiques et biologiques et permettant

d'extraire les informations pertinentes reliées à une question définie.

• **Biomarqueur d'exposition** : substance exogène, métabolite primaire ou réponse à une interaction entre un polluant et une molécule ou cellule-cible mesurée dans un fluide biologique. Il permet d'estimer la quantité de polluant absorbée et éventuellement accumulée dans l'organisme de l'individu exposé.

• **Biomarqueur d'effet** : altération biochimique, physiologique, comportementale ou autre, mesurable dans un organisme, qui, selon son ampleur, peut être reconnue comme étant associée à une atteinte, confirmée ou possible, de l'état de santé, ou à une maladie. La mesure estime indirectement la quantité de substance toxique liée aux sites d'action, afin d'évaluer précocement des altérations fonctionnelles de l'organe cible, encore réversibles, et plus ou moins proches de la survenue de la maladie. Contrairement au biomarqueur d'exposition, il est peu spécifique de l'exposition à un toxique.

analytiques permettant d'évaluer les expositions à des substances multiples devient incontournable. Dans ce contexte, les nouvelles méthodes de criblage non ciblées, de type « -omiques » (telle la métabolomique), déjà très utilisées dans d'autres domaines, sont une réelle opportunité en santé au travail. La métabolomique offre ainsi la possibilité de détecter un très grand nombre de substances endogènes et exogènes contenues dans le milieu biologique analysé, fournissant des informations précieuses pour la détection et l'évaluation d'expositions multiples en milieu professionnel et la mise en évidence d'éventuels effets biologiques, qui eux-mêmes se manifestent par la production de molécules parfois spécifiques.

**La métabolomique**

**Histoire et origine**

Depuis les années 1990, les innovations technologiques se basant sur des approches globales, telles que les approches « -omiques » (Cf. Figure 1), ont conduit à une véritable révolution dans l'étude de

systèmes biologiques et l'identification des biomarqueurs d'exposition et d'effets. Par analogie avec les notions de génome, de transcriptome et de protéome (correspondant respectivement à la variation d'expression des gènes, des ARN et des protéines), le concept de métabolome fait référence à l'ensemble des métabolites (endogènes ou exogènes) contenus dans un milieu biologique, c'est-à-dire des molécules produites par le métabolisme. Il peut s'agir de composés produits naturellement par l'organisme ou de contaminants externes plus ou moins transformés.

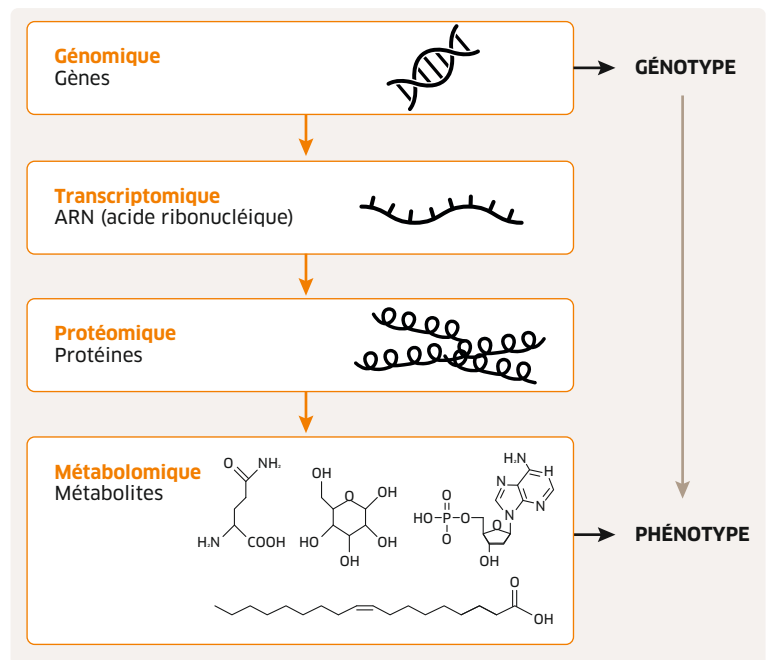
Ces nouvelles approches « -omiques », globales et sans *a priori* (sans information préalable sur les molécules recherchées), reposent sur une même stratégie de recherche de biomarqueurs, basée sur la comparaison des échantillons « contrôle » et des échantillons « exposés/malades ». Concernant la métabolomique, différentes approches ont été développées en parallèle. Leur définition varie selon les auteurs, mais elles peuvent être classées sous deux catégories : l'approche ciblée (*target*

analysis) et l'approche non ciblée (*non-target screening*: NTS). Cette dernière approche, qui a retenu l'intérêt des équipes de recherche de l'INRS, donne accès à l'ensemble des métabolites présents dans les échantillons biologiques et, potentiellement, la détection simultanée d'un plus grand nombre de substances auxquelles un travailleur serait exposé. Elle permet de caractériser un « profil métabolomique », soit l'empreinte unique du milieu biologique, qui évoluera en fonction des modifications biologiques de l'organisme associées à des expositions ou à des pathologies, qu'elles soient d'origine environnementale ou professionnelle.

## Analyse métabolomique non ciblée

La métabolomique est une approche pluridisciplinaire qui conjugue plusieurs techniques et compétences: la chimie analytique permettant la préparation des échantillons et la production des empreintes métabolomiques; l'analyse statistique ou chimiométrique des données pour répondre aux questions biologiques (par exemple, l'identification des substances exogènes auxquelles un groupe d'individus est exposé); et finalement, la toxicologie pour l'interprétation biologique des résultats. Cette pluridisciplinarité exige un travail collaboratif. L'analyse métabolomique comprend ainsi quatre grandes étapes, résumées sur la Figure 2 :

- **étape n°1**: la collecte et la préparation des échantillons biologiques (urine, sang, lait maternel, cheveux, salive, organes, etc.);
- **étape n°2**: la production des données (spectres des profils métabolomiques, Cf. Figure 3);
- **étape n°3**: le traitement et l'exploitation statistique des données générées, pour déterminer les



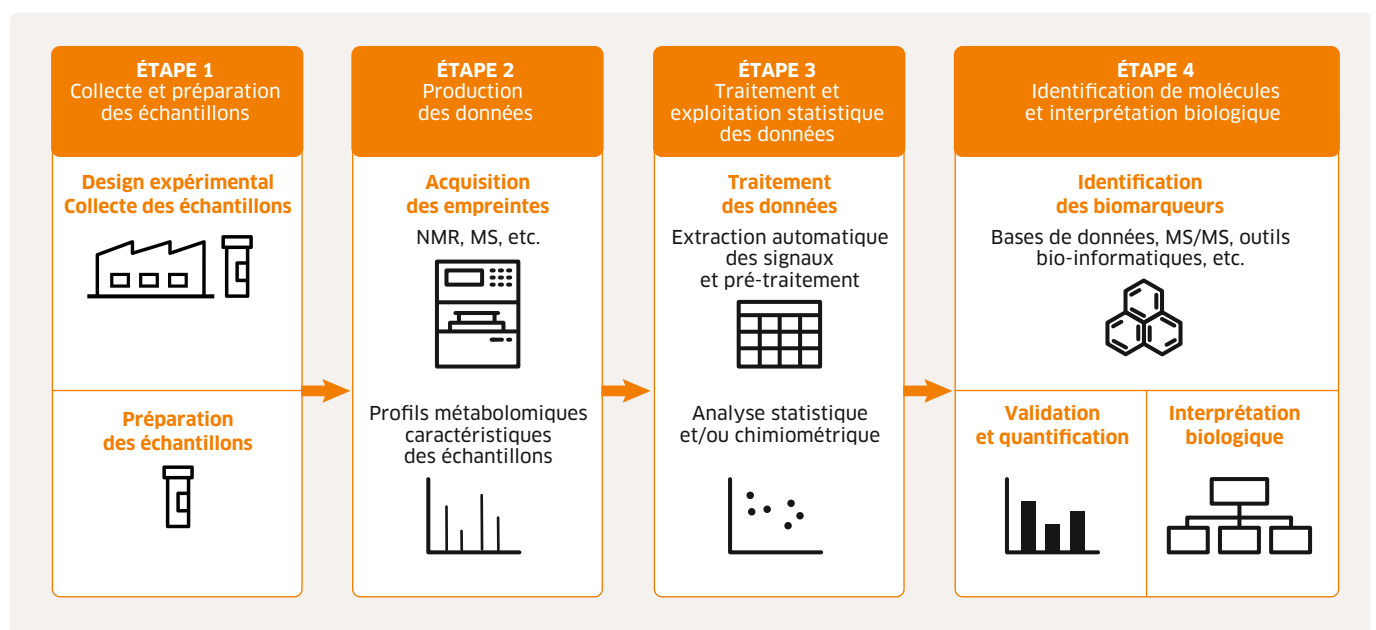
↑ **FIGURE 1** Les approches « -omiques ». L'approche génomique consiste à étudier le génome, qui représente l'ensemble des informations nécessaires à la reproduction et à l'établissement des fonctions biologiques d'un organisme. Elle permet d'en apprendre plus sur le fonctionnement de l'organisme humain et sur certaines maladies; l'approche transcriptomique consiste à suivre les molécules messagers (les ARN) produites par la transcription du génome; l'approche protéomique s'intéresse aux protéines codées par le génome et générées par l'action des ARN. L'approche métabolomique s'intéresse directement à tous les métabolites présents dans un milieu biologique, tels que les acides aminés, les acides nucléiques, les glucides et les lipides.

métabolites/substances présents, permettant par exemple de séparer deux groupes différents;

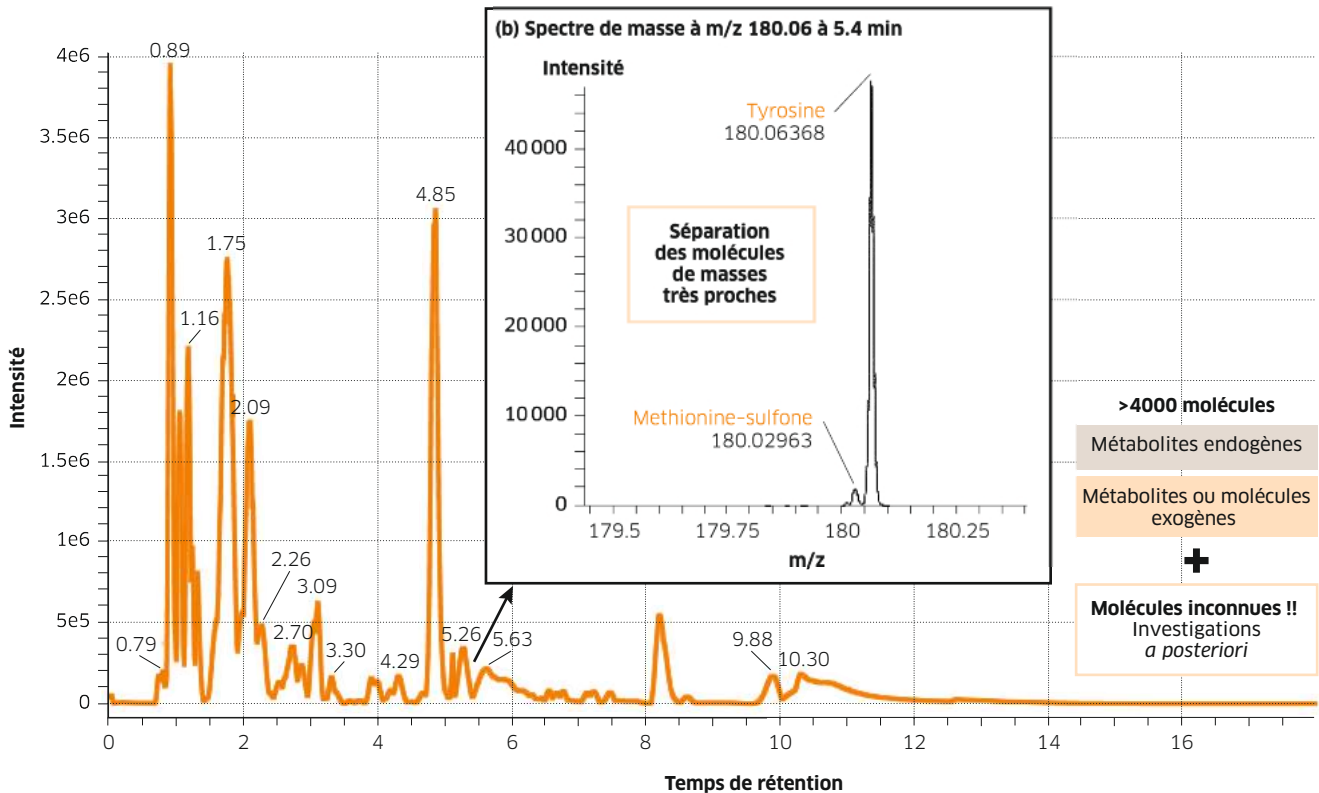
- **étape n°4**: l'annotation et l'identification de ces métabolites à l'aide de bases de données, suivies par l'interprétation biologique des biomarqueurs identifiés.

Plusieurs techniques analytiques ont été développées pour les études métabolomiques [2-3].

↓ **FIGURE 2** Schématisation des quatre étapes de l'analyse métabolomique non ciblée.



(a) Profil métabolomique d'un échantillon urinaire



↑ FIGURE 3  
a) Profil métabolomique d'un échantillon d'urine.  
b) Spectre de masse extrait du profil métabolomique à TR 5,4 min et à m/z 180,06, où deux molécules de masse très proches (e.g., tyrosine et méthionine-sulfone) sont séparées grâce à l'utilisation de la HRMS.

La chromatographie en phase liquide, couplée à un instrument de spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS), est devenue une des méthodes de choix pour répondre à un grand nombre de questions d'ordre biologique. Les métabolites sont caractérisés, avec cette technique, par leur masse (plus précisément, leur m/z : rapport masse/charge de la molécule), leur temps de rétention (TR : temps nécessaire à une molécule pour sortir de la colonne chromatographique et être détectée), leur intensité (l'aire ou la hauteur du pic chromatographique reflétant la concentration relative de la molécule), ainsi que leur spectre de masse en tandem ou MS/MS (obtenu par la mesure de la masse des fragments de cette molécule)<sup>1</sup>. L'ensemble de ces éléments constitue le profil métabolomique caractéristique de chaque échantillon (Cf. Figure 3). Les avantages de la chromatographie en phase liquide, couplée à un instrument de spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS), vont être :

- son pouvoir de résolution (Rp), permettant de distinguer des substances différentes mais de masses très proches. Ce critère est très important pour les analyses métabolomiques non ciblées où un grand nombre de substances est détecté dans un même échantillon biologique. Certaines substances ont inévitablement des m/z très proches (molécules isobares ; Cf. Figure 3b), leur séparation et leur identification sans ambiguïté nécessitent, en plus

de la séparation chromatographique, l'utilisation d'instruments à haute résolution (Rp > 10 000) ;

- sa sensibilité, permettant la détection de faibles concentrations de métabolites (de l'ordre du µg/l pour les analyses non ciblées).

Sur le profil métabolomique présenté en Figure 3a, obtenu par LC-HRMS à partir d'un échantillon d'urine, un grand nombre de substances (quelques milliers) sont détectées sans que l'on ait d'information préalable sur ce qui est à rechercher. Ces molécules se séparent par leur temps de rétention TR et leur masse m/z ; par exemple, la tyrosine est caractérisée par un TR de 5,4 min et une masse m/z de 180,06. Toutefois, pour ce même TR de 5,4 min (Figure 3b), une autre molécule de masse très proche de celle de la tyrosine est détectée grâce à la très haute résolution avec une masse m/z de 180,0296 et correspond à la méthionine-sulfone. Il est ainsi possible de détecter un grand nombre de substances dans un même profil métabolomique. L'ensemble de ces substances peut avoir différentes origines : elles peuvent être issues du métabolisme « interne », de l'alimentation, des boissons, de la flore intestinale, de xénobiotiques (polluants, médicaments...), mais aussi résulter de pathologies. Pour cette raison, leurs concentrations peuvent varier d'un individu à l'autre et, souvent, leur analyse demande de recourir à des outils statistiques. Ces outils permettront par exemple d'identifier les **métabolites**

(plus exactement, les couples m/z et RT donnés sans qu'on en connaisse nécessairement l'origine) **discriminants** (dont les niveaux de concentrations sont différents entre groupes d'échantillons). En milieu professionnel, il s'agit par exemple de déterminer les métabolites qui distinguent une population exposée d'une population non exposée.

L'identification des métabolites à partir de leur profil reste le défi majeur de l'approche métabolomique non ciblée. Cette identification se focalise principalement sur les métabolites discriminants et non sur la totalité (plusieurs milliers) des métabolites. Elle nécessite le recours à plusieurs outils et bases de données de métabolites. Par exemple, une identification « putative » peut être obtenue grâce à des bases de données de métabolites en libre accès, telles que HMDB ou KEGG<sup>2</sup>. Toutefois, cette identification est empreinte d'incertitude. L'identification absolue ne peut être assurée que par l'utilisation d'une base de données interne, propre à chaque laboratoire et dédiée à la méthode analytique développée. La création de ces bases de données internes représente un travail considérable : obtention des standards (métabolites de référence), acquisition des profils métaboliques de ces standards suivant la méthode analytique retenue, et traitement de ces profils pour obtenir les caractéristiques de chaque standard<sup>3</sup>. C'est la comparaison des caractéristiques des profils de ces standards avec celles des pics correspondants aux métabolites discriminants qui permet ensuite leur identification absolue.

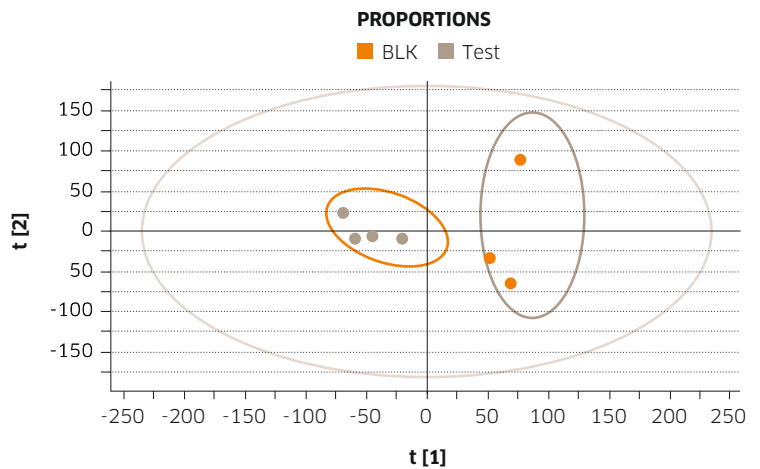
### La métabolomique dans l'évaluation des risques professionnels

Les approches métabolomiques non ciblées ont montré leur efficacité dans différents domaines de recherche tels que le diagnostic de pathologies, la détection de biomarqueurs liés à diverses maladies chroniques, la nutrition, la sécurité alimentaire, la pollution environnementale. Dans le cadre de l'évaluation des risques, des études de faisabilité utilisant cette approche commencent à se développer. Cela a été le cas notamment avec le projet européen HBM4EU<sup>4</sup>, destiné, entre autres, à améliorer l'évaluation des risques liés à certaines substances chimiques et à harmoniser les initiatives de bio-surveillance humaine à l'échelle européenne.

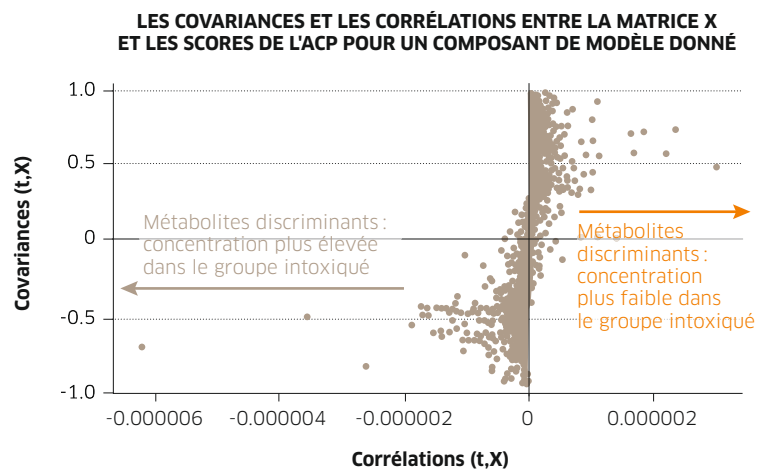
En effet, dans le cas d'expositions professionnelles, cette approche mérite d'être développée, tant elle est prometteuse. Dans la suite de cet article, des exemples d'application issus de différents domaines sont présentés, montrant la faisabilité et l'efficacité de cette approche, et seraient transposables à la santé au travail, à condition de les adapter spécifiquement :

- aux polluants ;
- aux biomarqueurs d'effet adaptés ;
- aux faibles doses d'exposition induisant des niveaux

(a) ACP - Scores



(b) S-Plot



de concentration des biomarqueurs d'expositions généralement pas détectés, alors que des perturbations métaboliques endogènes pourraient survenir avec des effets néfastes sur la santé.

### La métabolomique pour la détection des biomarqueurs des polluants : exemples

L'étude menée par Chen *et al.* en 2018 [4] illustre l'efficacité de l'approche métabolomique non ciblée pour identifier l'origine des perturbations métaboliques et pour comprendre en profondeur le mécanisme d'intoxication de quatre enfants hospitalisés, sans information sur l'origine, probablement commune, de l'intoxication. Des échantillons de sang ont été prélevés sur ces quatre cas et analysés avec cette approche, afin de déterminer l'origine de l'intoxication. Les profils métabolomiques de ces enfants ont été comparés à ceux d'enfants sains. Une distinction entre les deux groupes a été obtenue suite à l'analyse multivariée par ACP (analyse en composantes principales, Cf. Figure 4a). Des métabolites discriminants entre ces deux groupes ont été détectés (Cf. Figure 4b). Sur cette figure, chaque point

**↑ FIGURE 4**  
Analyse statistique multivariée des groupes intoxiqués (groupe « Test » - points beiges) et des groupes témoins sains (groupe « BLK » - points orange) d'après [4] ; (a) les scores des deux premières composantes principales obtenus suite à l'analyse multivariée des données par ACP où chaque point représente un individu ; les individus intoxiqués (points beiges) et les individus sains (point orange) sont bien séparés par la composante principale t[1] ; (b) sélection des variables les plus discriminantes séparant les deux groupes en utilisant un S-Plot.



représente un couple (TR, m/z) correspondant à une forme détectable d'un métabolite donné. Les points les plus éloignés de la ligne verticale au milieu sont ceux qui contribuent le plus à la séparation des deux groupes d'individus. Les métabolites qui sont situés du côté de la flèche beige ont une concentration plus élevée chez les individus intoxiqués (points beiges) et inversement de l'autre côté. Leur identification, associée à l'analyse combinée de la littérature et des symptômes cliniques, a permis aux chercheurs de déterminer l'origine de l'intoxication (penfluridol) et de découvrir les perturbations endogènes associées à cette molécule (acyl-carnitine).

Un autre exemple concerne l'évaluation de l'exposition aux mélanges de pesticides dans cinq pays, dans le cadre du projet européen HBM4EU [5]. La collecte d'échantillons urinaires sur des zones agricoles et non agricoles combinée à l'analyse métabolomique harmonisée, par différents laboratoires européens, a permis de détecter 40 biomarqueurs d'expositions, liés à des molécules plus ou moins transformées, issues de 29 pesticides parents.

Ces exemples montrent l'utilité de cette approche pour l'évaluation des risques liés aux mélanges de substances (polyexpositions) dans la population européenne. Elle peut servir dans un contexte identique de détection des substances exogènes auxquelles les travailleurs seraient exposés en milieu professionnel, en comparant les profils métabolomiques d'un groupe exposé *via* une activité professionnelle donnée par rapport à ceux d'un groupe non exposé. Ainsi, les substances dont la concentration relative est perturbée entre ces deux groupes seront détectées, et cela, sans aucune information disponible *a priori*.

#### **Intérêt de la métabolomique pour la détection des biomarqueurs d'effets**

Plusieurs études ont montré l'efficacité de l'approche métabolomique pour la détection des biomarqueurs d'effets, suite à une exposition environnementale ou à une maladie. Par exemple, cette approche métabolomique a été appliquée avec succès dans le domaine de la recherche en santé pour la détection des biomarqueurs indiquant un fort risque de diabète de type 2. Des empreintes métaboliques caractéristiques ont été acquises à partir d'échantillons de plasma de 46 sujets non diabétiques et présentant différentes sensibilités à l'insuline [6]. Une séparation des individus en deux groupes a été observée à l'aide d'une analyse multivariée supervisée. Cela a conduit à la caractérisation d'une phase transitoire pré-diabétique, qui peut précéder des altérations sévères du métabolisme glucidique. Cet exemple montre l'intérêt de cette approche pour détecter les premiers des effets précoces; elle peut s'appliquer au cas d'exposition à des substances chimiques

des travailleurs en milieu professionnel. Suite à ce dépistage précoce, des mesures préventives dans les lieux de travail peuvent être envisagées, permettant une meilleure gestion des risques et des maladies qui peuvent être réversibles, si elles sont traitées à temps.

#### **Intérêt de la métabolomique pour l'étude des effets des faibles doses**

L'effet des faibles doses est jugé d'une importance majeure depuis quelques années. Les processus d'évaluation des risques liés à une substance chimique sont généralement basés sur des études toxicologiques traditionnelles qui considèrent qu'une exposition à un produit toxique augmente avec le niveau et la durée de l'exposition (*monotonic dose-response*) et qu'il n'y a pas d'effet néfaste en dessous d'un seuil d'exposition. Cependant, cette hypothèse ne serait pas valable dans le cas de certaines substances toxiques, par exemple les perturbateurs endocriniens pour lesquels des effets néfastes sur la santé, à de très faibles doses, ont été montrés [7].

Un intérêt particulier est ainsi porté aux méthodes permettant d'étudier les effets des expositions à faibles doses, notamment dans le cas où ces dernières ne sont pas quantifiables. Par exemple, l'exposition à l'uranium est relativement facile à détecter, car elle ne nécessite qu'un simple dosage urinaire de cet élément. Néanmoins, lorsque l'individu a été contaminé à faible dose ou depuis quelques jours, cette analyse peut s'avérer insuffisante, surtout si la concentration urinaire en uranium est proche du bruit de fond analytique. Grison *et al.* ont montré en 2022 la pertinence de l'approche métabolomique pour identifier des biomarqueurs précoces et mettre en évidence les principales voies métaboliques, telles que les voies de nicotinate-nicotinamide et du tryptophane, qui sont perturbées suite à l'exposition aiguë de rats à de faibles doses d'uranium [8].

Ces différents exemples montrent ainsi que le champ d'applications de la métabolomique est vaste et les perspectives en santé au travail, prometteuses. L'approche métabolomique non ciblée devrait permettre d'obtenir une « photographie des marqueurs biologiques » et de fournir une signature des expositions des travailleurs à chaque poste. Elle fournit un profil métabolomique sous la forme d'un fichier qui peut être conservé. Il contient, par ailleurs, des informations sur des métabolites non identifiés sur le moment mais qui pourraient se révéler utiles pour une enquête *a posteriori*. Il pourra s'agir, par exemple, de répondre à différentes questions, telles que : quelles ont été les substances auxquelles les travailleurs ont été exposés sur leur lieu de travail à une période donnée ? Une nouvelle substance d'intérêt, récemment identifiée, était-elle déjà présente dans les échantillons analysés au cours des dernières années ? Il suffira d'ajouter le standard de

la substance d'intérêt à la base de données interne et d'interroger les profils métaboliques des échantillons déjà acquis pour les comparer avec les caractéristiques (m/z, RT, MS/MS) de cette substance.

## Enjeux futurs : questions éthiques, identification des inconnus, harmonisation

Reste à assurer la qualité des données métaboliques générées. Des stratégies d'évaluation doivent être mises en place pour éviter tout biais analytique et pour obtenir des résultats robustes, susceptibles d'être échangés entre différents laboratoires<sup>5</sup>. De plus, plusieurs étapes sont encore à améliorer, tant au niveau de la gestion des grands volumes de données générées, qu'au niveau de l'extraction et du prétraitement de ce type de données. Autre défi, l'identification ultime des substances d'intérêts nécessite la construction, laborieuse, de bases de données internes qui doivent être adaptées au contexte de recherche. À notre connaissance, il n'existe pas, à ce jour, de bases de données spécifiques aux problématiques de santé au travail.

Dans un objectif de prévention des risques professionnels, l'utilisation de l'approche métabolique à des fins de recherche en milieu professionnel, qui offre la possibilité théorique de « tout » identifier dans une matrice biologique, soulève inévitablement des questions d'ordre éthique. Comment garantir la confidentialité des données ? Quelles sont les conditions de leur conservation, du retraitement des profils métaboliques dans le cas d'investigations *a posteriori* ? Quelle sera la conduite à tenir en cas de détection de substances illégales, de marqueurs de pathologie ?

Ces différents éléments sont encadrés par la loi (Code de la santé publique), qui rend indispensable l'obtention d'un avis favorable du Comité de protection des personnes (CPP) pour toute recherche impliquant la personne humaine. Le CPP évalue la pertinence du projet de recherche, la protection des personnes participant à la recherche, ainsi que la durée de conservation et les conditions d'utilisation des échantillons et des données.

## Conclusion

L'approche métabolique paraît être un outil efficace d'exploration des polyexpositions chimiques en milieu professionnel. Les profils métaboliques décrivent de façon exhaustive les substances/métabolites présents dans les fluides biologiques. Ils permettent la détection de (nouveaux) biomarqueurs d'exposition ou d'effets, caractérisent les perturbations d'origine toxique et renforcent l'analyse toxicologique des substances exogènes et des polyexpositions. L'avantage de ces profils métaboliques est de mener des investigations sur des substances non ciblées *a posteriori*, ainsi que des analyses statistiques comparatives pour discriminer différents

groupes d'exposition. Cependant, l'identification des substances d'intérêt reste une étape clé pour laquelle des bases de données dédiées à la problématique étudiée et plus particulièrement à la santé et sécurité au travail doivent être construites. ●

1. Spectrométrie de masse en tandem MS/MS : pour obtenir des informations plus précises sur la structure des ions fragments issus de la décomposition des composés moléculaires introduits, on fait appel à des spectromètres de masse comportant au minimum deux analyseurs en série.
2. HMDB : Human metabolome database ; contient plus de 217 920 substances référencées. Voir : <https://hmdb.ca/>. KEGG : Kyoto encyclopedia of genes and genomes ; voir : <https://www.genome.jp/kegg/>
3. Par exemple, Metabolon offre la possibilité de détecter et d'identifier environ 5 400 métabolites (70 voies majeures) en utilisant quatre méthodes LCMS complémentaires. Ce niveau de performance est assez rare et demande des investissements importants.
4. HBM4EU : European human biomonitoring initiative for the European Union. Voir : <https://www.hbm4eu.eu/>
5. Par exemple, dans le cadre de certains projets européens et d'essais interlaboratoires, comme pour les analyses ciblées.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] DELFOSSE V. ET AL. – Synergistic activation of human pregnane X receptor by binary cocktails of pharmaceutical and environmental compounds. *Nature communications*, 2015, No. 8089. Accessible sur : <https://doi.org/10.1038/ncomms9089>
- [2] GOODACRE R.S. ET AL. – Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22, pp. 245-252. Accessible sur : [doi:10.1016/j.tibtech.2004.03.007](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.03.007)
- [3] FUHRER T., ZAMBONI N. – High-throughput discovery metabolomics. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2015, 31, pp. 73-78. Accessible sur : [doi:10.1016/j.copbio.2014.08.006](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.08.006)
- [4] CHEN C. ET AL. – Metabolomics-based parallel discovery of xenobiotics and induced endogenous metabolic dysregulation in clinical toxicology. *Biomedical chromatography*, 2018. Accessible sur : <https://doi.org/10.1002/bmc.4413>
- [5] OTTENBROS I. ET AL. – Assessment of exposure to pesticide mixtures in five European countries by a harmonized urinary suspect screening approach. *International journal of hygiene and environmental health*, 2023, 248, p. 11410. Accessible sur : [doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114105](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114105)
- [6] LUCIO M. ET AL. – Insulin sensitivity is reflected by characteristic metabolic fingerprints-a Fourier transform mass spectrometric non-targeted metabolomics approach. *PLoS One*, 2010, 5, p. e13317. Accessible sur : [doi:10.1371/journal.pone.0013317](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013317)
- [7] BEAUSOLEIL C. ET AL. – Low dose effects and non-monotonic dose responses for endocrine active chemicals: science to practice workshop: workshop summary. *Chemosphere*, 2013, 93 (6), pp. 847-56. Accessible sur : [doi:10.1016/j.chemosphere.2013.06.043](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.043)
- [8] GRISON S. ET AL. – Early metabolomic markers of acute low-dose exposure to uranium in rats. *Metabolites*, 2022, 12 (5), p. 421. Accessible sur : [doi:10.3390/metabo12050421](https://doi.org/10.3390/metabo12050421)