

Nanoparticules : Nature, utilisations, effets sur la santé

Pascal Andujar^{1,2}

¹Université Paris-Est Créteil
Faculté de Médecine
Inserm U955
8 rue du Général Sarraill
94000 Créteil - FRANCE
pascal.andujar@inserm.fr

²Centre hospitalier Intercommunal de Créteil
Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle
40 avenue de Verdun
94000 Créteil – FRANCE
pascal.andujar@chicreteil.fr

Plan

- Quelques définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?
- Conséquences en milieu de travail

Quelques définitions

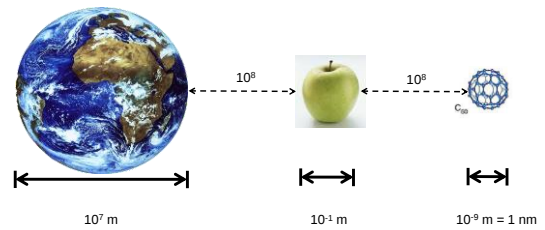
Nanotechnologies : Ensemble des techniques visant à concevoir, caractériser et produire, des matériaux à l'échelle nanométrique.

Nanomatériaux : (nano-objets) : Objets dont au moins une de leurs dimensions est nanométrique (< 100 nm) (US National Nanotechnology Initiative).

- 1 dimension nanométrique : *nanofeuillet*
- 2 dimensions nanométriques : *nanotube*
- 3 dimensions nanométriques : *nanoparticule*

Remarque : Particules ultrafines (PUF) = PM 0,1 (particules de la pollution atmosphérique)

Représentation de l'échelle nanométrique



Plan

- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?

Sources d'émission des nanoparticules (NP)

- Nanoparticules non manufacturées (particules ultrafines) :

- Origine naturelle (feux de forêt, éruption volcanique, embruns marins...)



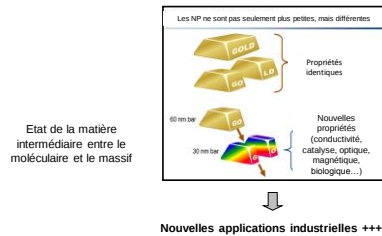
- Origine anthropique non intentionnelle (émersion de fumées diesel, de tabac, de soudage, de cuisson...)



- Nanoparticules manufacturées :

- Origine anthropique intentionnelle

Nanoparticules : Pourquoi un tel engouement ?



Plan

- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?

Marché des nanotechnologies

- Très forte croissance mondiale
- Revenu mondial
 - > 40 milliards € en 2001 (estimation de la Commission européenne)
 - Estimation : > 500 milliards € en 2008.
 - Estimé à 1850 milliards € en 2015
- En 2010 : 34 % de l'impact économique global (= plus grande part du marché).



Principales nanoparticules produites et employées (par ordre décroissant)

Déclaration des entreprises interrogées après vérification du caractère nanométrique (n= 1047 ; taux de réponse = 47% après relance)
Enquête pilote menée en 2009-2010 par l'INRS 2011, ND2340

- 77 entreprises utilisatrices – 216 références de nano-objets déclarés => 151 références confirmées (70%)
 - Dioxyde de silice (SiO_2)
 - Noir de carbone
 - Dioxyde de titane (TiO_2)
 - Oxydes de fer (Fe_2O_3)
 - Carbonate de calcium (CaCO_3)
 - Alumines (Al_2O_3 le plus souvent)
 - Nanoargiles
 - Oxyde de Cérium (CeO_2)
 - Nanotubes de carbone (NTC)



Difficulté d'identification du caractère nanométrique des particules employées de la part des entreprises utilisatrices +++ et donc pour les utilisateurs, préventeurs et médecins du travail

Evolution de la réglementation

- Déclaration annuelle des nanomatériaux mis sur le marché depuis 1^{er} Janvier 2013 auprès de l'ANSES
 - 100 g par an et par substance
 - site internet « R-Nano »
- Etiquetage des cosmétiques contenant des nanomatériaux depuis Juillet 2013
- Procédures d'autorisation spécifique et d'étiquetage des biocides contenant des nanomatériaux depuis Septembre 2013
- Indication dans la liste des ingrédients contenant des nanomatériaux dans les denrées alimentaires à compter de Décembre 2014

Production/utilisation annuelle des NP

En 2012, en France : > 500 000 tonnes (ANSES, 2013)

- 280 000 tonnes produites
- 220 000 tonnes importées

• Deux types de production :

- Industrielle : forts tonnages
- Académique => faibles quantités

Dioxyde de silice (SiO₂)

France = 155 000 t/an

• Silice naturelle :

• Emplois :

- Agents de filtration (terres de diatomées)
- Charge dans les peintures
- Support de catalyseurs
- Abrasifs doux (papier ponçage très fin, savon, dentifrice...)



• Silices synthétiques :

2 formes : Silice pyrogénée et fumée de silice

– Emplois :

- Idem
- Industrie du caoutchouc/silicone (pneumatiques, semelles, silicone, mastics...)
- Industrie agro-alimentaire (supports de vitamines, d'acidifiant,...)
- Industrie pharmaceutique (excipient)
- Ciments réfractaires/béton



Dioxyde de titane (TiO₂)

• France : Production (14 000 t/an)

• Principaux emplois :

• BTP :

- Charge dans les peintures
- Baguettes de soudage
- Façades autonettoyantes dans le BTP (verre, murs...)
- Mobilier urbain en béton (absorberait les NOx notamment)
- Ciment

• Industrie cosmétique

- Crèmes solaires

• Industrie automobile

- Filtre à particules,
- pots catalytiques des moteurs essence



Verre flotté ordinaire (G)
Verre auto-nettoyant photocatalytique (D)

Dioxyde de titane (TiO₂)

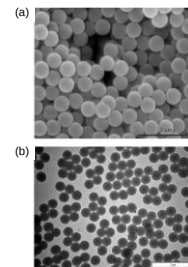


Figure. Nanosphères de TiO₂ monodispersées
(a) en MEB (b) en microscopie électronique à transmission (MET)

Chimentao et al, J Exp Nanoscience 2006

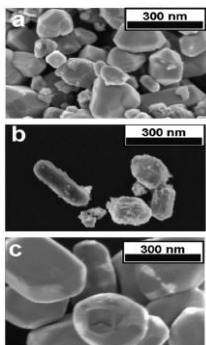


Fig. 1. Characterization of anatase and fine titanium dioxide (TiO₂) particles used in the preliminary toxicity study. High resolution scanning electron micrographs (HR-SEM) of titanium samples A and B (labeled a and b) and fine sample (c). Micrographs depict variation in surface treatment and particle size within each of the anatase and fine TiO₂ nanoparticles.

Dioxyde de titane (TiO₂)

2 formes cristallines

- Carbochloration => Forme rutile
- H₂SO₄ => Forme anatase et rutile

Figure. Nanoparticules (a et b) et particules fines (c) de TiO₂ en microscopie électronique à balayage (MEB) à haute résolution

Warheit et al, Toxicol Letters 2007

Nono-argiles (alumino-silicates)

• France : Production industrielle (500 t/an)

– Principaux emplois :

- Emballages sous forme de nano-charges (5 à 10%) => rigidité / légèreté / barrière contre les gaz renforcée / transparence

• Industrie automobile => rigidité / légèreté

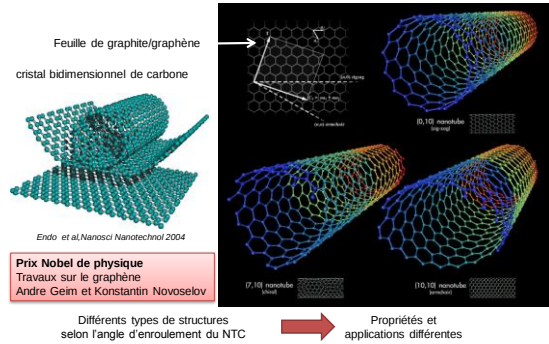
• Industrie du papier => retardateur de flamme



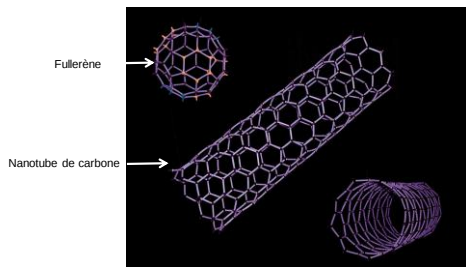
Nanotubes de carbone (NTC)

- France : Production industrielle (plusieurs dizaines de t/an)
- **NTC** = un ou plusieurs tubes concentriques de taille nanométrique.
 - SWCNT (SWNT)= **S**ingle-**w**alled **c**arbon **n**anotubes
 - MWCNT (MWNT)= **M**ulti-**w**alled **c**arbon **n**anotubes
- **Structure** : Formés d'atomes de carbone disposés en réseau hexagonal
- **Longueur** : pratiquement plus limitée (plusieurs μm).

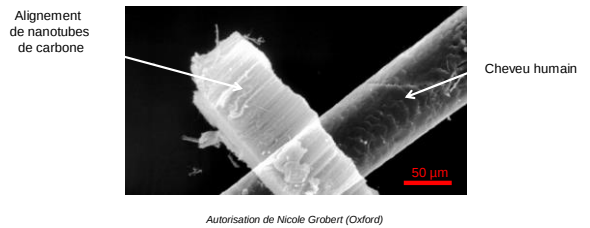
Structures des NTC



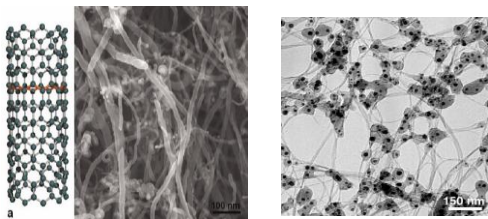
Nanomatériaux carbonés



Nanotubes de carbone (NTC)



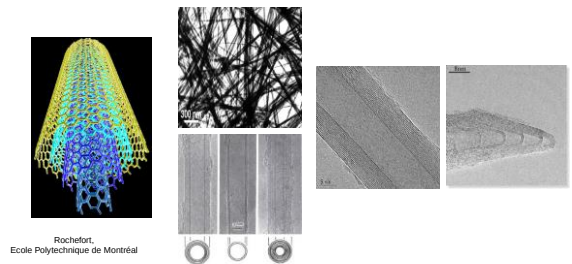
SWNT



Grobert et al, Materials Today 2006

Thess et al, Science 1996

MWCNT



Rochefort,
Ecole Polytechnique de Montréal

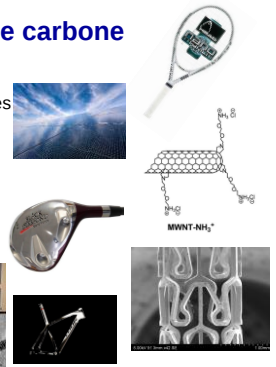
Iijima et al, Nature 1991

Propriétés des nanotubes de carbone

- **flexibilité** : 100 fois plus résistante et 6 fois plus légère que l'acier.
➢ fabrication de matériaux composites de haute performance
- **Très grande force de tension et de compression**
- **Grande surface de contact** avec l'air (250 m²/g)
➢ Important pour les processus de catalyse chimique, de stockage de gaz et de filtrage
- **Très grande densité de courant par section**
- **Conduction électrique** meilleure que le **cuivre** à température ambiante
- **Très bonne conductivité thermique** proche du diamant (3000 J/K)

Nanotubes de carbone

- **Emplois**
 - Elaboration de nanocomposites de haute performance
 - Polymères conducteur
 - Textiles techniques
 - Aéronautique
 - Équipements sportifs
 - Électronique
 - Nanomédecine
 - etc

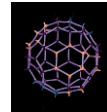


Noir de carbone

- France : Production industrielle (275 000 t/an)
- Principaux emplois :
 - Encre d'imprimerie, de lithographie.. Toner imprimante
 - Industrie du caoutchouc (pneumatiques, courroie, joints...)
 - Industrie de fabrication de peinture
 - Industrie de fabrication des accumulateurs

Fullerène

- Formé de carbone pur
- Découvert en 1985
- Structure constituée de pentagones et d'hexagones.
- Forme la plus courante = 60 atomes de carbones (C₆₀)
 - constitué de 20 hexagones et de 12 pentagones (forme presque sphérique)
 - diamètre = environ un nanomètre.



Oxyde d'argent (AgO)

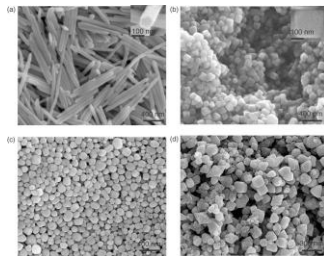


Figure : Nanoparticules d'argent produites par catalyse au Al₂O₃
(a) silver nanowires, (b) silver nanocubes, (c) silver nanopolyhedra et (d) silver nanocubes produites par catalyse avec du CaCO₃.

Chimentao et al. J Exp Nanosciences 2006

Oxyde d'argent



Textile

- Antibactérien, retard au feu, filtres UV et infrarouges
- Revêtements minces autonettoyants, hydrophobes, intégrant différentes fonctions (capteurs...)
- Tissu indéfroissable et antiallissure



Secteur automobile

- Revêtement auto lubrifiant sur pièces mécaniques
- Pneumatique
- Pot catalytique
- Vitrage autonettoyant, hydrophobe, athermique
- Allègement et renfort, facilitant les opérations de peinture
- Revêtement anti-rayure et anticorrosion
- Revêtement sur éclairage pour vision améliorée
- Matériau haute température pour moteur haut rendement
- Pare chocs déformables pour absorption de chocs
- Composites, polymères chargés

Secteur aéronautique

- Allègement des structures (nanocomposites)



Défense

- Revêtement pour furtivité
- Allègement des structures (nanocomposites)

Cosmétique

- Anti-UV
- Anti-vieillessement
- Anti-brillance
- Coloration
- Antibactérien



Secteur agro-alimentaire

- Revêtement imperméable à l'air sur plastique pour une meilleure conservation
- Membranes pour le traitement de liquides alimentaires
- Marquage pour traçabilité



Environnement

- Traitement de pollutions et d'effluents (Matériaux nanoporeux)
- Membranes pour une production d'eau potable à moindre coût



Energie

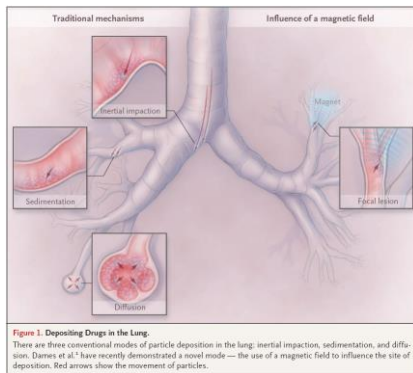
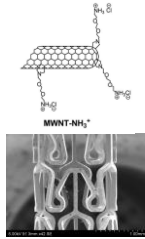
- Electrode de batterie à recharge rapide (< 1 mn), à capacité et rendement améliorés (Nanoparticules, NTC)
- Pile à combustible à rendement amélioré (Nanoparticules, NTC)
- Allègement de structure pour éolien (nanocomposites)
- Cristaux photoniques pour panneaux solaires à haut rendement



- Conversion photon-électron (solaire) (Polymère nanostructuré)
- Eclairage LED/OLED à très faible consommation ; lampes basse consommation (Nanoparticules et nanohybrides)

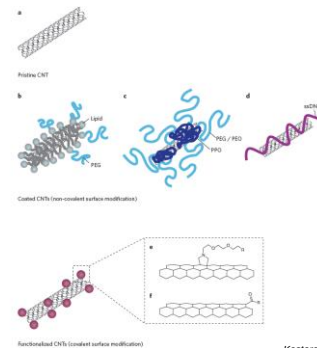
Santé

- Délivrance ciblée et/ou programmable de médicaments (nanoparticules magnétiques, photothermiques, fonctionnalisées)
- Réparation (tissus, os, organes, etc.) et implants (Polymères nanostructurés)
- Biocapteurs intégrant des nano-objets (ex : quantum dots) pour détection sélective



Coates et al, NEJM 2008

Figure 1 | Types of carbon nanotube studied in vivo for imaging and therapy.



Kostarelos et al, Nature Nanotechnol 2009



British Journal of Cancer (2010) 103, 542–551
© 2010 Cancer Research UK. All rights reserved 0950-0238/10
www.bjpcancer.com

Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors

G Peng^{1,2,3}, M Hakim^{1,4}, YY Broza^{1,4}, S Billan¹, R Abdah-Bortnyak¹, A Kuten^{1,4}, U Tisch^{1,2} and H Haick^{1,2,3}

¹Department of Chemical Engineering, Technion – Israel Institute of Technology, Haifa 32000, Israel; ²Russell Berne Nanotechnology Institute, Technion – Israel Institute of Technology, Haifa 32000, Israel; ³Oncology Division, Rambam Health Care Campus, Haifa 31096, Israel; ⁴Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion – Israel Institute of Technology, Haifa 31096, Israel



For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

EDITORIAL

Nanorobots for medicine: how close are we?

“...film and scientific exploration at the nanoscale have been lending each other imagery and targets to achieve.”

Kostarelos et al, Nanomedicine 2010

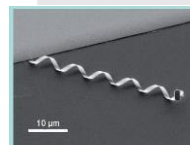
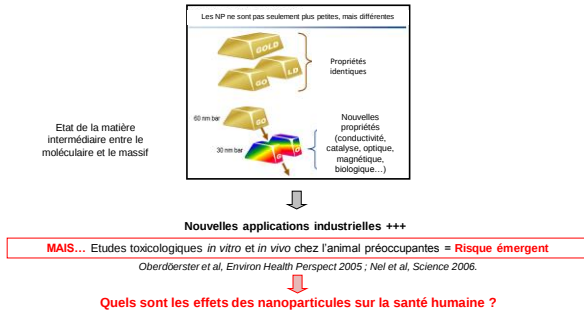


Figure 2. Artificial bacterial flagella. Field emission scanning electron microscopy image of an antiferromagnetic ABF made of In-GaAs/GaAs/Gr. belical tail.

Zhang et al, Appl Physics Lett 2009

Plan



- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?
 - Généralités
 - Voies de pénétration des nanoparticules
 - Déterminants des effets des nanoparticules
 - Passage systémique des nanoparticules
 - Effets respiratoires des nanotubes de carbone

Enjeux sociétaux



Nanotechnologie
Révolution industrielle
En 2010 : 34 % de
l'impact économique
global



MAIS Toxicité potentielle
des nanoparticules
sur la santé humaine ?

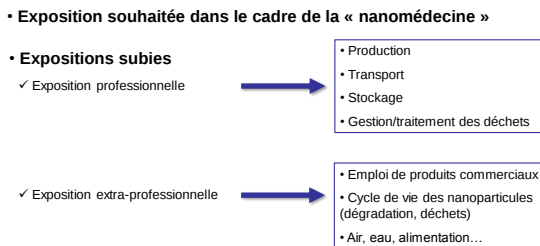
Etudes toxicologiques *in vitro* et *in vivo* chez l'animal préoccupantes

Données quasiment inexistantes
chez l'Homme
Effets pro-inflammatoire et
fibrosant chez les soudeurs

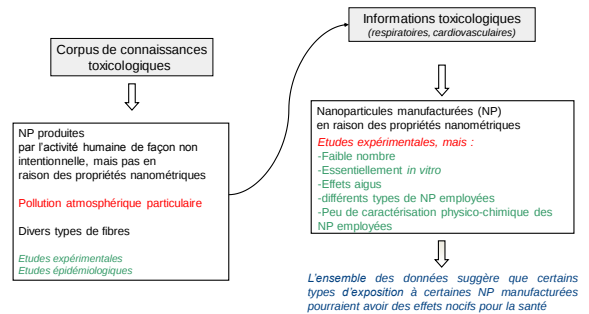
Risque sanitaire émergent

- Evaluation des risques
- Caractérisation des expositions
- Prévention
- Surveillance médicale

Expositions aux NP



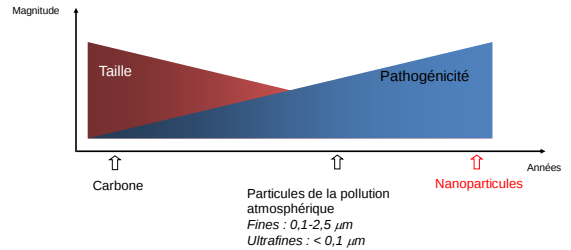
Quelques généralités



Particules ultrafines et effets chez l'Homme

- **Effets respiratoires :**
 - Brown et al. Am J Respir Crit Care Med 2002
 - Sujets BPCO / sains (2h à 10 µg/m³ ufc^bTe 61 nm)
 - Rétention pulmonaire 85% à 24h (BPCO > sains)
 - Daigle et al. Inhal Toxicol 2003
 - Sujets sains repos et exercice (ufcb 26 nm)
 - Fraction déposition 0,66 repos et 0,83 effort
 - Pietropaoli et al. Inhal Toxicol 2004
 - Sujets asthmatiques / sains (10, 25 et 50 µg/m³)
 - Obstruction petites voies aériennes chez sujets normaux
 - Chalupa et al. EHP 2004
 - Sujets asthmatiques / sains
 - Fraction déposition plus importante chez les asthmatiques
- **Effets cardiovasculaires :**
 - Mills et al. NEJM 2007
 - Sujets coronariens – Fumées Diesel
 - L'ischémie et la thrombose coronarienne peuvent être expliquée en partie par une exposition aux fumées Diesel
 - Mills et al. Circulation 2005
 - Sujets sains (1h d'exercice en vélo exposé à 300 µg/m³ de particules Diesel ou air)
 - Altération du tonus vasculaire et de la fibrinolyse endogène

Particules atmosphériques et pathogénicité



Borm et al. Inhal Toxicol 2002

Nanotoxicité – Questions clés

Définition de la dose ?

- **Problème de l'expression de la dose:** masse/nombre/surface active)

Quels voies de pénétration ?

Quels sont les mécanismes de clairance ? Effets de surcharge ?

Quelles cibles in situ?

- **Cellulaire** (cellules inflammatoires, épithéliales, endothéliales, ...)
- **Tissulaire** (poumon, peau, ...)

Quelles altérations ?

- **Structurales** (membrane, dommages à l'ADN, ...)
- **Fonctionnelles** (métabolismes, ...)

Quels mécanismes ?

- **Mécanismes intracellulaires mis en jeu** (inflammation, stress oxydant, ...)
- **Pénétration intracellulaire ?**
- **Passage/translocation et effets systémiques ?**
- **Déterminants propres aux nanoparticules ?**

Difficultés d'interprétation des études

Il n'existe pas une sorte de NP par composition chimique mais une multitude +++

➤ Importance de leur caractérisation physico-chimique

	Nb de composés	Compo chimique	Taille	Forme	Structure cristalline	Surface géom.	Surface active	Charge	Solubilité	Adhésion
SWNT	64	100	45	39	2	14	2	20	-	2
MWNT	39	100	56	33	8	23	-	5	-	-

Hansen et al. Nanotoxicology 2007

MAIS ce n'est pas tout...

- Taille => granulométrie (profil des tailles des NP présentes dans l'échantillon)
 - (Diamètre/longueur et nombre de parois si NTC)
- Présence de polymères recouvrant la surface
- Présence d'impuretés (catalyseurs, endotoxines...)
- Qualité de la synthèse des NP => risque d'imperfection de la surface avec de fonctions chimiques (acides, basique,...)
- ...

Difficultés d'interprétation des études

- Visualisation difficile des NP dans les cellules ou les tissus
- Type du modèle cellulaire ou animal employés
- Expression et choix de la dose, et mode d'administration
- Importance du choix des particules « contrôles » et de la dose choisie
-

Conclusions

- Nécessité d'être prudent dans l'interprétation des résultats +++
- Recours à des techniques d'imagerie et d'analyse très perfectionnées et coûteuses

Plan

- **Définitions**
- **Nature des nanoparticules**
- **Utilisations des nanoparticules**
- **Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?**
 - Généralités
 - Voies de pénétration des nanoparticules
 - Déterminants des effets des nanoparticules
 - Passage systémique des nanoparticules
 - Effets respiratoire des nanotubes de carbone

Quelle(s) voies de pénétration des nanomatériaux ?

- Système respiratoire
- Peau
- Système digestif

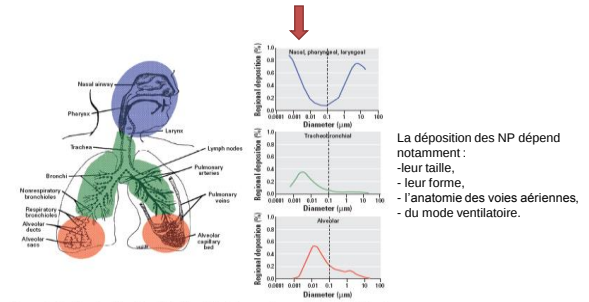
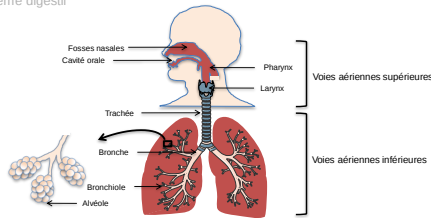


Figure 8. Predicted fractional deposition of inhaled particles in the nasopharyngeal, tracheobronchial, and alveolar region of the human respiratory tract during nose breathing. Based on data from the International Commission on Radiological Protection (1994). Drawing courtesy of J. Harkema.

Oberdörster et al, *Environ Health Perspect* 2005

Fonction d'épuration pulmonaire

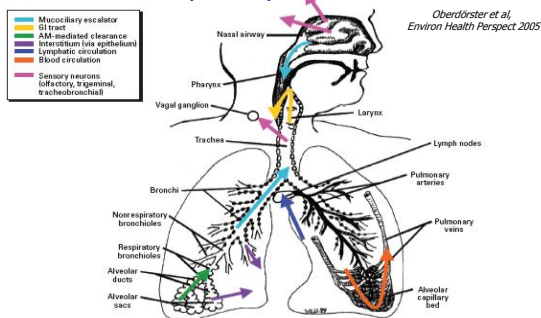
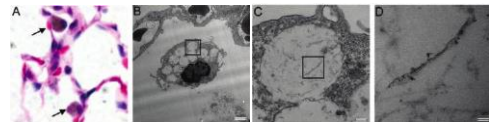


Figure 9. Pathways of particle clearance (disposition) in and out of the respiratory tract. There are significant differences between NSPs and larger particles for some of these pathways (see "Disposition of NSPs in the respiratory tract"). Drawing courtesy of J. Harkema.

Internalisation dans les macrophages

Souris exposées à des SWCNT (40 µg/animal), par instillation intratrachéale. Observation après 24 heures.



Mutlu et al, *NanoLetters*, 2010

➡ NTC peuvent être internalisés par les macrophages alvéolaires *in vivo* chez l'animal.

Mais les NTC sont très difficiles à observer dans un contexte biologique

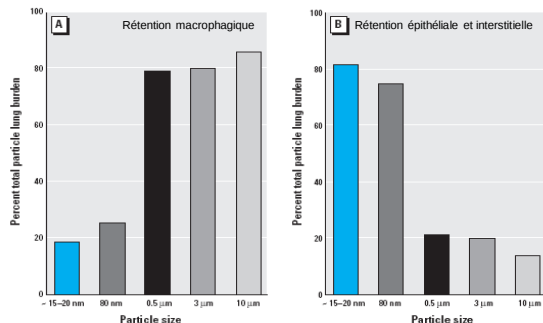


Figure 10. In vivo retention of inhaled nanosized and larger particles in alveolar macrophages (A) and in exhaustively lavaged lungs (epithelial and interstitial retention; B) 24 hr postexposure. The alveolar macrophage is the most important defense mechanism in the alveolar region for fine and coarse particles, yet inhaled singlet NSPs are not efficiently phagocytized by alveolar macrophages.

Oberdörster et al, *Environ Health Perspect* 2005

Internalisation de nanoparticules

Observation par : Peut être difficile +++

- Microscopie électronique à transmission (MET).
- MET à haute résolution, couplé ou non à une analyse chimique élémentaire (EDX).

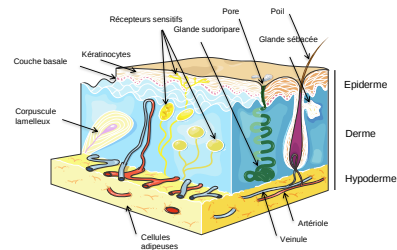
Types cellulaires : macrophages, cellules épithéliales, endothéliales, fibroblastes, ...
Le plus souvent sous forme d'aggrégats/agglomérats entourés par une membrane.

Localisation : cytoplasme, noyau, mitochondries, corps lamellaires, ...

Singh et al, *Toxicol Appl Pharmacol* 2007
Takenaka et al, *Inhal Toxicol* 2006
Rothen-Rutishauser et al, *Part Fibre Toxicol* 2007
Limbach et al, *Environ Sci Technol* 2005

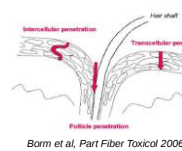
Quelle(s) voies de pénétration des nanomatériaux ?

- Système respiratoire
- Peau
- Système digestif



Pénétration cutanée

Pénétration à travers la peau



- Accumulation dans les follicules pileux

Lademann et al. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 1999
Toll et al. J Invest. Dermatol. 2004

- Pas de preuve de pénétration dans les strates profondes de l'épiderme, même à partir des follicules pileux

Tam et al. Australas J Dermatol 1996
Lademann et al. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 1999
Alvarez-Roma et al. J Control Release 2004

- d'autres études sont nécessaires

Plus récemment : Accumulation de nanoparticules fluorescentes de 40 nm dans les cellules dendritiques épidermiques autour de follicules pileux.

Méthodologie *in vitro*, après abrasion de la peau. Passage systémique ?

Vogt et al. J Invest Dermatol 2006

A Vogt
40 nm Nanoparticles Enter CD11a+

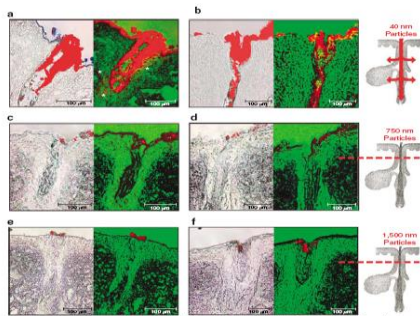


Figure 4. 40nm, but not 750 or 1,500 nm nanoparticles penetrate via the vellus hair follicle into the surrounding tissue. Laser scan microscopy was performed on cryosections of skin samples treated with (a) 40nm (0.1% solids, 2.84×10^{10} particles/cm², $n = 6$), (b) 750 nm (0.1% solids, 1.08×10^{10} p/nf), or (c) 1,500 nm (0.1% solids, 1.33×10^{10} p/nf) nanoparticles. Digital image overlay was used to localize the fluorescent signal on the tissue section.

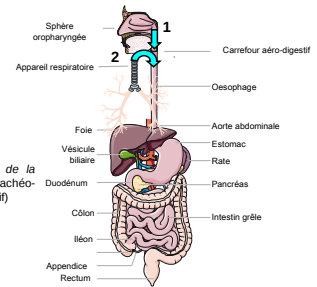
Quelle(s) voies de pénétration des nanomatériaux ?

- Système respiratoire
- Peau
- Système digestif

Pénétration digestive :

1. Ingestion directe de nanomatériaux

2. Ingestion de NP dégluties provenant de la clairance muco-ciliaire (arbre trachéo-bronchique jusqu'au carrefour aéro-digestif)



Pénétration digestive

- Les NP provenant d'une contamination par voie digestive seraient rapidement éliminées dans les fèces et faiblement transférées à travers le tractus gastro-intestinal.

Kreyling et al. J Toxicol Environ Health A 2002 ; Hilgert et al. J Pharm Sci 2001

- **Cependant**, la recherche-développement de nouvelles thérapeutiques à partir de NP montre que certains types de NP pénètrent la barrière digestive...

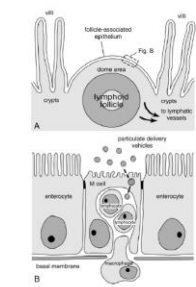


Fig. 1. Schematic transverse section of a Peyer's patch lymphoid follicle and overlying follicle-associated epithelium (FAE), depicting M cell transport of particulate delivery vehicles. The general system of intestinal organized mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) is represented by the schematic transverse section of a Peyer's patch lymphoid follicle and associated structures in (A). The FAE is characterized by the presence of specialized antigen sampling M cells (B). (Reprinted from Adv Drug Del Rev, 55, Clark et al., Epithelial M cells for drug and vaccine delivery, 51-150, Copyright (2003), with permission from Elsevier.)



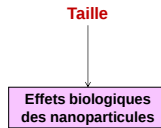
Fig. 2. Particulate transport across epithelial cells. Particles can be transported by M cells (1) as well as by M cells (2). They can reach the blood pool by passive diffusion (3) or by paracellular transport (4). Drawing related to Fig. 1. (Reprinted from Adv Drug Del Rev, 55, Clark et al., Epithelial M cells for drug and vaccine delivery, 51-150, Copyright (2003), with permission from Elsevier.)

des Rieux et al. J Control Release 2006

Plan

- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- **Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?**
 - Généralités
 - Voies de pénétration des nanoparticules
 - Déterminants des effets des nanoparticules
 - Passage systémique des nanoparticules
 - Effets respiratoire des nanotubes de carbone

Déterminants des effets toxicologiques des nanoparticules

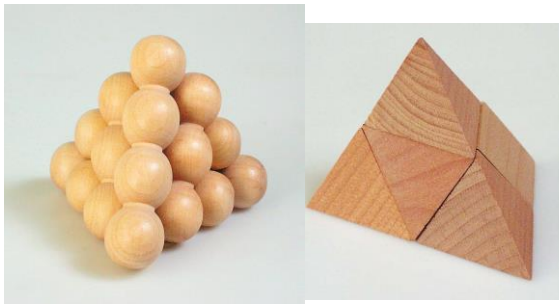


Problème de l'expression de la dose

Table 1. Particle number and particle surface area for 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ airborne particles (5).

Particle diameter (μm)	Particles/ml of air	Particle surface area ($\mu\text{m}^2/\text{ml}$ of air)
2	2	30
0.5	153	120
20 nm = 0.02	2,390,000	3000

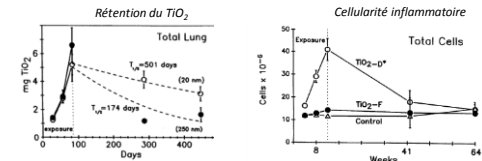
Nel, Science 2006



Plus la taille des NP est petite
 ⇒ plus grand sera le nombre d'atomes à leur surface à masse égale
 ⇒ plus grande sera leur réactivité de surface

La taille des NP conditionne leur rétention pulmonaire et leurs propriétés inflammatoires

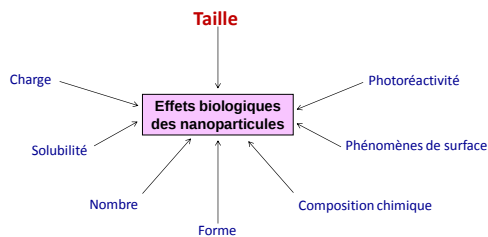
Particules de TiO_2 (20 - 250 nm), administrées par voie inhalée pendant 12 semaines chez le rat (20 mg/m^3 , 6h/jour, 5 jours/semaine).
 Animaux étudiés à différents temps.



Oberdorster et al, Environ Health Perspect 1994

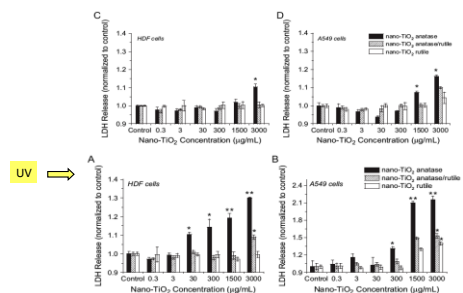
Déterminants des effets toxicologiques des nanoparticules

Propriétés physico-chimiques



La structure cristalline joue un rôle dans la cytotoxicité

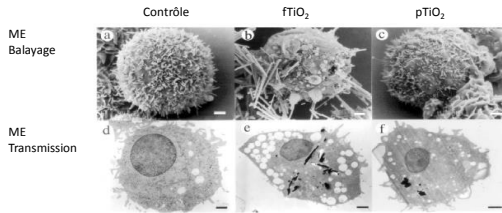
Particules de TiO_2 (anatase, rutile) de surface similaire. Etude *in vitro*



Soyes et al, Toxicol Sci 2006

La forme des particules conditionne leurs effets biologiques (1)

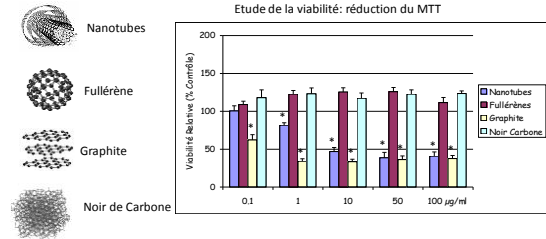
Macrophages alvéolaires de rats exposés à des fibres et à des particules de TiO_2 pendant 18 h.
Fibres : $0.7 \times 6 \mu\text{m}$ (moyennes géométriques).
Particules : $2 \mu\text{m}$ de diamètre géométrique moyen.
La structure cellulaire est davantage altérée avec les fibres qu'avec les particules



Watanabe et al, J Toxicol Environ Health 2002

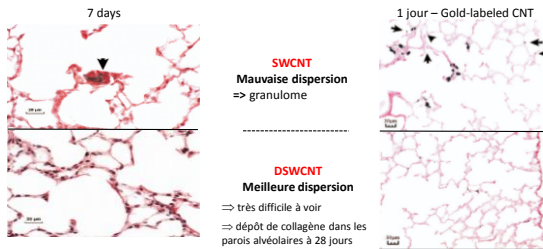
La forme des particules conditionne leurs effets biologiques (2)

Lignée de cellules épithéliales alvéolaires exposées pendant 24 heures



Rôle de la dispersion dans les effets biologiques des NP ? (1)

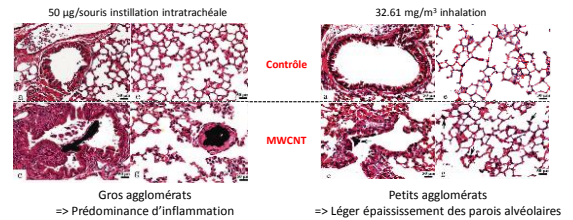
Souris exposées à $10 \mu\text{g}$ de SWCNT (<2% fer) par aspiration pharyngée.



Mercer et al, Am J Physiol 2008

Rôle de la dispersion dans les effets biologiques des NP ? (2)

Souris exposées à des MWCNT pendant 14 jours



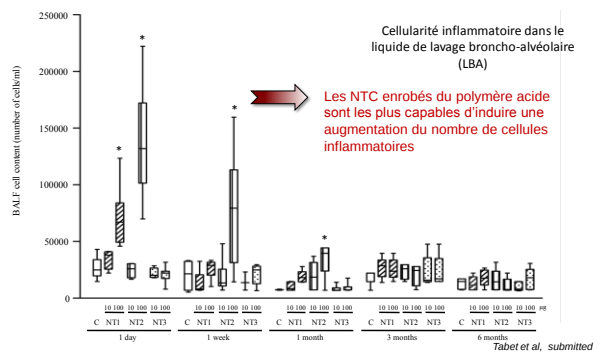
Li et al, Environ Toxicol 2007

Importance des phénomènes de surface (1)

MWCNT (CVD, ARKEMA)	NT1	NT2	NT3
		Coatés avec polymère acide (50/50 wt%)	Coatés avec polymère polystyrène (50/50 wt%)
Microscopie électronique à balayage (MEB)			
Diamètre moyen (TEM)	12 nm	12 nm	12 nm
Longueur moyenne (TEM)	0.1-13 µm	0.1-13 µm	0.1-13 µm
Contenu métallique (ICP-MS)	Aluminium : 3.2% Fer : 2.45%	Aluminium : 1.15% Fer : 0.75%	Aluminium : 1.25% Fer : 0.85%
Surface spécifique (B.E.T)	227 m²/g	54 m²/g	34 m²/g
Chimie de surface (gas adsorption)	Groupelements basiques	Groupelements acides, propriétés hydrophiles	Groupelements oxydables, propriétés hydrophobes
Agglomérats (granulométrie, diamètre moyen)	338 µm	118 µm	267 µm

Tabet et al, submitted

Importance des phénomènes de surface (2)



Tabet et al, submitted

Plan

- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?
 - Généralités
 - Voies de pénétration des nanoparticules
 - Déterminants des effets des nanoparticules
 - Passage systémique des nanoparticules
 - Effets respiratoire des nanotubes de carbone

Passage systémique des nanoparticules ?

Souris exposées par voie intratrachéale à des nanoparticules de Fe_2O_3 marquées (22 nm)

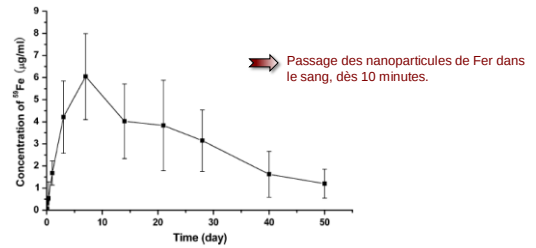


FIG. 6. The kinetic curve of ^{59}Fe in blood from 10 min to 50 days post-inhalation. The values represent mean $\pm$ SD ($n = 8$).

Zhu et al, Toxicol Sci 2009

Passage systémique des nanoparticules ?

Rats exposés par aspiration pharyngée à des nanosphères fluorescentes de 20, 100 ou 1000 nm. Sacrifice jusqu'à 90 jours.

Semi-quantitative description of 20 nm, 100 nm or 1000 nm spheres recovered in tissues following acute aspiration into the airways.

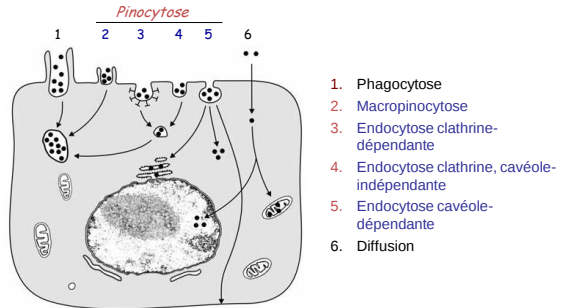
	Day 1, 1 h post-exposure			Day 1			Day 7			Day 28			Day 60			Day 90		
	20	100	1000	20	100	1000	20	100	1000	20	100	1000	20	100	1000	20	100	1000
Blood	0	0	0	++	0	±	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bone marrow	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain	0	±	±	++	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	±	±
Gut	0	++++	++++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart	0	±	±	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver	0	+	++	+	++	++	0	±	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0
Lung	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	++++	++++	++++	++++	++++
Perfusion	++++	±	±	+++	+	+++	+++	+	+	0	+	0	0	0	++	+	+	+
Spleen	0	±	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	++	++
Ur-D	0	±	+	+	0	±	0	±	++	++	0	+	0	0	±	0	++	++

The number of spheres recovered in a tissue was expressed as a percent of the total number of spheres recovered in all sampled tissues and converted to a semi-quantitative scale as follows: 0 = no signal, ± = signal > 0 but < 0.005%; ++ = 0.005–0.05%; +++ = 0.05–0.5%; ++++ = 0.5–5%; +++++ = > 5%.

➡ Passage systémique des nanoparticules – cinétique et localisation différent en fonction de la taille des nanoparticules

Sarilo et al, Toxicology 2009.

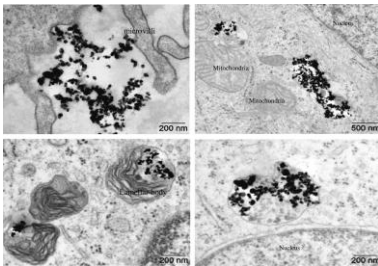
Mécanismes de passage systémique des particules



Adapté de Muehlefeld et al, 2008

Internalisation de nanoparticules dans la cellule

Cellules A549, exposées pendant 4 heures à des nanoparticules de TiO_2 (20-80 nm, 16 $\mu\text{g}/\mu\text{m}^2$)



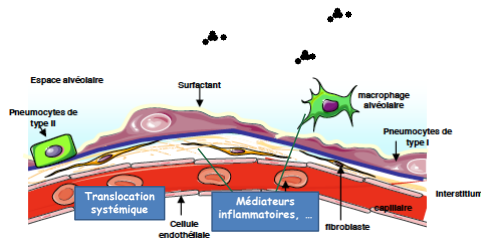
Singh et al, Toxicol Appl Pharmacol 2007

Passage systémique des nanoparticules ?

- Chez l'animal :
 - Preuves d'un passage systémique des NP (reins, foie, rate, intestins, cerveau...)
 - Probable influence, entre autres, de la taille des NP et du mode d'administration.
- Chez l'Homme : Données plus contradictoires.

Zhu et al, Toxicol Sci 2009
 Elder A et al, Environ Health Perspect 2006
 Kreyling et al, J Toxicol Environ Health 2002
 Furuyama et al, Arch Toxicol 2008
 Semmler-Behnke et al, Small 2008

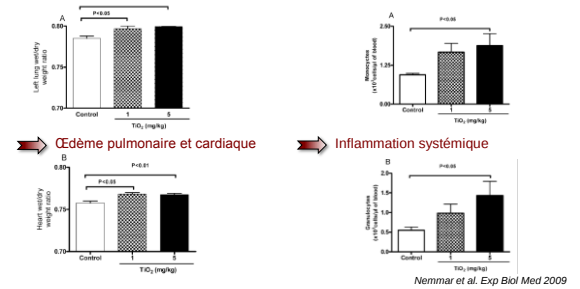
Effets systémiques d'une administration respiratoire de NP ?



Adapté de Mills et al. 2009 et de Baeza et Lanone 2010

Exemples d'effets systémiques décrits lors d'une administration respiratoire de NP

Rats exposés par voie intratrachéale à des nanoparticules de TiO_2 (rutile, bâton, 4-6 nm). Rats observés après 24 heures.



Autres effets systémiques décrits d'une exposition respiratoire de nanoparticules chez l'animal

- Modulation de l'expression de
 - cytokines pro-inflammatoires,
 - marqueurs de stress oxydant,
 - facteurs de la coagulation,
 - molécules d'adhésion cellulaire...
- Modulation de la réactivité vasculaire
- Modulation de la formule sanguine
- ...

Nemmar et al. J Thrombosis Haemostasis 2007
Nurkiewicz et al. Part Fibre Toxicol 2008
Inoue et al. Exp Biol Med 2009
Erdelyi et al. NanoLetters 2009
Courtois, Andujar et al. Toxicol Appl Pharmacol 2010

Translocation cérébrale de NP via le nerf olfactif ?

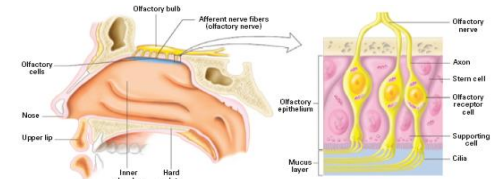


Figure 12. Close proximity of olfactory mucosa to olfactory bulb of the CNS. Inhaled NSP(s), especially below 10 nm, deposit efficiently on the olfactory mucosa by diffusion, similar to airborne "smell" molecules which deposit in this area of olfactory dendritic cilia. Subsequent uptake and translocation of solid NSP(s) along axons of the olfactory nerve has been demonstrated in non-human primates and rodents. Surface chemistry of the particles may influence their neuronal translocation. Copyright © the McGraw-Hill Companies, Inc. Reproduced from Widmaier et al. (2004) with permission from McGraw-Hill.

Translocation cérébrale de NP via le nerf olfactif ?

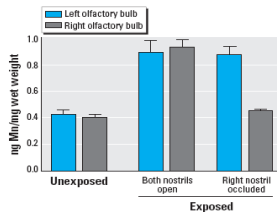
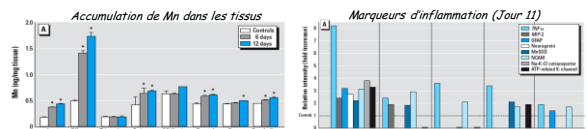


Figure 13. Occlusion of the right nostril of rats during 6-hr inhalation of nanosized MnO_2 particles (~30 nm CMD, ~450 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) resulted in accumulation of Mn only in the left olfactory bulb only at 24 hr after dosing. Data are mean $\pm$ SD. Data from Feikert et al. (2004).

Translocation cérébrale de NP via le nerf olfactif ?

Rats exposés par voie inhalée (pendant 12 jours) à un aérosol de particules d'oxyde de manganèse (diamètre $\pm$ 30 nm, concentration de 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Accumulation dans le bulbe olfactif et dans d'autres régions du SNC avec l'expression concomitante de marqueurs d'inflammation.



→ Translocation des nanoparticules de Mn depuis l'épithélium nasal vers le cerveau – question de la solubilisation des particules ?

Elder et al. Environ Health Perspect 2006

Plan

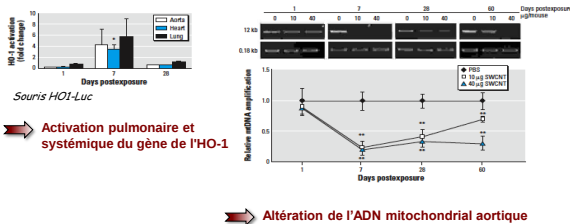
- Définitions
- Nature des nanoparticules
- Utilisations des nanoparticules
- Les nanoparticules ont-elles des effets sur la santé humaine ?
 - Généralités
 - Voies de pénétration des nanoparticules
 - Déterminants des effets des nanoparticules
 - Passage systémique des nanoparticules
 - Effets respiratoire des nanotubes de carbone

Revue générale sur la toxicité des NTC

- Animaux: Souris (29) / Rats (17).
- Type de Nanotube de Carbone : SWCNT (18) / MWCNT (28).
- Voie d'administration: Intratrachéale (24) / Intraparyngée (14) / Inhalation (9).
- Doses : 10-500 µg/souris (intratrachéale) / 0,3-30 mg/m³ (inhalation).
- Durée d'exposition (voie pulmonaire): 24 heures - 6 mois (cinétique seulement dans 5 articles).
- Objectifs :
 - Description anatomo-pathologique (inflammation/granulomes/fibrose/cancer ?).
 - Importance des pathologies existantes
 - Mécanismes d'action

Existe-t-il du stress oxydatif lors d'une administration respiratoire de NTC ?

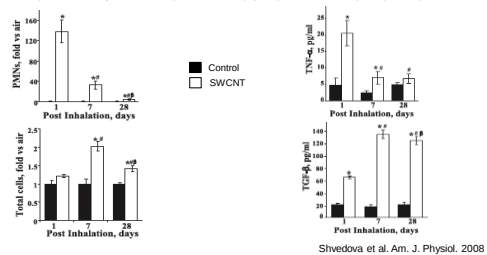
Souris C57Bl/6 exposées à 10 / 40 µg SWCNT (<2% fer) par aspiration pharyngée jusqu'à J60



Li et al, Environ Health Perspect 2007

Existe-t-il une induction d'une inflammation pulmonaire lors d'une administration respiratoire de NTC ?

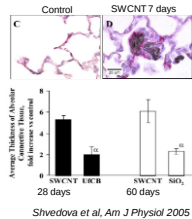
Souris exposées à 5 mg/m³ SWCNT par inhalation (4 jours) / Etude à 1-28 jours post-exposition



Shvedova et al, Am. J. Physiol. 2008

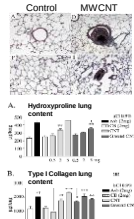
L'administration respiratoire de NTC induire une fibrose pulmonaire ?

Souris C57Bl/6 exposées à 40 µg SWCNT (< 2% fer) par aspiration pharyngée



Shvedova et al, Am J Physiol 2005

Rats exposés à des MWCNT par instillation intratrachéale pendant 60 jours

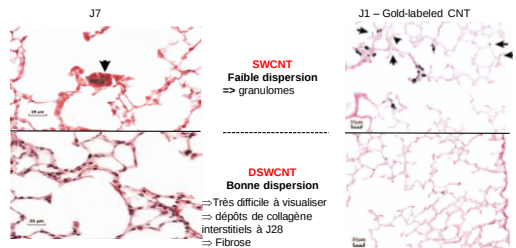


Muller et al, Toxicol Applied Pharmacol 2005

➡ Induction du développement d'une fibrose pulmonaire

La dispersion des NTC est-elle un déterminant des effets biologiques ?

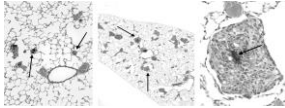
Souris exposées par aspiration pharyngée à 10 µg SWCNT (Fer <2%)



Mercer et al, Am J Physiol 2008

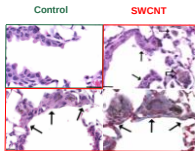
L'administration respiratoire de NTC induire des granulomes pulmonaires ?

Rats exposés à 1mg/kg de SWCNT par instillation intratrachéale pendant 2 semaines



Warheit et al, Toxicol Sci 2004

Souris exposées par inhalation à 5 mg/m³ de SWCNT pendant 4 jours, Sacrifice 28 jours après l'exposition



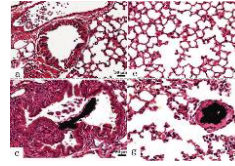
Shvedova et al, Am J Physiol 2008

➡ Induction du développement de granulomes pulmonaires

La dispersion des NTC est-elle un déterminant des effets biologiques ?

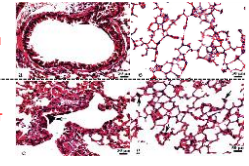
Souris exposées aux MWCNT pendant 14 jours

Instillation intratrachéale
50 µg/souris



grands agglomérats
=> prédominance de l'inflammation

Inhalation
32,61 mg/m³



Petits agglomérats
=> un léger épaississement des parois alvéolaires
=> tendance fibrotique

Li et al, Environ Toxicol 2007

Les NTC sont-ils biopersistants dans l'appareil respiratoire ?

Rats exposés à des MWCNT (0.5 mg) par instillation intratrachéale unique. Sacrifice à 60 jours.

Single i.t. dose	Time after particle administration		
	Day 0	Day 28	Day 60
NaCl 0.9%	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	0.4 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1 ^b
0.5 mg CNT		78.4% ± 15.3 ^c	81.2% ± 26.4 ^c
	0.4 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1 ^b
0.5 mg ground CNT		78.4% ± 12.4 ^c	36.0% ± 13.2 ^f

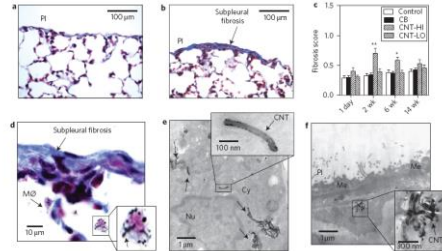
Pourcentage par rapport au Jour 0

➡ Biopersistance des NTC

Muller et al, Toxicol Applied Pharmacol 2005

L'administration respiratoire de NTC peut-elle atteindre la plèvre et induire une fibrose sous pleurale ?

Souris exposées à 30 mg/m³ MWCNT par inhalation unique 6 heures. Sacrifice à J1 à 14 semaines post-exposition



➡ Induction d'une fibrose sous pleurale

Ryman-Rasmussen et al, Nature Nanotechnol 2009

L'administration respiratoire de NTC induire un mésothéliome ?

Souris p53+/− exposées à 3 mg MWCNT par instillation intrapéritonéale unique

Petits effets
6 mésothéliomes péritonéaux dans le groupe NTC
Tagaki et al, J Toxicol Sci 2008

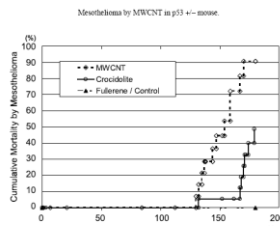


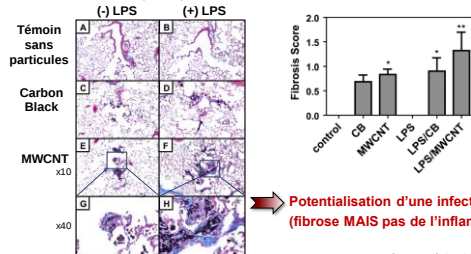
Fig 8. Cumulative mortality of MWCNT and crocidolite treated mice by mesothelioma. Mice with large tumours mesotheliomas considered as cause of death are plotted by Kaplan-Meier method. Second cause of death was contraindication (due to severe peritoneal adhesion). Among these animals dead or sacrificed at week 25 (day 180), there were 3 mice with incidental mesotheliomas in the MWCNT group and 6 incidental mesotheliomas in the Crocidolite group. No tumor induction was observed in the Pdlutene and the Control groups.

➡ Pas de cas de mésothéliomes pleuraux décrits chez l'animal pour l'instant

Poland et al, Nature Nanotechnol 2008 ; Jaurand et al, Part Fibre Toxicol 2009 ; Donaldson et al, Part Fibre Toxicol 2010 ;

Amplification d'une pathologie existante ? (3)

Rats exposés à 2.5 mg/kg de LPS (endotoxine bactérienne) puis exposés (24h plus tard) à 4 mg/kg de MWCNT par instillation intratrachéale. Sacrifice à J1 ou J21 après exposition

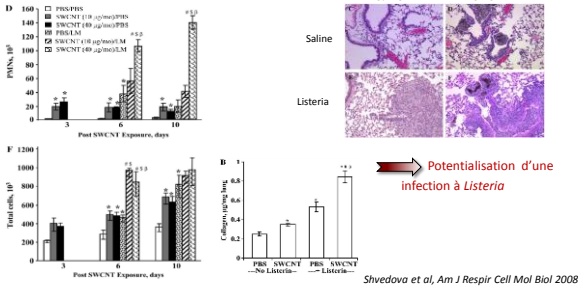


➡ Potentialisation d'une infection bactérienne (fibrose MAIS pas de l'inflammation).

Cesia et al, Am J Respir Cell Mol Biol 2010

Amplification d'une pathologie existante ? (1)

10 ou 40µg/souris SWCNT par aspiration pharyngée, puis *Listeria Monocytogenes* à J3.

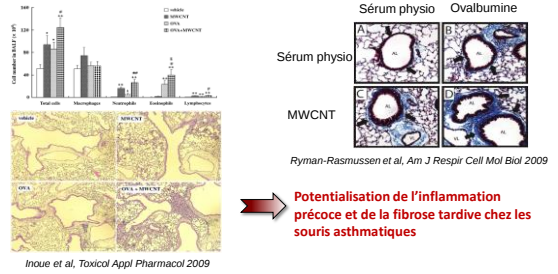


Amplification d'une pathologie existante ? (2)

Modèle de souris asthmatiques (J-14 et J-7 Ovalbumine (OVA) IP, J-1 OVA inhalation)

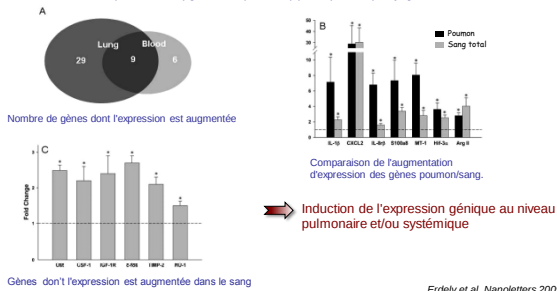
Exposition à 50 µg MWCNT par inhalation (J0).
Évaluation à 24h après exposition aux MWCNT.

Exposition à 100 mg/m³ MWCNT par inhalation (J0).
Sacrifice 14 jours après exposition aux MWCNT.

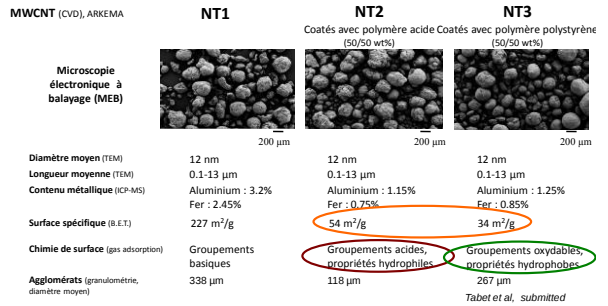


Existe-t-il une modification de l'expression de gènes lors d'une administration respiratoire de NTC ?

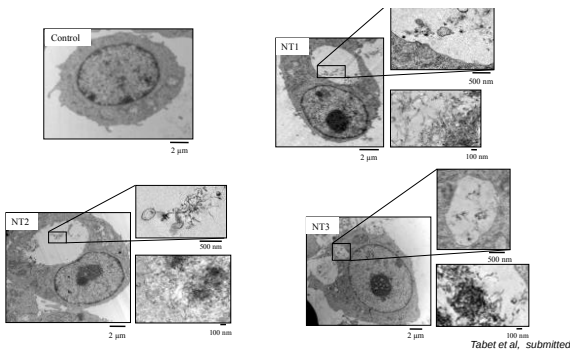
Souris C57Bl/6 exposées à 40 µg de NTC (MWCNT) par aspiration pharyngée. Sacrifice à 4 heures.



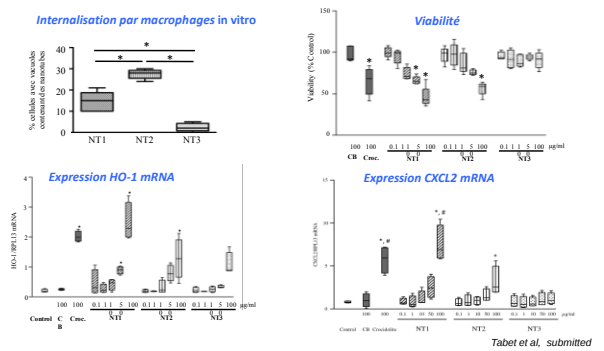
Comment rendre des NTC moins toxiques ?



Importance des phénomènes de surface (2)

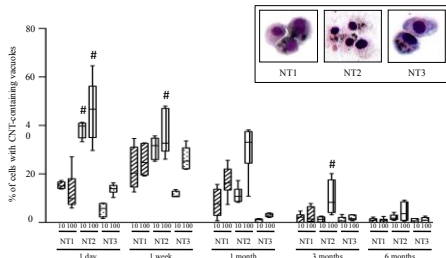


Importance des phénomènes de surface (3)



Importance des phénomènes de surface (4)

Internalisation des NTC par les macrophages du LBA



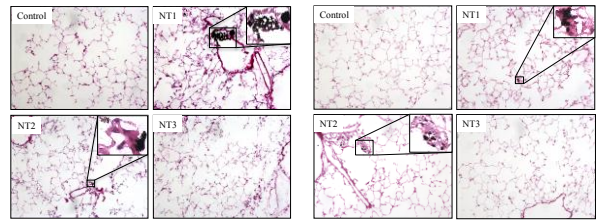
➡ Les NTC enrobés du polymère acide sont les mieux phagocytés par les macrophages. Tabet et al, submitted

Importance des phénomènes de surface (5)

Histologie pulmonaire

1 semaine d'exposition

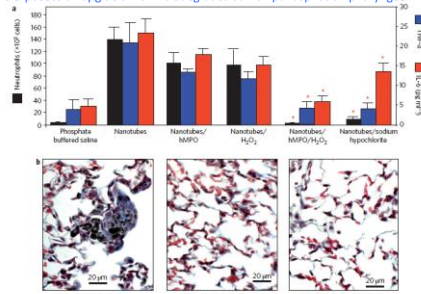
3 mois d'exposition



➡ Les NTC enrobés avec le polymère acide sont localisés au niveau des bronchioles terminales et des alvéoles (bronches pour les NTC non enrobés) Tabet et al, submitted

Effets de la dégradation des NTC par la myéloperoxydase et l' H_2O_2

Souris exposées à 40µg de SWCNT biodégradés ou non par aspiration pharyngée



Kagan et al, Nature Nanotechnol 2010

Début d'une histoire...

- Song et al, Eur Respir J 2009
 - Description d'une inflammation, d'une fibrose et de granulomes pulmonaires chez 7 femmes travaillant dans une usine de préparation de peinture exposées notamment à des NP de polyacrylate (2 décès)
 - Pas de données sur la concentration de NP dans le poulmon
 - Pas de données sur l'atopie
 - Endotoxine ?
 - Co-expositions à d'autres polluants...

Conclusion

Connaissances actuelles et incertitudes sur les effets des NTC

Chez l'animal:

- Réponse Inflammatoire (transitoire, PN neutrophiles)
- Granulomes pulmonaires
- Fibrose pulmonaire
- Mésothéliome ?

Quels sont les déterminants des effets des NTC?

- Propriétés physico-chimiques :
 - Longueur (long => inflammation, court => moins d'inflammation)
 - Fonctionnalisation, surface réactive (acide => inflammation)
 - Dispersion (bonne => fibrose, faible => granulome)
- Propriétés oxydatives
- Effets Systémiques (et leurs mécanismes)
- Sort des NTC dans l'organisme ?
- ...

Conclusion générale

Existence d'effets biologiques in situ et systémiques démontrés *in vivo* dans les modèles animaux pour certains nanomatériaux, dépendant notamment de certaines de leurs propriétés physico-chimiques

• Nombreuses questions en suspens

1. Quels sont les déterminants physico-chimiques pour leur passage systémique ?
2. Ont-elles besoin d'être transloquées dans la circulation pour avoir un effet systémique ?
3. Quels sont leurs effets cumulatifs et leur devenir après translocation ?

Conséquences en milieu de travail

1. Expositions en milieu de travail
2. Prévention en milieu de travail
3. Surveillance médicale

Expositions en milieu de travail

Principales voies de pénétration des NP

- **Voie respiratoire +++**
- **Voie cutanée**
 - Voie transépidermique
 - Voie pilo-sébacée
- **Voie digestive :**
 - Directement par ingestion
 - Indirectement lors de la clairance muco-ciliaire de l'appareil respiratoire des particules inhalées via le carrefour aéro-digestif

Situation d'exposition professionnelle

- **Exposition professionnelle à des NP d'origine anthropique :**
 - non intentionnelle
 - Intentionnelle (fabrication ou utilisation)

Situation d'exposition professionnelle Origine anthropique non intentionnelle

- **Procédés thermiques**
 - Fonderie et affinage de métaux
 - Métallisation (galvanisation...)
 - Soudage
 - Découpage de métaux (laser, torche à plasma...)
 - Traitement thermique de surface (laser, projection thermique...)
 - Application de vernis/résine
- **Procédés mécaniques**
 - Usinage, ponçage, perçage, polissage
- **Combustions**
 - Emissions de gaz d'échappement de moteur Diesel, essence ou gaz
 - Incinérateur
 - Fumage de denrées alimentaires

Situation d'exposition professionnelle Origine anthropique intentionnelle



Sources d'exposition en milieu de travail

Etape de fabrication

- Risque de dispersion des NP dépendant de la phase dans laquelle elles sont synthétisées :
 - Solide => Aérosol pulvérulent => Début de cycle
 - Vapeur => Fin de cycle
 - Liquide => Absent
- **Attention au risque de dispersion** lors de fuites accidentelles (réacteur ou système en vase clos) !!!
- Chargement / vidange d'un réacteur

Sources d'exposition en milieu de travail

Etape post-fabrication

- En général les NP sont à l'état solide ou dispersées dans un liquide
- Phase solide :
 - Séchage
 - Calcination
 - Broyage
- Phase liquide
 - En général lors des procédés de fonctionnalisation (modification de la chimie de surface)

Sources d'exposition en milieu de travail

Etape de conditionnement

- 4 principaux types de contenants employés selon la masse volumique, de la quantité et du mode d'incorporation/utilisation ultérieure des NP synthétisées :
 - Sachet papier
 - Sac en polypropylène (jusqu'à 2 m³)
 - Fût métallique
 - Silo (jusqu'à 20 m³)
- Le poste d'ensachage/conditionnement est un poste très exposant +++ (grand classique de tout conditionnement de matériaux pulvérulents quelque soit son diamètre aérodynamique)

Sources d'exposition en milieu de travail

Mise en œuvre par l'utilisateur

- Le risque de dispersion est lié aux opérations de préparation de l'incorporation dans une matrice solide ou liquide et de la capacité de la matrice à diffuser
 - Transfert, échantillonnage, pesée, mise en suspension et incorporation dans une matrice de nanopoudres (formation d'aérosols)
 - Transvasement, agitation, mélange et séchage d'une suspension liquide contenant des NP (formation de micro-gouttelettes)
- Usinage de nanocomposites

Sources d'exposition en milieu de travail

Recyclage des déchets

- Le risque de dispersion est lié aux opérations de destruction du support solides sur lesquels les NP ont adhéré :
- Quelques exemples :
 - Dans l'industrie :
 - Lampes fluorescentes et aluminés/luminophores
 - Catalyseurs industriels lors de leur régénération
 - de la vie quotidienne :
 - Catalyseurs des véhicules Diesel et oxyde de Cérium
 - Cartouche d'encre d'imprimante/photocopieur et noir de carbone

Prévention en milieu de travail

Principes de prévention préconisés

- Substituer des NP par un produit moins dangereux,
- Agir sur le procédé
 - Travailler sur les nanomatériaux sous forme de suspension liquide ou de gel, à l'état aggrégé ou aggloméré ou incorporés dans des matrices plutôt que sous forme de poudre
 - Fabriquer les nanomatériaux en phase liquide plutôt qu'en phase vapeur ou que par des méthodes mécaniques
 - Supprimer ou limiter certaines phases critiques, comme la pesée, le transvasement...
 - Optimiser les quantités employées, les plus faibles possibles
- Limiter le nombre de travailleurs exposés

Principes de prévention préconisés

- Délimiter, signaler et restreindre la zone de travail



- Nettoyer les sols et les surfaces de travail régulièrement et soigneusement à l'humide +++
 - à l'aide de linges humides
 - d'un aspirateur équipé de filtres à très haute efficacité dits « absolus » de classe supérieure à H13
 - Proscrire l'emploi d'un balai, d'une brosse, d'une soufflette, etc

Principes de prévention préconisés

- Stocker les produits dans des contenants totalement étanches, fermés et étiquetés avec les risques encourus
- Traiter tous les déchets comme des déchets dangereux, au fur et à mesure dans des sacs totalement étanches, fermés et étiquetés avec les risques encourus
 - Filtres
 - Conditionnements
 - Sac aspirateur
 - Equipement de protection respiratoire et cutanés jetables...

Principes de prévention préconisés

- Respecter les règles d'hygiène
 - Ne pas boire, ne pas fumer, ne pas manger sur le lieu de travail, sauf dans les zones strictement réservées à ces usages
 - Proscrire l'onychophagie, les chewing-gum...
 - Ne pas apporter les vêtements de travail à laver au domicile (à prendre en charge par l'employeur)
 - Douche et lavage des mains à avant chaque sortie du local
- Installer des vestiaires doubles => séparation propre (linge de ville) et (linge de travail) sale

Principes de prévention préconisés

- Protection collective
 - Travail en vase clos,
 - Filtration de l'air avec emploi de filtres à fibres à très haute efficacité dits « absolus » de classe supérieure à H13
 - captage à la source
 - Aspiration de l'air de la zone
 - Mise en place de boîtes à gants, de sorbonnes ou de dispositifs à flux laminaire

Principes de prévention préconisés

- Protection individuelle si la protection collective est insuffisante +++
 - Combinaison à capuche jetable de type 5 (en Tyvek), avec serrage au cou, aux poignets et aux chevilles, dépourvue de plis et de revers + poches à rabats, couvre-chaussures
 - Gants en vinyle ou nitrile ou néoprène étanches +++
 - Lunettes équipées de protections latérales
 - Protection respiratoire selon les niveaux d'exposition - **Proscrire** le port de barbe => fuite +++

Principes de prévention préconisés

- Protection respiratoire :
 - Travaux peu exposants : Appareil de protection respiratoire filtrant anti-aérosol (Si $O_2 > 19\%$)
 - Exemples : Maintenance d'une pompe, Nettoyage d'une étuve, Transvasement d'une suspension
 - Travaux de courte durée : Appareil de protection respiratoire filtrant à ventilation libre
 - » Demi-masque ou masque complet muni d'un filtre P3,
 - » Eventuellement pièce faciale filtrante jetable de type FFP3
 - Travaux > 1 heure : Appareil de protection respiratoire filtrant à ventilation assistée
 - » Recommandation de débit d'air = 160 L/min => maintien de la pression positive dans l'appareil respiratoire +++
 - » Demi-masque (TM2 P),
 - » Masque complet (TM3 P),
 - » Cagoule à ventilation assistée (TH3 P)
- Travaux exposants : Appareil de protection respiratoire isolant (masque complet, cagoule) ou combinaison intégrale à adduction d'air comprimé
 - Exemple : Transfert de nanopoudres par exemple

Principes de prévention préconisés

- **Métrologie: caractériser l'exposition**
 - Concentration :
 - Massique ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) utile (norme pour les aérosols)
 - Surfactive ($\mu\text{m}^2/\text{m}^3$) +++
 - En nombre (nombre/ cm^3)
 - Stratégie de mesurage +++
 - Mesures :
 - En temps réel des concentrations des particules dans l'air
 - » Compteur de noyaux de condensation
 - » Compteur d'optique de particules
 - » Photomètre laser
 - Intégré pour la collecte d'échantillons d'échantillons d'aérosols en vue d'une analyse des particules élémentaires ou de la composition chimique globale
 - » Microscopie électronique à transmission ou à balayage combiné à de la microanalyse ou spectroscopie

Valeurs limites d'exposition professionnelles

- Pas de VLEP spécifiques dans la réglementation européenne ou internationale
- Propositions :
 - Exemple : National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)
 - VLE (nano- $\text{TiO}_2 < 100 \text{ nm}$) = $0,3 \text{ mg}/\text{m}^3$ sur 40 heures
 - VLE (NTC) = $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ sur 40 heures



FIG. 4. Photograph showing skin could be contaminated with very fine CNT dust if gloves were not worn. (Courtesy of A. Maynard of NIOSH; Baron et al., 2003).

Lam et al, Crit Rev Toxicol 2006

Principes de surveillance médicale des travailleurs exposés

- Modalités du suivi adaptées en fonction de l'évolution des connaissances scientifiques des effets toxiques des NP.
- Il n'existe pas de consensus sur le bilan et les modalités de suivi médical
- **Cependant**, un suivi peut être proposé avec un bilan de référence associant :
 - une radiographie de thorax de face,
 - une spirométrie complète,
 - Un électrocardiogramme
- Traçabilité :
 - Fiche d'exposition
 - Dossier médical

En conclusion

- Actuellement en France en 2012 :
 - plus de 500 000 tonnes de NP produites ou utilisées,
 - Nombre de travailleurs exposés
 - lors de la fabrication = plusieurs milliers
 - lors de leur mise en œuvre = ++++
- Les risques potentiels d'effets sur la santé des nanoparticules pose la question de :
 - l'évaluation des risques
 - la prévention
 - du suivi médical des travailleurs exposés.
- Il convient donc, dans tous les établissements mettant en œuvre des nanomatériaux (entreprises, laboratoires de recherche, universités, etc.) et au cours du cycle de vie des produits :
 - d'adopter une approche de précaution,
 - d'instaurer des procédures spécifiques de prévention des risques.

Sources bibliographiques

1. Ricaud M, Witschger O. Les nanomatériaux. Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention. INRS 2012. ED 6050. Septembre 2012, 48 p.
2. Honnert B, Grzebyk M. Enquête sur l'utilisation industrielle des nano-objets – Difficulté d'identification par les établissements. INRS 2011, ND2340 – 222 - 11. 1^{er} trimestre 2011. 7 pages.
3. Honnert B, Vincent R. Production et utilisation industrielle des particules nanostructurées. INRS 2007, ND2277 - 209 - 07. 3^{ème} trimestre 2007. Pages 5-21.
4. Honnert B, Vincent R. Nanomatériaux. Filtration de l'air et protection des salariés. INRS 2011, ED2138. Avril 2011. 4 Pages.
5. INRS. Nanomatériaux. Prévention des risques dans les laboratoires. INRS 2012. ED6115. Janvier 2012. 54 pages.
6. INERIS. Nanotechnologies. Nanomatériaux. Nanoparticules. Quels impacts sur l'homme et l'environnement. 2007. 20 pages
7. ANSES. Note d'actualité de l'Anses relative à toxicité et écotoxicité des nanotubes de carbone - État de l'art 2011-2012 Novembre 2012

Sources bibliographiques

8. ANSES. Rapport sur le Développement d'un outil de gestion graduée des risques spécifique au cas des nanomatériaux. Décembre 2010.
9. ANSES. Avis et rapport de l'Afsset relatifs à : Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement. Mars 2010.
10. ANSES. Avis et rapport de l'Afsset relatifs aux nanomatériaux et à la sécurité au travail. Juillet 2008.
11. ANSES. Avis et rapport de l'Afsset relatifs aux effets des nanomatériaux sur la santé de l'homme et sur l'environnement. Juillet 2006.
12. <http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/pubs.html>
13. <https://www.r-nano.fr/> Rapport d'étude. Éléments issus des déclarations des substances à l'état nanoparticulaire. Bilan 2013 des déclarations des substances importées, fabriquées ou distribuées en France en 2012. Novembre 2013. 178 pages
14. http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_public_format_final_20131125.pdf

Sources bibliographiques

- Les effets à la santé reliés aux nanoparticules, Rapport du IRSST, mars 2006, Canada (<http://www.irsst.qc.ca/fr/accueil.html>)
- Rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution- Ministère de l'Ecologie (mai 2006)
- Rapports de l'AFSSET (mai 2006, Juillet 2008)
- Nanosciences and Nanotechnologies : opportunities and uncertainties, Rapport de la Royal Society & Royal Academy of Engineering, Juillet 2004, Grand Bretagne (<http://www.nanotec.org.uk/>)
- Nanotechnology White Paper (External Review Draft) US Environmental Protection Agency, december 2005
- Approaches to safe nanotechnology: an information exchange with NIOSH, CDC/NIOSH Juillet 2006
- The potential risk of nanomaterials: a review carried out for ECETOC , *Part Fib Toxicol*, 2006, 3:11
- A matter of Size: Triennial Review of the National Nanotechnology Initiative, 2006 (<http://www.nap.edu/catalog/11752.html>)
- <http://www.nanowerk.com/> et <http://www.wilsoncenter.org/>
- Ricaud M, Witschger O. Les nanomatériaux. Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention. INRS 2008. ED 6050. Juin 2008, 27p.