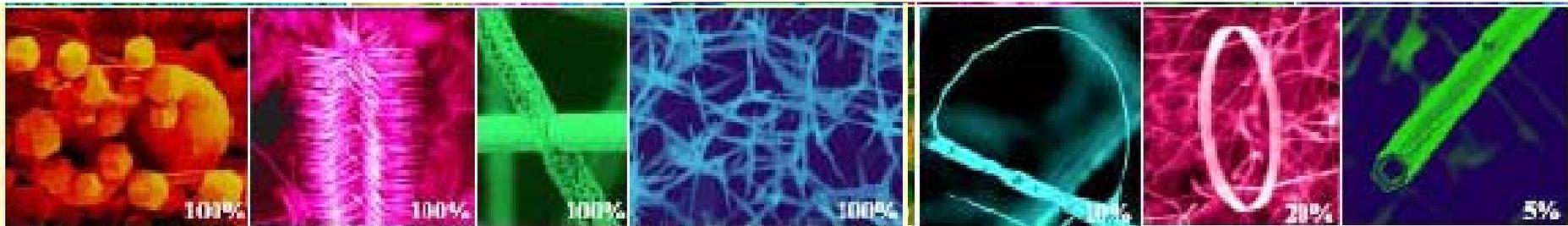




## Risque toxicologique des nanoparticules

« *Effets sur la santé ?* »

S. Chevillard



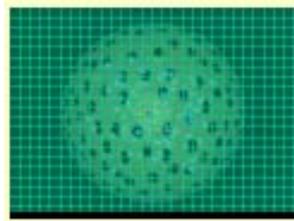
Un marché en expansion .....

# Explosion des domaines d'application

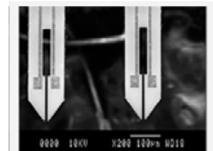
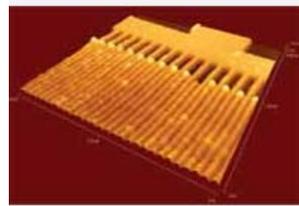
Agro-alimentaire, aéronautique, automobile, chimie, construction, cosmétique, défense, électronique, production d'énergie, optique, pharmacie, textile.....



Active ripeSense™ sensor



essai mécanique : Nous développons des systèmes élect et de dosage des volumes de solution très petits



édés aux dépôts de solutions biologiques



DSV IRCM

## Température



Do not use if center is darker than ring



## Puces fraîcheur



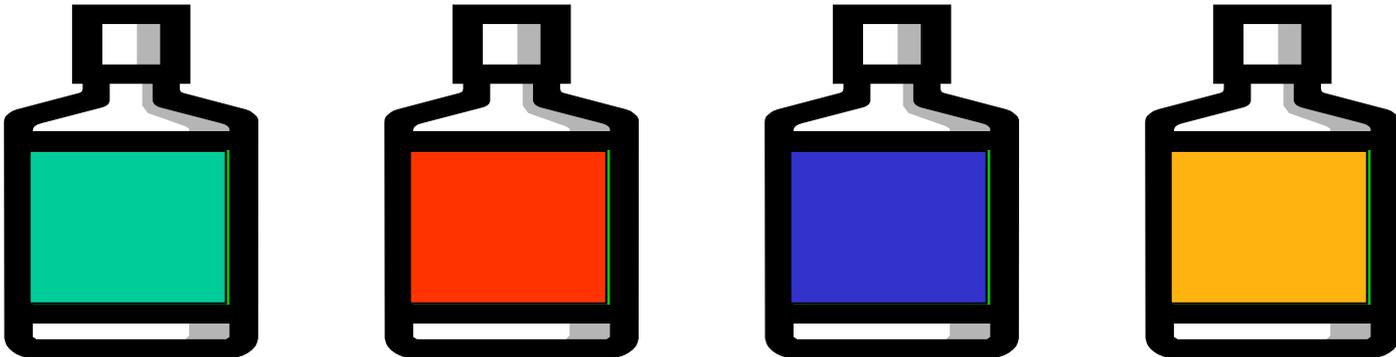
# Alimentaire



energie atomique • e

**Nestlé Unilever et Kraft conçoivent un breuvage unique et sur mesure pour chaque consommateur !!!!**

**Une boisson de base qui renferme des nanocapsules de couleurs et saveurs différentes pouvant être relargués sous une fréquence spécifique**

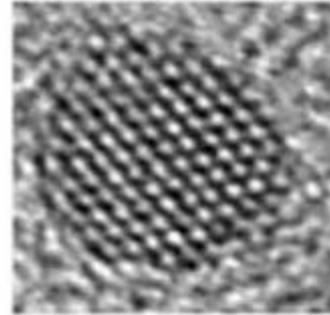
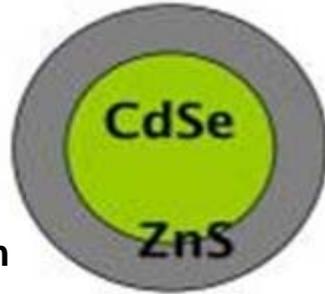


## Applications médicales

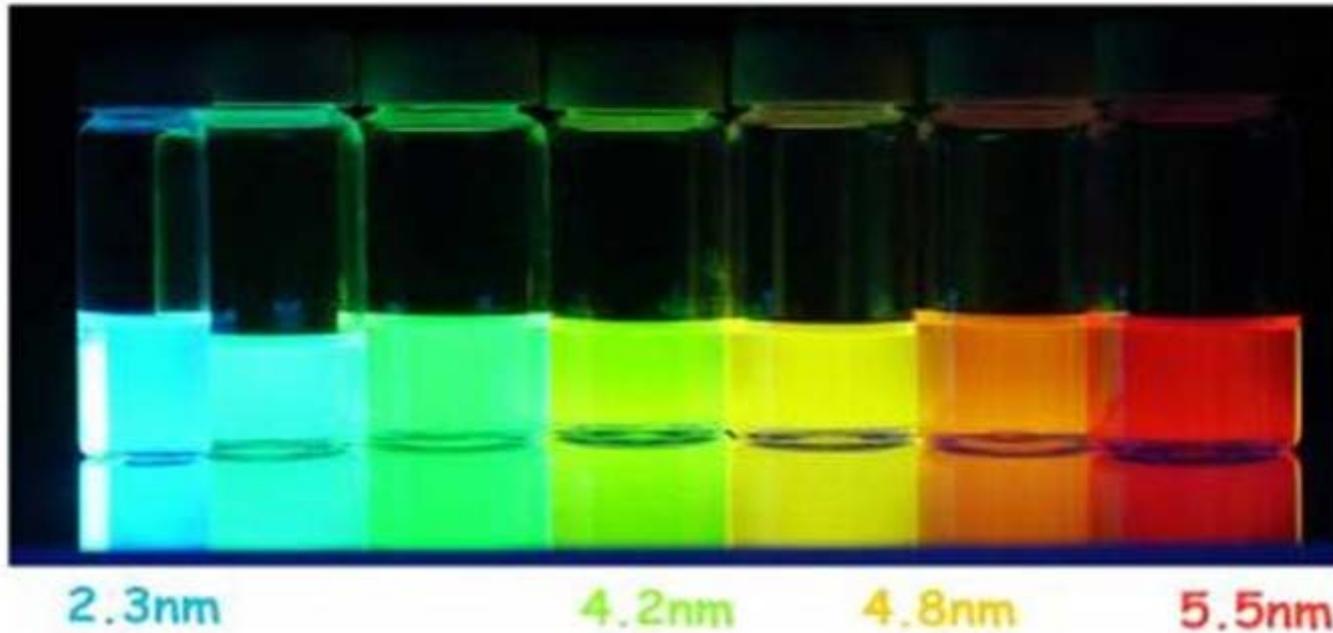


energie atom

Sélénium de cadmium

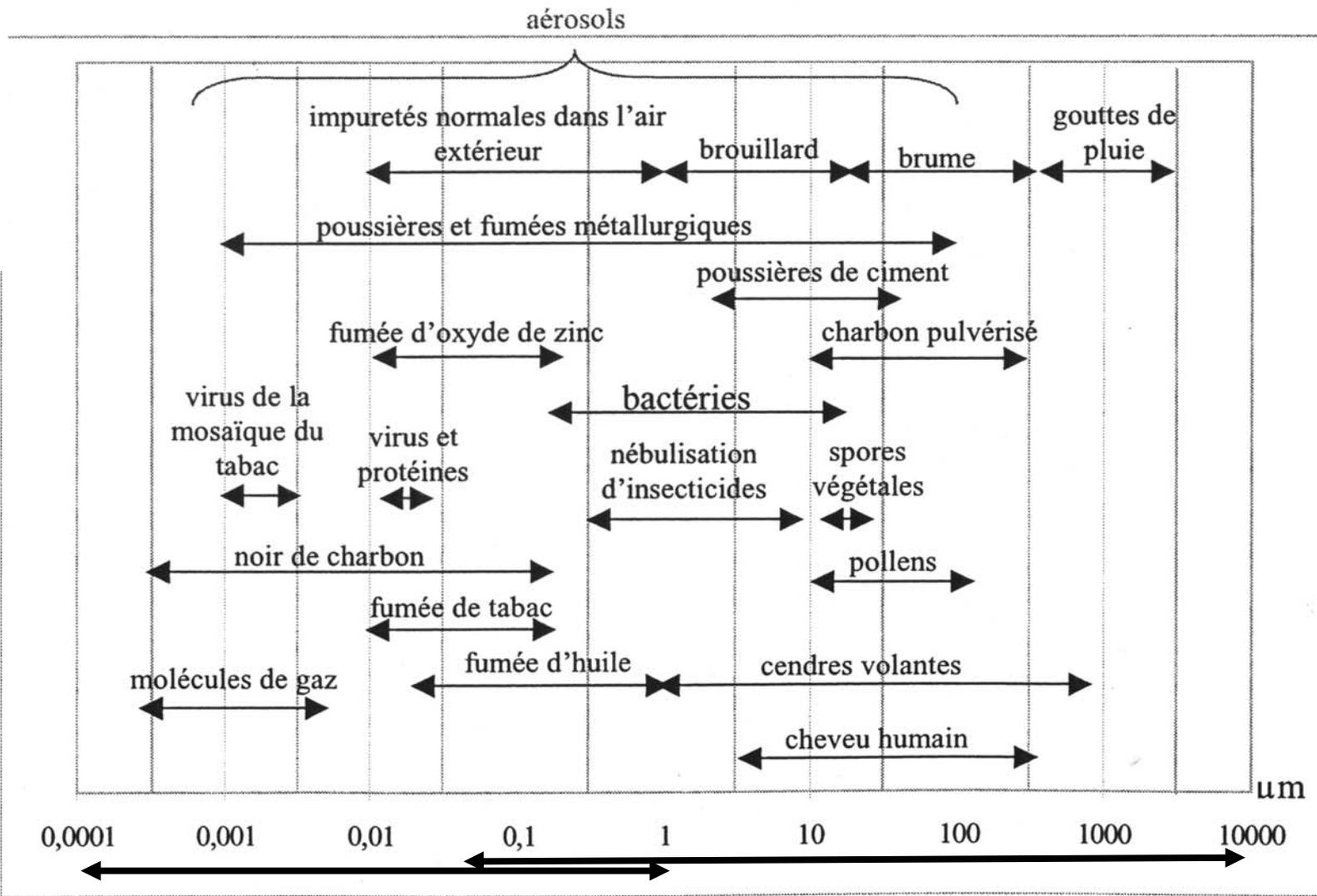


*Les vecteurs*  
*Les traceurs*



Des nanocristaux de sélénium de cadmium sont mis en solution. Ils émettent une lumière fluorescente dont le spectre d'émission varie en fonction de leur taille: bleu pour 2,3 nm, jaune pour 4,5 nm et rouge pour 5,5 nm.

# Définition des nanoparticules

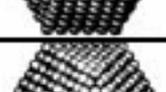


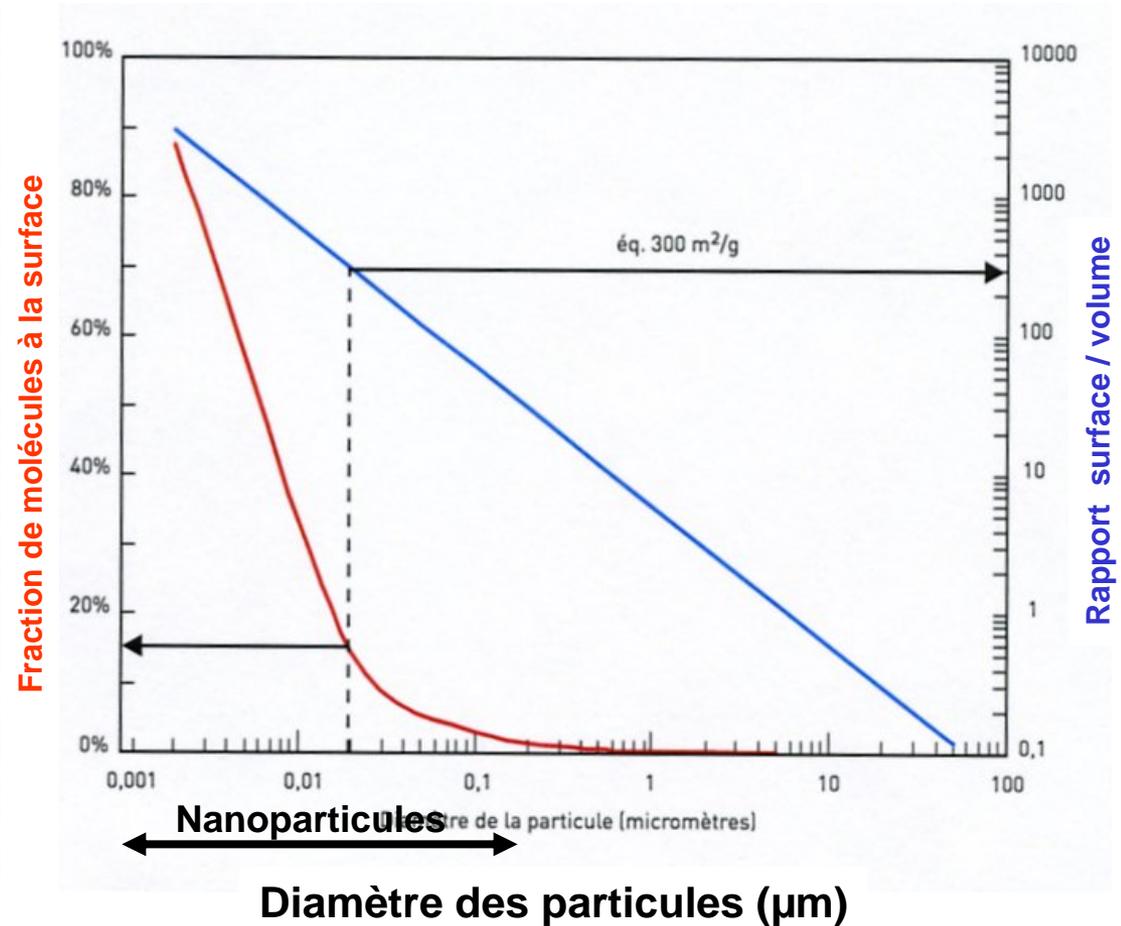
Diffusion

Sédimentation, impaction

**Nanoparticules**

# Caractéristiques des nanoparticules

	Nombre total d'atomes	Atomes en surface (%)
	13	92
	55	76
	147	63
	309	52
	561	45
	1415	35



Réactivité de surface.../ .....Masse

O. Witschger, J.F. Fabriès ,INRS, ND 2227-199-05

SFRP 09 11 2010

# Domaines d'application



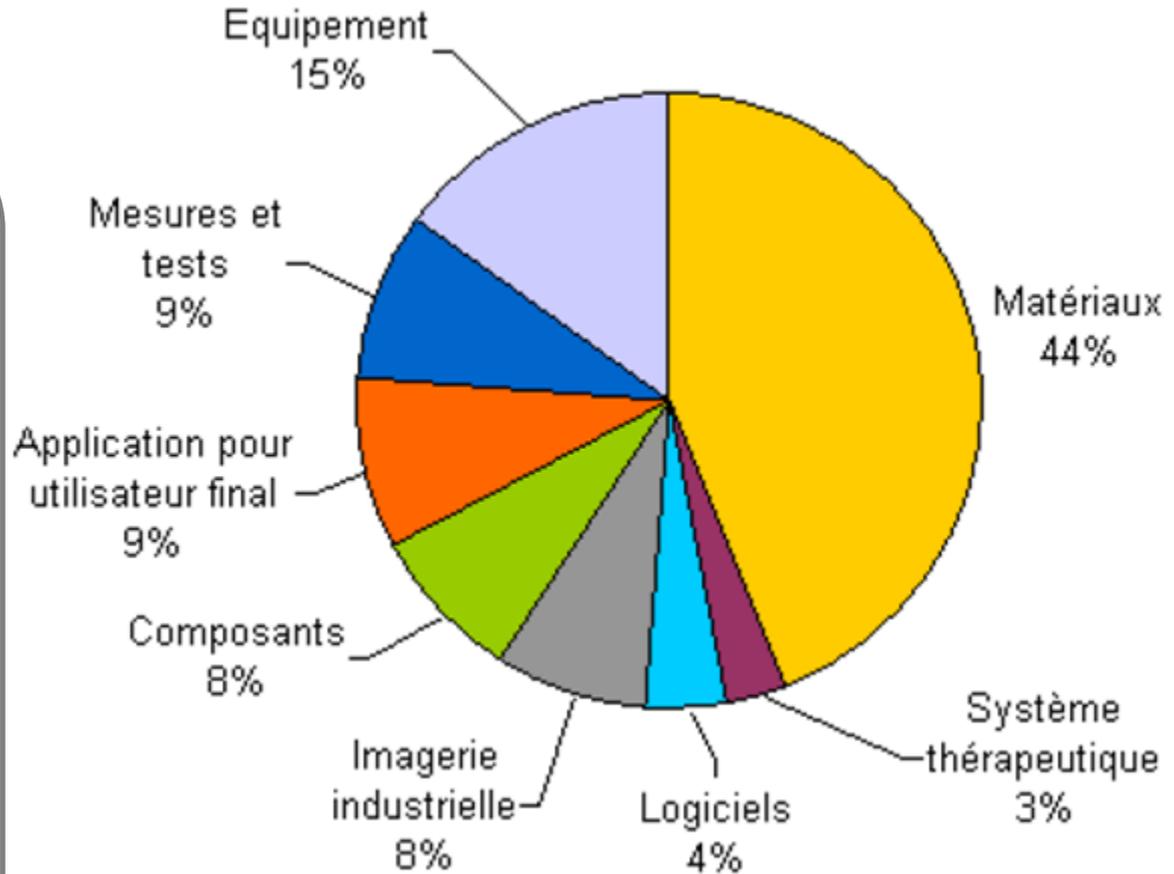
energie atomique • énergies alternatives

## Production

Silice, alumine, noir de carbone, dioxyde de titane et nano-argiles sont produites à **plusieurs dizaines de milliers de tonnes**

Métaux, métaux-céramiques, terres rares et NTC sont produits à **plusieurs centaines de tonnes**

La production des autres NP est plus réduite.



*Small times 2004*



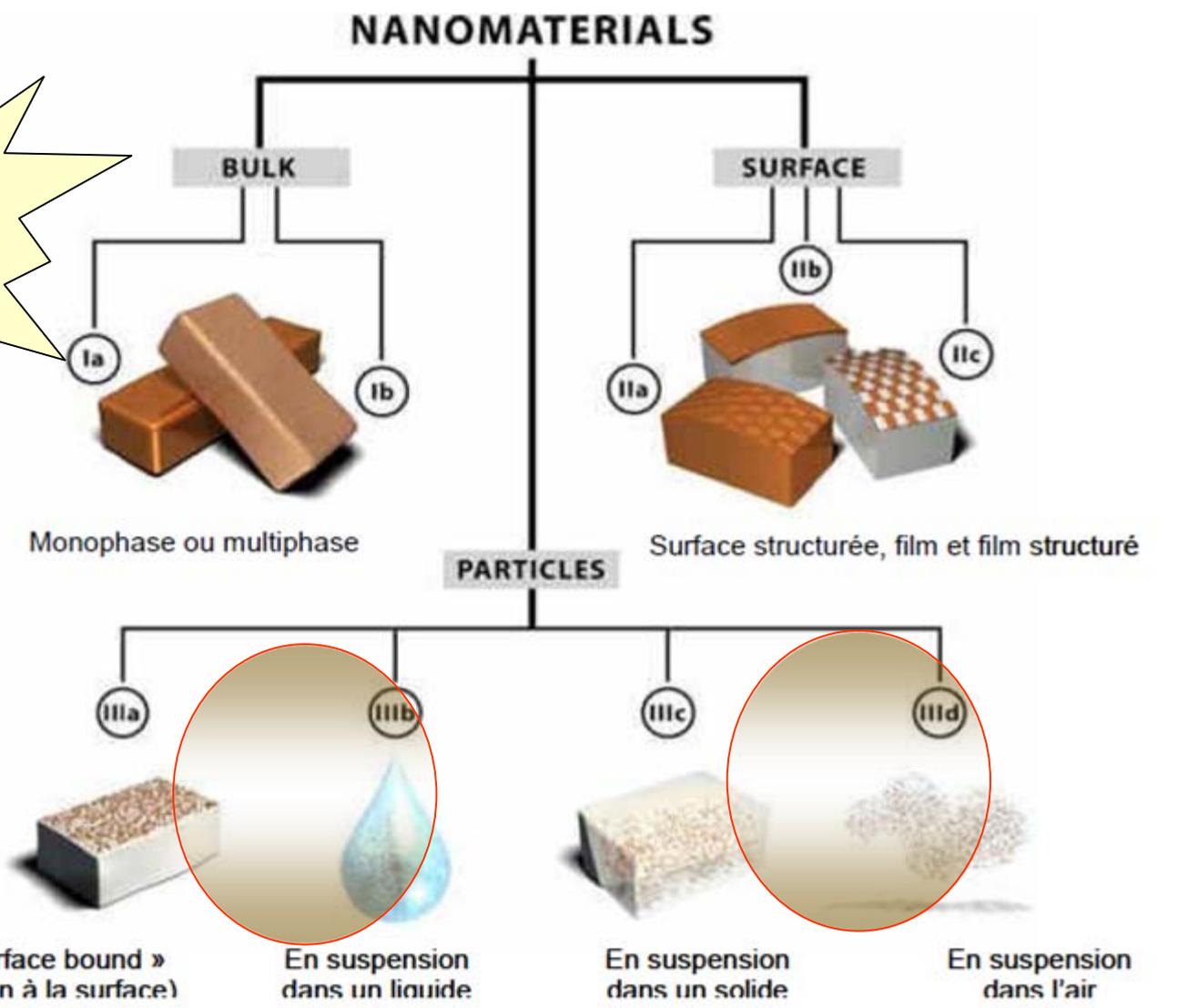
énergie atomique • énergies alternatives

# Expositions aux nanoparticules

# Synthèse .... produits

energie atomik

**Explosion  
des poudres**



# La population générale



**Exposition aux nanomatériaux de façon**

**directe (cosmétiques, médicaments, emballages alimentaires, textiles, vêtements, etc.) ou**

**indirecte suite à l'usure ou à la dégradation de nanomatériaux et donc à la libération de nanoparticules présentes dans des pneumatiques, encres, textiles, appareils électroniques, carburants, etc.**

**Les voies d'exposition potentielles sont l'inhalation, le contact cutané (notamment pour les cosmétiques), l'ingestion et la voie parentérale**

**Il n'existe pas encore de quantification de l'exposition de la population générale**

**Les contaminations sont complexes... mélanges à faibles et moyennes concentrations**

**Pas d'évaluation possible des risques sanitaires  
Pas de valeurs limites d'exposition  
Pas d'études épidémiologiques**

## Les travailleurs



Les expositions sont moins complexes que pour la population générale mais les nanoparticules sont en nombre et en concentration beaucoup plus élevés

La principale voie d'exposition est l'inhalation d'aérosols de nanoparticules dispersées dans les ambiances de travail... mais aussi les blessures

Le risque de dispersion dépend principalement du degré de confinement des nanoparticules lors du procédé de fabrication, de l'efficacité de la filtration et des systèmes de ventilation.

Par ailleurs, les travaux de récupération des produits, de nettoyage et de maintenance des équipements, ainsi que les opérations d'emballage, de conditionnement et de stockage peuvent également conduire à des expositions des travailleurs.

**Pas de valeurs limites d'exposition aux nanoparticules dans la législation française ou européenne  
Pas d'études épidémiologiques sur les populations de travailleurs exposés.**

## Pourquoi s'y intéresser / s'inquiéter?



Pour le moment pas de données sur le risque... et pas grand-chose sur les dangers!

energie atomique • enc

L'état des connaissances sur les effets des PUF de la pollution atmosphérique fait craindre des effets sur la santé humaine des nanoparticules manufacturées. De même, on s'interroge sur « l'effet fibre » des nanotubes de carbone (analogie avec l'amiante...

**Analogies d'ble : fibres et risque émergeant**

Quelques données montrent des comportements et des interactions inattendues... qui incitent à la prudence.

**Recommandations du Comité de Prévention et de Protection**

**En raison de leur taille et de leur surface, les nanoparticules doivent être appréhendées comme des substances en tant que telles ou comme de nouveaux produits, et non comme la simple miniaturisation de substances ou de produits dont les risques et nuisances sont déjà connus**

## Que sait-on du comportement des NP dans l'organisme ?



**Inhalation** : beaucoup d'études en instillation, peu inhalation  
connu : distribution dans les voies respiratoires  
peu connu: action des macrophages, passage lymphatique  
contradictoire: résultats sur le transfert au sang

**Ingestion** : résultats contradictoires sur le passage au sang

**Peau** : résultats contradictoires sur la pénétration

**Sang** : peu connu: modes de transport et de complexation (protéines)

**Barrières biologiques** : peu de données?

Endothéliale, testiculaire, placentaire, hémato-encéphalique

*Selon l'étude de Krelling, des nanoparticules de 1.4 nm de diamètre pourraient passer la **barrière placentaire** chez des rates gestantes et sont retrouvées en faible quantité dans le fœtus*

**SNC** : NTC transport via le bulbe olfactif (extrapolation inter-espèce?)

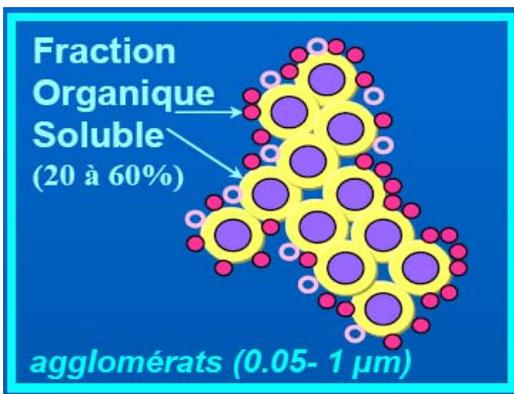
*Inhalation par un chimpanzé du virus de la poliomyélite, ( $\emptyset$  : 30 nm) parvient au cerveau à une vitesse de 2.4 mm/heure en remontant les fibres des neurones olfactifs*

## Dangers des nanoparticules : quelles données humaines?

- Epidémiologie :

- **Pas d'études sur les NP manufacturées**

- Questionnement par analogies avec PUF de la pollution urbaine
    - excès avérés d'asthmes et de bronchites chroniques
    - soupçons de pathologies CV



- ↪ mesurés en terme d'excès de mortalité ou de morbidité
    - ↪ sans caractérisation précise de l'exposition : aérosols complexes, hétérogènes et évolutifs (autres polluants organiques , métalliques...)
    - ↪ sans mesure de la contamination individuelle
    - ↪ résultats contradictoires
    - ↪ contribution des NP invoquées

- **Pas d'évaluation des effets à long terme**

- Aucune étude sur la contamination cutanée ou l'ingestion chez l'homme

## Dangers des nanoparticules: quelles données animales ?

- **Peu ou pas de pathologies décrites :**

- **Essentiel des données sur le poumon (rien sur TD et peau)**

- **granulomes épithélioïdes après instil. intra-trachéale de NTC chez le rat (transitoire) et la souris (durable)**
- **effets inflammatoires ± fibrose retardée chez rongeurs**
- **tumeurs chez le rat après exposition fumée de diesel, noir de C, TiO<sub>2</sub> (20-270 nm), mais pas d'excès chez la souris (2 ref)**

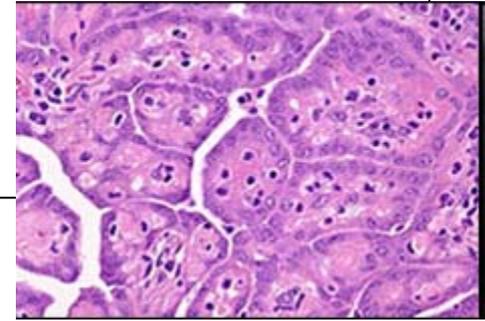
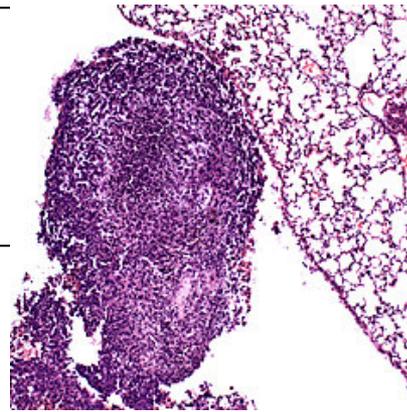
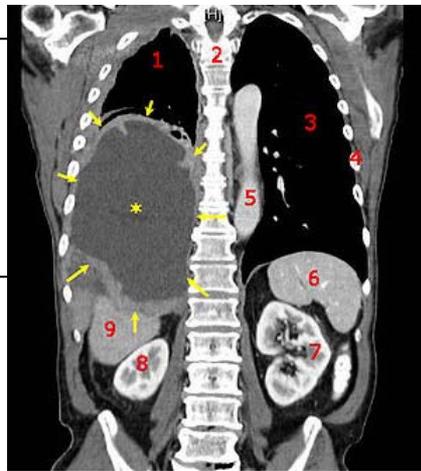
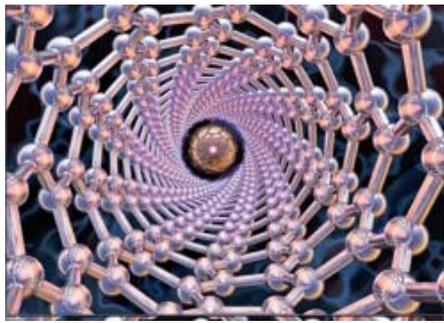
↪ **Pratiquement rien sur l'inhalation**

↪ **Essentiel des données après itr hautement discutable (surcharge)**

↪ **Principalement données à court terme sur l'inflammation**

↪ **Effets aigus pour doses considérables (1 – 15 mg/kg !)**

↪ **Pas de caractérisations rigoureuses des contaminants (impuretés métalliques, agglomération, tailles, charges...**



- Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study.

Nat Nanotechnol. 2008 Jul;3(7):423-8. Epub 2008 May 20

*Here we show that exposing the mesothelial lining of the body cavity of mice, as a surrogate for the mesothelial lining of the chest cavity, to long multiwalled carbon nanotubes results in asbestos-like, length-dependent, pathogenic behaviour. This includes inflammation and the formation of lesions known as granulomas*

- Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall nanotube.

J Toxicol Sci. 2008 Feb;33(1):105-16.

Modèle  
témoin

# Dangers des nanoparticules: quelles données animales sur l'inflammation ?

- Inflammation

Rat et souris: itr d'une masse identique de TiO<sub>2</sub> anatase (20 -250 nm)  
ref *Oberdörster 2000*

energie atomique • e

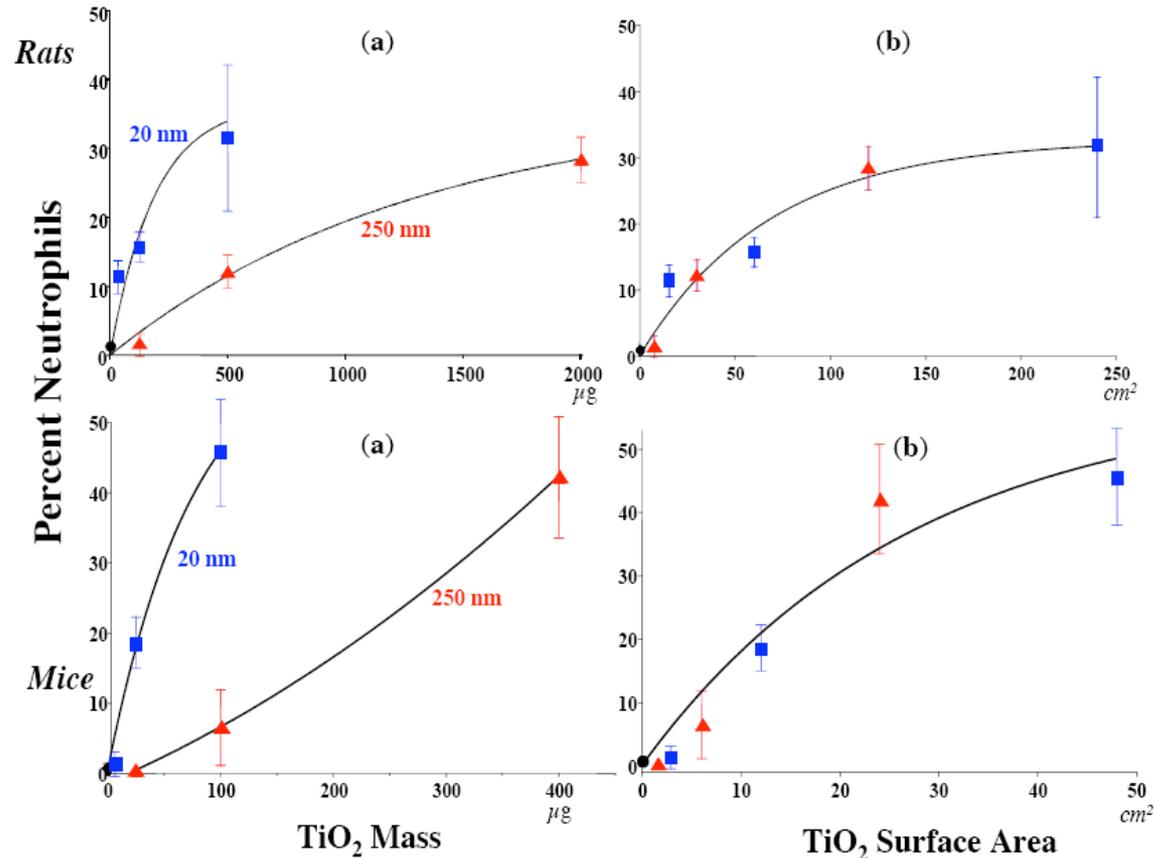
Indicateur d'inflammation :  
% de PN dans LBA à 24h

a: dose exprimée en masse  
b: dose exprimée en surface

↳ Inflammation

Plus sévère pour petites  
particules, à masse  
identique

Proportionnelle à la surface  
totale, quelle que soit la  
taille



**Nouveaux concepts dosimétriques**  
**Interprétation critique des données de la littérature**



### • Cytotoxicité : grande variabilité selon types de NP et types cellulaires

- « Faible » pour TiO<sub>2</sub>
- NTC
  - SWCNC >>> MWCNC sur macrophage
  - SWCNT : ++ sur lignées rénales & kératinocytes ; +/- sur macrophage

### • Stress oxydant = mécanisme central

- Nombreuses réf. sur la production de ROS par diverses NP (fullerènes, SWCNC, quantum dots, PUF ...)
- Mécanismes multiples dans nombreux types cellulaires
  - rôle +++ de la mitochondrie (accessible aux NP)
  - peroxydation lipidique, déplétion d'anti-oxydants
  - rôle du Cyt P450 ...

### Profusions de données....

robustesse ?  
comparabilité ?

- caractéristiques physico-chimiques des NP
- modèles cellulaires
- durée et « intensité » de l'exposition

# Génotoxicité des nanoparticules



Peu d'études et parfois contradictoires.

**les nanoparticules d'oxyde de titane ne seraient pas génotoxiques (test d'Ames et test d'aberrations chromosomiques *in vitro*) (Warheit D *et al.*, Toxicol. Lett. 2007).**

**les nanoparticules d'oxyde de titane seraient génotoxiques (test des micronoyaux, des comètes et des mutations chromosomiques) (Theogaraj E *et al.*, Mutat. Res. 2007**

**des fullerènes C60 se sont révélés non génotoxiques sur des cellules pulmonaires de hamster (test d'Ames et test d'aberrations chromosomiques) (Donaldson K *et al.*, Toxicology. 2006)**

**mais génotoxiques sur des lymphocytes humains (test des comètes) (Dhawan A *et al.*, Environ Sci Technol. 2006).**

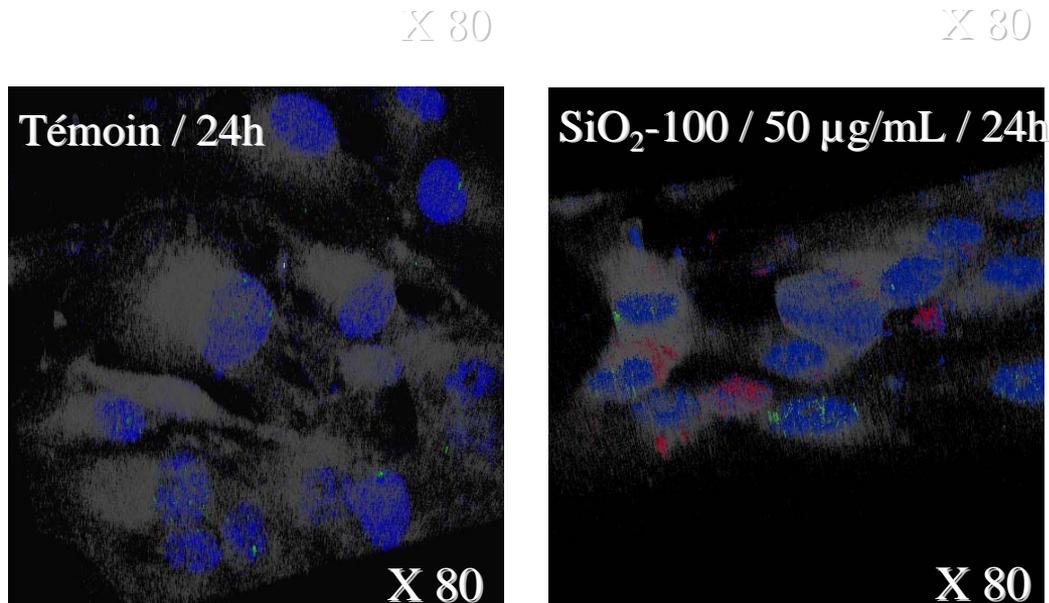
**Génotoxique, mutagène ou cancérigène..... Si oui, lesquelles et pourquoi?**

# SiO<sub>2</sub> et Cassures db de l'ADN sur 1 lignée humaine de cancer du rein

- Visualisation de l'incorporation des nanoparticules et cassures à l'ADN

energie atomique • en

Caki-1



*Phosphorylation de l'histone gamma H2AX  
SiO<sub>2</sub> marquée*

## Le bilan : plus de questions que de réponses.....

- Pertinence des voies de contamination ?
  - Inhalation +++ mais données limitées et court terme
  - Itr : pertinence ? (surcharge)
  - Cutanée +++ (rongeur discutable)
  - Digestive +++
- Pertinence des « doses » *in vitro et in vivo* : 100 µg / ml culture = « faible dose » ?

Exemple: pour une densité de 10 g / cm<sup>3</sup>

100 µg = 2.4 10<sup>14</sup> NP de 20 nm

= 1.9 10<sup>10</sup> NP de 100 nm

	P (14 – 373 nm) / cm <sup>3</sup>
Bureau	> 10 000
Soudure	> 400 000
Aéroport	> 700 000

- Mode d'expression des expositions ?
  - Masse, surface, nombre
  - Réactivité chimique de surface ?
  - Forme ???

**Multi critères... sont-ils les mêmes pour les différentes nanoparticules?**

# Des priorités toxicologiques à hiérarchiser, de nouvelles stratégies à définir



Dans le contexte des décisions de santé publique : un imbroglio à clarifier

energie atomique • énergies alternatives

**Guides en vigueur inapplicables  
mais ... utilisables pour décider... un moratoire**

**Toxicologie conventionnelle**  
« la dose fait le poison »

**Toxicité des NP**  
« la dose fait le mécanisme ? »

Règles établies  
Tox court, moyen, long terme  
RDE avec/sans seuil

Pathologies ?  
Cibles ?  
Expositions ?

***Une nouvelle toxicologie à imaginer... et à valider  
Mais comment progresser?***

# Recherches prioritaires : Études in vivo et in vitro ... les mécanismes et les effets



énergie atomique • énergie

NP  
 Masse            Forme  
 Surface        Réactivité  
 Nombre        Charge  
 Taille         Vieillessement  
 Composition Impuretés....  
 Cristallisation

Agrégation/désagrégation  
 Solubilisation (durabilité)  
 Dégradation (persistance)

**EFFETS**

**RISQUES**



**Poumon**

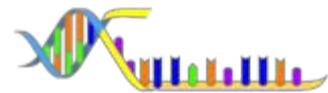
**Voies de contamination**

Caractérisation  
des effets  
**In vivo**

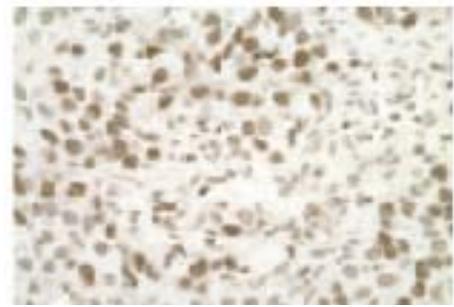
Cibles autres  
que pulmonaires

3

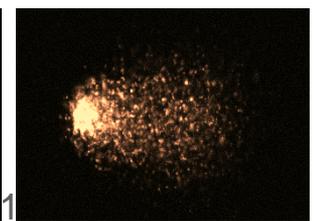
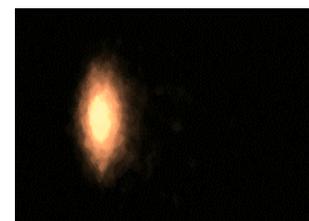
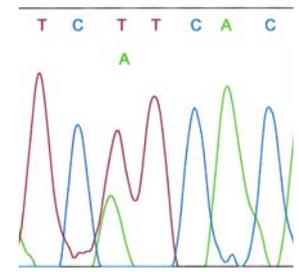
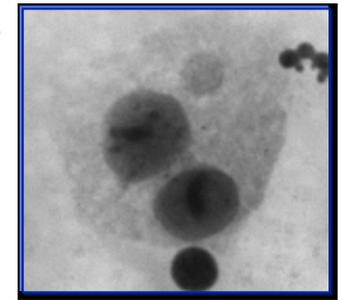
**Multiple tests  
car interférences  
nombreuses**



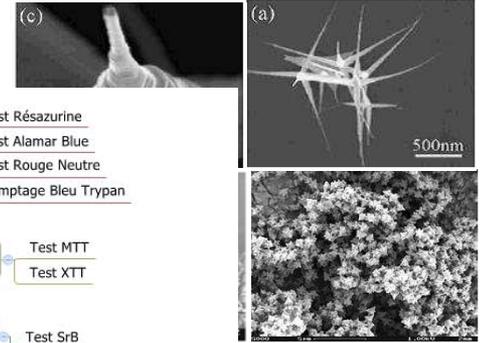
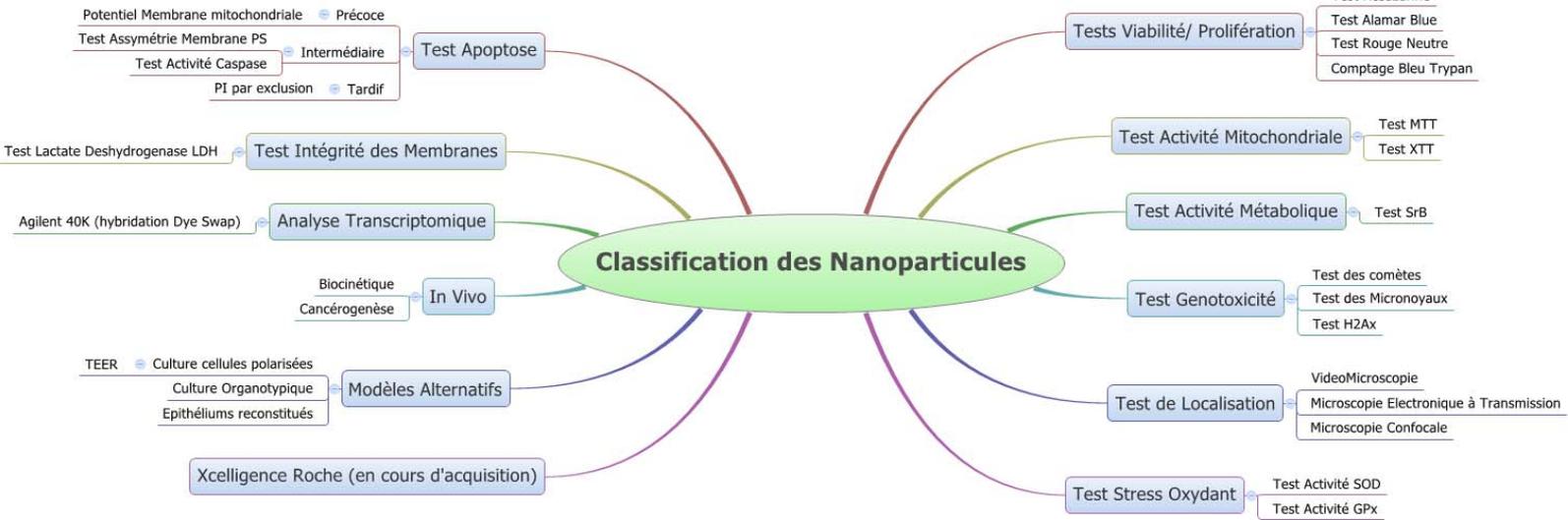
**Vitro  
cytotox  
génétoxicité**



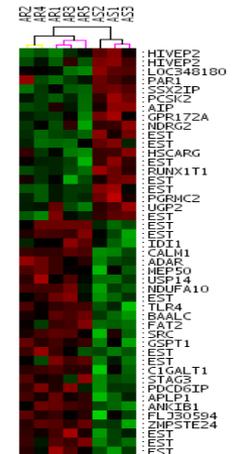
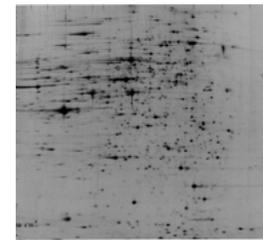
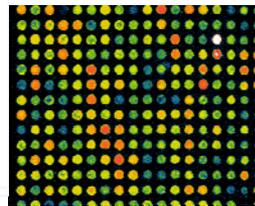
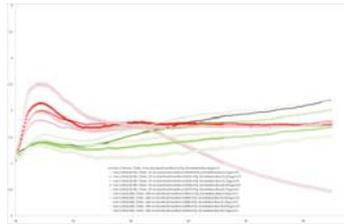
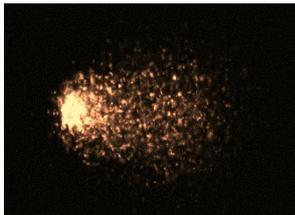
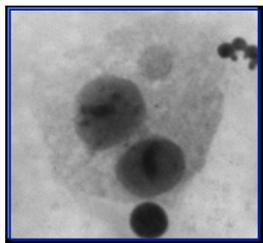
**Immuno- histochimie**



# Recherche de classes toxicologiques



**Regroupements par types de réponses  
Déterminants toxicologiques?  
Simplifier la toxicologie**





## **Recensement des nanoparticules issues des nanotechnologies et les filières de production** nomenclature, transparence de production

### **Produire de nouvelles connaissances**

identifier populations exposées, développer métrologie adaptée, mieux connaître les dangers et les risques et stimuler et coordonner leurs recherches

### **Adopter des mesures de précaution**

Travailleurs, population générale, élaborer un dispositif national réglementaire en cohérence avec les réglementations européennes

### **Prendre en compte les aspects sociétaux**

